

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»  
Факультет фундаментальной медицины**

---

*На правах рукописи*

**ГРЕЧУХИНА КАТЕРИНА СЕРГЕЕВНА**

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МАРКЕРОВ НЕФРОТОКСИЧНОСТИ,  
ИНДУЦИРОВАННОЙ ПРИМЕНЕНИЕМ ЦИСПЛАТИНА И  
АНТИАНГИОГЕННЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ**

3.1.18. Внутренние болезни

3.1.6. Онкология и лучевая терапия

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

**доктор медицинских наук, профессор  
ЧЕБОТАРЕВА Наталья Викторовна**

**доктор медицинских наук, профессор  
член-корреспондент РАН  
ЖУКОВА Людмила Григорьевна**

**Москва - 2022**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Актуальность темы.....	5
Степень разработанности темы .....	6
Цель научного исследования .....	7
Задачи научного исследования .....	7
Методы и методология исследования.....	8
Научная новизна.....	8
Теоретическая и практическая значимость работы.....	9
Положения, выносимые на защиту .....	9
Внедрение результатов исследования.....	11
Степень достоверности и апробация результатов исследования.....	11
Публикации.....	11
Объем и структура работы .....	12
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	13
1.1. Эффективность цисплатина в лечении пациентов со злокачественными новообразованиями.....	13
1.1.1. Нефротоксичность цисплатина.....	15
1.1.2. Роль апоптоза в нефротоксичности, индуцированной цисплатином ..	18
1.2. Клиническое значение ангиогенеза и применение антиангиогенных препаратов в лечении онкологических заболеваний.....	20
1.2.1. Сигнальный путь VEGF-VEGFR.....	21
1.2.2. Микроангиогенез как фактор прогрессирования злокачественных опухолей	21
1.2.3. Применение антиангиогенных препаратов в лечении пациентов со злокачественными новообразованиями .....	22
1.2.4. Нежелательные явления антиангиогенной терапии .....	25
1.2.5. Каскад VEGF-A / VEGF-R в почке.....	27

1.2.6.	Блокада сигнального пути VEGF-A в почках и ее клинические проявления в виде тромботической микроангиопатии .....	28
1.3.	Маркеры нефротоксичности .....	34
1.3.1.	Липокалин, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой (NGAL) 36	
1.3.2.	Молекула повреждения почек (KIM-1) .....	38
1.3.3.	Фактор, индуцируемый гипоксией (HIF-1 $\alpha$ ) .....	39
1.3.4.	Нефрин .....	40
1.4.	Заключение .....	41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....		44
2.1.	Дизайн исследования .....	44
2.1.1.	Критерии включения пациента в исследование .....	44
2.1.2.	Критерии невключения пациента в исследование .....	45
2.1.3.	Этическая сторона исследования .....	46
2.2.	Протокол обследования и характеристика пациентов .....	47
2.2.1.	Сбор анамнестических данных: .....	47
2.2.2.	Клиническая характеристика пациентов .....	47
2.2.3.	Оценка клинико-лабораторных показателей .....	50
2.2.4.	Определение уровня маркеров почечного повреждения в моче .....	52
2.2.5.	Критерии оценки нефротоксичности препаратов: .....	54
2.3.	Статистическая обработка результатов .....	54
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ .....		57
3.1	Динамика лабораторных показателей и биомаркеров при лечении цисплатином (Группа 1) .....	57
3.1.1	Динамика маркеров почечного повреждения в моче в группе цисплатина ..	64
3.2	Взаимосвязь между клинико-лабораторными показателями токсичности цисплатина .....	65
3.3	Прогнозирование нефротоксичности цисплатина .....	67
3.3.1	Факторы риска нефротоксичности цисплатина .....	67

3.3.2 Информативность рутинных лабораторных показателей и биомаркеров в моче и дозы цисплатина для прогнозирования нефротоксичности цисплатина .....	70
3.4 Оценка проявлений токсичности цисплатина через 6 и 9 месяцев наблюдения	73
3.5 Динамика лабораторных показателей и биомаркеров при лечении анти-VEGF препаратами (Группа 2) .....	74
3.5.1 Выраженность ухудшения функции почек в зависимости от анти-VEGF-препарата, сопутствующих препаратов химиотерапии и локализации опухоли ...	82
3.5.2 Динамика маркеров почечного повреждения в моче при лечении анти-VEGF препаратами .....	84
3.6 Взаимосвязь между клинико-лабораторными показателями токсичности анти-VEGF препаратов .....	92
3.7 Прогнозирование нефротоксичности анти-VEGF препаратов.....	95
3.7.1 Факторы риска нефротоксичности анти-VEGF препаратов.....	95
3.7.2 Информативность лабораторных показателей для прогнозирования нефротоксичности анти-VEGF препаратов .....	98
3.8 Проявления токсичности анти-VEGF препаратами через 6 и 9 месяцев наблюдения .....	100
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ.....	102
ВЫВОДЫ .....	114
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	116
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ .....	117
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	119
ПРИЛОЖЕНИЕ А .....	141

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы

Цисплатин и анти-VEGF-препараты обладают высокой противоопухолевой активностью и позволяют улучшить выживаемость пациентов со злокачественными новообразованиями, однако их применение сопровождается развитием серьезных нежелательных явлений, одним из наиболее значимых является нефротоксичность [19, 41].

Цисплатин является неотъемлемым компонентом режимов терапии рака яичка, опухолей головы и шеи, рака шейки матки, немелкоклеточного и мелкоклеточного рака легкого и т. д. [117]. Нефротоксичность цисплатина, по данным различных авторов, наблюдается приблизительно у одной трети пациентов, что ограничивает возможности его длительного применения и требует постоянного контроля почечной функции [33, 116].

Другой группой потенциально нефротоксичных препаратов, которая широко применяется в рутинной клинической практике онколога, являются антиангиогенные/анти-VEGF препараты (бевацизумаб, афлиберцепт и рамуцирумаб), направленные на подавление неоангиогенеза в опухоли и уменьшение ее васкуляризации, что тормозит пролиферацию опухолевых клеток и предотвращает метастазирование [62]. Анти-VEGF препараты используются в терапии распространённого колоректального рака, рака молочной железы, рака желудка и т. д. Наиболее значимыми из нежелательных явлений считают артериальную гипертензию, нефротоксичность и нарушения свёртывания крови [167]. Предполагают, что в основе нефротоксичности анти-VEGF препаратов лежит развитие тромботической микроангиопатии (ТМА), которая характеризуется сочетанием острых тромбозов, отеком эндотелиоцитов, фиброзной гиперплазией интимы и прогрессирующим артерио- и артериолосклероза [155].

Развитие нефротоксичности со снижением скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и появлением протеинурии требует снижения доз препаратов, приводит к прерыванию лечения или его отмене, в связи с чем актуальным является поиск ранних предикторов повреждения почек в процессе лечения, а также факторов, которые могли бы предотвратить появление нежелательных явлений [52].

На сегодняшний день отсутствуют ранние лабораторные маркеры нефротоксичности, позволяющие прогнозировать снижение СКФ в случае терапии нефротоксичными противоопухолевыми препаратами. Перспективными ранними маркерами повреждения почек считают липокалин, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой (NGAL) и молекулу повреждения почек (KIM-1) [37]. Для анти-VEGF препаратов, вызывающих гипоксию почечной ткани и повреждение подоцитов, интерес представляют фактор, индуцированный гипоксией, или HIF-1 $\alpha$  и нефрин – структурный белок щелевой диафрагмы, ответственный за проницаемость гломерулярного фильтра [89, 145].

Выявление ранних маркеров повреждения почек, а также оценка факторов риска повреждения почек и выявление факторов, предотвращающих нефротоксичность химиопрепаратов, имеет высокую актуальность и позволят улучшить результаты терапии и продлить сроки эффективного лечения [152].

### **Степень разработанности темы**

Среди маркеров повреждения почек, которые уже продемонстрировали свою значимость в реаниматологической и кардиологической практике, выделяют липокалин, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой (NGAL) и молекулу повреждения почек (KIM-1) [35, 36]. Показано, что нарастание концентрации этих факторов в моче ассоциировано с развитием острого повреждения почек (ОПП) и значительно опережает по времени увеличение уровня креатинина в сыворотке крови [48, 157]. Некоторые исследователи выявили повышение уровня NGAL и KIM-1 в моче и при повреждении, вызванном цисплатином [113, 140].

