

БЕЛКИ ТУМОР М2-ПИРУВАТКИНАЗА, МАТРИЧНАЯ КАРБОАНГИДРАЗА IX И МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗА 9 — НОВЫЕ ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА

DOI:10.17691/stm2020.12.2.05

УДК 616.61–091.8

Поступила 11.04.2019 г.

© **З.В. Амоев**, к.м.н., врач урологического отделения №2 Клинической больницы №1¹;
А.В. Алясова, д.м.н., профессор кафедры онкологии, лучевой терапии и лучевой диагностики²;
Т.Н. Горшкова, зав. клинико-диагностической лабораторией¹;
Е.И. Самсонова, врач клинико-диагностической лаборатории¹;
Е.В. Строкина, врач клинико-диагностической лаборатории¹;
К.Н. Конторщикова, д.б.н., профессор, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики²

¹Приволжский окружной медицинский центр ФМБА России, ул. Ильинская, 14, Н. Новгород, 603000;

²Приволжский медицинский исследовательский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005

Цель исследования — оценка возможности использования опухолевой М2-пируваткиназы (Tu M2-ПК) в плазме, матричной карбоангидразы IX (CA9) и матричной металлопротеиназы 9 (MMP9) в сыворотке крови у больных почечно-клеточным раком в качестве прогностических признаков течения заболевания и ответа на проводимое лечение.

Материалы и методы. Исследованы образцы плазмы и сыворотки крови 46 больных светлоклеточным раком почки T₁₋₄N₀₋₁M₀₋₁, полученные до оперативного вмешательства и через 8–9 дней после операции. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц, сопоставимых по возрасту с обследованными больными. Количественное определение метаболического онкомаркера в ЭДТА-плазме крови методом иммуноферментного анализа проводили с помощью набора SheBo Tumor M2-ПК (Германия). Определение CA9 методом иммуноферментного анализа выполняли с помощью набора Human Carbonic Anhydrase IX Quantikine ELISA Kit (США), а MMP9 — набора Quantikine ELISA Kit (США).

Результаты. У больных почечно-клеточным раком в образцах крови выявлено статистически значимое повышение уровня Tu M2-ПК, CA9 и статистически значимое снижение MMP9 по сравнению с группой здоровых лиц. Уровень Tu M2-ПК у больных локализованными формами рака почки статистически значимо ниже, чем у больных диссеминированным раком. Увеличение размера первичной опухоли и снижение степени дифференцировки рака сопровождается возрастанием уровня Tu M2-ПК в плазме, снижением содержания CA9 и MMP9 в сыворотке крови больных. Выполнение оперативного вмешательства в объеме нефрэктомии в ранние сроки после операции не влияет на содержание в плазме Tu M2-ПК, но сопровождается снижением уровней CA9 и MMP9 в сыворотке крови больных.

Заключение. Результаты проведенных исследований указывают на потенциальное значение Tu M2-ПК, CA9, MMP9 как возможных биологических маркеров для прогнозирования течения заболевания у больных почечно-клеточным раком.

Ключевые слова: tumor M2-пируваткиназа; матричная карбоангидраза IX; металлопротеиназа 9; почечно-клеточный рак; маркеры почечно-клеточного рака.

Как цитировать: Amoev Z.V., Alyasova A.V., Gorshkova T.N., Samsonova E.I., Strokina E.V., Kontorshchikova K.N. Tumor M2-pyruvate kinase, matrix carbonic anhydrase IX, and metalloproteinase 9 — novel prognostic markers of renal cell carcinoma. *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2020; 12(2): 43–49, <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.2.05>

English

Tumor M2-Pyruvate Kinase, Matrix Carbonic Anhydrase IX, and Metalloproteinase 9 — Novel Prognostic Markers of Renal Cell Carcinoma

Z.V. Amoev, MD, PhD, Urologist, Department of Urology No.2, Clinical Hospital No.1¹;

A.V. Alyasova, MD, DSc, Professor, Department of Oncology, Radiation Therapy and Radiology²;

Для контактов: Алясова Анна Валерьевна, e-mail: alyasovaav68@mail.ru

T.N. Gorshkova, Head of Clinical Diagnostic Laboratory¹;
E.I. Samsonova, Physician, Clinical Diagnostic Laboratory¹;
E.V. Strokina, Physician, Clinical Diagnostic Laboratory¹;
K.N. Kontorshchikova, DSc, Professor, Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics²

¹Privolzhsky District Medical Center of Federal Medico-Biological Agency of Russia, 14 Ilyinskaya St., Nizhny Novgorod, 603000, Russia;

²Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia

The aim of the study was to assess the possibility of using plasma levels of tumor M2-pyruvate kinase (Tu M2-PK), matrix carbonic anhydrase IX (CA9), and matrix metalloproteinase 9 (MMP9) in patients with renal cell cancer as predictors of the disease course and the response to treatment.

