

Клиническое значение маркеров пролиферации и апоптоза у больных светлоклеточным почечно-клеточным раком

Н.А. Горбань¹, С.В. Иванова¹, О.Б. Карякин¹, А.М. Попов¹, С.А. Варламов², Д.И. Ганов²

¹ФГБУ МРНЦ Минздрава России, Обнинск;

²КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», Барнаул

Контакты: Нина Андреевна Горбань perovanina@mail.ru

Почечно-клеточный рак (ПКР) — гетерогенное заболевание, при котором пациенты живут от нескольких месяцев до нескольких лет. В настоящее время прогностические модели не обладают достаточной информативностью и точной прогностической ценностью. Клеточная пролиферация и апоптоз играют ключевую роль в регуляции клеточного цикла, и нарушение этих процессов часто выявляется при различных опухолях человека. В исследование были включены 76 пациентов (49 мужчин и 27 женщин) в возрасте от 32 до 73 лет, средний возраст $56 \pm 7,6$ года с диагнозом ПКР. Срок наблюдения составил от 8 до 116 мес (средний срок — 36,5 мес). Всем больным была выполнена нефрэктомия, проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к p53, Bcl-2 и Ki-67. Экспрессия p53 и отсутствие экспрессии или редуцированная экспрессия Bcl-2 являются факторами неблагоприятного прогноза, связаны с метастатическим потенциалом опухоли и низкой безрецидивной выживаемостью. Высокий уровень Ki-67 — фактор риска развития метастазов. А сочетание экспрессии p53 и высокой пролиферативной активности отражает агрессивный потенциал опухоли и свидетельствует о высоком риске метастазов уже на момент диагностики заболевания или ранней диссеминации опухоли.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, факторы прогноза, p53, Bcl-2, Ki-67

Clinical value of the markers of proliferation and apoptosis in patients with clear cell renal cell carcinoma

N.A. Gorban¹, S.V. Ivanova¹, O.B. Karyakin¹, A.M. Popov¹, S.A. Varlamov², D.I. Ganov²

¹Medical Radiology Research Center, Ministry of Health of Russia, Obninsk;

²Altai Territory Oncology Dispensary, Barnaul

Renal cell carcinoma (RCC) is a heterogeneous disease in which the patients survive for months to years. At the present time the prognostic models have no sufficient information or exact prognostic value. Cell proliferation and apoptosis play a key role in cell cycle regulation; and impairment in these processes is commonly detected in different human tumors. The investigation enrolled 76 patients (49 men, 27 women) aged 32 to 73 years (mean age 56 ± 7.6 years) diagnosed with RCC. The follow-up was 8 to 116 months (mean 36.5 months). All the patients underwent nephrectomy; antibodies against p53, Bcl-2, and Ki-67 were investigated by immunohistochemistry. The expression of p53 and none or reduced expression of Bcl-2 are poor prognostic factors and associated with the metastatic potential of a tumor and with low relapse-free survival. High Ki-67 levels are a risk factor for metastases. A combination of p53 expression and high proliferative activity reflects the aggressive potential of a tumor and suggests the high risk of metastases just at the disease diagnosis and early tumor dissemination.

Key words: renal cell carcinoma, prognostic factors, p53, Bcl-2, Ki-67

Введение

Рак почки (РП) занимает одно из ведущих мест по степени прироста среди онкологических заболеваний. Несмотря на развитие диагностических возможностей и увеличение количества локализованных форм, смертность от РП не снижается. Среди больных, которым выполнено оперативное вмешательство по поводу локализованной опухоли, в 20–40 % случаев развиваются метастазы [1]. Существующие в настоящее время прогностические модели не обладают достаточной информативностью и точной прогностической ценностью [2–6]. Поэтому для определения группы пациентов с неблагоприятным прогнозом во всем мире идут поиски молекулярно-биологических маркеров, однако четких рекомендаций по их использованию в настоящее время нет.