Нефротоксичность анти-VEGF препаратов рассматривается через последствия тромботической микроангиопатии и ишемии почечной ткани, однако отсутствуют данные о ранних маркерах и прогностических факторах нефротоксичности этой группы препаратов [145, 155]. Фактор, индуцированный гипоксией, или HIF-1 $\alpha$  также был изучен при ОПП: уровень HIF-1 $\alpha$  в крови пациентов с ОПП был значимо выше, чем в контрольной группе [89]. Нефрин – структурный белок щелевой диафрагмы, ответственный за проницаемость гломерулярного фильтра для белков плазмы крови, рассматривается как один из биомаркеров повреждения подоцитов. Доказано, что подавление эффектов VEGF приводит к снижению экспрессии нефрина в подоцитах и, как следствие, к формированию высокой протеинурии [145].

### **Цель научного исследования**

Целью исследования было раннее выявление и прогнозирование почечного повреждения у пациентов, получающих химиотерапию цисплатином или антиангиогенными препаратами, с помощью мочевых биомаркеров NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$  и нефрина.

### **Задачи научного исследования**

1. Оценить частоту почечного повреждения, влияние конкретного препарата и локализации опухоли, и установить число случаев отмены препарата, связанных с развитием нефротоксичности у больных, получающих терапию цисплатином или внутривенными антиангиогенными (анти-VEGF) препаратами;
2. Оценить динамику клинико-лабораторных показателей, отражающих развитие токсичности анти-VEGF препаратов и цисплатина, на 1, 2, 4 и 8-й неделях лечения по сравнению с исходным уровнем;
3. Определить изменения показателей повреждения подоцитов (нефрина) и тубуло-интерстиция почки (NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$ ) в моче до лечения и в процессе лечения цисплатином или анти-VEGF препаратами, оценить их значение

как ранних биомаркеров нефротоксичности – снижения СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> через 8 недель и 9 месяцев лечения;

4. Выявить корреляции между мочевыми биомаркерами, клиничко-лабораторными показателями нефротоксичности и микроангиопатического гемолиза на 8-ой неделе терапии анти-VEGF препаратами;

5. Установить независимые клинические и лабораторные факторы риска нефротоксичности, а также факторы, ассоциированные с благоприятным прогнозом и стабильной функцией почек, у больных, получающих цисплатин или анти-VEGF препараты.

### **Методы и методология исследования**

Проведено открытое проспективное наблюдательное исследование. На первом этапе исследования проводился поиск и анализ данных литературы о маркерах повреждения у больных с ишемическим и токсическим почечным повреждением, выделены наиболее перспективные маркеры для последующего изучения. На втором этапе исследования для подтверждения научной гипотезы были собраны клиничко-лабораторные данные, полученные в процессе обследования и лечения больных, изучены факторы почечного повреждения в моче в динамике, выполнена статистическая обработка материала.

### **Научная новизна**

Впервые определена значимость мочевых биомаркеров нефротоксичности в процессе лечения цисплатином и анти-VEGF препаратами. Показано, что неуклонное повышение NGAL и KIM-1 в моче уже через неделю от начала терапии отражает прогрессирующее повреждение канальцев почек и прогнозирует нефротоксичность цисплатина и анти-VEGF препаратов. Впервые установлено повышение уровня нефрина в моче как следствие подоцитарного повреждения, и HIF-1 $\alpha$  в результате нарастающей ишемии паренхимы почки у больных, получающих анти-VEGF препараты. В этой группе больных выявлена взаимосвязь

степени почечного повреждения и показателей микроангиопатического гемолиза (МАГ) – снижения гемоглобина, повышения количества шистоцитов и уровня ЛДГ, а также снижения числа тромбоцитов. Нарастание маркеров NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$  и нефрина в моче отражают прямое токсическое и ишемическое почечное повреждение за 2-3 недели до повышения уровня креатинина сыворотки и снижения рСКФ, и могут быть использованы в клинической практике как ранние биомаркеры почечного повреждения.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Установлена высокая информативность биомаркеров NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$  и нефрина для прогнозирования нефротоксичности цисплатина и анти-VEGF препаратов на ранних этапах лечения, что позволит использовать данные биомаркеры в клинической практике и выделить группу высокого риска нефротоксичности для тщательного наблюдения и коррекции терапии. Кроме того, выявлены независимые клинические и лабораторные факторы риска нефротоксичности: отсутствие коррекции артериального давления и исходное снижение скорости клубочковой фильтрации. Для цисплатина рассчитана разовая доза, при превышении которой возрастает риск необратимого почечного повреждения. Особый акцент при использовании анти-VEGF препаратов у пациентов с высоким риском развития нефротоксичности необходимо делать на контроле артериального давления, мониторинговании и коррекции коагуляционных нарушений. На основании полученных результатов выдвинуто предположение о том, что антикоагулянтная терапия может уменьшать нефротоксичность этих препаратов.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Применение схем химиотерапии, включающих цисплатин или анти-ангиогенные (анти-VEGF) препараты, сопровождается развитием нефротоксичности на 8-ой неделе в 22% и 36% случаев соответственно. За период

последующего наблюдения в течение 9 месяцев нефротоксичность в группе пациентов, получающих цисплатин, являлась причиной отмены или снижения дозы препарата в 46% случаев, а в группе больных, получающих анти-VEGF терапию, - в 28% случаев. Нефротоксичность цисплатина коррелировала с разовой дозой препарата, в то время как нефротоксичность анти-VEGF препаратов не зависела от конкретного препарата и локализации опухолевого процесса;

2. У больных отмечается раннее (на 1 неделе лечения) повышение в моче биомаркеров повреждения клубочков (нефрина), канальцев (NGAL и KIM-1) и фактора, отражающего гипоксию почечной ткани (HIF-1 $\alpha$ ) при лечении анти-VEGF-препаратами, а также NGAL и KIM-1 в моче - при лечении цисплатином; указанные биомаркеры обладают высокой информативностью (чувствительностью и специфичностью) в прогнозировании нефротоксичности – снижении СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> на 8-ой неделе лечения;

3. Установлена достоверная корреляция показателей нефрина, HIF-1 $\alpha$ , KIM-1, NGAL в моче с уровнем маркеров микроангиопатического гемолиза (гемоглобина, лактатдегидрогеназы, количеством шистоцитов) и скоростью клубочковой фильтрации, что свидетельствует о развитии хронической ишемии ткани почки при лечении антиангиогенными препаратами; показатели NGAL и KIM-1 в моче обратно коррелируют с СКФ, отражая прямое токсическое почечное повреждение при лечении цисплатином;

4. При применении антиангиогенных препаратов факторами риска поражения почек являются исходное снижение СКФ менее 80 мл/мин, наличие артериальной гипертензии до начала терапии, а также нарастание уровня в моче KIM-1 через 1 неделю и HIF-1 $\alpha$  через 2 недели от начала лечения, в то время как при лечении цисплатином риск нефротоксичности ассоциирован с ранним повышением уровня NGAL в моче через 1 неделю после начала терапии. Стабильная функция почек в процессе лечения антиангиогенными препаратами сохранялась у пациентов с целевыми показателями артериального давления, нормокоагуляцией с нормальным уровнем D-димера и отсутствием нарастания в моче изученных биомаркеров.

## **Внедрение результатов исследования**

Результаты диссертационной работы используются в клинической практике химиотерапевтического отделения и дневного стационара по онкологическому профилю ГБУЗ «Московский научно-практический клинический центр имени А.С. Логинова» ДЗМ, основные положения диссертации включены в материалы лекций и практических занятий для студентов и ординаторов кафедры внутренних болезней факультета фундаментальной медицины ФГБУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

## **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Результаты диссертационного исследования были доложены на следующих конференциях: IV Межфакультетская студенческая научно-практическая конференция Life Sciences in the 21st Century: Looking into the Future (Москва, 22-23 января 2020г.), IV Всероссийская конференция молодых терапевтов (Санкт-Петербург, 27-28 мая 2021г.), XVI Национальный Конгресс терапевтов (Москва, 17-19 ноября 2021г.), Объединенный съезд российских общественных организаций нефрологов с международным участием (Москва, 22-24 октября 2021г.), XVII Общероссийская научно-практическая конференция российского диализного общества (Санкт-Петербург, 27-28 мая 2022г.).

