



# Профили экспрессии и метилирования генов при светлоклеточной карциноме почки

Брага Э.А.<sup>1,2</sup> • Жинжило Т.А.<sup>3</sup> • Колпаков А.В.<sup>4</sup> • Михайленко Д.С.<sup>2,5</sup> • Кушлинский Н.Е.<sup>6</sup>

**Брага Элеонора Александровна** – д-р биол. наук, профессор, заведующая лабораторией патогеномики и транскриптомики<sup>1,2</sup>

**Жинжило Татьяна Анатольевна** – врач клинической лабораторной диагностики<sup>3</sup>

**Колпаков Андрей Владимирович** – заведующий отделением урологии<sup>4</sup>

**Михайленко Дмитрий Сергеевич** – канд. мед. наук, вед. науч. сотр., отдел патологической анатомии с группой молекулярной генетики<sup>2,5</sup>

**Кушлинский Николай Евгеньевич** – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики<sup>6</sup>

✉ 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация.  
Тел.: +7 (499) 324 11 69.  
E-mail: biochimia@mtu-net.ru

Рак почки – часто встречающееся онкологическое заболевание мочеполовой системы, самой распространенной формой которого является светлоклеточная карцинома. В большинстве случаев диагностика заболевания и оценка его прогноза основываются на данных инструментальных методов обследования. Между тем остается актуальным поиск и характеристика новых молекулярных маркеров рака почки. В основе канцерогенеза рака почки лежат молекулярно-генетические нарушения, сопровождающиеся изменением экспрессии генов, однако диагностические панели экспрессионных маркеров опухолей почек в рутинной клинической практике пока не имеют широкого использования. В обзоре представлены результаты исследований последних лет в области экспрессионных генетических маркеров рака почки

с целью формирования прогностических тест-систем. Применение методологии NotI-микрочипов позволило идентифицировать множество новых генов, связанных с патогенезом заболевания. Выявлена связь изменений уровня экспрессии и метилирования генов хромосомы 3 с прогрессией рака почки и метастазированием. На основе этих данных предложена диагностическая система маркеров рака почки по идентификации профилей экспрессии, метилирования, а также новых генов, что представляет актуальную задачу современной онкоурологии.

**Ключевые слова:** рак почки, светлоклеточная карцинома, экспрессия генов, метилирование CpG-островков

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-5-546-557

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»; 115478, г. Москва, ул. Москворечье, 1, Российская Федерация

<sup>3</sup> ФГАУ «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России; 125367, г. Москва, Ивановское шоссе, 3, Российская Федерация

<sup>4</sup> ГБУЗ «Тамбовская областная клиническая больница им. В.Д. Бабенко»; 392000, г. Тамбов, ул. Московская, 29, Российская Федерация

<sup>5</sup> НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России; 105425, г. Москва, ул. 3-я Парковая, 51/1, Российская Федерация

<sup>6</sup> ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России; 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20–1, Российская Федерация

**В** общей структуре онкологических заболеваний в России злокачественные новообразования почек относятся к числу наиболее частых опухолей. Среди мужчин в возрасте от 30 до 59 лет рак почки занимает 4-е место после рака легкого, кожи и желудка [1]. Около 95% всех случаев рака почки представлены почечно-клеточными

карциномами, остальные 5% – опухолями почечной лоханки и мочеточника. Ежегодно в мире регистрируется 270 тысяч новых случаев почечно-клеточной карциномы и 116 тысяч смертей от этого заболевания, что позволяет отнести его к одной из важнейших проблем онкоурологии.

Известно, что почечно-клеточная карцинома представляет гетерогенную группу опухолей



эпителия почечных канальцев. Выделяют следующие ее морфологические типы: светлоклеточную (75% всех случаев почечно-клеточной карциномы), папиллярную (15%) и хромофобную (5%) карциномы, а также редкие формы и неклассифицируемые варианты (суммарно около 5%). Из редких форм назовем карциномы, обусловленные транслокацией хромосомы Xp11, ассоциированные с нейробластомой, муцинозную, тубулярную и веретенчатую карциномы [2, 3].

### Особенности светлоклеточного рака почки

Светлоклеточная карцинома (СКК) – солидная, реже ацинарная, морфологическая форма рака почки с хорошо развитой сетью кровеносных сосудов и характерными клетками с прозрачной или эозинофильной цитоплазмой [4]. Известно, что СКК представляет собой новообразование, достигающее больших размеров, с эпицентром опухолевого роста в корковом слое, откуда и начинается экспансивный рост со смещением нормальной паренхимы почки к периферии и формированием псевдокапсулы [5, 6].

Иммуногистохимический профиль СКК почки характеризуется повышенной экспрессией цитокератина САМ5.2, виментина (VIM), CD10, ЕМА (эпителиального мембранного антигена), транскрипционных факторов PAX8/PAX2, RCC (специфичного антигена СКК). Вместе с тем в СКК снижена или отсутствует экспрессия цитокератина (СК) 7, α-метилацил-коэнзим А-рацемазы (АМАСР), катепсина К, СК19, с-kit, Е-кадгерина [7–9].

Для большинства спорадических, как и наследственных форм СКК почки характерны делеции короткого плеча хромосомы 3, где расположен ген *VHL* (регион 3p25). Сочетание мутации в одном из аллелей гена с соматической мутацией/протяженной делецией или гиперметилированием CpG-островка промоторной области во втором аллеле приводит к инактивации гена *VHL* [7, 10, 11]. *VHL* – опухолевый супрессор, функционирующий в составе внутриклеточного мультипротеинового комплекса Е3-убиквитинлигазы, осуществляющей деградацию индуцируемого гипоксией транскрипционного фактора (HIF). В норме *VHL* препятствует активации ряда генов, в том числе *VEGFA*, *PDGFB*, *TGFA*, *SLC2A1*, ответственных за пролиферацию и ангиогенез [12]. Помимо мутаций в гене *VHL* описаны и другие распространенные мутации при СКК почек, локализующиеся в генах *PBRM1* и *BAP1* (45 и 12% соответственно) [13].

Хирургическое удаление опухоли в виде резекции почки или нефрэктомии представляет собой основной метод лечения местнораспространенного рака почки. Лечение метастатических форм рака почки осложнено низкой эффективностью стандартной химиотерапии и иммунотерапии интерлейкином (IL) 2. В этих случаях применяют целенаправленные таргетные препараты, показавшие свою эффективность по результатам клинических исследований [14]. В настоящее время применяют несколько препаратов, одобренных Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (Food and Drug Administration – FDA) для лечения рака почки, в том числе бевацизумаб, пазопаниб, сунитиниб, сорафениб. Отмечено, что использование неоадьювантной терапии в сочетании с хирургическим удалением опухоли снижает риск возникновения местного рецидива заболевания. Несмотря на это, в 25–30% наблюдений отмечают развитие резистентности опухоли к проводимой терапии [15, 16]. При этом с прогрессией СКК могут быть связаны изменения экспрессионного профиля в опухолевых клетках.

### Профиль экспрессии генов при светлоклеточном раке почки

Исследование механизмов резистентности к противоопухолевым препаратам на новом уровне стало возможно только с помощью современных молекулярно-генетических технологий, в том числе ДНК- и РНК-анализа на микрочипах.

Использование метода РНК-микрочипов позволяет анализировать экспрессию тысячи генов одновременно независимо от типа опухоли (рисунок). С помощью такого анализа можно выявить новые гены и сети взаимодействий между ними. Обнаруженные при этом опухолевые маркеры могут быть использованы в диагностике на разных этапах развития заболевания, оценки прогноза СКК, а также стать потенциальными «генами-мишенями» для таргетной терапии этой категории больных (например, ген *VEGFA* играет ключевую роль в ангиогенезе и ускоренной васкуляризации злокачественной опухоли). Используя результаты анализа РНК-микрочипов, исследователи охарактеризовали несколько групп генов, дифференциально экспрессирующихся на разных этапах прогрессии почечно-клеточной карциномы. В зависимости от степени дифференцировки по шкале Фурмана выделяют высокодифференцированные (G1–2) и низкодифференцированные (G3–4) опухоли. Известно, что градация по шкале Фурмана коррелирует с метастазированием



Методы изучения экспрессии генов; EST – Expressed Sequence Tags, NGS – Next Generation Sequencing

и 5-летней выживаемостью больных раком почки [17]. Установлено, что уровни экспрессии генов трансмембранного протеина 45A (*TMEM45A*) и белка аквапорина 9 (*AQP9*), ассоциированных с резистентностью к химиотерапии, значительно различаются в клинических группах: G1–2/норма – увеличены в 3 раза, G3–4/норма – увеличены в 10 раз. Аналогичные соотношения в опухолевых и нормальных тканях были показаны для экспрессии генов *LOX* и *CXCL1* (ассоциированы с метастазированием), *HIF1A*, *SFRP1*, *TNF*, *VIM* [18]. Последние четыре играют важную роль в клеточной пролиферации, дифференцировке и прогрессировании опухолевого процесса. Сравнение профилей экспрессии местнораспространенных и метастазирующих СКК почки позволило идентифицировать общую группу генов с измененной экспрессией. Среди них отмечены гиперэкспрессирующиеся гены IL-8, белка теплового шока 70 (*HSP70*) [19].