Клеточная пролиферация и апоптоз играют ключевую роль в регуляции клеточного цикла, и нарушение этих процессов часто выявляется при различных опухолях человека [7]. Маркер Ki-67, отражающий уровень пролиферации опухолевых клеток, выявляется во всех фазах клеточного цикла и поэтому популярен [8]. Апоптоз — форма клеточной смерти, которая характеризуется морфологическими, биологическими и генетическими особенностями. Протоонкоген Bcl-2 вовлечен в регуляцию клеточной смерти путем ингибирования апоптоза, а ген-супрессор опухолевого роста p53 и каспазы вовлечены в индукцию апоптоза [7]. Протеин p53 интегрирует множественные сигнальные пути и активность целого ряда генов, которые нужны для прекращения роста и инициации апоптоза, поэтому является важным ингибитором пролиферации

и индуктором апоптоза [9]. Дерегуляция *Bcl-2* играет роль в злокачественной трансформации ткани, и высокий уровень экспрессии *Bcl-2*-протеина обнаруживают во многих различных карциномах [7].

Почечно-клеточный рак (ПКР) характеризуется высокой резистентностью к лучевой и химиотерапии, что может быть следствием супрессии апоптотических механизмов клеточного ответа на стресс, таких как *p53*-зависимый. В настоящее время исследуется *p53*-опосредованная таргетная терапия – PRIMA-1 (лекарство для *p53*-реактивации и индукции массивного апоптоза) [10].

Роль данных маркеров при светлоклеточном ПКР исследуется уже давно, хотя и не столь активно, как при опухолях других локализаций, а опубликованные данные разных авторов противоречивы [11, 12].

Материалы и методы

В исследование были включены 76 больных светлоклеточным ПКР (49 мужчин и 27 женщин), в возрасте от 32 до 73 лет (средний возраст $56 \pm 7,6$ года). Из них 69 пациентов проходили лечение в ФГБУ МРНЦ МЗ РФ и 7 – в Алтайском краевом онкологическом диспансере. Срок наблюдения составил от 8 до 116 мес (средний срок – 36,5 мес). Всем больным была выполнена нефрэктомия. После операции всем пациентам с распространенным опухолевым процессом назначалось лекарственное лечение (таргетная терапия).

Гистологическое исследование проводили по разработанному протоколу с исследованием большого количества фрагментов опухоли с учетом ее гетерогенности. Гистологические срезы опухолевой ткани окрашивали гематоксилином и эозином и использовали для иммуногистохимического (ИГХ) исследования. Блокирование эндогенной пероксидазы проводили охлажденной 3 % перекисью водорода в течение 10 мин. С целью восстановления антигенной структуры клеток фиксированного в формалине и заключенного в парафин материала использовали прогревание гистологических срезов в водяной бане в течение 20 мин в 0,01 М цитратном буферном растворе (рН 6.0). Инкубацию с первичными антителами Ki-67 и *p53* (Dako) проводили при комнатной температуре в течение 60 мин. Для визуализации продуктов иммунной реакции был использован стрептавидин-биотинный пероксидазный метод (Dako, EnVision+ System-HRP), в качестве хромогенного субстрата применяли раствор диаминобензидина (Dako, Liquid DAB+), ядра докрасивали гематоксилином. В качестве отрицательного контроля использовали срезы, на которые наносили лишь вторичные антитела без предварительного нанесения первичных.

Степень дифференцировки опухоли оценивали по системе Фурмана согласно рекомендациям ВОЗ 2004 г. [13]. Положительной экспрессией белка Ki-67

считали специфическое окрашивание в коричневый цвет ядер опухолевых клеток, положительной экспрессией *p53* – специфическое ядерное окрашивание более чем в 10 % опухолевых клеток, положительной экспрессией *Bcl-2* – специфическое цитоплазматическое окрашивание более 75 % опухолевых клеток.

Для морфометрических исследований опухоли использовали программу для компьютерного анализа изображений OpenCVTool, цифровой сканер MIRAX MIDI (Zeiss), системный блок на базе процессора Intel Core I3, с оперативной памятью 4 Гб.

Подсчет индекса Ki-67 проводили при анализе более 1000 клеток. Индекс Ki-67 вычисляли как соотношение количества специфически окрашенных ядер к количеству всех ядер, выраженное в процентах.

Анализ выживаемости проводили с помощью метода Каплана–Майера, достоверность различий между кривыми выживаемости подтверждали с помощью Cox's F-Test. Значимым принимали уровень $p \leq 0,05$. Статистическую обработку полученных параметров проводили с применением пакета прикладных программ Statistica 10.0 [14].