Апробация диссертации состоялась 12 мая 2022 года на совместном заседании кафедры внутренних болезней факультета фундаментальной медицины ФГБУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова и научного отдела общей онкологии ГБУЗ МКНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ.

## **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, из них – 1 в медицинских журналах, входящих в перечень РУДН/ВАК РФ; 5 в журналах, входящих в международную базу данных Scopus.

### **Объем и структура работы**

Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, библиографического списка, приложения. Диссертация иллюстрирована 26 рисунками, 23 таблицами. Библиографический список содержит 179 источников.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Эффективность цисплатина в лечении пациентов со злокачественными новообразованиями

Цисплатин представляет собой противоопухолевый препарат на основе платины, который широко используется в составе схем лечения злокачественных опухолей. Впервые противоопухолевое действие цисплатина было выявлено в отношении лимфомы Ходжкина в 1982г. [67]. На протяжении вот уже четырех десятилетий цисплатин успешно используется в терапии рака яичка, опухолей головы и шеи, рака шейки матки, немелкоклеточного и мелкоклеточного рака легкого и т. д. [117].

В настоящее время механизм действия цисплатина все еще не понятен до конца. Известно, что молекула цисплатина попадает в клетку при помощи либо пассивной диффузии, либо через транспортер меди CTR1 [40]. При попадании в клетку цисплатин становится активным, поскольку в его молекуле происходит замещение хлорид-иона с гидроксил-ион, что приводит к повышенной реактивности молекулы препарата и обуславливает его взаимодействие с практически любым нуклеофилом. Молекула препарата связывается с молекулой ДНК (вероятнее всего, с N7-реактивным центром пуриновых остатков) и приводит к образованию внутрицепочечных и межцепочечных «сшивок». Последнее вызывает повреждение ДНК опухолевых клеток, остановку синтеза и репликации новых молекул ДНК, что обуславливает цитостатическое действие цисплатина [47]. Схематично механизм действия цисплатина представлен на рисунке 1.

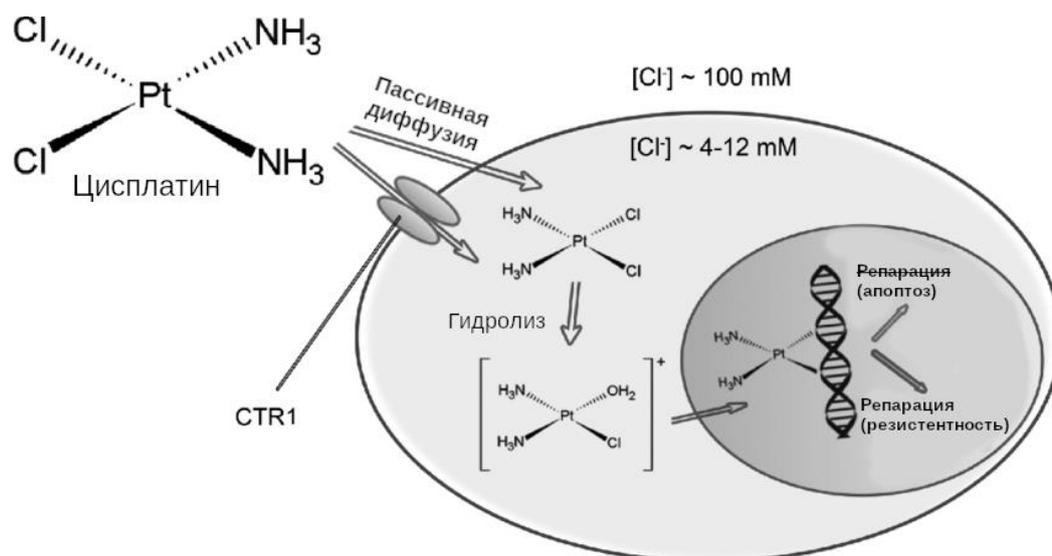


Рисунок 1 - Схематичное представление механизма действия цисплатина внутри опухолевой клетки [40]

Эффективность терапии цисплатином различных злокачественных опухолей была не раз подтверждена на протяжении четырех десятилетий в большом количестве международных рандомизированных клинических исследований и мета-анализах [16]. Так, цисплатин используется в комбинации с паклитакселом в 1-ой линии терапии рака шейки матки, с капецитабином в 1-ой линии терапии рака желудка, с гемцитабином в 1-ой линии терапии холангиоцеллюлярного и уротелиального рака, а также широко используется в рамках химиолучевой терапии рака пищевода, анального канала и т. д. [22, 90, 105, 150].

Несмотря на высокую эффективность цисплатина в отношении опухолевых клеток, остаются два фактора, ограничивающие применение этого препарата в рутинной клинической практике: приобретенная резистентность к цисплатину и серьезные нежелательные явления. Нежелательные явления применения препарата включают в себя ототоксичность, желудочно-кишечные расстройства, электролитные нарушения и кардиотоксичность, гиперурикемию, нейротоксичность, нефротоксичность, токсичность в отношении органа зрения, гепатотоксичность и миелосупрессию [23, 64, 65]. Нефротоксичность занимает особое место в клинической практике, поскольку зачастую повреждения почек на фоне терапии цисплатином являются необратимыми и лимитируют последующее

применение химиопрепаратов в лечении онкологических пациентов, что является критически важным для их жизненного прогноза [77].

### **1.1.1. Нефротоксичность цисплатина**

Одним из основных факторов, ограничивающих использование цисплатина, является ассоциированная с применением препарата нефротоксичность [5, 100, 119, 132]. Этот вид нежелательных явлений был описан в самом начале применения цисплатина в онкологической практике, в первых клинических исследованиях, и по сей день остается крайне значимым, поскольку встречается приблизительно у трети пациентов, получающих терапию [24, 117]. Клинически нефротоксичность цисплатина манифестирует снижением СКФ, повышением уровня сывороточного креатинина и уровня сывороточного калия, а также появлением протеинурии [26, 64]. На сегодняшний день нет данных, указывающих на то, насколько обратимым является повреждение почек, вызванное препаратом [117].

После внутривенного введения приблизительно 60–90% препарата связывается с белками плазмы, а затем экстретируется почками в течение первых 24 часов. Наиболее часто повреждение происходит в дистальных канальцах, затрагивая в меньшей степени клубочки и проксимальные канальцы [33, 116].

Схематично механизм нефротоксичности цисплатина отражен на рисунке 2 [117].