Установлено, что метастазирование почечно-клеточной карциномы зачастую ассоциировано с частичной реактивацией эмбриональных программ развития ткани, а также эпителиально-мезенхимальной трансформацией [20]. В ее процессе полностью дифференцированные клетки теряют полярность, способность к клеточной адгезии, формируя инвазивный мезенхимальный фенотип [21]. Экспрессия генов в клеточных линиях с эпителиально-мезенхимальной трансформацией характеризуется значительным подавлением функций генов, ответственных за развитие нормальной почечной паренхимы (*GATA3*, *TFCP2L1*, *TFAP2B*, *DMRT2*), и одновременной гиперэкспрессией *VIM*, фибронектина (*FNI*), трансформирующего фактора роста  $\beta$  (*TGFB1*), N-кадгерина (*CDH2*) [22]. По всей видимости, разработка прогностических систем экспрессионных маркеров, отвечающих определенным задачам (оценка дифференцировки, прогноза заболевания и подбор таргетной терапии), приведет к повышению эффективности лечения СКК и улучшению показателей общей и безрецидивной выживаемости этих больных.

### Прогностическая значимость дифференциально экспрессирующихся генов при светлоклеточном раке почки

Опубликованы данные сравнительного исследования профилей экспрессии генов в нормальных и опухолевых тканях почки при СКК. Благодаря этому выделен и охарактеризован достаточно большой перечень генов, играющих ключевую роль в канцерогенезе этого типа рака почки. Регулируя процессы клеточного метаболизма, передачу трансдукционных сигналов в ядро и являясь компонентами цитоскелета, эти гены и их белковые продукты формируют злокачественный фенотип опухолевых клеток. Среди самых часто упоминаемых – гены, вовлеченные в процессы эпителиально-мезенхимальной трансформации, ангиогенеза и кодирующие молекулы клеточной адгезии (таблица). Большинство работ посвящены суррогатному маркеру СКК карбоангидразе 9-го типа (*CA9*) – трансмембранному протеину, члену семейства карбоангидраз. Катализируя обратимую реакцию гидратации  $\text{CO}_2$ , он регулирует процессы клеточной пролиферации, адгезии и кислотно-основного состояния ткани. В ткани нефрона здорового человека экспрессируются четыре типа карбоангидраз (95% из них представлены *CA2*, *CA4*). Показано, что *CA9* не экспрессируется в ткани нормальной почечной паренхимы, хромофобных почечно-клеточных карцином



и в доброкачественных опухолях почки, что характеризует его как специфичный диагностический и прогностический маркер СКК почки [23]. Экспрессия *CA9* контролируется комплексом транскрипционных факторов, главный из которых HIF-1 $\alpha$  стимулирует клеточный рост и выживание в условиях гипоксии. Активация HIF-1 $\alpha$  приводит к гиперэкспрессии *CA9* и других генов, ответственных за ангиогенез (*VEGFA*, *PDGFB* и других) [24]. Ретроспективный анализ материала больных СКК выявил гиперэкспрессию мРНК *CA9* в 97% наблюдений, при этом отмечена тенденция к ее уменьшению со снижением степени дифференцировки опухоли от G1 к G4 [25]. Эти данные коррелируют с результатами иммуногистохимических исследований, где экспрессия *CA9* выявлена почти во всех случаях [26].

Среди больных раком почки, отвечающих на терапию IL-2, у большинства (78%) обнаружен высокий уровень экспрессии *CA9* [27]. При исследовании циркулирующих опухолевых клеток (так называемая жидкостная биопсия – новое перспективное направление в лабораторной диагностике) выявлен положительный уровень экспрессии *CA9* в 33% (24 из 74) случаев рака почки, при этом в 75% из этих наблюдений была СКК [28]. Обнаружение эпитопов на поверхности молекулы *CA9*, к которым моноклональные антитела mAbG250 имеют высокое сродство, нашло применение в диагностике. В частности, использование таких антител у больных раком почки при проведении позитронно-эмиссионной томографии в сочетании с компьютерной томографией значительно увеличило детектирующую способность метода как в отношении местнораспространенных, так и метастазирующих форм почечно-клеточной карциномы [29]. Таким образом, большое количество экспериментальных данных свидетельствует о специфичности *CA9* как молекулярного маркера СКК почки.

Показано, что эпителиально-мезенхимальная трансформация приводит к совокупности изменений в эпителиальных клетках и к экспрессии в них мезенхимальных маркеров. Так, показано, что экспрессия белка VIM – главного компонента внутриклеточного цитоскелета – значительно увеличивается в ходе эпителиально-мезенхимальной трансформации при СКК. На ранних стадиях дифференцировки VIM представлен во всех мезенхимальных клетках, но в ходе онтогенеза в эпителии он замещается другими типами микрофиламентов. При этом экспрессия VIM растет со стадией заболевания и снижением степени дифференцировки опухоли. Экспрессия

Экспрессия генов, ассоциированная с клиническими характеристиками светлоклеточной карциномы почки

Ген	Функция в клетке	Ассоциации при СКК
<b>Молекулы клеточной адгезии</b>		
<i>CXCL1</i>	Хемоаттрактант нейтрофилов	Ассоциирован с метастазированием
<i>MCAM</i>	Молекула клеточной адгезии, специфичная для эндотелия	Увеличение экспрессии коррелирует с метастазированием
<i>FN1</i>	Клеточная адгезия и миграция, участвует в PI3K-AKT сигнальном пути	Ассоциирован с агрессивным опухолевым ростом
<b>Факторы роста и их рецепторы</b>		
<i>GATA3</i>	Фактор эмбрионального миелоэритропоэза	Снижение экспрессии при опухолевой трансформации
<i>TFAP2B</i>	Фактор эмбриогенеза	Подавление экспрессии в ходе канцерогенеза
<i>VEGFR1</i>	Рецептор фактора роста эндотелия сосудов	Специфичен для СКК, предиктивный маркер эффективности терапии
<i>VEGFR2</i>	Медиатор VEGF-индуцированной пролиферации и роста эндотелия сосудов	Ассоциирован с ответом на терапию антиангиогенными препаратами
<b>Прочие белки с опухоль-специфичной гиперэкспрессией</b>		
<i>AQP9</i>	Трансмембранный белок водных каналов, представлен на эритроцитах и эпителии почечных канальцев	Резистентность к химиотерапии
<i>VIM</i>	Маркер мезенхимальных клеток	Специфичен для СКК, коррелирует со стадией и прогнозом
<i>CA9</i>	Фермент гидратации CO <sub>2</sub>	Специфичный маркер СКК

СКК – светлоклеточная карцинома

*VIM* значительно выше в группе пациентов с метастатическими поражениями регионарных лимфатических узлов по сравнению с местнораспространенными формами рака почки [20]. Кроме того, оценка уровня экспрессии *VIM* играет важную роль в дифференциальной диагностике гистологического варианта почечно-клеточной карциномы, поскольку маркер экспрессируется в 87% случаев СКК и не выявляется в хромобном варианте рака почки [30]. По некоторым данным, высокий уровень экспрессии *VIM* ассоциирован с укорочением времени опухолевой прогрессии (длительность безрецидивного периода), а следовательно, и с неблагоприятным прогнозом [31].

Поскольку метастазирование почечно-клеточной карциномы тесно связано с процессом



эпителиально-мезенхимальной трансформации, потерю адгезивной способности клеток считают одним из основных событий канцерогенеза. Именно поэтому пристальный интерес у исследователей вызывает изучение клинической значимости экспрессии молекул клеточной адгезии. Молекула MCAM (также известна как CD146, MUC18, P1H12-антиген) – трансмембранный белок иммуноглобулинового семейства, экспрессирующийся во всех типах эндотелиальных клеток. Впервые этот белок был охарактеризован при исследовании меланом как маркер, ассоциированный с агрессивным опухолевым ростом и метастазированием [32]. Изначально MCAM рассматривали только как молекулу эндотелиальной клеточной адгезии. В настоящее время установлено, что MCAM также представляет собой трансмембранный сигнальный рецептор ангиогенеза опухолевых тканей [33]. Известно, что MCAM является ко-рецептором для VEGFR2, а их взаимодействие вызывает каскад реакций, приводящих к васкуляризации ткани. Возникающий в результате такого взаимодействия трансдукционный сигнал может быть заблокирован при помощи анти-MCAM моноклональных антител (AA98), тогда как их комбинация с моноклональными антителами к VEGFR (бевацизумаб) увеличивает эффективность схем лечения комбинированной химиотерапии, особенно у больных почечно-клеточной карциномой с резистентностью к тирозинкиназным ингибиторам VEGFR [32]. Высокий уровень экспрессии гена MCAM специфичен для СКК почки, что свидетельствует о его клинической значимости при прогнозировании исхода заболевания и назначении таргетной терапии [34, 35].

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), структурно относящийся к семейству факторов роста PDGF/VEGF, играет центральную роль в процессах регуляции ангиогенеза. Изоформы VEGF-A рассматривают как основной фактор ангиогенеза, который связывается с тирозинкиназными рецепторами VEGFR1 (FLT1) и VEGFR2 (KDR/FLK1) и активирует транскрипционный фактор ETS в эндотелиальных клетках (ключевой транскрипционный фактор ремоделирования внеклеточного матрикса в процессе ангиогенеза) [36, 37]. Известно, что сигнальный путь VEGF-VEGFR – центральное звено процесса васкуляризации как нормальных, так и патологически измененных тканей [36]. VEGFR2 – главный медиатор VEGF-опосредованной миграции клеток эндотелия – способствует увеличению проницаемости сосудистой стенки. Исследование профиля

экспрессии тирозинкиназных рецепторов в ткани СКК почки выявило гиперэкспрессию гена *VEGFR1* по сравнению с нормальной тканью [38]. Вместе с тем повышенная экспрессия гена *VEGFR1* находится в обратной корреляционной связи с ответом на лечение препаратами моноклональных антител к VEGFR (бевацизумаб) [39, 40]. Показано, что экспрессия фосфорилированного (активированного) VEGFR2 в опухолевой строме может быть использована в качестве предиктивного иммуногистохимического маркера эффективности анти-VEGFR терапии [41]. Стало быть, ключевые гены и кодируемые ими факторы (рецепторы) ангиогенеза могут иметь клиническое прогностическое значение при СКК.