Результаты

На момент диагностики у 39 пациентов диагностировали локализованный рак, у 37 – метастатический. За период наблюдения у 19 пациентов с локализованной опухолью после хирургического лечения в различные сроки отмечено прогрессирование заболевания.

Средний уровень Ki-67 составил $7,33 \pm 1,3$ % (минимум 0,1 %, максимум 49 %). Средний уровень Ki-67 при локализованном раке был значительно ниже, чем при метастатическом: $4,2 \pm 0,7$ и $9,3 \pm 2,0$ % соответственно, $p = 0,04$.

У 21 (27,6 %) пациента выявлялась ядерная экспрессия *p53* разной степени выраженности, как по количеству окрашенных клеток, так и по интенсивности окрашивания. В этой группе 15 пациентов имели метастатический рак на момент диагностики и у 6 пациентов отмечено прогрессирование заболевания за период наблюдения. Со специфической выживаемостью экспрессия *p53* не связана ($p = 0,51$).

Полное отсутствие экспрессии *Bcl-2* наблюдалось у 34 пациентов, еще у 15 была очаговая экспрессия (этих пациентов мы отнесли в группу *Bcl-2*-отрицательных опухолей), а выраженная цитоплазматическая экспрессия отмечена только у 27 пациентов.

В группе пациентов с локализованным РП в подавляющем большинстве опухолей выявлена экспрессия *Bcl-2* в отличие от группы пациентов с метастатическим процессом (табл. 1). При анализе специфической выживаемости выявлена ее зависимость от экспрессии *Bcl-2* ($p = 0,047$) (рис. 1).

В группе больных с локализованным опухолевым процессом на момент включения в исследование вы-

Таблица 1. Соотношение экспрессии Vcl-2 и наличия метастазов

Рак	Vcl-2+, n (%)	Vcl-2-, n (%)	p
Локализованный	15 (19,7)	5 (6,6)	0,0001
Метастатический	14 (18,4)	42 (55,3)	

полнен расчет выживаемости до прогрессирования. В группе p53-положительных опухолей безрецидивная выживаемость (БРВ) была значительно ниже, чем в группе p53-отрицательных опухолей: уже через 18 мес выживаемость составила 33 и 88 % соответственно (p = 0,001) (рис. 2). Средняя продолжительность

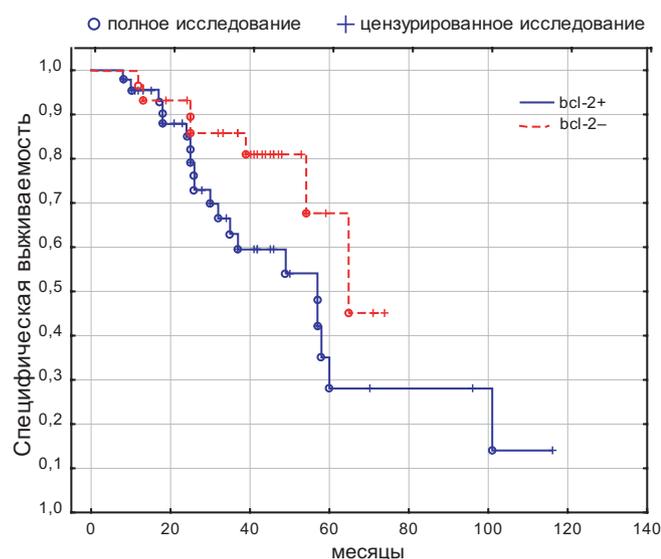


Рис. 1. Специфическая выживаемость в зависимости от экспрессии Vcl-2 (по методу Каплана–Майера)

