

УДК 616.61–006.6:612.389.1:612.461] –073.756.8–079.4:57.089 (045)

Оригинальная статья

## МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ И БИОМАРКЕРЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ И МОЧИ В ДИАГНОСТИКЕ РАКА ПОЧКИ

**Ю. Е. Никольский** — ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, ассистент кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии; **М. Л. Чехонацкая** — ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, заведующая кафедрой лучевой диагностики и лучевой терапии, профессор, доктор медицинских наук; **Н. Б. Захарова** — ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики, доктор медицинских наук; **Э. Б. Попыхова** — ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, старший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, кандидат биологических наук; **А. Н. Понукалин** — ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, научно-исследовательский институт клинической уронефрологии, заведующий отделением реконструктивной уронефрологии, доцент, кандидат медицинских наук.

## MAGNETIC RESONANCE IMAGING AND BIOMARKERS OF SERUM AND URINE WILE DIAGNOSTICS OF KIDNEY CANCER

**Yu. Ye. Nickolsky** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Roentgen Diagnostics and Radiotherapy, Assistant; **M. L. Chekhonatskaya** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Department of Roentgen Diagnostics and Radiotherapy, Professor, Doctor of Medical Sciences; **N. B. Zakharova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Central Research Laboratory, Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Doctor of Medical Sciences; **E. B. Popukhova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Senior Research Assistant, Candidate of Biological Sciences; **A. N. Ponukalin** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Fundamental Clinical Urology, Head of Department of Reconstructive Urology, Assistant Professor, Candidate of Medical Sciences.

Дата поступления — 21.01.2016 г.

Дата принятия в печать — 18.02.2016 г.

**Никольский Ю. Е., Чехонацкая М. Л., Захарова Н. Б., Попыхова Э. Б., Понукалин А. Н.** Магнитно-резонансная томография и биомаркеры сыворотки крови и мочи в диагностике рака почки. Саратовский научно-медицинский журнал 2016; 12 (1): 52–56.

**Цель:** усовершенствование дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований почки на основе комплексной оценки данных МРТ и уровня таких биомаркеров, как фактор роста эндотелия сосудов, моноцитарный хемотаксический белок-1 и матриксная металлопротеиназа-9, в сыворотке крови и моче. **Материал и методы.** Обследовано 106 человек. Основную группу составили 60 пациентов с раком почки (РП); группу сравнения — 16 больных с доброкачественными опухолями почек; контрольную группу — 30 практически здоровых лиц. Для выявления биомаркеров в сыворотке крови и моче использовали метод ИФА. Диагностику опухолей осуществляли с помощью МРТ. **Результаты.** Зарегистрировано повышение уровня биомаркеров в сыворотке крови и моче независимо от характера неопластического процесса, более выраженное — при РП, особенно в начальных стадиях заболевания. Установлены некоторые особенности изменения уровня биомаркеров в зависимости от размеров злокачественного новообразования. **Заключение.** На начальных стадиях РП одновременное определение в сыворотке крови и моче больных перечисленных маркеров может служить дополнительным клинико-диагностическим и прогностическим критерием.

**Ключевые слова:** рак почки, магнитно-резонансная томография, биомаркеры.

**Nickolsky YuYe, Chekhonatskaya ML, Zakharova NB, Popukhova EB, Ponukalin AN.** Magnetic resonance imaging and biomarkers of serum and urine wile diagnostics of kidney cancer. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2016; 12 (1): 52–56.

**Purpose:** improvement of differential diagnostics of benign and malignant renal tumors basing on complex estimation of the results of MRT and the level of such biomarkers as vascular endothelial growth factor, monocyte chemotactic protein-1 and matrix metalloproteinase-9 in blood serum and urine. **Material and Methods.** A total of 106 patients including the main group of 60 patients with renal cancer (RC), the group of comparison of 16 patients with benign renal tumors and the control group of 30 practically healthy persons were examined. ELISA was employed for detection of the biomarkers in blood serum and urine. The tumors were diagnosed by MRT. **Results.** The increase of the level of the biomarkers in blood serum and urine was registered independently of the character of neoplastic process; more significant increase was observed in patients with RC, especially at the early stages of the disease. Some peculiarities of changing of the level of the biomarkers depending on the dimensions of malignant tumors were found. **Conclusion.** At the early stages of RC complex detection of the abovementioned biomarkers in blood serum and urine can serve an additional clinical diagnostic and prognostic criterion.