### **Новые гены светлоклеточного рака почки, экспрессия которых подавляется метилированием, и их роль в диагностике и прогнозе заболевания**

Экспрессия значительной части опухолеассоциированных генов, особенно онкосупрессорных, регулируется посредством метилирования промоторных CpG-островков. Гиперметилирование CpG-островков, ассоциированных с генами-онкосупрессорами, может приводить к их инактивации с последующей злокачественной трансформацией клетки [42]. Вследствие этого гиперметилирование этих участков в опухолях может служить признаком для отбора новых онкосупрессорных генов. Для идентификации новых генов, ассоциированных с развитием СКК, использованы геномные NotI-микрочипы, разработанные в Каролинском институте (Швеция), которые выявляют гены, подверженные метилированию и/или делециям [43, 44].

Принцип конструкции и применения NotI-микрочипов

Геномные NotI-микрочипы основаны на способности рестрикционной эндонуклеазы NotI узнавать и расщеплять только неметилированный мотив 5'-GCGGCCGC-3', часто встречающийся в CpG-островках, локализованных в промоторных областях значительной части генов. Высокая чувствительность и специфичность метода гибридизации достигается применением NotI-репрезентативной пробы, которая представляет собой геномные фрагменты ДНК, фланкирующие NotI-сайты. Готовят NotI-пробы к каждому исследуемому образцу тотальной ДНК опухоли и гистологически неизменной парной ткани. Только малая фракция (0,05–0,1%) геномной ДНК входит в состав NotI-пробы, обогащенной



СpG-динуклеотидами, и используется для сравнительной гибридизации [43]. Пониженные гибридизационные сигналы ДНК опухоли по сравнению с ДНК нормы указывают на метилирование и/или делецию фрагментов опухолевой ДНК, соответствующих NotI-сайтам, которые использовали при конструировании NotI-микрочипов. Повышенные сигналы после гибридизации показывают амплификацию и/или деметилирование в соответствующих фрагментах опухолевой ДНК. Технология NotI-микрочипов впервые описана в работах [43–45]. Применение этой методологии к анализу короткого плеча хромосомы 3 (3p) – области экстремально частых делеций в опухолях – помогло идентифицировать множество новых генов, связанных с патогенезом эпителиальных опухолей легкого, яичников и шейки матки, почки [46–48]. Аналогичное исследование по оценке частоты эпигенетических и генетических изменений в генах хромосомы 3 проведено в опухолях больных СКК с целью изучения механизма образования и развития СКК и определения новых генов и маркеров, ассоциированных с СКК [49–51].

Анализ частоты метилирования/делеций в генах хромосомы 3 в опухолях больных светлоклеточной карциномой с применением NotI-микрочипов

Анализ результатов сравнительной гибридизации ДНК 23 парных (опухоль/норма) образцов СКК на NotI-микрочипах, содержащих 180 NotI-связывающих клонов, представляющих фрагменты 188 генов хромосомы 3 человека, показал, что с наибольшей частотой выявляются метилирование/делеции, а амплификации и деметилирование наблюдаются в единичных случаях [49–51].

С применением статистического анализа определено 19 NotI-сайтов, перекрывающих 22 гена, с частотой метилирования и/или делеций в интервале 17–57%. Среди генов, подверженных метилированию и/или делециям в опухолях больных СКК с высокой частотой, только 2 были известны ранее – *VHL* и *RBSP3 (CTDSPL)*. Для большей части генов ранее не было известно об их нарушениях при канцерогенезе почки, среди них *LRRN1*, *GORASP1*, *FGD5*, *PLCL2*. Частота метилирования и/или делеций 5 генов (*NKIRAS1*, *LRRN1*, *LRRC3B*, *RBSP3 (CTDSPL)*, *VHL*) в опухолях СКК, согласно результатам гибридизации на NotI-микрочипах, достигала 30–57%. Частое метилирование генов *LRRN1*, *LRRC3B*, *RBSP3 (CTDSPL)*, *VHL* в опухолях больных СКК подтверждено

методом бисульфитного секвенирования и метилспецифичной полимеразной цепной реакции. Например, метилирование промоторного CpG-островка *RBSP3 (CTDSPL)* выявлено в большинстве секвенированных клонов [50, 51]. Эти результаты согласуются с данными других авторов. Так, делеции в гене *NKIRAS1* отмечены ранее в работе [52]. Метилирование и делеции в гене *VHL* – частое событие в опухолях больных СКК [53]. Однако эпигенетическая регуляция генов *LRRN1*, *GORASP1*, *FGD5*, *PLCL2* показана впервые при СКК с применением технологии сравнительной гибридизации ДНК на NotI-микрочипах [50, 51].

С помощью количественного анализа содержания мРНК показано подавление экспрессии шести (*LRRN1*, *GORASP1*, *FOXP1*, *FGD5*, *PLCL2*, *ALDH1L1*) из 8 генов (*LRRN1*, *GORASP1*, *IQSEC1*, *FOXP1*, *GNAI2*, *FGD5*, *PLCL2*, *ALDH1L1*) с высокой частотой метилирования и/или делеций в опухолях больных СКК. Снижение уровня мРНК у этих 6 генов выявлено в 20–92% опухолей почки. Наиболее высокую частоту и степень снижения уровня мРНК наблюдали для *LRRN1* и *ALDH1L1* (53% с 6-кратным снижением и 92% с 5-кратным снижением). Подавление экспрессии гена *NKIRAS1* показано в 75% (9 из 12) опухолей больных СКК в работе [52] и 62% (24 из 38) – в исследовании [54].

Сравнение частоты метилирования и/или делеций и изменений уровня мРНК продемонстрировало соответствие данных, полученных этими методами, для генов *LRRN1*, *GORASP1*, *FOXP1* и *FGD5*. Частоты подавления экспрессии и частоты метилирования и/или делеций были близки. Почти во всех случаях (85%, 17 из 20) с метилированием и/или делециями выявлено снижение уровня мРНК [50]. Таким образом, у генов *LRRN1*, *GORASP1*, *FOXP1* и *FGD5* метилирование и/или делеции, предположительно, представляют основной механизм их инактивации при СКК. Уровень мРНК генов *PLCL2* и *ALDH1L1* снижался значимо более часто, чем наблюдали метилирование и/или делеции, что указывает на существование других механизмов инактивации данных генов, кроме делеций и метилирования, например, посредством мРНК.

Вместе с тем степень снижения мРНК *ALDH1L1* и *FGD5* была значимо выше в образцах больных СКК на более поздней стадии (III против I/II,  $p = 0,03$ ;  $p < 0,06$ ) [50].

Шестнадцать из 19 NotI-сайтов хромосомы 3 с высокой частотой метилирования и/или делеций в СКК оказались локализованными на ее



коротком плече (3p), что неудивительно, так как именно это плечо подвержено частым делециям и транслокациям в солидных опухолях, особенно при СКК. По-видимому, генетическая и эпигенетическая дестабилизация генов 3p представляет общий механизм в развитии злокачественных эпителиальных опухолей.

Следует отметить, что белки, кодируемые генами, идентифицированными в этих работах, задействованы в сигнальных путях и биологических процессах, часто нарушаемых в карциномах: PRICKLE2 – в WNT-пути; EPHB1 – в Ephrin-EphR-пути; VHL и GORASP1 – в регуляции апоптоза; CTDSPL (RBSP3) – в регуляции клеточного цикла; GNAI2 – в трансмембранной сигнальной системе; FGD5 – в регуляции актинового цитоскелета; NKIRAS1 – регулятор активности NFκappaB; FOXPI – транскрипционный фактор, участвующий в ткань-специфической экспрессии\*. Однако для части генов *LRRN1*, *LRRC3B* и *C3orf77* функции их белков еще не известны – это вновь открытые гены, связанные с развитием СКК [50]. Опухолоподавляющая активность гена *LRRC3B* уже показана на клеточных линиях рака почки KRC/Y [55].

Гиперметилирование генов *NKIRAS1*, *LRRN1*, *LRRC3B*, *RBSP3(CTDSPL)* и *VHL*, обнаруженное с помощью NotI-микрочипов, подтверждено бисульфитным секвенированием. Однако гиперметилирование не исключает гемизиготные делеции. Данные о гиперметилировании и снижении экспрессии генов 3p конкордантны работам, описывающим гемизиготные делеции на 3p [56, 57]. Например, частые делеции гена *ABHD5* в СКК впервые показаны в работе [57].

Идентификация молекулярных маркеров для диагностики и прогноза злокачественных новообразований – важная задача современной молекулярной онкологии [58, 59]. Изменение метилирования – одно из ранних событий в процессе опухолевой трансформации, и биомаркеры на основе метилирования генов наиболее эффективны для скрининга карцином на ранней стадии [60–62]. Потенциал клинического использования биомаркеров СКК, основанных на метилировании ДНК, показан во многих публикациях (см., например, [63–65]), но разработка универсального набора таких маркеров с высокой чувствительностью и специфичностью остается актуальной проблемой [60].