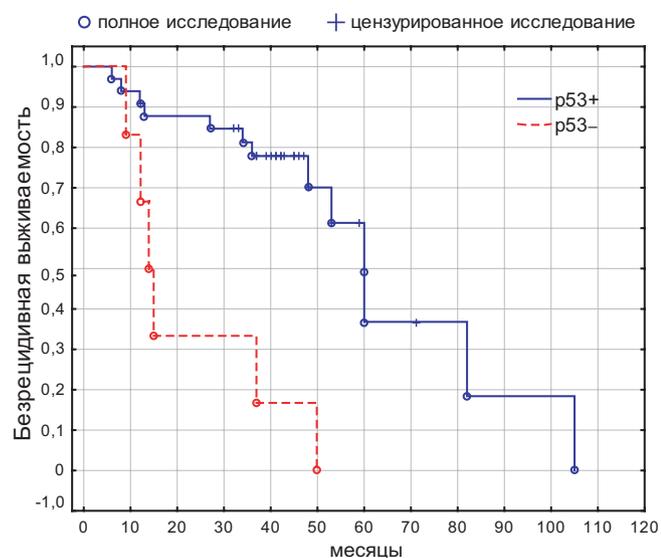


Рис. 2. БРВ в зависимости от экспрессии p53 в группе пациентов с первично локализованными опухолями (по методу Каплана–Майера)

жизни до появления метастазов в группе p53-положительных опухолей составила $22,8 \pm 6,8$ мес, а в группе p53-отрицательных опухолей $42,3 \pm 3,5$ мес (p = 0,03).

БРВ в группе Vcl-2-положительных опухолей достоверно выше, чем при Vcl-2-отрицательных (p = 0,002) (рис. 3), хотя различие через 18 мес не столь велико, как при сравнении p53 (85 и 73 % соответственно), но через 60 мес различие становится более выраженным – 53 и 19 % соответственно. Средняя продолжительность жизни до появления метастазов также значительно не отличалась, хотя была выше в группе Vcl-2-положительных опухолей, чем в группе Vcl-2-отрицательных: 41,3 и 33,9 мес соответственно (p = 0,21).

В зависимости от сочетания экспрессии маркеров апоптоза пациентов разделили на 4 группы: p53+/Vcl-2- (n = 14; 18,4 %), p53+/Vcl-2+ (n = 7; 9,2 %), p53-/Vcl-2+ (n = 22; 28,9 %) и p53-/Vcl-2- (n = 33; 43,4 %). Относительно экспрессии p53 и Vcl-2 подавляющее большинство локализованных опухолей оказались p53-/Vcl-2+, а все опухоли p53+ независимо от экспрессии Vcl-2 были метастатическими (табл. 2).

Таблица 2. Распределение пациентов в зависимости от коэкспрессии p53/Vcl-2

Маркер	Локализованный рак, n (%)	Метастатический рак n (%)
p53+/Vcl-2-	0	14 (18,4)
p53+/Vcl-2+	0	7 (9,2)
p53-/Vcl-2-	5 (6,6)	28 (36,8)
p53-/Vcl-2+	15 (19,7)	7 (9,2)

Анализ зависимости от сочетания уровня Ki-67 и экспрессии p53 включал 61 случай. Две трети пациентов с экспрессией p53 имели уровень Ki-67 > 10 %, а подавляющее большинство пациентов без экспрессии p53 имели Ki-67 < 10 % (табл. 3). Все пациенты с сочетанием экспрессии p53 и высокого уровня Ki-67 относятся к группе метастатического рака, причем у 13 из 14 пациентов метастазы были на момент проведения радикальной нефрэктомии.

Таблица 3. Соотношение экспрессии p53 и пролиферативной активности

Маркер	p53+, n (%)	p53-, n (%)	p
Ki-67 > 10 %	14 (23)	7 (11,5)	0,0000
Ki-67 < 10 %	2 (3,3)	38 (62,3)	

Связи экспрессии Vcl-2 и уровня Ki-67 не выявлено (табл. 4).

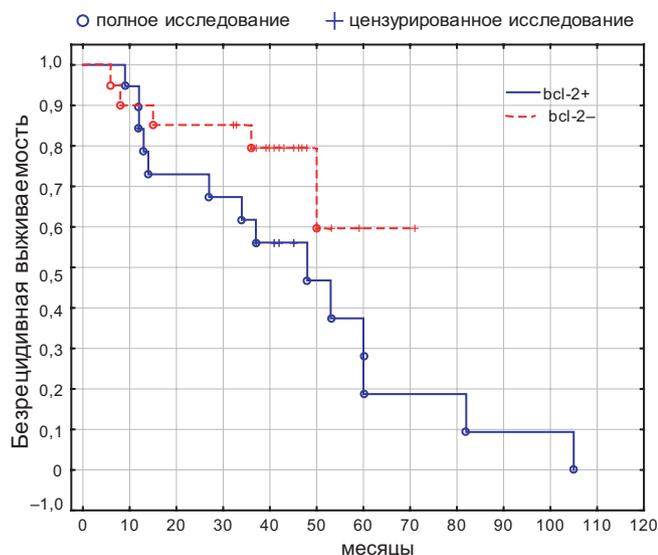


Рис. 3. БРВ в зависимости от экспрессии Vcl-2 в группе пациентов с первично локализованными опухолями (по методу Каплана–Майера)