Materials and Methods. Samples of blood plasma or serum of 46 patients with clear cell renal cancer $T_{1-4}N_{0-1}M_{0-1}$ obtained before surgery and 8–9 days after surgery were tested. The control group consisted of 20 practically healthy individuals, comparable in age with the examined patients. Quantitative determination of Tu M2-PK in EDTA-added blood plasma was performed by enzyme-linked immunosorbent assay using a ScheBo Tumor M2-PK test (Germany). Determination of CA9 by ELISA was performed using a Human Carbonic Anhydrase IX Quantikine ELISA Kit (USA) and MMP9 — using a Quantikine ELISA Kit (USA).

Results. In patients with renal cell carcinoma, a statistically significant increase in the level of Tu M2-PK, CA9 and a statistically significant decrease in MMP9 in comparison with the control group were found. The level of Tu M2-PK in patients with localized kidney cancer was significantly lower than in patients with disseminated cancer. An increase in size of the primary tumor and a decrease in the degree of its differentiation correlated with an increase in Tu M2-PK, and decrease in CA9 and MMP9 in the blood serum. Performing surgery equivalent to nephrectomy did not change the Tu M2-PK levels in the early postoperative period, but caused a decrease in the levels of CA9 and MMP9.

Conclusion. The results indicate a potential significance of Tu M2-PK, CA9, and MMP9 as biological markers for predicting the disease course in patients with renal cell carcinoma.

Key words: tumor M2-pyruvate kinase; matrix carbonic anhydrase IX; metalloproteinase 9; renal cell carcinoma; markers of renal cell carcinoma.

Введение

Сложности ранней диагностики почечно-клеточного рака (ПКР) и прогнозирования развития диссеминированных форм заболевания обуславливают необходимость поиска новых прогностических маркеров [1]. Одним из них является онкомаркер опухольная M2-пируваткиназа (Tu M2-PK), относящийся к классу метаболических опухолевых маркеров. Повышенные его уровни выявлены у пациентов со злокачественными опухолями желудочно-кишечного тракта, почек, с раком молочной железы, легких [2–4].

Матричная карбоангидраза IX (CA9) — трансмембранный гликопротеин, относящийся к карбоангидразной группе ферментов, которые играют важную роль в регуляции избыточного выделения протонов в клетке и таким образом контролируют pH [5, 6]. Экспрессия CA9 выявляется почти во всех типах опухолей (при раке шейки матки, пищевода, легких, молочной железы, головного мозга, вульвы). В последние годы в литературе встречаются исследования прогностического и предиктивного значения экспрессии CA9 опухолевыми клетками при светлоклеточном ПКР [7, 8]. Однако подробного исследования содержания CA9 в сыворотке крови больных ПКР и его изменений не представлено.

Матриксные металлопротеиназы (MMP) — семейство эндопептидаз, которые встречаются на разных этапах развития опухоли и задействованы в механиз-

мах, позволяющих малигнизированным клеткам избежать иммунного надзора и апоптоза [9, 10]. Высокий уровень экспрессии MMP9 выявлен в клетках опухоли при раке легкого, мочевого пузыря, шейки матки, прямой кишки, простаты, почки, при карциноме эндометрия [10–12]. При всем сказанном мы не обнаружили в доступной литературе исследований, посвященных выявлению связи названных белков в сыворотке крови больных ПКР с клинико-морфологическими особенностями течения заболевания, а также ответом на проводимое лечение.

Целью исследования явилась оценка возможности использования опухолевой M2-пируваткиназы (Tu M2-PK) в плазме, матричной карбоангидразы IX (CA9) и матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9) в сыворотке крови у больных почечно-клеточным раком в качестве прогностических признаков течения заболевания и ответа на проводимое лечение.