На основании анализа гибридизации на геномных NotI-микрочипах предложено более 20 генов-биомаркеров, перспективных для раннего выявления и оценки прогноза СКК

(*RASSF1A*, *RARbeta2*, *SEMA3B*, *HYAL1*, *HYAL2*, *RBSP3 (CTDSPL)*, *NPRL2*, *RHOA*, *NKIRAS1*, *USP4*, *ITGA9*, *LRRN1*, *LRRC3B*, *ACY1*, *CHL1*, *GORASP1/TTC21A*, *VHL*, *FOXPI*, *FGD5*, *PLCL2*, *ALDH1L1*). Ранее из них был известен только ген *VHL*. Предложен набор 6 маркеров: *NKIRAS1/RPL15*, *LRRN1*, *LRRC3B*, *RBSP3 (CTDSPL)*, *GORASP1/TTC21A* и *VHL*, позволяющий выявлять СКК на всех стадиях, включая I стадию [50, 52]. Если метилирование и/или делеции будут выявлены в 2 или более маркерах, образец следует считать СКК. Чувствительность этой системы на исследуемой выборке образцов составила 78%, специфичность – 96% и точность – 87%. Среди генов, подверженных метилированию и/или делециям в опухолях больных СКК с высокой частотой, только 2 были известны ранее – *VHL* и *RBSP3 (CTDSPL)*. Для большей части генов ранее не было информации об их нарушениях при канцерогенезе почки, среди них *LRRN1*, *GORASP1*, *FGD5*, *PLCL2* [50, 52].

## Заключение

В течение последних 10 лет накоплен большой объем экспериментальных и клинических данных о молекулярно-генетических и экспрессионных нарушениях при СКК. Молекулярно-генетические события лежат в основе процессов опухолевой трансформации и неразрывно связаны с изменением профиля экспрессии генов. Описаны высокоспецифичные маркеры СКК – *CA9*, *VIM* и *MCAM*, не экспрессирующиеся в нормальной паренхиме почки. Кроме того, показано, что гены *MCAM*, *VEGFR1* и *VEGFR2* играют ключевую роль в процессе ангиогенеза в СКК и чувствительности к таргетным препаратам.

С применением сравнительной гибридизации на геномных NotI-микрочипах и последующего анализа метилирования и экспрессии генов хромосомы 3 при СКК идентифицировано множество новых кандидатов на роль супрессоров опухолевого роста: *LRRN1*, *LRRC3B*, *GORASP1/TTC21A*, *FOXPI*, *FGD5*, *PLCL2*, *ALDH1L1*, а также получено подтверждение для известных ранее онкосупрессоров *VHL*, *RBSP3 (CTDSPL)*. Следует отметить, что белки, кодируемые генами, идентифицированными в рассмотренных нами работах, задействованы в сигнальных путях и биологических процессах, часто нарушаемых в карциномах. Однако для ряда генов – *LRRN1*, *LRRC3B* и *C3orf77* – функции их белков еще не известны, поскольку это вновь открытые гены, связанные с развитием СКК. На основании

\*"DAVID", 2014, <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>;  
"GeneCards", 2014, <http://genecards.org>.



анализа гибридизации на геномных NotI-микрочипах предложено более 20 генов-биомаркеров, перспективных для выявления и оценки прогноза СКК. Набор из 6 маркеров (*NKIRAS1/RPL15*, *LRRN1*, *LRRC3B*, *RBSP3* (*CTDSPL*), *GORASP1/TTC21A*, *VHL*) предложен для раннего выявления больных СКК по тестированию биопсий. Для прогноза заболевания наиболее перспективны гены *FGD5*, *ALDH1L1*, *SEMA3B*, *NPRL2* и *RBSP3*, для которых показана значимая

корреляция снижения уровня мРНК с прогрессией СКК.

Таким образом, на основе этих данных предложена диагностическая система маркеров рака почки по идентификации профилей экспрессии, метилирования, а также новых генов, что представляет актуальную задачу современной онкоурологии и может стать дополнительным инструментом для оптимизации таргетной терапии СКК и оценки прогноза заболевания. ©

## Литература

- Каприн АД, Старинский ВВ, Петрова ГВ, ред. Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность). М.: Издательство МНИОИ им. П.А. Герцена; 2016. 250 с.
- Linehan WM. Genetic basis of kidney cancer: role of genomics for the development of disease-based therapeutics. *Genome Res.* 2012;22(11):2089–100. doi: 10.1101/gr.131110.111.
- Muglia VF, Prando A. Renal cell carcinoma: histological classification and correlation with imaging findings. *Radiol Bras.* 2015;48(3):166–74. doi: 10.1590/0100-3984.2013.1927.
- Williamson SR, Gupta NS, Eble JN, Rogers CG, Michalowski S, Zhang S, Wang M, Grignon DJ, Cheng L. Clear cell renal cell carcinoma with borderline features of clear cell papillary renal cell carcinoma: combined morphologic, immunohistochemical, and cytogenetic analysis. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(11):1502–10. doi: 10.1097/PAS.0000000000000514.
- Bata P, Tarnoki DL, Tarnoki AD, Novak PK, Gyebnar J, Kekesi D, Szendroi A, Fejer B, Szasz AM, Nyirady P, Karlinger K, Berczi V. Transitional cell and clear cell renal carcinoma: differentiation of distinct histological types with multiphase CT. *Acta Radiol.* 2014;55(9):1112–9. doi: 10.1177/0284185113510493.
- Delahunt B, Chevillat JC, Martignoni G, Humphrey PA, Magi-Galluzzi C, McKenney J, Egevad L, Algaba F, Moch H, Grignon DJ, Montironi R, Srigley JR; Members of the ISUP Renal Tumor Panel. The International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for renal cell carcinoma and other prognostic parameters. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(10):1490–504. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182990fb.
- Strobel O, Büchler MW. Pancreatic metastases from tumors in the urogenital tract. *Gastrointest Tumors.* 2015;2(2):75–82. doi: 10.1159/000431045.
- Truong LD, Shen SS. Immunohistochemical diagnosis of renal neoplasms. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135(1):92–109. doi: 10.1043/2010-0478-RAR.1.
- Bonsib SM, Bhalodia A. Renal neoplasms: an update on immunohistochemical and histochemical features. *Connection.* 2010;14:178–85.
- Ross H, Martignoni G, Argani P. Renal cell carcinoma with clear cell and papillary features. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136(4):391–9. doi: 10.5858/arpa.2011-0479-RA.
- Gomy I, Silva WA Jr. Molecular pathogenesis of renal cell carcinoma: a review. In: Amato R, editor. *Emerging research and treatments in renal cell carcinoma.* Rijeka: InTech; 2012 [Internet]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/emerging-research-and-treatments-in-renal-cell-carcinoma/molecular-pathogenesis-of-renal-cell-carcinoma-a-review>.
- Cho E, Adami HO, Lindblad P. Epidemiology of renal cell cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2011;25(4):651–65. doi: 10.1016/j.hoc.2011.04.002.
- Kapur P, Christie A, Raman JD, Then MT, Nuhn P, Buchner A, Bastian P, Seitz C, Shariat SF, Bensalah K, Rioux-Leclercq N, Xie XJ, Lotan Y, Margulis V, Brugarolas J. BAP1 immunohistochemistry predicts outcomes in a multi-institutional cohort with clear cell renal cell carcinoma. *J Urol.* 2014;191(3):603–10. doi: 10.1016/j.juro.2013.09.041.
- Diamond E, Riches J, Faltas B, Tagawa ST, Nanus DM. Immunogenetics and chemotherapeutics for renal cell carcinoma. *Semin Intervent Radiol.* 2014;31(1):91–7. doi: 10.1055/s-0033-1363848.
- Miyazaki A, Miyake H, Fujisawa M. Molecular mechanism mediating cytotoxic activity of axitinib in sunitinib-resistant human renal cell carcinoma cells. *Clin Transl Oncol.* 2016;18(9):893–900. doi: 10.1007/s12094-015-1457-x.
- Azam F, Mehta S, Harris AL. Mechanisms of resistance to antiangiogenesis therapy. *Eur J Cancer.* 2010;46(8):1323–32. doi: 10.1016/j.ejca.2010.02.020.
- Qayyum T, McArdle P, Orange C, Seywright M, Horgan P, Oades G, Aitchison M, Edwards J. Reclassification of the Fuhrman grading system in renal cell carcinoma – does it make a difference? *Springerplus.* 2013;2:378. doi: 10.1186/2193-1801-2-378.
- Thibodeau BJ, Fulton M, Fortier LE, Geddes TJ, Prutz BL, Ahmed S, Banes-Berceli A, Zhang PL, Wilson GD, Hafron J. Characterization of clear cell renal cell carcinoma by gene expression profiling. *Urol Oncol.* 2016;34(4):168.e1–9. doi: 10.1016/j.urolonc.2015.11.001.
- Dall'Oglio MF, Coelho RF, Leite KR, Sousa-Canavez JM, Oliveira PS, Srougi M. Gene expression profile of renal cell carcinoma clear cell type. *Int Braz J Urol.* 2010;36(4):410–8. doi: 10.1590/S1677-55382010000400004.
- He H, Magi-Galluzzi C. Epithelial-to-mesenchymal transition in renal neoplasms. *Adv Anat Pathol.* 2014;21(3):174–80. doi: 10.1097/PAP.0000000000000108.
- Piva F, Giulietti M, Santoni M, Occhipinti G, Scarpelli M, Lopez-Beltran A, Cheng L, Principato G, Montironi R. Epithelial to mesenchymal transition in renal cell carcinoma: implications for cancer therapy. *Mol Diagn Ther.* 2016;20(2):111–7. doi: 10.1007/s40291-016-0192-5.
- Tun HW, Marlow LA, von Roemeling CA, Cooper SJ, Kreinest P, Wu K, Luxon BA, Sinha M, Anastasiadis PZ, Copland JA. Pathway signature and cellular differentiation in clear cell renal cell carcinoma. *PLoS One.* 2010;5(5):e10696. doi: 10.1371/journal.pone.0010696.
- Luong-Player A, Liu H, Wang HL, Lin F. Immunohistochemical reevaluation of carbonic anhydrase IX (CA IX) expression in tumors and normal tissues. *Am J Clin Pathol.* 2014;141(2):219–25. doi: 10.1309/AJCPVJDS28KNYZLD.
- Mahon BP, Pinard MA, McKenna R. Targeting carbonic anhydrase IX activity and expression. *Molecules.* 2015;20(2):2323–48. doi: 10.3390/molecules20022323.
- 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):3141–8. doi: 10.1016/j.ejca.2010.07.020.
- Donato DP, Johnson MT, Yang XJ, Zynger DL. Expression of carbonic anhydrase IX in genitourinary and adrenal tumours. *Histopathology.* 2011;59(6):1229–39. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.04074.x.
- Gieling RG, Williams KJ. Carbonic anhydrase IX as a target for metastatic disease. *Bioorg Med Chem.* 2013;21(6):1470–6. doi: 10.1016/j.bmc.2012.09.062.
- Takacova M, Bartosova M, Skvarkova L, Zatovicova M, Vidlickova I, Csaderova L, Barathova M, Breza J Jr, Bujdak P, Pastorek J, Breza J Sr, Pas-