**Key words:** renal cancer, magnetic resonance tomography, biomarkers.

**Введение.** Выявление рака почки (РП) на начальной стадии позволяет проводить резекцию почки, обеспечивающую относительно благоприятный прогноз при данном заболевании [1]. В связи с этим особый интерес представляет разработка современных эффективных методик, позволяющих осуществлять раннюю диагностику РП.

Высокоинформативным методом визуализации опухолей почки, помогающим в установлении экстра-ренального распространения и инвазии рака почки в сосуды и соседние органы, является магнитно-резонансная томография (МРТ). Высокая разрешающая способность МРТ позволяет точнее определить стадию злокачественного процесса [2]. Данный метод эффективен при выявлении маленьких опухолей почки, не нарушающих непрерывности почечной капсулы [2], что предопределяет перспективность использования МРТ для ранней диагностики РП.

Появление панели молекулярно-генетических онкомаркеров поднимает диагностику злокачественных новообразований на качественно новый уровень [3, 4]. В последние годы появились данные о том, что исследование уровня биомаркеров в сыворотке крови и моче при РП позволяет обнаружить опухоль на самых ранних этапах ее развития. В частности, установлено диагностическое значение изменения концентрации в сыворотке крови моноцитарного эндотаксического белка-1 (MCP-1) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), являющихся маркерами интерстициального воспаления и активации ангиогенеза [5–7], у больных РП [8]. В то же время клинико-диагностическое значение экскреции данных маркеров с мочой в обнаружении РП не исследовалось.

Весьма важным представляется изучение изменения концентрации в сыворотке крови и моче матричной металлопротеиназы-9 (MMP-9), играющей ключевую роль в ремоделировании компонентов экстрацеллюлярного матрикса. Роль MMP-9 в инвазии злокачественной опухоли, ангиогенезе и метастазировании показана при целом ряде онкологических заболеваний, включая колоректальный рак, рак молочной железы, опухоли крови, рак мочевого пузыря и карциноме почки [3, 9]. В то же время клинико-диагностическое значение изменения уровня данного биомаркера в моче больных РП не исследовалось.

**Цель:** усовершенствование дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований почки на основе комплексной оценки данных МРТ и уровня биомаркеров (VEGF, MCP-1 и MMP-9) в сыворотке крови и моче.

**Материал и методы.** Под наблюдением было 106 человек, проходивших обследование в отделении лучевой диагностики и лечение в клинике урологии Клинической больницы им. С. П. Миротворцева ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России.

Основную группу составили 60 пациентов с РП; группу сравнения — 16 больных с доброкачественными опухолями почек (ДОП); контрольную группу — 30 практически здоровых лиц.

Критерием включения в исследование явилось наличие гистологически подтвержденного диагноза РП. Критериями исключения служили следующие: наличие отдаленных метастазов или опухолей других локализаций; заболевания сердечно-сосудистой

системы атеросклеротического генеза и артериальная гипертония III–IV стадии; неотложные состояния (острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, тромбоз легочной артерии); почечная и печеночная недостаточность.

По результатам морфометрического исследования операционного материала размеры опухолевых узлов при РП колебались от 2 до 12 см (в среднем 7,4 см), доброкачественных опухолей — от 1 до 5 см (в среднем 3,4 см).

Распределение больных РП по стадиям заболевания (классификация злокачественных опухолей TNMAJCC/UICC, 2009 г.) было следующим: T1a — 14 (23,3%) человек, T1b — 12 (20%), T2–19 (31,7%) и T3–15 (25%) пациентов.

У всех обследованных больных выявлен светлоклеточный РП. Количество пациентов по критерию Fuhrman составило с G1–41, G2–13, G3–6 пациентов.

У пациентов с ДОП диагностированы простые кисты в 6 (37,5%) наблюдениях, ангиомиолипомы — у 6 (37,5%) больных, аденомы — у 2 (12,5%), геморрагическая киста — у 1 (6,25%) и онкоцитомы — у 1 (6,25%) пациента.

Комплексное обследование включало исследование сыворотки крови и мочи на содержание VEGF, MCP-1 и MMP-9 методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с применением наборов реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) и Bender Medsystems (Австрия).