Таблица 4. Соотношение экспрессии Vcl-2 и пролиферативной активности

Маркер	Vcl-2+, n (%)	Vcl-2-, n (%)	p
Ki-67 > 10 %	7 (11,5)	14 (23)	0,17
Ki-67 < 10 %	20 (32,8)	20 (32,8)	

В группе опухолей с p53+/Vcl-2– уровень Ki-67 > 10 % наблюдался у 8 пациентов, Ki-67 < 10 % отмечен только у 1 больного. В группе p53–/Vcl-2+ ситуация обратная: высокий уровень Ki-67 был только у 2 пациентов, а низкий – у 20.

Обсуждение

Опухолевый рост зависит от 2 главных факторов – клеточной пролиферации и клеточной смерти путем апоптоза. Патология апоптоза может вести к неконтролируемой клеточной пролиферации и канцерогенезу. Активированный дикий тип p53 реагирует на повреждение ДНК ограничением чек-пойнта в G1-фазе клеточного цикла и запускает апоптоз, не позволяя поврежденным клеткам вступить в митоз [9]. Мутантный p53 имеет удлинённый период полужизни, он накапливается в клеточном ядре и может быть определен ИГХ-методом, в то время как дикий тип p53 обычно при ИГХ-исследовании не определяется, потому что имеет короткий период жизни. Пролиферативную активность отражает протеин Ki-67, который накапливается в клеточных ядрах в течение клеточного цикла от G1-фазы до митоза, и его уровень уменьшается после митоза [8, 10].

Уровень Ki-67 при светлоклеточном варианте ПКР обычно низкий: в нашем исследовании средний уро-

вень составил около 7 % (минимум 0,1 %, максимум 49 %), что соответствует сообщениям других авторов: по данным Т. Klatte и соавт., уровень Ki-67 – от 0,27 до 28,57 %, среднее значение 3,68 % [15], а по данным N. Rioux-Leclercq и соавт. – от 0 до 60 %, среднее 8 % [16]. В нашем исследовании уровень Ki-67 > 10 % связан с развитием метастазов. Это согласуется с данными других исследователей, где Ki-67 является независимым маркером БРВ для локализованного светлоклеточного РП [1] и предиктором канцерспецифической выживаемости [16, 17].

I. Sakai и соавт. в ходе исследования, включавшего 153 пациента, выявили, что Ki-67 – значимый фактор развития рецидива у пациентов с клинически локализованным светлоклеточным раком после нефрэктомии [18]. Связь между Ki-67 и высокой T-стадией, развитием метастазов указывает на Ki-67 как на маркер агрессивности опухоли и риска развития ранних метастазов.

Протеин p53 определяют в 20–50 % почечных опухолей различного гистологического типа, и его экспрессия связана с плохим прогнозом. Вызывает особый интерес то, что многие формы ПКР не имеют мутации p53, при этом демонстрируют редуцированную экспрессию p53-протеина [11].

Мы выявили экспрессию p53 в 27,6 % случаев, что сопоставимо с результатами наиболее крупных исследований, посвященных p53 в светлоклеточном РП.

A. Haitel и соавт., исследуя 97 опухолей, отметили, что нарушение регуляции p53 при светлоклеточном РП наблюдается в 36 % случаев [19], а по данным А.К. Uzulnar и соавт. – в 35 % [20]. Крупнейшее исследование (n = 246) и более современные исследования дают сходные результаты – светлоклеточный рак положителен к p53 в 29,5 % случаев [18]. Исследования, которые описывают низкую частоту определения p53 ИГХ-анализом, как правило, ограничены как по числу пациентов, так и по своему масштабу [21].

Кроме того, существует проблема репродукции результатов. Использование разных клонов p53 дает разный результат, как и использование разного порогового значения для отнесения опухоли к p53-положительной [22].