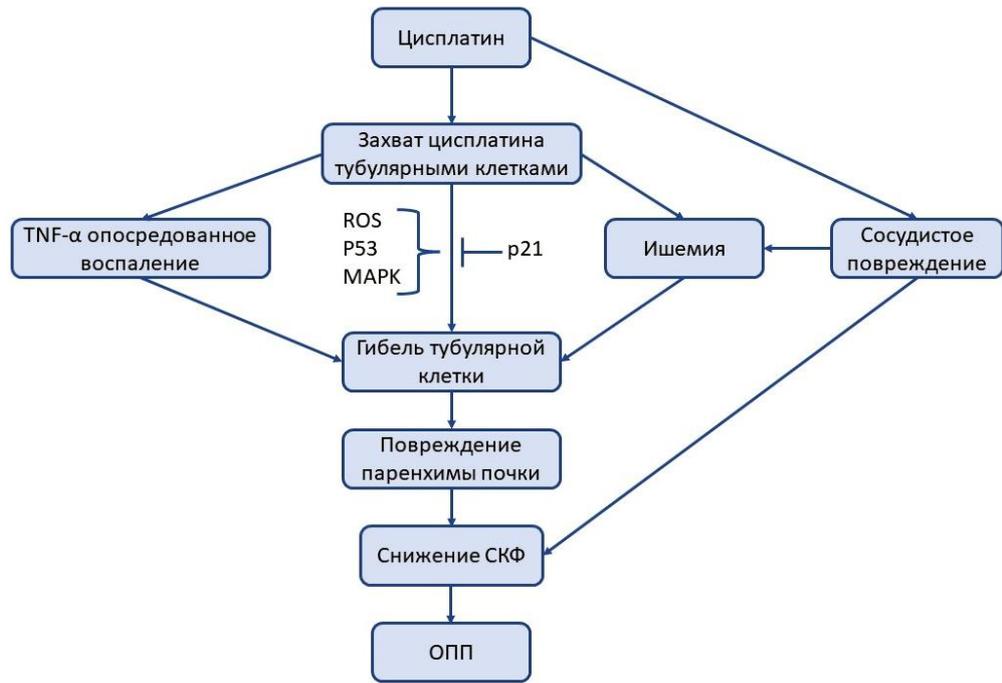


Рисунок 2 - Цисплатин попадает в клетки почки путем пассивной диффузии или через CRT-1 переносчик, что запускает каскад сигнальных путей, приводящих к апоптозу (MAPK, p53, ROS и т. д.). Помимо этого, цисплатин индуцирует выработку провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  в клетках канальцев, что запускает поддержание постоянного воспалительного ответа, что также вносит свой вклад в повреждение канальцев и апоптоз их клеток. Помимо вышеописанного цисплатин может вызывает ишемическое повреждение почек путем прямого токсичного действия на кровеносные мелкие сосуды. Суммарно все эти факторы приводят к развитию острого почечного повреждения. Адаптировано [117]

Попадание цисплатина в клетки канальцев почек приводит к запуску разнообразных сигнальных каскадов (например, MAPK, p53, ROS), что приводит к повреждению канальцев и апоптозу тубулярных клеток. Активация MAPK и фосфорилирование p53 регулирует клеточный гомеостаз и такие процессы как пролиферация, дифференцировка и апоптоз (последний и играет ключевую роль в развитии нефротоксичности).

ROS представляет собой реактивный оксидативный стресс, который также развивается при активации сигнальных каскадов под действием цисплатина. На сегодняшний день предложены три механизма запуска ROS цисплатином.

Одна из возможных теорий, объясняющих активацию ROS на фоне терапии цисплатином, обусловлена образованием глутатион-S-трансфераз-опосредованной конъюгаты глутатиона. Гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ) позже расщепляет последнюю до производных цистеинил-глицина, которые превращаются аминопептидазой APN в конъюгаты цистеина, которые проникают в эпителиальные клетки проксимальных канальцев. Затем они метаболизируются до тиольной группы, которая обладает высокой нефротоксичностью [100]. Тот факт, что ГГТ преимущественно обнаруживается на апикальной поверхности эпителиальных клеток проксимальных канальцев, делает его желательной и возможной мишенью для управления нефротоксичностью, связанной с цисплатином [57].

Согласно второй теории, цисплатин может индуцировать митохондриальную дисфункцию через нарушение дыхательной цепи. И, наконец, цисплатин может вызывать ROS в микросомах через систему цитохрома P450 (CYP), который является источником каталитического железа для запуска ROS на фоне терапии цисплатином.

Помимо активации сигнальных каскадов происходит активная выработка провоспалительных цитокинов (например, IL-1, TNF- $\alpha$ ), которые поддерживают постоянный процесс воспаления, внося свой вклад в развитие нефротоксичности. TNF- $\alpha$  связывается с его рецепторами TNFR-1 и TNFR-2, активируя цитотоксические Т-лимфоциты и, таким образом, потенцируя провоспалительный эффект.

Также цисплатин может вызывает прямое повреждение мелких кровеносных сосудов в почке, вызывая ишемическое повреждение. Цисплатин вызывает дисфункцию эндотелиоцитов, приводя к патологической вазоконстрикции в почках, что приводит к ОПП. Цисплатин индуцирует острое ишемическое повреждение, нарушая кровоток в мозговом веществе почек, что приводит к

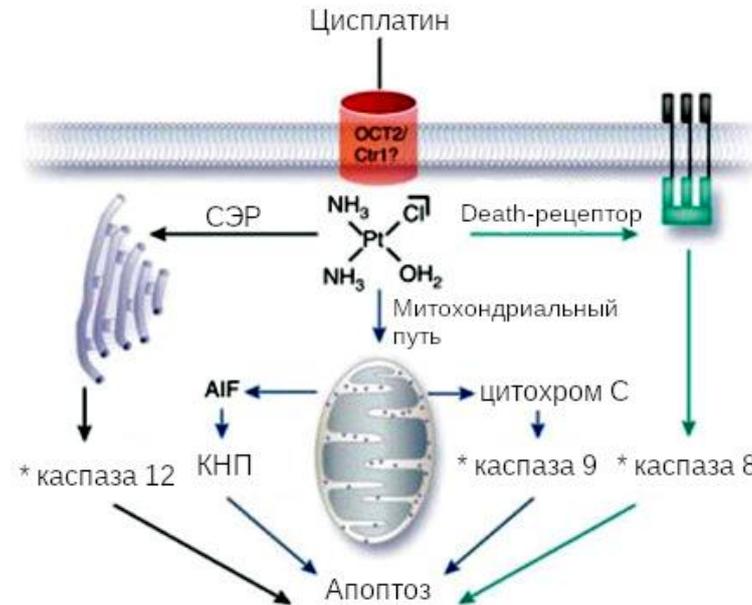
повреждению клеток канальцев. Несмотря на то, что обычно при ишемии происходит компенсаторная вазодилатация, на фоне цисплатина вазоконстрикция усугубляется, приводя к более глубокому ишемическому повреждению почек [116].

Также доказано, что цисплатин в проксимальных канальцах приводит к образованию платиновых комплексов, активирующих протеинкиназу АМР (АМРК), что уменьшает аутофагию, увеличивает повреждение ДНК, сопротивление сосудов почек, некроз канальцевых клеток, а также уровни апоптоза и воспаления [93, 168, 177].

Цисплатин индуцирует многочисленные изменения эндотелиоцитов проксимальных канальцев, привлекая клетки, активирующие воспалительный иммунный ответ путем выброса провоспалительных хемокинов: тучные клетки, естественные клетки-киллеры, макрофаги и Т-лимфоциты [70, 110, 176].

### **1.1.2. Роль апоптоза в нефротоксичности, индуцированной цисплатином**

По данным литературы были описаны несколько проапоптотических путей в механизмах нефротоксичности: внешний путь, опосредованный так называемыми «рецепторами смерти»; внутренний путь, обусловленный митохондриальным каскадом; а также так называемый «стресс эндоплазматического ретикулума» (СЭР) (Рисунок 3) [117].



Условные обозначения: СЭР - стресс эндоплазматического ретикулума; КНП - каспаз-независимый путь.

Рисунок 3 - Апоптотические пути, активируемые цисплатином в клетках почечных канальцев. Цисплатин активирует как внутренний митохондриальный путь (голубой), так и внешний путь через «рецепторы смерти» (зеленый). Также СЭР может вносить свой вклад в индукцию апоптоза (серый). Активация этих путей ведет как к каспаз-зависимому (активация обозначена \*), так и КНП, который приводит к апоптозу. Адаптировано [117]

При активации внешнего пути апоптоза происходит связывание лиганда с «рецептором смерти» на поверхности цитоплазматической мембраны, что ведет к рекрутированию и активации каспазы-8, активирующей каспаз-зависимый путь апоптоза. К семейству «рецепторов смерти» относятся рецепторы Fas, TNFR-1, TNFR-2 [107].

При активации внутреннего митохондриального пути происходит активация белков проапоптотического семейства Bcl-2 – Bax и Bak, которые формируют порообразные дефекты на внешнем слое мембраны митохондрий, что приводит к высвобождению проапоптотических факторов (цитохром с, AIF, Smac, эндонуклеазы G) из органелл. После попадания в цитозоль обозначенные белки

(кроме АІF) вызывают активацию каспазы-9, что в свою очередь запускает каспаз-зависимый апоптоз. АІF в свою очередь может вызывать каспаз-независимый апоптоз, накапливаясь в ядре [107].