Материалы и методы

Исследование выполнено на образцах плазмы и сыворотки крови 46 больных светлоклеточным раком почки $T_{1-4}N_{0-1}M_{0-1}$ (средний возраст — 58,3 года), полученных до проведения оперативного вмешательства и через 8–9 дней после операции. У 33% больных (15/46) новообразование почки соответствовало T_1 , у 26% (12/46) — T_2 , у 28% (13/46) — T_3 , у 13% (6/46) — T_4 . Локализованная форма заболевания ($T_{1-3}N_0M_0$)

выявлена у 46% пациентов (21/46), диссеминированная — у 54% (25/46).

Объемы диагностики и лечения больных раком почки соответствовали рекомендуемым алгоритмам по диагностике и лечению злокачественных новообразований, утвержденным Минздравом России. Диагноз светлоклеточного рака почки у всех пациентов подтвержден гистологическим исследованием. Степень дифференцировки опухоли по Fuhrman: градация I — 20% (9/46) пациентов, градация II — 26% (12/46), градация III — 54% (25/46). Всем больным была выполнена нефрэктомия. В качестве контроля использовали образцы плазмы и сыворотки крови 20 практически здоровых лиц, сопоставимых по возрасту с обследованными больными.

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией (2013) и одобрено Этическим комитетом Приволжского медицинского исследовательского университета. От каждого пациента получено информированное согласие.

Количественное определение метаболического онкомаркера — Tu M2-ПК в ЭДТА-плазме крови методом иммуноферментного анализа выполняли с помощью набора ScheBo Tumor M2-ПК (ScheBo Biotech AG, Германия). Для определения СА9 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа применяли набор Human Carbonic Anhydrase IX Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, США), а для определения MMP9 — набор Quantikine ELISA Kit (R&D Systems).

Статистическую обработку проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0. Для проверки гипотезы о соответствии распределения полученных вариантов нормальному распределению применяли критерий Шапиро–Уилка. Результаты представлены в виде $M \pm \sigma$, где M — среднее значение, а σ — среднее квадратичное отклонение. Для оценки существенности различий двух выборок использовали критерий Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Вычисление значимости различий долей проводили по методу углового преобразования Фишера.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что у больных ПКР в образцах крови наблюдается статистически значимое повышение уровня Tu M2-ПК, СА9 и статистически значимое снижение содержания MMP9 по сравнению с группой здоровых лиц (рис. 1).

Повышение уровня метаболического онкомаркера Tu M2-ПК в плазме может быть связано с отличиями метаболизма клеток опухолей и их ускоренной пролиферацией по сравнению с нормальными клетками. Повышение концентрации СА9 в сыворотке крови может быть обусловлено тем, что одним из механизмов, лежащих в основе ее гиперэкспрессии в опухолевых тканях, является гипоксия. В условиях гипоксии ген СА9 индуцируется его регулятором транскрипции — гипоксия-индуцируемым фактором

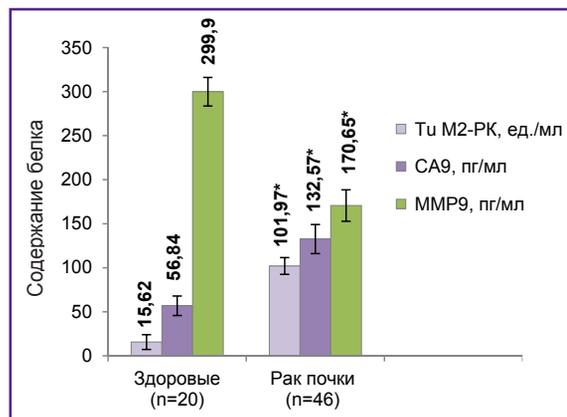


Рис. 1. Содержание Tu M2-ПК, СА9 и MMP9 в образцах крови больных раком почки и здоровых лиц

* — различия статистически значимы при сравнении с контролем ($p < 0,05$)

(HIF-1). Карбоангидраза IX способствует локальному повышению кислотности клетками опухоли, что приводит к росту опухоли и метастазам. Другой механизм, регулирующий повышенную экспрессию СА9 в тканях опухоли, — потеря опухолесупрессирующего гена Гиппеля–Линдау (*VHL*). Мутации гена *VHL* могут приводить к гиперэкспрессии СА9 в опухолевых клеточных линиях. Согласно данным работы [7], высокая экспрессия СА9 связана с благоприятным прогнозом при локализованном и метастатическом ПКР и хорошей безрецидивной выживаемостью. По мнению М.Н. Вуй с соавт. [13], высокая экспрессия СА9 предполагает лучшую выживаемость даже после учета таких факторов, как Т-стадия, шкала Fuhrman и общее состояние пациента ($p \leq 0,005$).