- torekova S. Carbonic anhydrase IX is a clinically significant tissue and serum biomarker associated with renal cell carcinoma. *Oncol Lett.* 2013;5(1):191–7. doi: 10.3892/ol.2012.1001.
29. Sitohy B, Nagy JA, Dvorak HF. Anti-VEGF/VEGFR therapy for cancer: reassessing the target. *Cancer Res.* 2012;72(8):1909–14. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3406.
30. Zhao W, Tian B, Wu C, Peng Y, Wang H, Gu WL, Gao FH. DOG1, cyclin D1, CK7, CD117 and vimentin are useful immunohistochemical markers in distinguishing chromophobe renal cell carcinoma from clear cell renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *Pathol Res Pract.* 2015;211(4):303–7. doi: 10.1016/j.prp.2014.12.014.
31. Chen D, Gassenmaier M, Maruschke M, Riesenberger R, Pohla H, Stief CG, Zimmermann W, Buchner A. Expression and prognostic significance of a comprehensive epithelial-mesenchymal transition gene set in renal cell carcinoma. *J Urol.* 2014;191(2):479–86. doi: 10.1016/j.juro.2013.08.052.
32. Jiang T, Zhuang J, Duan H, Luo Y, Zeng Q, Fan K, Yan H, Lu D, Ye Z, Hao J, Feng J, Yang D, Yan X. CD146 is a coreceptor for VEGFR-2 in tumor angiogenesis. *Blood.* 2012;120(11):2330–9. doi: 10.1182/blood-2012-01-406108.
33. Vohr HW, editor. *Encyclopedia of immunotoxicology.* Berlin: Springer; 2015. p. 151–8.
34. Feng G, Fang F, Liu C, Zhang F, Huang H, Pu C. CD146 gene expression in clear cell renal cell carcinoma: a potential marker for prediction of early recurrence after nephrectomy. *Int Urol Nephrol.* 2012;44(6):1663–9. doi: 10.1007/s11255-012-0255-4.
35. Wragg JW, Finnity JP, Anderson JA, Ferguson HJ, Porfiri E, Bhatt RI, Murray PG, Heath VL, Bicknell R. MCAM and LAMA4 are highly enriched in tumor blood vessels of renal cell carcinoma and predict patient outcome. *Cancer Res.* 2016;76(8):2314–26. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1364.
36. Shibuya M. Involvement of Flt-1 (VEGF receptor-1) in cancer and preeclampsia. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2011;87(4):167–78. doi: <http://doi.org/10.2183/pjab.87.167>.
37. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. *J Biochem.* 2013;153(1):13–9. doi: 10.1093/jb/mvs136.
38. Behbahani TE, Thierse C, Baumann C, Holl D, Bastian PJ, von Ruecker A, Müller SC, Ellinger J, Hauser S. Tyrosine kinase expression profile in clear cell renal cell carcinoma. *World J Urol.* 2012;30(4):559–65. doi: 10.1007/s00345-011-0767-z.
39. Lambrechts D, Claes B, Delmar P, Reumers J, Mazzone M, Yesilyurt BT, Devlieger R, Verslype C, Tejpar S, Wildiers H, de Haas S, Carmeliet P, Scherer SJ, Van Cutsem E. VEGF pathway genetic variants as biomarkers of treatment outcome with bevacizumab: an analysis of data from the AVITA and AVOREN randomised trials. *Lancet Oncol.* 2012;13(7):724–33. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70231-0.
40. Dornbusch J, Walter M, Gottschalk A, Obaje A, Junker K, Ohlmann CH, Meinhardt M, Zacharis A, Zastrow S, Schoffer O, Grimm MO, Klug SJ, Wirth MP, Fuessel S. Evaluation of polymorphisms in angiogenesis-related genes as predictive and prognostic markers for sunitinib-treated metastatic renal cell carcinoma patients. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2016;142(6):1171–82. doi: 10.1007/s00432-016-2137-0.
41. del Puerto-Nevado L, Rojo F, Zazo S, Caramés C, Rubio G, Vega R, Chamizo C, Casado V, Martínez-Useros J, Rincón R, Rodríguez-Remírez M, Borrero-Palacios A, Cristóbal I, Madoz-Gúrpide J, Aguilera O, García-Foncillas J. Active angiogenesis in metastatic renal cell carcinoma predicts clinical benefit to sunitinib-based therapy. *Br J Cancer.* 2014;110(11):2700–7. doi: 10.1038/bjc.2014.225.
42. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell.* 2007;128(4):683–92. doi: 10.1016/j.cell.2007.01.029.
43. Kashuba VI, Gizatullin RZ, Protopopov AI, Li J, Vorobieva NV, Fedorova L, Zabarovska VI, Muravenko OV, Kost-Alimova M, Domninsky DA, Kiss C, Allikmetts R, Zakharyev VM, Braga EA, Sumegi J, Lerman M, Wahlestedt C, Zelenin AV, Sheer D, Winberg G, Grafodatsky A, Kisselev LL, Klein G, Zabarovsky ER. Analysis of Not1 linking clones isolated from human chromosome 3 specific libraries. *Gene.* 1999;239(2):259–71. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00411-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00411-4).
44. Li J, Protopopov A, Wang F, Senchenko V, Petushkov V, Vorontsova O, Petrenko L, Zabarovska V, Muravenko O, Braga E, Kisselev L, Lerman MI, Kashuba V, Klein G, Ernberg I, Wahlestedt C, Zabarovsky ER. Not1 subtraction and Not1-specific microarrays to detect copy number and methylation changes in whole genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(16):10724–9. doi: 10.1073/pnas.132271699.
45. Zabarovsky ER, Senchenko V, Loginov V. Positional cloning of tumor suppressor genes from 3p21.3 involved in major human cancers. In: Columbus F, editor. *Horizons in cancer research.* New York: Nova Science Publishers, Inc.; 2011. Vol. 42. N 4. p. 103–27.
46. Dmitriev AA, Kashuba VI, Haraldson K, Senchenko VN, Pavlova TV, Kudryavtseva AV, Anedchenko EA, Krasnov GS, Pronina IV, Loginov VI, Kondratieva TT, Kazubskaya TP, Braga EA, Yenamandra SP, Ignatjev I, Ernberg I, Klein G, Lerman MI, Zabarovsky ER. Genetic and epigenetic analysis of non-small cell lung cancer with Not1-microarrays. *Epigenetics.* 2012;7(5):502–13. doi: 10.4161/epi.19801.
47. Kashuba V, Dmitriev AA, Krasnov GS, Pavlova T, Ignatjev I, Gordiyuk VV, Gerashchenko AV, Braga EA, Yenamandra SP, Lerman M, Senchenko VN, Zabarovsky E. Not1 microarrays: novel epigenetic markers for early detection and prognosis of high grade serous ovarian cancer. *Int J Mol Sci.* 2012;13(10):13352–77. doi: 10.3390/ijms131013352.
48. Senchenko VN, Kisseljova NP, Ivanova TA, Dmitriev AA, Krasnov GS, Kudryavtseva AV, Panasenkov GV, Tsitrin EB, Lerman MI, Kisseljov FL, Kashuba VI, Zabarovsky ER. Novel tumor suppressor candidates on chromosome 3 revealed by Not1-microarrays in cervical cancer. *Epigenetics.* 2013;8(4):409–20. doi: 10.4161/epi.24233.
49. Zabarovsky ER, Braga EA, Loginov V. Novel methylation-dependent markers/tumor suppressor genes involved in the development of renal cell cancer. In: Columbus F, editor. *Horizons in cancer research.* New York: Nova Science Publishers, Inc.; 2011. Vol. 42. N 5. p. 129–52.
50. Dmitriev AA, Rudenko EE, Kudryavtseva AV, Krasnov GS, Gordiyuk VV, Melnikova NV, Stakhovsky EO, Kononenko OA, Pavlova LS, Kondratieva TT, Alekseev BY, Braga EA, Senchenko VN, Kashuba VI. Epigenetic alterations of chromosome 3 revealed by Not1-microarrays in clear cell renal cell carcinoma. *Biomed Res Int.* 2014;2014:735292. doi: 10.1155/2014/735292.
51. Брага ЭА, Ходырев ДС, Логинов ВИ, Пронина ИВ, Сенченко ВН, Дмитриев АА, Кубатиев АА, Кушлинский НЕ. Роль метилирования в регуляции экспрессии генов хромосомы 3 и генов микроРНК при светлоклеточном почечноклеточном раке. *Генетика.* 2015;51(6):668–84. doi: 10.7868/S0016675815050021.
52. Gerashchenko GV, Bogatyrova OO, Rudenko EE, Kondratov AG, Gordiyuk VV, Zgonnyk YM, Vozianov OF, Pavlova TV, Zabarovsky ER, Rynditch AV, Kashuba VI. Genetic and epigenetic changes of NKIRAS1 gene in human renal cell carcinomas. *Exp Oncol.* 2010;32(2):71–5.
53. Rydzanicz M, Wrzesiński T, Bluysen HA, Wesoly J. Genomics and epigenomics of clear cell renal cell carcinoma: recent developments and potential applications. *Cancer Lett.* 2013;341(2):111–26. doi: 10.1016/j.canlet.2013.08.006.
54. Пронина ИВ. Изменение уровней экспрессии генов из критичных районов хромосомы 3 человека в эпителиальных опухолях разных локализаций. Дис. ... канд. биол. наук. М.: ФГУП «ГосНИИгенетика»; 2010. 150 с.
55. Haraldson K, Kashuba VI, Dmitriev AA, Senchenko VN, Kudryavtseva AV, Pavlova TV, Braga EA, Pronina IV, Kondratov AG, Rynditch AV, Lerman MI, Zabarovsky ER. LRR3B gene is frequently epigenetically inactivated in several epithelial malignancies and inhibits cell growth and replication. *Biochimie.* 2012;94(5):1151–7. doi: 10.1016/j.biochi.2012.01.019.
56. Singh RB, Amare Kadam PS. Investigation of tumor suppressor genes apart from VHL on 3p by deletion mapping in sporadic clear cell renal cell carcinoma (cRCC). *Urol Oncol.* 2013;31(7):1333–42. doi: 10.1016/j.urolonc.2011.08.012.