Магнитно-резонансную томографию органов брюшинного пространства проводили пациентам, у которых не было выявлено противопоказаний, без специальной подготовки. Сканирование осуществляли на аппарате Philips Achieva с индукцией магнитного поля 1,5 Тл, используя катушку «Body-array» для тела в модифицированной программе T2/TSE с параметрами: TR=3500 мс; TE=120 мс; турбо-фактор=7; матрица=512384; FOV=400 мм; толщина среза 4 мм.

Сканирование выполняли в нативном режиме без применения методики внутривенного контрастного усиления. Протокол МР-исследования включал в себя T2 ВИ (ВИ — взвешенное изображение) и T1 ВИ в трех взаимно перпендикулярных плоскостях (корональная, сагиттальная, аксиальная) с задержкой и без задержки дыхания. Время сканирования составляло в среднем 11–14 мин.

По серии магнитно-резонансных томограмм органов брюшинного пространства, взвешенных по T2 ВИ и T1 ВИ в трех взаимно перпендикулярных проекциях, определяли размеры почек, исследовали их контуры, проводили оценку состояния чашечно-лоханочной системы, выявляли объемные образования в паренхиме почки с последующим определением их ширины, глубины и высоты.

Полученные результаты обрабатывали статистически. Указывали характер распределения, способ его оценки и применяемый критерий для оценки значимости различий средних. Закономерности изменения содержания молекулярных маркеров в биоматериале исследовались методами описательной статистики (непараметрическая статистика с расчетом медианы, квартильного размаха, уровня достоверности различия между группами обследованных по критерию Манна — Уитни). Эффективность диагностики по анализу спектра чувствительности и специфичности в диапазоне исследованных значений оценивалась с помощью построения характеристической кривой (ROC-анализ).

**Результаты.** Данные о размерах опухолей, содержании биомаркеров в сыворотке крови и моче представлены в табл. 1 и 2.

Установлено, что средние значения размеров опухолей, определенные МР-исследованием и морфометрически, практически совпадали ( $p < 0,05$ ).

Анализ результатов исследования уровня биомаркеров в моче и сыворотке крови показал, что не-

зависимо от характера неопластического процесса происходит достоверное повышение содержания MCP-1, VEGF и MMP-9 ( $p < 0,05$ ). Однако у больных с РП данная тенденция носит более выраженный характер, чем у пациентов с ДОП. На стадии T1a концентрация VEGF в сыворотке крови увеличилась в 4,2 раза, в моче в 7,9 раза. Так, в сыворотке крови у пациентов при ДОП отмечалось значимое повы-

Таблица 1

**Размеры опухолей по данным МРТ и при исследовании макропрепарата при раке и доброкачественных опухолях почки**

Характер новообразования	Стадия / гистологический вариант заболевания	Размер опухоли (среднее значение), см	
		по данным МРТ	при исследовании макропрепарата
Рак почки	T — T1a	3,5	3,0
	T1b	5,1	5,5
	T2	7,4	8,0
	T3	9,8	10,5
Доброкачественные опухоли почки	Простые кисты	3,1	3,0
	Геморрагическая киста	4,2	4,5
	Онкоцитома	5,2	5,0
	Аденомы	3,3	3,0
	Ангиомиолипомы	3,1	3,0

Таблица 2

**Содержание биомаркеров в сыворотке крови и моче у больных с доброкачественными опухолями почек и РП в зависимости от стадии**

Группа обследованных	Статистический показатель	Размер опухоли, см*	VEGF (нг/мл)		MCP-1 (нг/мл)		MMP-9 (нг/мл)	
			сыворотка крови	моча	сыворотка крови	моча	сыворотка крови	моча
Контрольная группа	Медиана	0	75,3	52,0	78,1	165,5	145,2	12,6
	1-й квартиль	0	62,1	31,6	60,1	131,1	123,5	2,9
	3-й квартиль	0	99,6	93,6	112,8	244,4	167,8	18,2
Пациенты с доброкачественными опухолями	Медиана	2,73	127,35	254,5	119,35	226,8	590,6	23,3
	1-й квартиль	2,0	100,0	162,0	88,6	147,0	392,5	17,1
	3-й квартиль	4,6	178,2	291,0	171,4	343,7	682,0	32
РП T1a	Медиана	3,54	313,85	410,9	144,2	364,1	1921,5	102,25
	1-й квартиль	3,04	224,6	197,85	128,28	213,9	1660,8	59,75
	3-й квартиль	3,85	425,05	468,9	160,95	404,4	2022,5	124,5
РП T1b	Медиана	4,66	523,2	467,8	184,0	398,5	2567,0	120,9
	1-й квартиль	4,13	456,2	360,7	136,2	287,2	2198,0	90,5
	3-й квартиль	5,66	623,7	580,8	232,3	423,6	2706,0	184
РП T2	Медиана	6,53	681,3	586,6	188,5	340,05	2807,5	80,45
	1-й квартиль	6,0	565,85	544,15	157,05	276,6	2730,0	65,85
	3-й квартиль	7,01	920,25	661,0	212,45	445,75	2959,15	95,05
РП T3	Медиана	8,15	931,15	626,85	183,95	318,3	2956,0	49,3
	1-й квартиль	7,91	709,0	567,2	176,0	169,7	2863,0	46,7
	3-й квартиль	8,56	1006,0	684,8	198,9	380,7	3217,0	53,1