Металлопротеиназы в литературе рассматриваются в качестве критических молекул, «ассистирующих» опухолевым клеткам на протяжении всего процесса метастазирования [9]. Являясь ключевыми ферментами метаболизма компонентов соединительной ткани, они участвуют в различных патологических процессах, требующих пролиферации, миграции клеток и перестройки внеклеточного матрикса. Статистически значимое снижение уровня MMP9 в сыворотке крови у больных раком почки по сравнению с группой контроля может быть связано с повышенной утилизацией MMP9 вследствие усиления ремоделирования ткани, мобилизации матрикс-связанных факторов роста и процессинга цитокинов, сопровождающих опухолевый процесс. Кроме того, некоторые авторы считают MMP9 критическим причинным фактором (триггером) опухоль-индуцированного ангиогенеза [14].

Мы посчитали целесообразным проанализировать содержание Tu M2-ПК, СА9 и MMP9 в образцах крови больных локальными и диссеминированной формами заболевания (рис. 2), а также изменение их уровня в зависимости от размеров первичной опухоли (рис. 3).

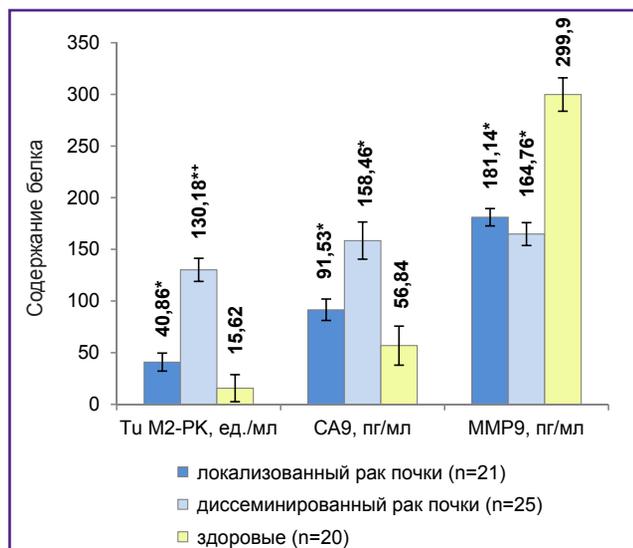


Рис. 2. Содержание Tu M2-PK, CA9 и MMP9 у больных локализованным и диссеминированным раком почки
* — различия статистически значимы при сравнении с контролем ($p < 0,05$); + — при сравнении с группой локализованных опухолей ($p < 0,05$)

У больных локализованным раком почки уровень Tu M2-PK в плазме статистически значимо превышал норму, что может быть связано с нарушением клеточного метаболизма при опухолевом росте, но при этом был статистически значимо ниже (в 3,2 раза), чем у больных диссеминированным раком почки. Концентрация CA9 при обеих формах рака статистически значимо не отличалась и оставалась достоверно выше соответствующего значения у здоровых лиц. Содержание MMP9 в сыворотке крови больных обеих групп статистически значимо не отличалось, оставаясь достоверно ниже контроля.

При увеличении размеров первичной опухоли до рТ₄ наблюдалось статистически значимое повышение уровня Tu M2-PK в плазме не только по сравнению с содержанием онкомаркера в группе здоровых лиц, но и по сравнению с его значением у пациентов, имеющих опухоль рТ₁ ($p < 0,05$). Другие исследователи [4] также отмечали повышение уровня данного белка уже при I стадии и выявляли возрастание чувствительности маркера с увеличением стадийности заболевания. Концентрация CA9 в сыворотке крови больных с опухолями рТ₁–Т₃ статистически значимо превышала нормальный уровень, однако у пациентов, имевших опухоль рТ₄, она не отличалась от нормы и была ниже, чем в группе больных с опухолями рТ₁ ($p < 0,05$). Известно, что потеря экспрессии CA9 является неблагоприятным фактором прогноза и связана с развитием метастазов и рецидива заболевания, а также с низкой безрецидивной выживаемостью [7, 15], причем в большинстве случаев болезнь оказывается метастатической уже на момент диагностики. Действительно,