57. Gatto F, Nookaew I, Nielsen J. Chromosome 3p loss of heterozygosity is associated with a unique metabolic network in clear cell renal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(9):E866–75. doi: 10.1073/pnas.1319196111.
58. Gordiyuk VV, Kondratov AG, Gerashchenko GV, Kashuba VI. Novel epigenetic markers of early epithelial tumor growth and prognosis. *Biopolym Cell*. 2013;29(3):215–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.00081B>.
59. Jain S, Wojdacz TK, Su YH. Challenges for the application of DNA methylation biomarkers in molecular diagnostic testing for cancer. *Expert Rev Mol Diagn*. 2013;13(3):283–94. doi: 10.1586/erm.13.9.
60. Jerónimo C, Henrique R. Epigenetic biomarkers in urological tumors: a systematic review. *Cancer Lett*. 2014;342(2):264–74. doi: 10.1016/j.canlet.2011.12.026.
61. Palmisano WA, Divine KK, Saccomanno G, Gilliland FD, Baylin SB, Herman JG, Belinsky SA. Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum. *Cancer Res*. 2000;60(21):5954–8.
62. Mikeska T, Bock C, Do H, Dobrovic A. DNA methylation biomarkers in cancer: progress towards clinical implementation. *Expert Rev Mol Diagn*. 2012;12(5):473–87. doi: 10.1586/erm.12.45.
63. Hoque MO, Begum S, Topaloglu O, Jeronimo C, Mambo E, Westra WH, Califano JA, Sidransky D. Quantitative detection of promoter hypermethylation of multiple genes in the tumor, urine, and serum DNA of patients with renal cancer. *Cancer Res*. 2004;64(15):5511–7.
64. Gonzalgo ML, Yegnasubramanian S, Yan G, Rogers CG, Nicol TL, Nelson WG, Pavlovich CP. Molecular profiling and classification of sporadic renal cell carcinoma by quantitative methylation analysis. *Clin Cancer Res*. 2004;10(21):7276–83.
65. Ibanez de Caceres I, Dulaimi E, Hoffman AM, Al-Saleem T, Uzzo RG, Cairns P. Identification of novel target genes by an epigenetic reactivation screen of renal cancer. *Cancer Res*. 2006;66(10):5021–8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3365.
17. Qayyum T, McArdle P, Orange C, Seywright M, Horgan P, Oades G, Aitchison M, Edwards J. Reclassification of the Fuhrman grading system in renal cell carcinoma – does it make a difference? *Springerplus*. 2013;2:378. doi: 10.1186/2193-1801-2-378.
18. Thibodeau BJ, Fulton M, Fortier LE, Geddes TJ, Pruett BL, Ahmed S, Banes-Berceli A, Zhang PL, Wilson GD, Hafron J. Characterization of clear cell renal cell carcinoma by gene expression profiling. *Urol Oncol*. 2016;34(4):168.e1–9. doi: 10.1016/j.urolonc.2015.11.001.
19. Dall'Oglio MF, Coelho RF, Leite KR, Sousa-Canaivez JM, Oliveira PS, Srougi M. Gene expression profile of renal cell carcinoma clear cell type. *Int Braz J Urol*. 2010;36(4):410–8. doi: 10.1590/S1677-55382010000400004.
20. He H, Magi-Galluzzi C. Epithelial-to-mesenchymal transition in renal neoplasms. *Adv Anat Pathol*. 2014;21(3):174–80. doi: 10.1097/PAP.000000000000018.
21. Piva F, Giulietti M, Santoni M, Occhipinti G, Scarpelli M, Lopez-Beltran A, Cheng L, Principato G, Montironi R. Epithelial to mesenchymal transition in renal cell carcinoma: implications for cancer therapy. *Mol Diagn Ther*. 2016;20(2):111–7. doi: 10.1007/s40291-016-0192-5.
22. Tun HW, Marlow LA, von Roemeling CA, Cooper SJ, Kreinest P, Wu K, Luxon BA, Sinha M, Anastasiadis PZ, Copland JA. Pathway signature and cellular differentiation in clear cell renal cell carcinoma. *PLoS One*. 2010;5(5):e10696. doi: 10.1371/journal.pone.0010696.
23. Luong-Player A, Liu H, Wang HL, Lin F. Immunohistochemical reevaluation of carbonic anhydrase IX (CA IX) expression in tumors and normal tissues. *Am J Clin Pathol*. 2014;141(2):219–25. doi: 10.1309/AJCPVJDS28KNYZLD.
24. Mahon BP, Pinard MA, McKenna R. Targeting carbonic anhydrase IX activity and expression. *Molecules*. 2015;20(2):2323–48. doi: 10.3390/molecules20022323.
25. Tostain J, Li G, Gentil-Perret A, Gigante M. Carbonic anhydrase 9 in clear cell renal cell carcinoma: a marker for diagnosis, prognosis and
1. Kaprin AD, Starinskiy VV, Petrova GV, editors. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2014 godu (zabolevaemost' i smertnost') [Malignancies in Russia in 2014 (morbidity and mortality)]*. Moscow: Izdatel'stvo MNI OI im. P.A. Gertsena; 2016. 250 p. (in Russian).
2. Linehan WM. Genetic basis of kidney cancer: role of genomics for the development of disease-based therapeutics. *Genome Res*. 2012;22(11):2089–100. doi: 10.1101/gr.131110.111.
3. Muglia VF, Prando A. Renal cell carcinoma: histological classification and correlation with imaging findings. *Radiol Bras*. 2015;48(3):166–74. doi: 10.1590/0100-3984.2013.1927.
4. Williamson SR, Gupta NS, Eble JN, Rogers CG, Michalowski S, Zhang S, Wang M, Grignon DJ, Cheng L. Clear cell renal cell carcinoma with borderline features of clear cell papillary renal cell carcinoma: combined morphologic, immunohistochemical, and cytogenetic analysis. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(11):1502–10. doi: 10.1097/PAS.0000000000000514.
5. Bata P, Tarnoki DL, Tarnoki AD, Novak PK, Gyebnar J, Kekesi D, Szendroi A, Fejer B, Szasz AM, Nyirady P, Karlinger K, Berczi V. Transitional cell and clear cell renal carcinoma: differentiation of distinct histological types with multiphase CT. *Acta Radiol*. 2014;55(9):1112–9. doi: 10.1177/0284185113510493.
6. Delahunt B, Chevillat JC, Martignoni G, Humphrey PA, Magi-Galluzzi C, McKenney J, Egevad L, Algaba F, Moch H, Grignon DJ, Montironi R, Srigley JR; Members of the ISUP Renal Tumor Panel. The International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for renal cell carcinoma and other prognostic parameters. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(10):1490–504. doi: 10.1097/PAS.0b013e318299f0fb.
7. Strobel O, Büchler MW. Pancreatic metastases from tumors in the urogenital tract. *Gastrointest Tumors*. 2015;2(2):75–82. doi: 10.1159/000431045.
8. Truong LD, Shen SS. Immunohistochemical diagnosis of renal neoplasms. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135(1):92–109. doi: 10.1043/2010-0478-RAR.1.
9. Bonsib SM, Bhalodia A. Renal neoplasms: an update on immunohistochemical and histochemical features. *Connection* 2010;14:178–85.
10. Ross H, Martignoni G, Argani P. Renal cell carcinoma with clear cell and papillary features. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(4):391–9. doi: 10.5858/arpa.2011-0479-RA.
11. Gomy I, Silva WA Jr. Molecular pathogenesis of renal cell carcinoma: a review. In: Amato R, editor. *Emerging research and treatments in renal cell carcinoma*. Rijeka: In-Tech; 2012 [Internet]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/emerging-research-and-treatments-inrenal-cell-carcinoma/molecular-pathogenesis-of-renal-cell-carcinoma-a-review>.
12. Cho E, Adami HO, Lindblad P. Epidemiology of renal cell cancer. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2011;25(4):651–65. doi: 10.1016/j.hoc.2011.04.002.
13. Kapur P, Christie A, Raman JD, Then MT, Nuhn P, Buchner A, Bastian P, Seitz C, Shariat SF, Bensalah K, Rioux-Leclercq N, Xie XJ, Lotan Y, Margulis V, Brugarolas J. BAP1 immunohistochemistry predicts outcomes in a multi-institutional cohort with clear cell renal cell carcinoma. *J Urol*. 2014;191(3):603–10. doi: 10.1016/j.juro.2013.09.041.
14. Diamond E, Riches J, Faltas B, Tagawa ST, Nanus DM. Immunologic and chemotherapeutic for renal cell carcinoma. *Semin Intervent Radiol*. 2014;31(1):91–7. doi: 10.1055/s-0033-1363848.
15. Miyazaki A, Miyake H, Fujisawa M. Molecular mechanism mediating cytotoxic activity of axitinib in sunitinib-resistant human renal cell carcinoma cells. *Clin Transl Oncol*. 2016;18(9):893–900. doi: 10.1007/s12094-015-1457-x.
16. Azam F, Mehta S, Harris AL. Mechanisms of resistance to antiangiogenesis therapy. *Eur J Cancer*. 2010;46(8):1323–32. doi: 10.1016/j.ejca.2010.02.020.