В нашем исследовании экспрессия p53 связана с метастатическим потенциалом опухоли, низкой БРВ и коротким периодом до рецидива, что согласуется с результатами большинства исследователей.

К 2010 г. опубликовано около 27 исследований, в которых было оценено прогностическое значение экспрессии p53. В 18 исследованиях экспрессия p53 признана неблагоприятным прогностическим признаком, а в 10 – не является таковым. Эти 10 работ, которые не выявили прогностического значения p53, меньше по объему по сравнению с теми, которые вы-

явили: среднее число пациентов 62 против 119. Четыре крупнейших исследования указывают, что p53 служит прогностическим маркером. Н. L. Kim и соавт. исследовали 318 пациентов со светлоклеточным РП и показали, что экспрессия p53 является независимым предиктором уменьшения БРВ [23]. Другие исследователи также отмечают увеличение экспрессии p53 в метастатической опухоли по сравнению с первичной.

По данным Т. Klattе и соавт., высокий уровень Ki-67 и экспрессия p53 также коррелируют с плохим прогнозом [15]. Экспрессия p53 и уровень Ki-67 при метастатическом раке помогают определить пациентов с плохим прогнозом [24]. Средняя продолжительность жизни пациентов с метастатическим РП в их исследовании при p53-положительных опухолях – 24 мес, при p53-отрицательных – 59 мес, при Ki-67 > 10 % – 24 мес, а при Ki-67 < 10 % – 63 мес [10].

Оценивая Vcl-2, мы отнесли к Vcl-2-положительным 35,5 % опухолей, что не согласуется с данными большинства исследователей: I. Meteoglu и соавт. [25] – 82,5 %, Т. Itoi и соавт. [7] – 71,3 %, А. К. Uzulnar и соавт. [20] – 89,4 %). Возможно, это связано с применением более строгих критериев (мы считали опухоль Vcl-2-отрицательной, если более 25 % опухолевых клеток не экспрессировали указанный маркер) [7, 20, 25]. ПКР представляет собой гетерогенную опухоль, и в разных участках одной и той же опухоли можно видеть разную степень градации по Фурману, экспрессию маркеров. Как правило, если имеются участки p53-положительных клеток, в них не экспрессируется Vcl-2, а Ki-67 более высокий. Поэтому оценку мы проводили с учетом гетерогенного строения опухоли.

В нашем исследовании экспрессия Vcl-2 связана с хорошим прогнозом, высокой БРВ и характерна для локализованного рака. Очаговое или полное отсутствие экспрессии Vcl-2 выявляется в метастатическом раке.

Т. Itoi и соавт. сделали вывод о том, что Vcl-2 чаще экспрессируется при T1–2, чем при T3–4, и более часто при G1–2, чем при G3 [7]. В их исследовании в случаях с Vcl-2+ прогноз был значительно лучше, чем при отсутствии экспрессии: пациенты с Vcl-2–отрицательными опухолями скончались от РП. Особо значимые различия между Vcl-2+ и Vcl-2–опухолями этот маркер показал в отношении выживаемости в группе T3–4N0M0. Однако в данной работе авторы не делают различий между разными вариантами ПКР, хотя отмечают, что в светлоклеточном варианте Vcl-2+ опухоли составляют около 75 % и имеют лучший прогноз. Экспрессия Vcl-2 связана с низкой стадией Т. Но в одних работах экспрессия Vcl-2 связана с высокой степенью злокачественности G, в других – не связана. Следует отметить, что в большинстве работ был исследован разнородный материал, включающий и светлоклеточный, и папиллярный, и хромофобный

варианты, а также тогда еще не известные варианты TFE3 и TFEB. В некоторых исследованиях показано, что маркер Vcl-2 не связан с прогнозом при ПКР.

Н. Miyake и соавт. [26], изучив данные 40 пациентов с метастатическим светлоклеточным РП, выявили значимую связь экспрессии маркеров Ki-67 и Vcl-2 с канцерспецифической выживаемостью и показали, что уровень Ki-67 и Vcl-2 имеют значение для ответа на комбинированную иммунотерапию интерфероном α с низкой дозой интерлейкина-2 при метастатическом ПКР после радикальной нефрэктомии.