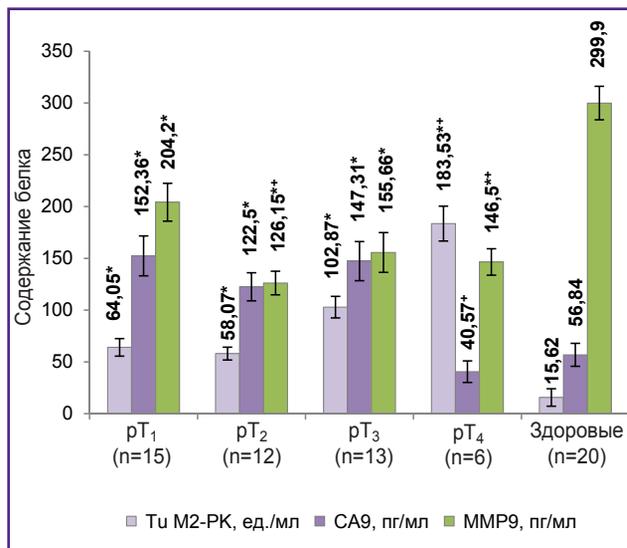


Рис. 3. Содержание Tu M2-PK, CA9 и MMP9 в образцах крови больных раком почки с различными размерами первичной опухоли
* — различия статистически значимы при сравнении с контролем ($p < 0,05$); + — при сравнении с опухолями рТ₁ ($p < 0,05$)

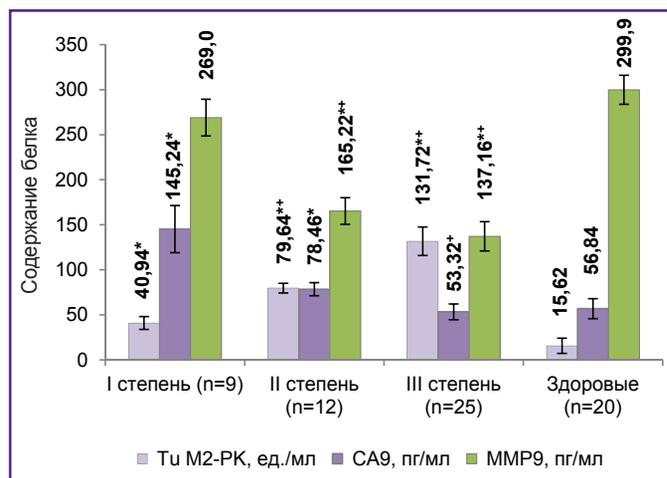
в нашем исследовании у больных с опухолями рТ₄ отдаленные метастазы были выявлены при первичном обследовании пациентов. Увеличение размера первичной опухоли сопровождалось тенденцией к снижению содержания MMP9 в сыворотке крови больных. У лиц, имевших опухоли, классифицированные как рТ₄, содержание MMP9 было в 1,4 раза ниже ($p < 0,05$), чем у пациентов с опухолями рТ₁.

Отмечено статистически значимое возрастание уровня Tu M2-PK в плазме крови по мере снижения степени дифференцировки ПКР (рис. 4), что отражало нарастание метаболических нарушений у пациентов с опухолями, характеризующимися более агрессивным течением. Так, у больных с III степенью дифференцировки уровень Tu M2-PK в плазме крови был в 3,2 выше ($p < 0,05$), чем у больных с опухолями I степени дифференцировки.

Содержание CA9 в сыворотке, напротив, статистически значимо снижалось по мере потери дифференцировки опухолевыми клетками. У больных с опухолями III степени дифференцировки оно не отличалось от нормы и было в 2,7 раза ниже ($p < 0,05$), чем у лиц с опухолями I степени дифференцировки. Известно, что при понижении степени дифференцировки опухоли снижается и даже полностью теряется экспрессия CA9. В работах Д.В. Щукина и соавт. [16] показана четкая связь экспрессии CA9 со степенью дифференцировки опухоли (градацией Fuhrman), однако другие исследователи отрицают существование такой зависимости [8]. По мнению ряда авторов [10, 15], низкая экспрессия CA9 ассоциируется с низкой канцер-специфической выживаемостью, общей

Рис. 4. Содержание Tu M2-ПК, CA9 и MMP9 в образцах крови больных раком почки с различной степенью дифференцировки опухоли

* — различия статистически значимы при сравнении с контролем ($p < 0,05$); + — при сравнении с группой, имеющей опухоль I степени злокачественности ($p < 0,05$)



выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования.