Как уже было сказано, помимо вышеобозначенных путей апоптоз клеток канальцев может быть также вызван посредством «стресса эндоплазматического ретикулума» (СЭР) [92]. «Стрессом эндоплазматического ретикулума» называют накопление неправильно сформированных белковых цепочек, что приводит к прекращению нормального функционирования клетки. По всей видимости, одной из мишеней цисплатина внутри клетки является эндоплазматический ретикулум, что и приводит к развитию обозначенного патофизиологического процесса. Иницирующей каспазой в данном случае является каспаза-12, которая расположена на цитозольной поверхности эндоплазматического ретикулума и активируется при «стрессе». Активация каспазы-12 приводит к запуску апоптоза [92].

На сегодняшний день основным маркером нефротоксичности цисплатина является креатинин, уровень которого в сыворотке крови положительно коррелирует со степенью поражения почек. Однако нарастание уровня креатинина отстает по времени от начала повреждения почки на 48–96 часов, что может задерживать раннюю диагностику острого почечного повреждения [130, 143].

## **1.2. Клиническое значение ангиогенеза и применение антиангиогенных препаратов в лечении онкологических заболеваний**

Неоангиогенез является основой большинства как физиологических, так и патологических процессов, поскольку обеспечивает кровоснабжение растущих тканей. Так, активный рост сосудов сопровождает нормальный рост, эмбриональное развитие организма, репарацию и регенерацию (заживление ран) и т. д. [14]. Однако ангиогенез также является одним из этапов прогрессирования опухолевого процесса и последующего метастазирования опухолевых депозитов [62].

Процесс неоангиогенеза регулируется при помощи различных проангиогенных и антиангиогенных факторов. Наибольшее клиническое значение имеет семейство фактора роста эндотелия сосудов VEGF и его рецепторов. К молекулам VEGF относят подтипы А и В, являющихся основными проангиогенными факторами, а также С, D и E, которые способствуют лимфоангиогенезу [52].

### **1.2.1. Сигнальный путь VEGF-VEGFR**

VEGF-A связывается с одной из двух рецепторных тирозинкиназ – VEGF-R1 или VEGF-R2 [145]. И VEGF-R1, и VEGF-R2 локализуются в эндотелии клубочковых и перитубулярных капилляров [109]. Из них наиболее изученным является VEGF-R1, который является ответственным за большую часть сигнального каскада VEGF-A [54]. Он отвечает за эмбриональный ангиогенез, рекрутирует клетки-предшественники эндотелиальных клеток, участвует в неоангиогенезе в рамках прогрессирования злокачественных опухолей. Он также существует и в растворенной форме, которая играет роль рецептора-приманки, ингибируя путь VEGF-A [145]. VEGFR-2 также играет роль в опухолевой прогрессии, увеличивая проницаемость сосудистой стенки и усиливая пролиферацию эндотелиальных клеток, приводя к неоангиогенезу.

### **1.2.2. Микроангиогенез как фактор прогрессирования злокачественных опухолей**

Образование новых кровеносных сосудов является необходимым условием для развития опухолевого процесса и последующего метастазирования. Примечательно, что процессы неоангиогенеза начинаются на самых ранних этапах эволюции опухоли: с момента достижения объема в 1–2 мм<sup>3</sup> потребность опухолевых клеток в кислороде и питательных веществах значительно возрастает, что может ограничивать опухолевую прогрессию. Именно поэтому опухолевые клетки вынуждены активно вырабатывать различные проангиогенные цитокины

[42]. Примечательно, что опухолевые сосуды как правило представляют собой неупорядоченную сеть извилистых трубчатых структур, которые мало похожи на нормальные артериолы и венулы, а в структуре стенки не всегда определяются перициты и гладкомышечные клетки. Это отличает опухолевые кровеносные сосуды от физиологической сосудистой сети.

Микроангиогенез является самоподдерживающимся процессом, поскольку при интенсивном росте опухолевой ткани клетки испытывают гипоксию, что стимулирует образование HIF-1 $\alpha$ , который в свою очередь активирует VEGF и его взаимодействие с VEGF-R. Запуск этого каскада в свою очередь вызывает активацию эндотелиоцитов, их пролиферацию и миграцию, увеличивает проницаемость сосудистой стенки и ведет к ее дезорганизации [12].

Показано, что общая выживаемость пациентов со злокачественными новообразованиями с высоким уровнем VEGF-A значительно ниже, чем с низким уровнем. Ряд исследований предлагают использовать уровень VEGF в качестве прогностического маркера при, например, раке легкого и предстательной железы [160, 172].

### **1.2.3. Применение антиангиогенных препаратов в лечении пациентов со злокачественными новообразованиями**

Накопленные знания о важности ангиогенеза в прогрессировании опухолевого процесса привело к появлению так называемых антиангиогенных препаратов, которые останавливают васкуляризацию опухоли. Существуют различные стратегии вмешательства в васкуляризацию опухоли, которые ингибируют этот процесс на разных этапах. Так, блокировка матриксных металлопротеиназ приводит не только к расщеплению экстрацеллюлярного матрикса, но и к нарушению процесса образования сосудов *de novo* [127]. Наконец, существует класс препаратов, направленные непосредственно на сигнальный каскад VEGF-A, что приводит не только к остановке микроангиогенеза, но и к запустеванию имеющихся сосудов [12]. Они могут относиться к семейству мультикиназных

ингибиторов и неспецифически блокировать не только VEGFR, но и другие рецепторы. Например, некоторые препараты блокируют сигнальный путь RAF/MEK/ERK на уровне RAF киназы (например, сорафениб, регорафениб) [76]. Однако есть и более селективные ингибиторы ангиогенеза – внутривенные анти-VEGF препараты, к которым относятся препараты семейства моноклональных антител – бевацизумаб, афлиберцепт и рамуцирумаб (Рисунок 4).

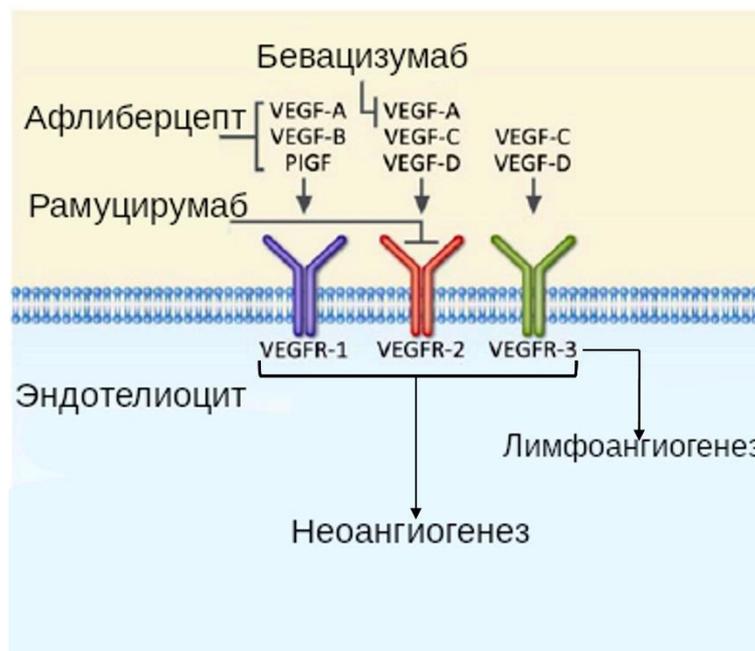


Рисунок 4 - Схематично представленный механизм действия афлиберцепта, бевацизумаба и рамуцирумаба [44]

Бевацизумаб является моноклональным антителом к VEGF. Он блокирует VEGF-A в плазме крови и ингибирует рецепторные сигнальные пути VEGF-R1 и VEGF-R2. На микроскопическом уровне это приводит к снижению плотности микрососудистого русла и остановке неоангиогенеза. Клинически блокада рецепторных путей VEGF облегчает химиотерапевтическим препаратам доступ к опухоли [15].

Эффективность добавления бевацизумаба к различным режимам химиотерапии (х/т) при различных типах опухолей была продемонстрирована в большом количестве международных рандомизированных клинических исследований и мета-анализах [3, 128]:

- ECOG E3200 [61]: исследование эффективности добавления бевацизумаба к х/т во 2-ой линии лечения колоректального рака.