Примечание: \* — по данным МРТ.

шение MMP-9 (на 306,3%) по сравнению с их содержанием у практически здоровых лиц; повышение MCP-1 происходило на 52,9%, VEGF на 69,1%. В моче у больных с ДОП более значительным оказался подъем уровня VEGF (на 389,4%), тогда как уровень MCP-1 и MMP-9 изменялся в меньшей степени.

При раке почки нарастание содержания исследуемых биомаркеров в сыворотке крови и моче коррелировало со стадией заболевания и увеличением размеров опухоли.

При сравнении содержания данных маркеров в моче у больных с РП и ДОП установлено, что на стадии «маленькой опухоли» (T1a) в сыворотке крови отмечалось повышение содержания MCP-1 на 119,9%, MMP-9 — на 225,3%, VEGF — на 146,45%. В моче на этой стадии заболевания увеличение уровня MCP-1 и VEGF было менее значительным — на 60,5% и 75,1% соответственно, тогда как уровень MMP-9 существенно возрастал (на 385,3%). Тенденция к дальнейшему повышению содержания данных маркеров в изучаемых биологических жидкостях сохранялась на стадии T1b.

На стадиях T2-T3 в сыворотке крови содержание биомаркеров продолжало расти по сравнению со стадией T1a, составив для MCP-1 127,6%, для MMP-9 53,8% и для VEGF 196,7%. Повышение концентрации VEGF отмечалось также в моче, в то время как содержание биомаркеров MCP-1 и MMP-9 снижалось. Так, уровень MCP-1 в моче составил 0,5% от его содержания у больных РП на стадии T1a, а уменьшение концентрации MMP-9 достигало 78,9%.

Диагностическая эффективность уровня содержания биомаркеров в сыворотке крови и в моче при определении потенциальной стадии рака почки оценивалась при помощи построения ROC-кривых с разными точками разделения исходных данных (рис. 1–3). Установлено, что наибольшую информативность или площадь под характеристической кривой показывает уровень VEGF мочи, то есть его концентрация, превышающая значение точки отсечения, что может применяться в качестве критерия злокачественной трансформации опухолевого роста у больных РП. Другие показатели также могут быть учтены при определении характера новообразования почки.

**Обсуждение.** При РП на стадии «маленькой опухоли» увеличение экскреции с мочой MCP-1, VEGF, MMP-9 может быть связано с тем, что на начальных этапах опухолевой трансформации ткани почек происходит активация воспалительных процессов в интерстиции [3, 4]. По-видимому, это становится причиной инактивации гена VHL и приводит к нарушению соотношения ангиогенных и антиангиогенных факторов [10, 11]. В результате возникает реконструкция сосудистого русла почечной паренхимы, изменение тонуса сосудов и усугубление ишемии, сопровождающееся секрецией в мочу и подъемом содержания в сыворотке крови факторов роста, прежде всего VEGF [12, 13].