Концентрация MMP9 в сыворотке крови больных с опухолями низкой степени дифференцировки также статистически значимо снижалась по сравнению не только с нормой, но и с показателями лиц, имевших опухоль I степени дифференцировки. По-видимому, подобные изменения связаны с повышенным расходом белка MMP9 в активно пролиферирующих клетках, который разрушает коллаген IV базальной мембраны и активизирует инвазию опухолевых клеток в подлежащие ткани. В.П. Авдошин и соавт. [17] также наблюдали различия уротелиальных карцином низкой и высокой степени злокачественности по уровню экспрессии MMP9. Необходимо отметить, что полученные данные о снижении концентрации MMP9 в сыворотке крови больных по мере увеличения размеров образования или снижения степени дифференцировки опухоли не соответствуют данным, полученным исследователями, изучавшими экспрессию MMP9 на опухолевых клетках [10]. Несмотря на возрастание пролиферативной активности опухолевых клеток и продукции MMP9, можно предположить, что значительная часть MMP9 используется малигнизированными клетками местно (для разрушения белков базальных мембран, инвазии опухолевых клеток в подлежащие ткани, неоангиогенеза) и не поступает в кровотоки.

Исследование уровня Tu M2-ПК в плазме крови в послеоперационном периоде не выявило статистически значимой разницы до- и послеоперационных значений маркера, что ранее было отмечено и в работах других исследователей [4]. Индивидуальный анализ показал, что содержание Tu M2-ПК стало в 2 раза ниже по сравнению с исходным его уровнем только у 9% пациентов. В остальных случаях концентрация маркера изменялась незначительно или возрастала в 1,5–1,8 раза по сравнению с предоперационным значением. По данным работы [18], после успешной операции уровень Tu M2-ПК возвращается к норме в более поздние сроки, чем в нашем исследовании, — в среднем через 11 нед, причем нормализация может

предшествовать первоначальному повышению содержания Tu M2-ПК в крови.

Концентрация CA9 после операции снижалась в 2,17 раза по сравнению с исходным уровнем (до операции — $134,53 \pm 15,29$, после операции — $61,78 \pm 22,06$ пг/мл; $p < 0,05$) и не отличалась от нормы ($56,84 \pm 11,10$ пг/мл). Индивидуальный анализ выявил снижение уровня CA9 в 2,5–5,5 раза у 70% обследованных больных на 8–9-й день после выполнения радикальной операции. Подобные изменения уровня белка в послеоперационном периоде подтверждают существующее предположение [10, 13] о преимущественной продукции CA9 опухолевыми клетками.

Содержание MMP9 после операции не изменялось, оставаясь статистически значимо ниже значений контрольной группы. Индивидуальный анализ выявил, что у всех обследованных больных уровень MMP9 в сыворотке крови на 8–9-й день после хирургического вмешательства имеет тенденцию к снижению, однако выраженное уменьшение количества MMP9 в 1,5–2 раза по сравнению с исходным отмечалось только в 40% случаев.

Таким образом, определение уровня Tu M2-ПК в плазме крови больных ПКР позволяет предполагать распространенность и активность опухолевого процесса. Содержание его не меняется в плазме крови больных в ранние сроки после операции.

Уровень CA9 в сыворотке крови больных раком почки достоверно превышает его содержание у здоровых лиц, но статистически значимо ниже у больных с опухолями pT₄ по сравнению с пациентами, имеющими опухоли меньших размеров, а также у больных с низкодифференцированными опухолями по сравнению с показателями при высокодифференцированных новообразованиях. Сывороточный уровень CA9 статистически значимо уменьшается в послеоперационном периоде.

Концентрация MMP9 в сыворотке крови больных статистически значимо снижается по мере повышения агрессивности опухолевого процесса и не изменяется в раннем послеоперационном периоде.

Заключение

Результаты проведенных исследований убедительно свидетельствуют о потенциальном значении белков Tu M2-ПК, СА9, MMP9 как ценных биологических маркеров для прогнозирования течения заболевания у больных почечно-клеточным раком.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Литература/References

1. Переводчикова Н.И., Горбунова В.А. *Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний*. М: Практическая медицина; 2017.