В нашем исследовании в большинстве опухолей, оставшихся в период наблюдения локализованными, отмечена экспрессия Vcl-2 и не выявлена экспрессия p53. Напротив, опухоли с экспрессией p53-протеина и отсутствием экспрессии Vcl-2 оказались метастатическими. Блокирование протеина p53, индуктора апоптоза, является неблагоприятным событием, приводящим к более агрессивному потенциалу опухолевых клеток. При нарушении функций p53-протеина часто нарушается и функция ингибитора апоптоза протеина Vcl-2, это выводит из строя оба регулятора апоптоза, усугубляя ситуацию. По всей видимости, нарушение функции Vcl-2 не всегда связано с ингибированием функции p53, так как не всегда сопровождается экспрессией p53-протеина.

В то же время нарушение функции p53 и блокирование апоптотических механизмов способствует повышенной клеточной пролиферации: в нашем исследовании большинство p53-положительных опухолей имели уровень Ki-67 > 10 % (14 из 16), и 13 из этих 14 пациентов имели метастазы уже на момент операции. Экспрессия Vcl-2 имела в 7 из этих случаев. Представляется, что нарушение p53 является более значимым событием для неблагоприятного прогноза РП, ведущим к повышенной пролиферации опухолевых клеток и агрессивному течению заболевания.

М. Kankuri и соавт. также отмечают связь экспрессии p53 и Ki-67: уровень Ki-67 > 10 % наблюдается при экспрессии p53 и редко при отсутствии экспрессии p53 [10]. По их данным, как и по нашим результатам, оба маркера связаны с развитием метастазов. Коэкспрессия данных маркеров выявляется чаще у пациентов с первично метастатической опухолью, чем у пациентов с прогрессированием после нефрэктомии. По данным указанных авторов, ни у кого из пациентов без метастазов коэкспрессии не было. В нашем же исследовании только у 1 пациента с коэкспрессией метастазы выявили через 15 мес после нефрэктомии, у остальных – на момент операции.

М. Kankuri и соавт. заключают, что Ki-67 – более строгий маркер риска развития метастазов, чем p53. Однако комбинация маркеров может быть более специфичной. Один p53 не был независимым предиктором метастаза, но коэкспрессия этих маркеров (p53

и Ki-67) при светлоклеточном РП является важным прогностическим фактором развития метастазов [10].

Выводы

Экспрессия p53 и отсутствие экспрессии или редуцированная экспрессия Bcl-2 являются факторами неблагоприятного прогноза, связаны с метастатическим потенциалом опухоли и низкой БРВ. Экспрессия p53 коррелирует как с прогрессированием заболевания, так и со сроками возникновения рецидива, кото-

рый в большинстве случаев развивается в течение первых 2 лет наблюдения. При этом экспрессия Bcl-2 отражает только вероятность появления метастазов, но не коррелирует со сроками их появления. Высокий уровень Ki-67 является фактором риска развития метастазов. А сочетание экспрессии p53 и высокой пролиферативной активности отражает агрессивный потенциал опухоли и свидетельствует о высоком риске метастазов уже на момент диагностики заболевания или ранней диссеминации опухоли.