- Мета-анализ 9 исследований [38]: исследование эффективности добавления бевацизумаба к х/т в 1-ой линии лечения колоректального рака.

- Исследование NCT00028990 [99]: исследование эффективности добавления бевацизумаба к х/т в 1-ой линии лечения рака молочной железы.

- Мета-анализ 2 исследований [86]: исследование эффективности добавления бевацизумаба к х/т в 1-ой линии лечения рака яичников.

- AURELIA [125]: исследование эффективности добавления бевацизумаба к х/т платино-резистентного рака яичников.

- GOG 240[92]: исследование эффективности х/т в 1-ой линии лечения рака шейки матки.

Несмотря на продемонстрированную клиническую эффективность, бевацизумаб не обеспечивает полного ингибирования неоангиогенеза, поскольку вне контроля бевацизумаба остаются другие лиганды VEGF-R1: VEGF-B и PlGF. Поэтому были разработаны новые антиангиогенные препараты с расширенным спектром активности, предполагающим ингибирование нескольких ангиогенных лигандов или рецепторов.

Афлиберцепт – человеческий рекомбинантный белок, который ингибирует неоангиогенез в разных точках приложения, блокируя VEGF-R1, VEGF-R2, VEGF-A, VEGF-B, PlGF. Эффективность применения афлиберцепта оценивалась в исследовании III фазы VELOUR:

- VELOUR [46]: исследование эффективности добавления афлиберцепта к х/т во 2-ой линии лечения колоректального рака.

Третьим препаратом из представленного семейства является рамуцирумаб - человеческое моноклональное антитело к VEGF-R2 [10]. Эффективность применения афлиберцепта оценивалась в следующих исследованиях III фазы:

- RAISE [147]: исследование эффективности добавления рамуцирумаба к х/т во 2-ой линии лечения колоректального рака в режиме FOLFIRI.

- RAINBOW [165]: исследование эффективности добавления рамуцирумаба к х/т во 2-ой линии лечения рака желудка.

- REGARD [58]: исследование эффективности рамуцирумаба во 2-ой и последующей линии терапии рака желудка.

- REVEL [60]: исследование эффективности добавления рамуцирумаба к х/т во 2-ой линии лечения немелкоклеточного рака легкого.

#### **1.2.4. Нежелательные явления антиангиогенной терапии**

Использование антиангиогенной терапии предполагает развитие определенного спектра нежелательных явлений, напрямую обусловленных механизмом действия препаратов.

К наиболее частым нежелательным явлениям на фоне приема бевацизумаба относятся: артериальная гипертензия, кровотечения, тромбозы (как артериальные, так и венозные), перфорация полого органа, протеинурия.

По данным мета-анализа 20 исследований II и III фазы с включением бевацизумаба, частота артериальной гипертензии любой степени составила 23,6% (при этом 3-4 степени 7,9%) [156]. Другой мета-анализ, посвященный проблеме протеинурии на фоне терапии бевацизумабом, чьи авторы проанализировали 16 исследований, выявил частоту протеинурии всех степеней по СТСАЕ v.5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events) в 13,3% (3-4 степени 2,2%) [167]. Однако был выявлен дозозависимый характер протеинурии от введения бевацизумаба: у пациентов, получивших бевацизумаб в дозе 3 мг/кг частота протеинурии составила 21-41%, а в дозе 10 мг/кг - 22-62% [178]. Частота развития протеинурии не зависела от локализации первичной опухоли и типа сопутствующей химиотерапии [167, 178].

Проводились исследования, посвященные оценке клинической эффективности, частоты развития артериальной гипертензии и протеинурии при применении анти-VEGF препаратов. Feliu и соавт. пришли к выводу, что развитие протеинурии значимо коррелирует с увеличением общей выживаемости (ОВ), но

не с частотой объективного ответа (ЧОО) или увеличением выживаемости без прогрессирования (ВБП). В то время как протеинурия коррелировала с ЧОО, но не с ОВ или ВБП [56]. Такака и соавт. в результате схожего анализа пришли к выводу, что развитие артериальной гипертензии и протеинурии ассоциированы с более высокой ЧОО, однако, никак не коррелирует с ВБП [148]. Iwasa и соавт. в свою очередь заключили, что развитие протеинурии никак не связано с ЧОО или ВБП у пациентов с колоректальным раком, получавших терапию бевацизумабом [71].

По данным мета-анализа 15 исследований с включением афлиберцепта частота артериальной гипертензии любой степени составила 42,4% (при этом 3–4 степени 17,4%). При этом риск развития гипертензии на фоне терапии статистически значимо увеличивался: отношение шансов (OR) составило 4,47 (95%ДИ 3,84-5,22,  $p < 0,001$ ) для всех степеней и 4,97 для 3-4 степени (95%ДИ 3,95-6,27,  $p < 0,001$ ) [126]. Примечательно, что авторы пришли к выводу, что афлиберцепт приводит к развитию артериальной гипертензии с большей частотой, чем бевацизумаб.

Данные мета-анализа 6 исследований II фазы с включением рамуцирумаба продемонстрировали частоту артериальной гипертензии и протеинурии любой степени 21% и 9,4% соответственно [25]. Wang и соавт. рассмотрели 11 исследований с включением рамуцирумаба и пришли к выводу, что частота развития артериальной гипертензии любой степени составила 20%, из них 8,6% приходят на гипертензию 3-4 степени [159]. Согласно опубликованным данным другого мета-анализа, частота протеинурии составила 5,8-17%, а протеинурия 3-4 степени составила 1,1% на фоне терапии рамуцирумабом (из них 0,1% пришлось на нефротический синдром) [20, 59].

Развитие этих нежелательных явлений приводит к редукции доз препаратов, задержке в лечении или вовсе его отмены. Так, например, при развитии протеинурии 2 г/сут лечение приостанавливается до нормализации уровня белка в моче, а при повторном эпизоде протеинурии в 2 г/сут доза препарата редуцируется на 50% [9]. По опубликованным данным, в большинстве случаев протеинурия и артериальная гипертензия разрешаются после полной отмены анти-VEGF терапии

(даже при получении клинического эффекта) [52]. При этом зачастую продолжение поддерживающей терапии антиангиогенными препаратами до прогрессирования является прогностически важным для пациентов [30].

При этом проводились попытки поиска предиктивных факторов развития протеинурии на фоне терапии антиангиогенными препаратами. Kanbayashi и соавт. проанализировали ряд клинических факторов и пришли к выводу, что уровень систолического АД не менее 135 мм рт.ст. (OR=1,031, 95%ДИ 1,005-1,058,  $p=0,0197$ ; Se 48,3%, Sp 79,8%, AUC=0,64), факт приема блокаторов кальциевых каналов (OR=2,589, 95%ДИ 1,090-6,146,  $p=0,0311$ ; Se 43,3%, Sp 80,9%, AUC=0,62) и количество циклов введения анти-VEGF препарата не менее 13 (OR=1,049, 95%ДИ 1,018-1,082,  $p=0,0019$ ; Se 63,3%, Sp 72,3%, AUC=0,66) являются статистически значимыми предиктивными факторами развития протеинурии. Негативными оказались результаты оценки уровня сывороточного креатинина и факт приема ингибиторов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы в качестве предиктивных факторов. Примечательно, что ни вид антиангиогенного препарата (афлиберцепт, бевацизумаб или рамуцирумаб), ни сопутствующая химиотерапия, ни локализация злокачественной опухоли не сыграли никакой статистически значимой роли [78].

В рамках клинических исследований нефротоксичность антиангиогенных препаратов не рассматривалась обособленно и более детально, однако в реальной клинической практике оказалось, что протеинурия, артериальная гипертензия и тромбозы играют в совокупности очень важную роль в нарушении функции почек [151].

### **1.2.5. Каскад VEGF-A / VEGF-R в почке**

Нормальное функционирование VEGF-A поддерживает нормальное развитие организма в эмбриональном и раннем постнатальном периодах и играет критически важную роль в поддержании адекватной функции почек [52]. Отмечено, что как избыточная, так и недостаточная экспрессия VEGF-A

ассоциирована с широким спектром гломерулопатий, что демонстрирует важность поддержания нормальной регуляции каскада VEGF-A, что влечет за собой адекватную гломерулярную функцию.