На стадиях T2-T3 MCP-1 в моче ниже, чем у пациентов с «небольшим» РП. Это свидетельствует о снижении активности тубулоинтерстициального воспаления [3, 10]. Концентрация MCP-1 в сыворотке крови у больных РП, у пациентов с ДОП и практически здоровых лиц была сопоставима. У больных с РП на стадиях T2b-T3 при активном росте опухолевого узла и высокой вероятности метастазирования наблюдалось достоверное увеличение уровня фактора роста в сыворотке крови и в моче. MMP-9 на всех ста-

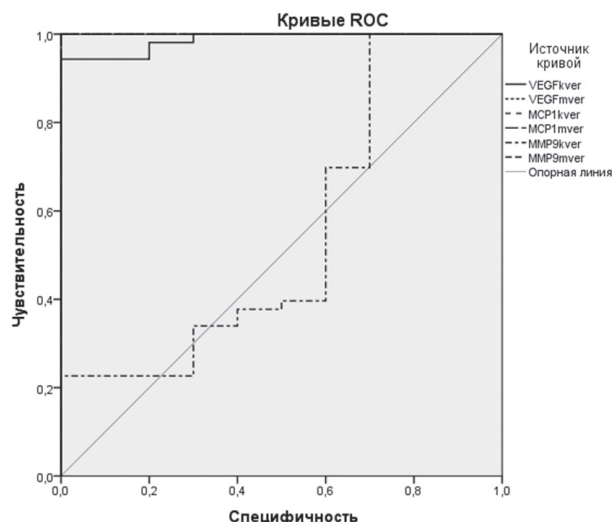


Рис. 1. ROC-анализ для пациентов с доброкачественными опухолями и здоровых лиц

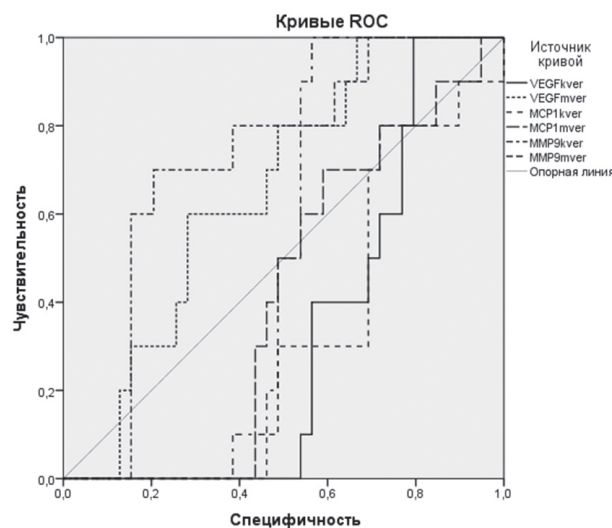


Рис. 2. ROC-анализ для пациентов с доброкачественными опухолями и с раком почки

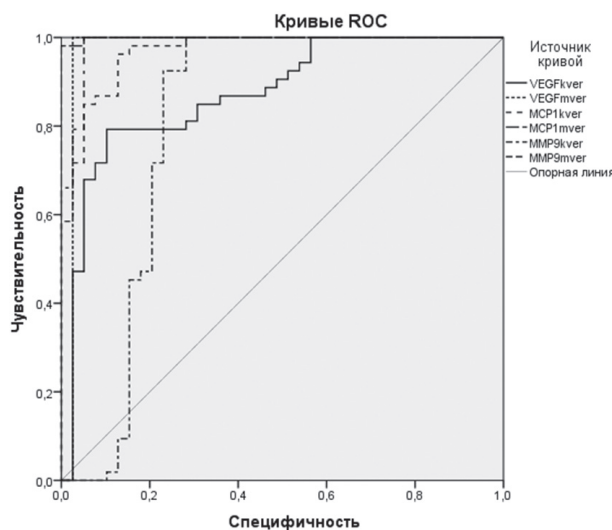


Рис. 3. ROC-анализ для пациентов с раком почки и здоровых лиц

диях опухолевого процесса в почке также достоверно вовлечена в опухолевый ангиогенез [9].

Наблюдаемые изменения уровней концентрации исследуемых цитокинов, вероятно, свидетельствуют о том, что при возникновении и развитии неопластического процесса сначала активируется воспалительная реакция, а затем происходит иммуносупрессия.

По данным ROC-анализа уровень VEGF мочи может применяться в качестве критерия злокачественной трансформации опухолевого роста у больных РП. Одновременное исследование в сыворотке крови и в моче таких маркеров, как MCP-1 и VEGF, может быть использовано в качестве диагностического критерия РП при размере опухоли 4,8–6,8 см по данным МРТ забрюшинного пространства.

**Заключение.** Таким образом, одновременное определение в моче и сыворотке крови таких маркеров, как MCP-1, VEGF и MMP-9, в сочетании с МР-исследованием может быть использовано у больных РП на начальных стадиях заболевания в качестве дополнительного клинико-диагностического и прогностического критерия.