- treatment. *Eur J Cancer*. 2010;46(18):3141–8. doi: 10.1016/j.ejca.2010.07.020.
26. Donato DP, Johnson MT, Yang XJ, Zynger DL. Expression of carbonic anhydrase IX in genitourinary and adrenal tumours. *Histopathology*. 2011;59(6):1229–39. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.04074.x.
27. Gieling RG, Williams KJ. Carbonic anhydrase IX as a target for metastatic disease. *Bioorg Med Chem*. 2013;21(6):1470–6. doi: 10.1016/j.bmc.2012.09.062.
28. Takacova M, Bartosova M, Skvarkova L, Zatovicova M, Vidlickova I, Csaderova L, Barathova M, Breza J Jr, Bujdak P, Pastorek J, Breza J Sr, Pastorekova S. Carbonic anhydrase IX is a clinically significant tissue and serum biomarker associated with renal cell carcinoma. *Oncol Lett*. 2013;5(1):191–7. doi: 10.3892/ol.2012.1001.
29. Sitohy B, Nagy JA, Dvorak HF. Anti-VEGF/VEGFR therapy for cancer: reassessing the target. *Cancer Res*. 2012;72(8):1909–14. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3406.
30. Zhao W, Tian B, Wu C, Peng Y, Wang H, Gu WL, Gao FH. DOG1, cyclin D1, CK7, CD117 and vimentin are useful immunohistochemical markers in distinguishing chromophobe renal cell carcinoma from clear cell renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *Pathol Res Pract*. 2015;211(4):303–7. doi: 10.1016/j.prp.2014.12.014.
31. Chen D, Gassenmaier M, Maruschke M, Riesenberg R, Pohla H, Stief CG, Zimmermann W, Buchner A. Expression and prognostic significance of a comprehensive epithelial-mesenchymal transition gene set in renal cell carcinoma. *J Urol*. 2014;191(2):479–86. doi: 10.1016/j.juro.2013.08.052.
32. Jiang T, Zhuang J, Duan H, Luo Y, Zeng Q, Fan K, Yan H, Lu D, Ye Z, Hao J, Feng J, Yang D, Yan X. CD146 is a coreceptor for VEGFR-2 in tumor angiogenesis. *Blood*. 2012;120(11):2330–9. doi: 10.1182/blood-2012-01-406108.
33. Vohr HW, editor. *Encyclopedia of immunotoxicology*. Berlin: Springer; 2015. p. 151–8.
34. Feng G, Fang F, Liu C, Zhang F, Huang H, Pu C. CD146 gene expression in clear cell renal cell carcinoma: a potential marker for prediction of early recurrence after nephrectomy. *Int Urol Nephrol*. 2012;44(6):1663–9. doi: 10.1007/s11255-012-0255-4.
35. Wragg JW, Finnity JP, Anderson JA, Ferguson HJ, Porfiri E, Bhatt RI, Murray PG, Heath VL, Bicknell R. MCAM and LAMA4 are highly enriched in tumor blood vessels of renal cell carcinoma and predict patient outcome. *Cancer Res*. 2016;76(8):2314–26. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1364.
36. Shibuya M. Involvement of Flt-1 (VEGF receptor-1) in cancer and preeclampsia. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2011;87(4):167–78. doi: <http://doi.org/10.2183/pjab.87.167>.
37. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. *J Biochem*. 2013;153(1):13–9. doi: 10.1093/jb/mvs136.
38. Behbahani TE, Thierse C, Baumann C, Holl D, Bastian PJ, von Ruecker A, Müller SC, Ellinger J, Hauser S. Tyrosine kinase expression profile in clear cell renal cell carcinoma. *World J Urol*. 2012;30(4):559–65. doi: 10.1007/s00345-011-0767-z.
39. Lambrechts D, Claes B, Delmar P, Reumers J, Mazzone M, Yesilyurt BT, Devlieger R, Verslype C, Tejpar S, Wildiers H, de Haas S, Carmeliet P, Scherer SJ, Van Cutsem E. VEGF pathway genetic variants as biomarkers of treatment outcome with bevacizumab: an analysis of data from the AVITA and AVOREN randomised trials. *Lancet Oncol*. 2012;13(7):724–33. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70231-0.
40. Dornbusch J, Walter M, Gottschalk A, Obaje A, Junker K, Ohlmann CH, Meinhardt M, Zacharis A, Zastrow S, Schoffer O, Grimm MO, Klug SJ, Wirth MP, Fuesell S. Evaluation of polymorphisms in angiogenesis-related genes as predictive and prognostic markers for sunitinib-treated metastatic renal cell carcinoma patients. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2016;142(6):1171–82. doi: 10.1007/s00432-016-2137-0.
41. del Puerto-Nevado L, Rojo F, Zazo S, Caramés C, Rubio G, Vega R, Chamizo C, Casado V, Martínez-Useros J, Rincón R, Rodríguez-Remírez M, Borrero-Palacios A, Cristóbal I, Madoz-Gúrpide J, Aguilera O, García-Foncillas J. Active angiogenesis in metastatic renal cell carcinoma predicts clinical benefit to sunitinib-based therapy. *Br J Cancer*. 2014;110(11):2700–7. doi: 10.1038/bjc.2014.225.
42. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell*. 2007;128(4):683–92. doi: 10.1016/j.cell.2007.01.029.
43. Kashuba VI, Gizatullin RZ, Protopopov AI, Li J, Vorobieva NV, Fedorova L, Zabarovska VI, Muravenko OV, Kost-Alimova M, Domninsky DA, Kiss C, Allikmets R, Zakharyev VM, Braga EA, Sumegi J, Lerman M, Wahlestedt C, Zelenin AV, Sheer D, Winberg G, Grafodatsky A, Kisselev LL, Klein G, Zabarovsky ER. Analysis of Not1 linking clones isolated from human chromosome 3 specific libraries. *Gene*. 1999;239(2):259–71. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00411-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00411-4).
44. Li J, Protopopov A, Wang F, Senchenko V, Petushkov V, Vorontsova O, Petrenko L, Zabarovska V, Muravenko O, Braga E, Kisselev L, Lerman MI, Kashuba V, Klein G, Ernberg I, Wahlestedt C, Zabarovsky ER. Not1 subtraction and Not1-specific microarrays to detect copy number and methylation changes in whole genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(16):10724–9. doi: 10.1073/pnas.132271699.
45. Zabarovsky ER, Senchenko V, Loginov V. Positional cloning of tumor suppressor genes from 3p21.3 involved in major human cancers. In: Columbus F, editor. *Horizons in cancer research*. New York: Nova Science Publishers, Inc.; 2011. Vol. 42. N 4. p. 103–27.
46. Dmitriev AA, Kashuba VI, Haraldson K, Senchenko VN, Pavlova TV, Kudryavtseva AV, Anedchenko EA, Krasnov GS, Pronina IV, Loginov VI, Kondratieva TT, Kazubskaya TP, Braga EA, Yenamandra SP, Ignatjev I, Ernberg I, Klein G, Lerman MI, Zabarovsky ER. Genetic and epigenetic analysis of non-small cell lung cancer with Not1-microarrays. *Epigenetics*. 2012;7(5):502–13. doi: 10.4161/epi.19801.
47. Kashuba V, Dmitriev AA, Krasnov GS, Pavlova T, Ignatjev I, Gordiyuk VV, Gerashchenko AV, Braga EA, Yenamandra SP, Lerman M, Senchenko VN, Zabarovsky E. Not1 microarrays: novel epigenetic markers for early detection and prognosis of high grade serous ovarian cancer. *Int J Mol Sci*. 2012;13(10):13352–77. doi: 10.3390/ijms131013352.
48. Senchenko VN, Kisseljova NP, Ivanova TA, Dmitriev AA, Krasnov GS, Kudryavtseva AV, Panasenkov GV, Tsitrin EB, Lerman MI, Kissel'jov FL, Kashuba VI, Zabarovsky ER. Novel tumor suppressor candidates on chromosome 3 revealed by Not1-microarrays in cervical cancer. *Epigenetics*. 2013;8(4):409–20. doi: 10.4161/epi.24233.
49. Zabarovsky ER, Braga EA, Loginov V. Novel methylation-dependent markers/tumor suppressor genes involved in the development of renal cell cancer. In: Columbus F, editor. *Horizons in cancer research*. New York: Nova Science Publishers, Inc.; 2011. Vol. 42. N 5. p. 129–52.
50. Dmitriev AA, Rudenko EE, Kudryavtseva AV, Krasnov GS, Gordiyuk VV, Melnikova NV, Stakhovskiy EO, Kononenko OA, Pavlova LS, Kondratieva TT, Alekseev BY, Braga EA, Senchenko VN, Kashuba VI. Epigenetic alterations of chromosome 3 revealed by Not1-microarrays in clear cell renal cell carcinoma. *Biomed Res Int*. 2014;2014:735292. doi: 10.1155/2014/735292.
51. Braga EA, Khodyrev DS, Loginov VI, Pronina IV, Senchenko VN, Dmitriev AA, Kubatiev AA, Kushlinskiy NE. Rol' metilirovaniya v regulyatsii ekspressii genov khromosomy 3 i genov mikroRNK pri svetloketochnom pochechnokletochnom rake [Methylation regulation of expression of chromosome 3 genes and microRNA in clear cell renal cell carcinomas]. *Genetika [Russian Journal of Genetics]*. 2015;51(6):668–84 (in Russian). doi: 10.7868/S0016675815050021.
52. Gerashchenko GV, Bogatyrova OO, Rudenko EE, Kondratov AG, Gordiyuk VV, Zgonnyk YM, Vozianov OF, Pavlova TV, Zabarovsky ER, Rynditch AV, Kashuba VI. Genetic and epigenetic changes of NKIRAS1 gene in human renal cell carcinomas. *Exp Oncol*. 2010;32(2):71–5.
53. Rydzanicz M, Wrzesiński T, Bluyssen HA, Weśoły J. Genomics and epigenomics of clear cell renal cell carcinoma: recent develop-