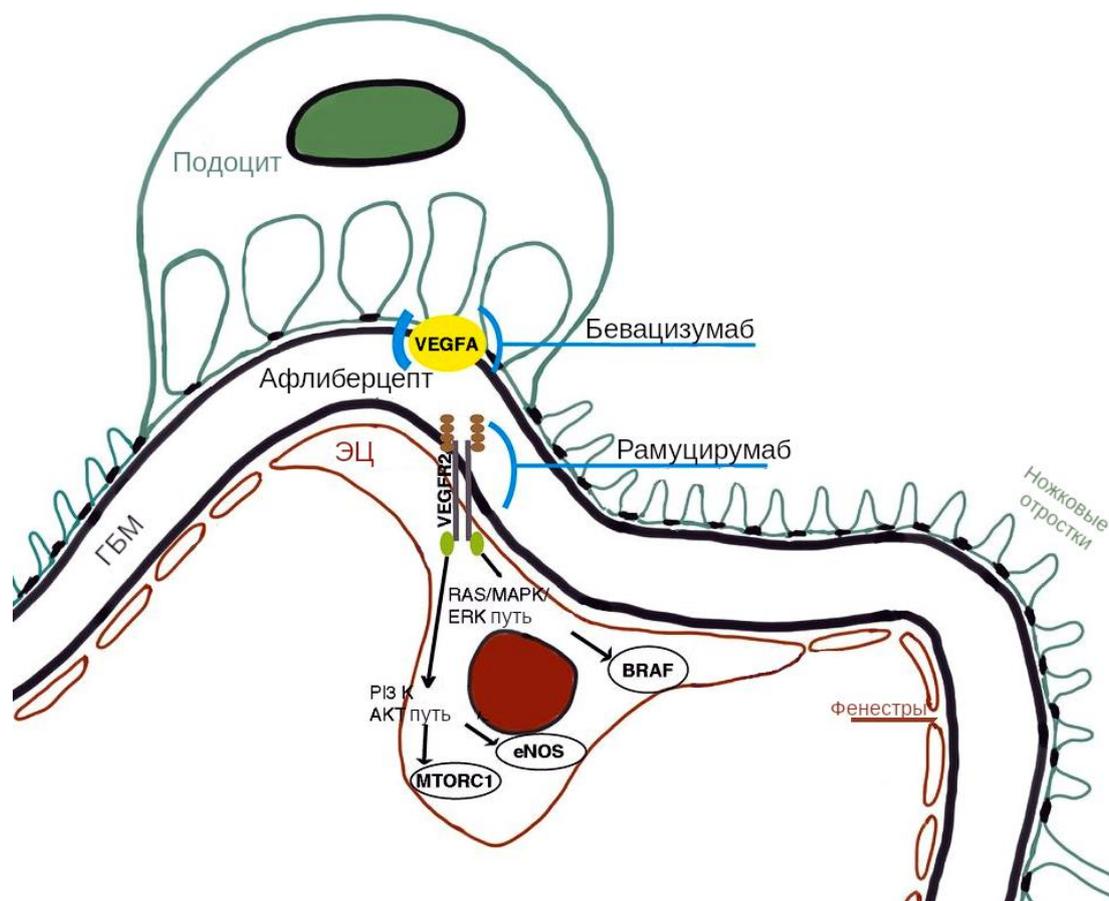
В почках экспрессия VEGF-A осуществляется как подоцитами, так и тубулярными эпителиальными клетками [50, 51].

Активация рецепторов VEGF-R приводит к запуску сигнального пути PI3K/v-akt, а также Raf и MAP2K, которые далее фосфорилируют MAPK (Erk) [163]. В результате запускается экспрессия антиапоптотических белков Bcl2, XIAP, Bcl-A1, сурвивина, активация циклинов и циклин-зависимых протеинкиназ Cdk, что способствует к переходу эндотелиоцитов из G0-фазы в клеточный цикл; также происходит активация интегринов, стимулирующих клеточную адгезию, миграцию и рост эндотелиальных клеток [8].

### **1.2.6. Блокада сигнального пути VEGF-A в почках и ее клинические проявления в виде тромботической микроангиопатии**

При блокаде сигнального пути VEGF-A развивается повреждение почек путем различных механизмов. Схематично процесс ингибирования сигнального пути VEGF-A в почках представлен на рисунке 5.

При применении антиангиогенных средств описаны развитие фокального сегментарного гломерулосклероза, мембранопролиферативного гломерулонефрита, гломерулярного эндотелиоза, криоглобулинемического гломерулонефрита, острого интерстициального нефрита, болезни минимальных изменений и гломерулонефрита неспецифических иммунных комплексов [51, 74]. Некоторые описанные патологии развивались даже после интравитреального введения антиангиогенных препаратов [121]. Известен механизм развития хронического гломерулонефрита вследствие ишемии почек, возникающей вследствие облитерации перитубулярных капилляров [7, 17].



Условные обозначения: ГБМ - гломерулярная базальная мембрана; ЭЦ - эндотелиоцит клубочков.

Рисунок 5 - Сигнальный путь VEGF-A-VEGF-R2 и фармакологическая блокада. VEGF-A вырабатывается подоцитами и связывается с VEGF-R2 на эндотелиоцитах клубочков. Бевацизумаб ингибирует VEGF-A, афлиберцепт ингибирует также VEGF-R1 и VEGF-R2, рамуцирумаб специфически связывает VEGF-R2 через экстрацеллюлярный домен [39]

Однако большинство авторов отдают превалирующую роль тромботической микроангиопатии (ТМА) как ведущей причине развития нефротоксичности на фоне применения антиангиогенных препаратов.

Описано, что делеция в гене VEGF-A приводит к подоцит-специфическому повреждению почек именно через развитие ТМА [145]. ТМА представляет собой особый тип поражения мелких внутриорганных сосудов, преимущественно почечных, и характеризуется сочетанием острых тромбозов, отека эндотелиоцитов

с отслойкой от базальной мембраны, утолщения сосудистой стенки с хроническими сосудистыми изменениями, включающими фиброзную гиперплазию интимы, артерио- и артериолосклероз и организуемые тромбы с реканализацией или без нее [12, 155]. Последнее приводит к фиброзной окклюзии пораженных сосудов и может вызвать ишемическую атрофию коры почек вследствие нарушений перфузии [54]. Феномен ТМА характеризуется типичной морфологической картиной и клинической триадой – Кумбс-негативной гемолитической анемией с шистоцитозом, тромбоцитопенией, ишемическим поражением различных органов, способствующим развитию артериальной гипертензии и полиорганной (в особенности, почечной) недостаточности [11]. Однако возможно развитие субклинической и даже локально-почечной микроангиопатии без системных проявлений, которая диагностируется только с помощью биопсии [13]. Показано, что лабораторно ТМА при приеме анти-VEGF препаратов проявляет себя признаками микроангиопатического гемолиза: анемией, тромбоцитопенией, повышением уровня ЛДГ и повреждением почек – протеинурией и нарушением функции почек [175].

В экспериментах на мышах оказалось, что даже при однократном введении анти-VEGF препарата происходило увеличение протеинурии в 2-3 раза за счет развития механизма, аналогичного при ТМА [145]. При введении бевацизумаба происходит сглаживание ножек подоцитов и развитие нефротического синдрома [51]. Так по данным Egemina и соавт. при развитии ТМА у 83,5% пациентов отмечено повышение артериального давления, а средняя суточная экскреция белка составила 2,5 г/л. Также при лечении анти-VEGF препаратами продуцируемый подоцитами VEGF-A секвестрируется и не связывается с подоцитарным или эндотелиальным VEGF-R2. Это ведет к увеличению сигнала NF- $\kappa$ B и транслокации RelA в ядрышко в эндотелиоцитах клубочков и в подоцитах, что вызывает увеличение экспрессии фактора комплемента Н (CFH) и активацию системы комплемента (Рисунок 6) [54]. Вклад эндотелиальной дисфункции был также описан при развитии хронической болезни почек. В исследованиях последних

десятилетий отмечается зависимость выраженности дисфункции эндотелия от степени снижения СКФ [4].