Perevodchikova N.I., Gorbunova V.A. *Rukovodstvo po khimioterapii opukholevykh zabolevaniy* [Guidelines for chemotherapy for tumor diseases]. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2017.

2. Лазарев С.М., Массард Ж., Решетов А.В., Николаев Г.В., Волгин Г.Н., Осипов Э.В., Ломтева Е.Ю., Нохрин А.В., Какышева О.Е. Роль онкомаркеров СЕа, Cyfra-21, NSE, TuM2-ПК в диагностике и лечении рака легкого. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова* 2010; 1(169): 39–43.

Lazarev S.M., Massard Zh., Reshetov A.V., Nikolaev G.V., Volgin G.N., Osipov E.V., Lomteva E.Yu., Nokhrin A.V., Kakysheva O.E. The role of oncomarkers СЕа, Cyfra-21, NSE, Tu M2-ПК in diagnosis and treatment of lung cancer. *Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova* 2010; 1(169): 39–43.

3. Клер Х.У., Хардт П., Айгенбротт Х.Е. Новый опухолевый маркер: метаболический онкомаркер Tu M2-ПК. *Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии* 2001; 6: 12–15.

Kler Kh.U., Khardt P., Aygenbrodt Kh.E. New tumor marker: metabolic tumor marker Tu M2-ПК. *Klinicheskie perspektivy v gastroenterologii, gepatologii* 2001; 6: 12–15.

4. Мовсесян В.В. *Диагностическая значимость опухолевого маркера TuM2-ПК при новообразованиях почки*. Автореф. ... дис. канд. мед. наук. М; 2007.

Movsesyan V.V. *Diagnosticheskaya znachimost' opukholevogo markera TuM2-ПК pri novoobrazovaniyakh pochki*. Avtoref. ... dis. kand. med. nauk [Diagnostic significance of the tumor marker TuM2-RK in kidney tumors. PhD Thesis]. Moscow; 2007.

5. Oosterwijk-Wakka J.C., Boerman O.C., Mulders P.F., Oosterwijk E. Application of monoclonal antibody G250 recognizing carbonic anhydrase IX in renal cell carcinoma. *Int J Mol Sci* 2013; 14(6): 11402–11423, <https://doi.org/10.3390/ijms140611402>.

6. Leibovich B.C., Sheinin Y., Lohse C.M., Thompson R.H., Cheville J.C., Zavada J., Kwon E.D. Carbonic anhydrase IX is not an independent predictor of outcome for patients with clear cell renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2007; 25(30): 4757–4764, <https://doi.org/10.1200/jco.2007.12.1087>.

7. Горбань Н.А., Попов А.М., Карякин О.Б. Прогностическое значение экспрессии карбоангидразы 9 в сочетании с другими маркерами при светлоклеточном почечно-клеточном раке. *Онкоурология* 2016; 12(3): 40–44, <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2016-12-3-40-44>.

Gorban' N.A., Popov A.M., Karyakin O.B. Prognostic value of the expression of carbonic anhydrase 9 in combination with other markers in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Onkourologia* 2016; 12(3): 40–44, <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2016-12-3-40-44>.

8. Пасечник Д.Г., Коган М.И., Ахохов З.М. Особенности экспрессии и прогностическое значение пептидных молекул, связанных с ключевыми свойствами почечно-клеточного рака. *Урологические ведомости* 2017; 7(4): 5–16, <https://doi.org/10.17816/uroved745-16>.

Pasechnik D.G., Kogan M.I., Akhokhov Z.M. The features of expression and prognostic significance of the peptide molecules connected with the key properties of renal cell carcinoma. *Urologicheskie vedomosti* 2017; 7(4): 5–16, <https://doi.org/10.17816/uroved745-16>.

9. Рогова Л.Н., Шестернина Н.В., Замечник Т.В., Фастова И.А. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор). *Вестник новых медицинских технологий* 2011; 18(2): 86–89.

Rogova L.N., Shesternina N.V., Zamechnik T.V., Fastova I.A. Matrix metalloproteinases, their role in physiological and pathological processes (review). *Vestnik novykh medicinskih tehnologij* 2011; 18(2): 86–89.