ЛИТЕРАТУРА

- Hollingsworth J.M., Miller D.C., Daignault S., Hollenbeck B.K. Five-year survival after surgical treatment for kidney cancer: a population-based competing risk analysis. *Cancer* 2007;109:1763–8.
- Cindolo L., Patard J.J., Chiodini P. et al. Comparison of predictive accuracy of four prognostic models for nonmetastatic renal cell carcinoma after nephrectomy: a multicenter European study. *Cancer* 2005;104:1362–71.
- Lam J.S., Shvarts O., Leppert J.T. et al. Postoperative surveillance protocol for patients with localized and locally advanced renal cell carcinoma based on a validated prognostic nomogram and risk group stratification system. *J Urol* 2005;174:466–72.
- Kattan M.W., Reuter V., Motzer R.J. et al. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. *J Urol* 2001;166:63–7.
- Москвина Л.В., Андреева Ю.Ю., Мальков П.Г. и др. Клинически значимые морфологические параметры почечно-клеточного рака. *Онкология* 2013;(4):34–9.
- Алексеев Б.Я., Франк Т.А., Андреева Ю.Ю., Калпинский А.С. Прогностические факторы у больных почечно-клеточным раком и роль онкофага в улучшении выживаемости после хирургического лечения. *Онкоурология* 2009;(2):7–14.
- Itoi T., Yamana K., Bilim V. et al. Impact of frequent Bcl-2 expression on better prognosis in renal cell carcinoma patients. *Br J Cancer*. 2004 Jan 12;90(1):200–5. PMID:14710230.
- Шацева Т.А., Мухина М.С. Антиген Ki-67 в оценке опухолевой пролиферации. Его структура и функции. *Вопр онкол* 2004;50(2):157–64.
- Чумаков П.М. Функция гена p53: выбор между жизнью и смертью. *Биохимия* 2000;65(1):34–47.
- Kankuri M., Söderström K.O., Pelliniemi T.T. et al. The association of immunoreactive p53 and Ki-67 with T-stage, grade, occurrence of metastases and survival in renal cell carcinoma. *Anticancer Res* 2006;26(5B):3825–33.
- Masuda A., Kamai T., Abe H. et al. Is Stat3 and/or p53 mRNA expression a prognostic marker for renal cell carcinoma? *Biomed Res* 2009;30(3):171–6.
- Paul L., Crispin, Stephen A., Boorjian, Christine M., Lohse et al. Predicting Disease Progression After Nephrectomy for Localized Renal Cell Carcinoma: The Utility of Prognostic Models and Molecular Biomarkers. *Cancer*. Author manuscript; available in PMC 2009 November 30. Published in final edited form as. *Cancer* 2008;113(3):450–60.
- World Health Organization Classification of Tumours. Pathology & Genetics: Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon, France: IARC Press, 2004.
- Боровиков В.П., Боровиков И.П. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. М., 1998. 592 с.
- Klatte T., Seligson D.B., LaRochelle J. et al. Molecular signatures of localized clear cell renal cell carcinoma to predict disease-free survival after nephrectomy. *Canc Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(3):894–900.
- Rioux-Leclercq N., Epstein J.I., Bansard J.Y. et al. Clinical significance of cell proliferation, microvessel density, and CD44 adhesion molecule expression in renal cell carcinoma. *Hum Pathol* 2001;32(11): 1209–15.
- Yildiz E., Gokce G., Kilicarslan H. et al. Prognostic value of the expression of Ki-67, CD44 and vascular endothelial growth factor, and microvessel invasion, in renal cell carcinoma. *BJU Int* 2004;93(7):1087–93.
- Sakai I., Miyake H., Takenaka A., Fujisawa M. Expression of potential molecular markers in renal cell carcinoma: impact on clinicopathological outcomes in patients undergoing radical nephrectomy. *BJU Int* 2009;104(7):942–6.
- Haitel A., Wiener H.G., Baethge U. et al. mdm2 expression as a prognostic indicator in clear cell renal cell carcinoma: comparison with p53 overexpression and clinicopathological parameters. *Clin Cancer Res* 2000;6(5):1840–4.
- Uzunlar A.K., Sahin H., Yilmaz F., Ozckinci S. Expression of p53 oncoprotein and bcl-2 in renal cell carcinoma. *Saudi Med J* 2005;26(1):37–41.
- Warburton H.E., Brady M., Vlatković N. et al. p53 regulation and function in renal cell carcinoma. *Cancer Res* 2005;65(15):6498–503.
- Noon A.P., Vlatkovic N., Polanski R. et al. p53 and MDM2 in renal cell carcinoma: biomarkers for disease progression and future therapeutic targets? *Cancer* 2010;116(4):780–90.
- Kim H.L., Seligson D., Liu X. et al. Using tumor markers to predict the survival of patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 2005;173(5):1496–501.
- Kramer B.A., Gao X., Davis M. et al. Prognostic significance of ploidy, MIB-1 proliferation marker, and p53 in renal cell carcinoma. *J Am Coll Surg* 2005;201(4):565–70.
- Meteoglu I., Erdogdu I.H., Meydan N. et al. NF-Kappa B expression correlates with apoptosis and angiogenesis in clear cell renal cell carcinoma tissues. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;27:53.
- Miyake H., Sakai I., Muramaki M. et al. Prediction of response to combined immunotherapy with interferon-alpha and low-dose interleukin-2 in metastatic renal cell carcinoma: expression patterns of potential molecular markers in radical nephrectomy specimens. *Int J Urol* 2009; 16(5):465–71.