- ments and potential applications. *Cancer Lett.* 2013;341(2):111–26. doi: 10.1016/j.canlet.2013.08.006.
54. Pronina IV. Izmenenie urovney ekspressii genov iz kritichnykh rayonov khromosomy 3 cheloveka v epitelial'nykh opukholyakh raznykh lokalizatsiy [Changing the levels of gene expression of the critical areas of human chromosome 3 in epithelial tumors of different localizations] [Dissertation]. Moscow: FGUP "GosNIIgenetika"; 2010. 150 p. (in Russian).
55. Haraldson K, Kashuba VI, Dmitriev AA, Senchenko VN, Kudryavtseva AV, Pavlova TV, Braga EA, Pronina IV, Kondratov AG, Rynditch AV, Lerman MI, Zabarovsky ER. LRR3B gene is frequently epigenetically inactivated in several epithelial malignancies and inhibits cell growth and replication. *Biochimie.* 2012;94(5):1151–7. doi: 10.1016/j.biochi.2012.01.019.
56. Singh RB, Amare Kadam PS. Investigation of tumor suppressor genes apart from VHL on 3p by deletion mapping in sporadic clear cell renal cell carcinoma (cRCC). *Urol Oncol.* 2013;31(7):1333–42. doi: 10.1016/j.urolonc.2011.08.012.
57. Gatto F, Nookaew I, Nielsen J. Chromosome 3p loss of heterozygosity is associated with a unique metabolic network in clear cell renal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(9):E866–75. doi: 10.1073/pnas.1319196111.
58. Gordiyuk VV, Kondratov AG, Gerashchenko GV, Kashuba VI. Novel epigenetic markers of early epithelial tumor growth and prognosis. *Biopolym Cell.* 2013;29(3):215–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.00081B>.
59. Jain S, Wojdacz TK, Su YH. Challenges for the application of DNA methylation biomarkers in molecular diagnostic testing for cancer. *Expert Rev Mol Diagn.* 2013;13(3):283–94. doi: 10.1586/erm.13.9.
60. Jerónimo C, Henrique R. Epigenetic biomarkers in urological tumors: a systematic review. *Cancer Lett.* 2014;342(2):264–74. doi: 10.1016/j.canlet.2011.12.026.
61. Palmisano WA, Divine KK, Saccomanno G, Gililand FD, Baylin SB, Herman JG, Belinsky SA. Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum. *Cancer Res.* 2000;60(21):5954–8.
62. Mikeska T, Bock C, Do H, Dobrovic A. DNA methylation biomarkers in cancer: progress towards clinical implementation. *Expert Rev Mol Diagn.* 2012;12(5):473–87. doi: 10.1586/erm.12.45.
63. Hoque MO, Begum S, Topaloglu O, Jeronimo C, Mambo E, Westra WH, Califano JA, Sidransky D. Quantitative detection of promoter hypermethylation of multiple genes in the tumor, urine, and serum DNA of patients with renal cancer. *Cancer Res.* 2004;64(15):5511–7.
64. Gonzalgo ML, Yegnasubramanian S, Yan G, Rogers CG, Nicol TL, Nelson WG, Pavlovich CP. Molecular profiling and classification of sporadic renal cell carcinoma by quantitative methylation analysis. *Clin Cancer Res.* 2004;10(21):7276–83.
65. Ibanez de Caceres I, Dulaimi E, Hoffman AM, Al-Saleem T, Uzzo RG, Cairns P. Identification of novel target genes by an epigenetic reactivation screen of renal cancer. *Cancer Res.* 2006;66(10):5021–8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3365.

## Expression profiles and methylation genes in clear cell renal carcinoma

Braga E.A.<sup>1,2</sup> • Zhinzhilo T.A.<sup>3</sup> • Kolpakov A.V.<sup>4</sup> • Mikhaylenko D.S.<sup>2,5</sup> • Kushlinskii N.E.<sup>6</sup>

Renal cancer (RC) is a common malignancy of the genitourinary system. Clear cell renal cell carcinoma is the most common histological type of RC. In most cases diagnosis and prognosis of clear cell renal cell carcinoma are based on the results of instrumental tests, while search for novel molecular RC markers and their characterization remain relevant. Molecular genetic abnormalities accompanied with changes in gene expression underly the RC carcinogenesis; however, diagnostic panels of the expression markers of RC are still not widely used. This review represents the results of recent research in the area of gene expression markers of RC aimed to elaborate prognostic test systems.

Application of the Nottl-microarray methodology allowed for identification of many novel genes associated with RC pathogenesis. The relationship of alterations of expression level and methylation of chromosome 3 genes with RC progression and metastasis has been shown. Based on this data, a diagnostic marker system for RC have been proposed with identification of expression and methylation profiles and novel markers, that is an urgent problem in modern urologic oncology.

**Key words:** renal cancer, clear cell renal carcinoma, gene expression, CpG-islands methylation

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-5-546-557

**Braga Eleonora A.** – PhD, Doctor of Biol. Sci., Professor, Head of Laboratory of Genomics and Transcriptomics<sup>1,2</sup>

**Zhinzhilo Tat'yana A.** – MD, Specialist in Clinical Laboratory Diagnostics<sup>3</sup>

**Kolpakov Andrey V.** – MD, Head of Department of Urology<sup>4</sup>

**Mikhaylenko Dmitry S.** – MD, PhD, Leading Research Fellow, Department of Pathology Anatomy with the Molecular Genetic Group<sup>2,5</sup>

**Kushlinskii Nikolay E.** – MD, PhD, Professor, Member-Correspondent of Russian Academy of Sciences, Head of Chair of Clinical Chemistry and Laboratory Diagnostics<sup>6</sup>

✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 11 69. E-mail: biochimia@mtu-net.ru

<sup>1</sup>Institute of General Pathology and Pathophysiology; 8 Baltiyskaya ul., Moscow, 125315, Russian Federation

<sup>2</sup>Research Centre of Medical Genetics; 1 Moskvorech'e ul., Moscow, 115478, Russian Federation

<sup>3</sup>Medical and Rehabilitation Center; 3 Ivan'kovskoe shosse, Moscow, 125367, Russian Federation

<sup>4</sup>V.D. Babenko Tambov Regional Clinical Hospital; 29 Moskovskaya ul., Tambov, 392000, Russian Federation

<sup>5</sup>N.A. Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology – branch of the National Medical Research Radiological Center; 51/1 3-ya Parkovaya ul., Moscow, 105425, Russian Federation

<sup>6</sup>Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov; 20–1 Delegatskaya ul., Moscow, 127473, Russian Federation