10. Черданцева Т.М., Бобров И.П., Варламов С.В., Мяделец М.Н., Климачев И.В., Авдалян А.М., Ганов Д.И., Лазарев А.Ф. Прогностическое значение исследования матриксной металлопротеиназы 9 при почечно-клеточном раке. *Онкоурология* 2018; 14(3): 17–24, <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2018-14-3-17-24>.

Cherdantseva T.M., Bobrov I.P., Varlamov S.V., Myadelets M.N., Klimachev I.V., Avdalyan A.M., Ganov D.I., Lazarev A.F. Prognostic value of matrix metalloproteinase 9 in renal cell carcinoma. *Onkourologiya* 2018; 14(3): 17–24, <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2018-14-3-17-24>.

11. Колбанов К.И., Трахтенберг А.Х., Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Бойко А.В., Пикин О.В., Глушко В.А. Факторы прогноза, результаты хирургического и комбинированного лечения больных с различными морфологическими типами немелкоклеточного рака легкого. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена* 2013; 2(3): 11–16.

Kolbanov K.I., Trakhtenberg A.Kh., Frank G.A., Zavalishina L.E., Boyko A.V., Pikin O.V., Glushko V.A. Prognostic factors, results of surgical and combination treatments in patients with different morphological types of non-small cell lung carcinoma. *Onkologiya. Zhurnal im. P.A. Gertsena* 2013; 2(3): 11–16.

12. Shaco-Levy R., Sharabi S., Benharroch D., Piura B., Sion-Vardy N. Matrix metalloproteinases 2 and 9, E-cadherin, and beta-catenin expression in endometriosis, low-grade endometrial carcinoma and non-neoplastic eutopic endometrium. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; 139(2): 226–232, <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2008.01.004>.

13. Bui M.H., Seligson D., Han K.R., Pantuck A.J., Dorey F.J., Huang Y., Horvath S., Leibovich B.C., Chopra S., Liao S.Y., Stanbridge E.J., Lerman M.I., Palotie A., Figlin R.A., Beldegrun A.S. Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: implications for prognosis and therapy. *Clin Cancer Res* 2003; 9(2): 802–811.

14. Ганусевич И.И. Роль матриксных металлопротеиназ (ММП) при злокачественных новообразованиях. II. Участие ММП в ангиогенезе, инвазии и метастазировании опухолей. *Онкология* 2010; 12(2): 108–117.

Ganusevich I.I. The role of matrix metalloproteinases (MMP) in malignant neoplasms. II. The participation of MMPs in angiogenesis, invasion and metastasis of tumors. *Onkologia* 2010; 12(2): 108–117.

15. Ingels A., Hew M., Algaba F., de Boer O.J., van Moorselaar R.J., Horenblas S., Zondervan P., de la Rosette J.J., Pilar Pes Laguna M. Vimentin over-expression and carbonic anhydrase IX under-expression are independent predictors of recurrence, specific and overall survival in non-metastatic clear-cell renal carcinoma: a validation study. *World J Urol* 2017; 35(1): 81–87, <https://doi.org/10.1007/s00345-016-1854-y>.

16. Шукин Д.В., Лесовой В.Н., Яковцова И.И., Данилюк С.В. Активность матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) при внутривенном распространении почечно-клеточного рака. *Вісник проблем біології і медицини* 2015; 1(2): 283–290.

Shchukin D.V., Lesovoy V.N., Yakovtsova I.I., Danilyuk S.V.

The activity of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) with intravenous spread of renal cell carcinoma. *Visnik problem biologii i medicini* 2015; 1(2): 283–290.

17. Авдошин В.П., Котельникова Е.В., Бабиченко И.И. Диагностическая и прогностическая значимость экспрессии иммуногистохимических маркеров Ki 67, ММП9 и коллагена IV у больных папиллярным уротелиальным раком мочевого пузыря. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина* 2011; 4: 80–86.

Avdoshin V.P., Kotelnikova E.V., Babichenko I.I. Diagnostic and prognostic importance of Ki-67, MMP-9 and collagen IV immunohistochemical markers in bladder tumors. *Vestnik Rossiiskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Meditsina* 2011; 4: 80–86.

18. Wechsel H.W., Petri E., Bichler K.H., Feil G. Marker for renal cell carcinoma (RCC): the dimeric form of pyruvate kinase type M2 (Tu M2-PK). *Anticancer Res* 1999; 19(4A): 2583–2590.