**Конфликт интересов** отсутствует.

**Авторский вклад:** концепция и дизайн исследования — М.Л. Чехонацкая, Н.Б. Захарова, А.Н. Понукалин; получение и обработка данных, написание статьи — Ю.Г. Никольский, Э.Б. Попыхова; анализ и интерпретация результатов — Ю.Г. Никольский, Н.Б. Захарова, А.Н. Понукалин; утверждение рукописи для публикации — М.Л. Чехонацкая, Н.Б. Захарова.

#### References (Литература)

1. Matveev BP, ed. Clinical oncology. M.: Verdana, 2011; 934 p. Russian (Клиническая онкоурология / под ред. Б.П. Матвеева. М.: Вердана, 2011; 934 с.).
2. Alyayev YuG, Sinitsyn VE, Grigor'ev NA. Magnetic resonance tomography in urology. M.: Practical Medicine, 2005; 272 p. Russian (Аляев Ю.Г., Синицын В.Е., Григорьев Н.А. Магнитно-резонансная томография в урологии. М.: Практическая медицина, 2005; 272 с.).
3. Gorelov AI, Soldatenkov AV, Gorelov DS, Selivanov AS. Modern aspects of renal cancer prognosis. Vestnik of St Petersburg University 2008; 11 (4): 153–165. Russian (Горелов А.И., Солдатенков А.В., Горелов Д.С., Селиванов А.С. Современные аспекты прогнозирования рака почки. Вестник Санкт-Петербургского университета 2008; 11 (4): 153–165).
4. Lam JS, Leppert JT, Figlin RA, Belldegrun AS. Role of molecular markers in the diagnosis and therapy of renal cell carcinoma. Urology 2005; (66): 1–9.
5. Fil'chenkov AA. Therapeutic potential of angiogenesis inhibitors. Oncology 2007; (9): 321–328. Russian (Фильченков А.А. Терапевтический потенциал ингибиторов ангиогенеза. Онкология 2007; (9): 321–328).
6. Bergers G, Benjamin LE. Tumorogenesis and the angiogenic switch. Nat Rev Cancer 2003; (1.3): 401–410.
7. Thongboonkerd V. The practical moments in uric proteomics. J Proteome Res 2007; (6): 3881–3890.
8. Liu ZL, Shirakawa T, Li Y, et al. Regulation of Notch 1 and Dll4 by vascular endothelial growth factor in arterial endothelial cells: implications for modulating arteriogenesis and angiogenesis. Mol Cell Biol 2003; (23): 14–25.
9. Kugler A, Hemmerlein B, Thelen P, et al. Expression of metalloproteinase 2 and 9 and their inhibitors in renal cell carcinoma. J Urol 1998; 160 (5): 1914–1918.
10. Banyra OB, Stroy AA, Shulyak AV. Markers of tumor growth in renal cancer diagnostics. Experimental and Clinical Urology 2011; (4): 72–78. Russian (Баньра О.Б., Строй А.А., Шуляк А.В. Маркеры опухолевого роста в диагностике рака почки. Экспериментальная и клиническая урология 2011; (4): 72–78).
11. Trapeznikova MF, Glybin PA, Morozov AP, et al. Angiogenic factors in renal cell carcinoma. Oncology 2008; (4): 82–87. Russian (Трапезникова М.Ф., Глыбин П.А., Морозов А.П. и др. Ангиогенные факторы при почечно-клеточном раке. Онкоурология 2008; (4): 82–87).
12. Glybochko PV, Durnov DA, Ponukalin AN, et al. Diagnostic value of metabolic oncomarker TuM2Pk and endothelial growth factor in determination of the tumor process stage in renal cancer. Meditsinskiy Vestnik Bashkortostana 2011; 6 (2): 234–239. Russian (Глыбочко П.В., Дурнов Д.А., Понукалин А.Н. и др. Диагностическое значение метаболического онкомаркера TuM2Pk и фактора роста эндотелия сосудов в стадировании опухолевого процесса при раке почки. Медицинский вестник Башкортостана 2011; 6 (2): 234–239).
13. Baccala AA, Zhong H, Cliff SM, et al. Serum vascular endothelial growth factor is a candidate biomarker of metastatic tumor response to ex vivo gene therapy of renal cell cancer. Urology 1998; (51): 327–332.