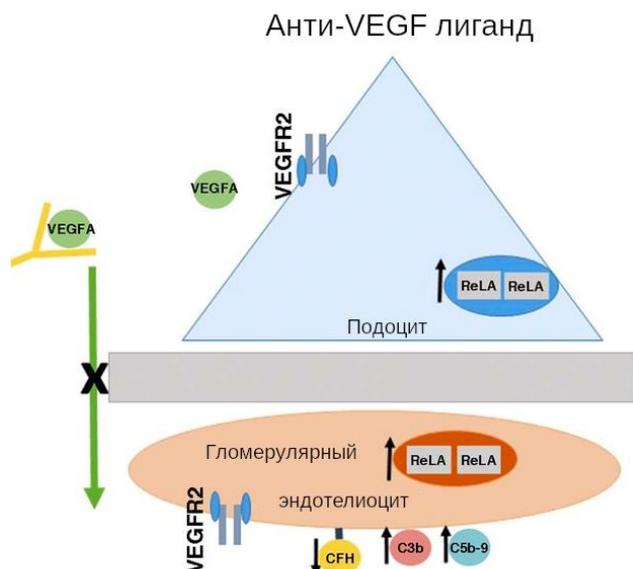


Рисунок 6 - Ингибирование VEGF-A-VEGF-R2 сигнального пути имеет различные эффекты по принципу отрицательной обратной связи. При лечении антиангиогенными препаратами, VEGF-A, выработанный подоцитами, разрушается и не может связаться ни с подоцитарным, ни с эндотелиальным VEGF-R2 (схематично отмечено X). Последнее приводит к увеличению сигнала NF-kB и транслокации RelA в ядрышко в эндотелиоцитах клубочков и в подоцитах [39]

При морфологическом исследовании почек мышей был отмечен отек клубочков, вакуолизация и разрыв щелевой диафрагмы, что является признаками ТМА. Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) также выявило сниженную экспрессию нефрина [39]. У пациентов, получавших терапию антиангиогенными препаратами, были обнаружены схожие морфологические признаки ТМА: отек эндотелиальных клеток (Рисунок 7, а), отложения электронно-плотных депозитов в субэндотелиальных слоях и сглаживание ножковых отростков подоцитов (Рисунок 7, б). Иммунофлуоресцентная микроскопия выявила депозиты IgA, в основном, расположенные вдоль стенок капилляров (Рисунок 7, в) [137]. Клинические и лабораторные проявления включали в себя развитие артериальной

гипертензии, анемии, тромбоцитопении, протеинурии до 7,6 г/сут и макрогематурии через 1 месяц терапии с включением бевацизумаба. При отмене бевацизумаба признаки ТМА исчезли в течение 6 месяцев. В данном клиническом случае авторы сочли бевацизумаб причиной ТМА и нефротического синдрома, что описано также и другими авторами в случае применения других режимов химиотерапии в комбинации с бевацизумабом. Морфологическая картина ткани почки указывала на развитие ТМА как причину нефротоксичности: выявлены фибриновые тромбы в просвете капилляров петли, мезангиолизис, двойной контур базальной мембраны клубочка; отложения IgM, фибриногена и C1q в мезангиокапиллярном пространстве; диффузное набухание эндотелия с облитерацией просвета капилляров [137], [127], [169].

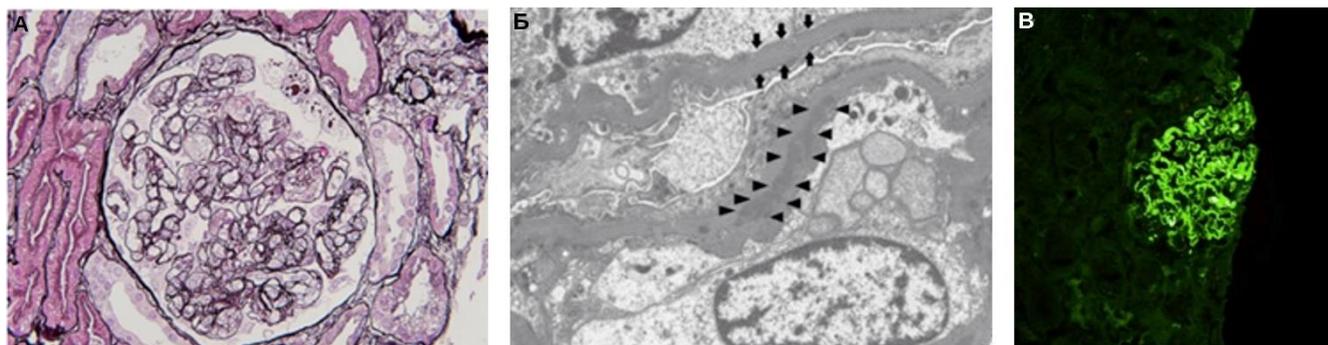


Рисунок 7 – ИГХ изменения при ТМА [104]: а) световая микроскопия образца биопсии почки, демонстрирующая расширение субэндотелиального пространства; б) электронная микроскопия образца биопсии почки, демонстрирующая отложения электронно-плотных депозитов в субэндотелиальных слоях (треугольники) и сглаживание ножковых отростков (стрелки); в) иммунофлуоресцентная микроскопия образца биопсии почки, демонстрирующая отложения депозитов IgA, в основном, расположенные вдоль стенок капилляров

На фоне терапии рамуцирумабом также были описаны случаи развития нефротического синдрома [59]. По данным Fujii и соавт среднее время до проявления нефротического синдрома после начала лечения составило 45,6 дней (разброс 21–112 дней), при этом у всех пациентов отмечалась артериальная

гипертензия и гематурия. После появления нефротического синдрома терапию рамуцирумабом пациентам прекращали [74]. При морфологическом исследовании ткани почек (Рисунок 8, а) выявлены полностью склерозированные клубочки, либо отслоение подоцитов от гломерулярной базальной мембраны, а также расширение субэндотелиального пространства [123]. Иммунофлуоресцентная микроскопия выявила сегментарное отложение депозитов IgA в стенках капилляров (Рисунок 8, б). Электронная микроскопия продемонстрировала сужение просвет клубочковых капилляров, двойные контуры мембраны и отложение электронно-плотных депозитов в субэндотелиальном пространстве. Иммуногистохимическое исследование выявило повышенную экспрессию CD68 (Рисунок 8, в).

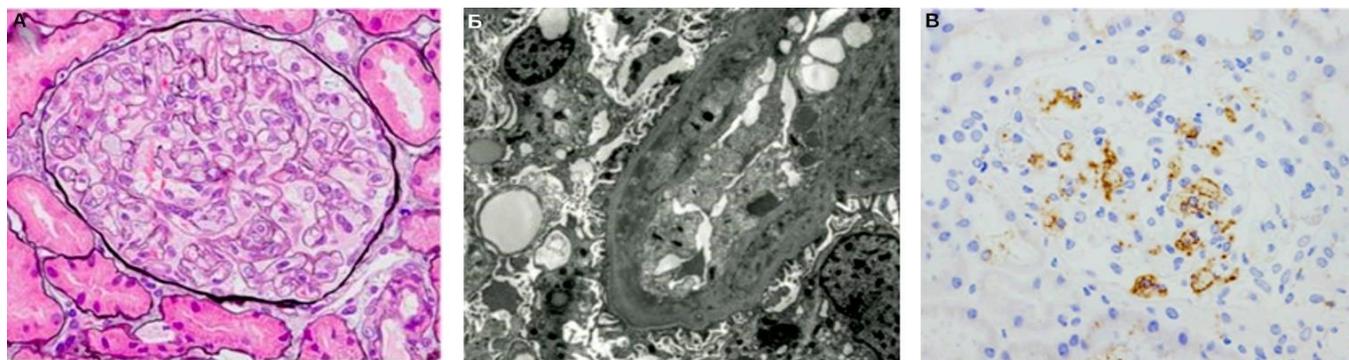


Рисунок 8 – Морфологические изменения при нефротическом синдроме на фоне терапии рамуцирумабом [123]: а) световая микроскопия образца биопсии почки, демонстрирующая двойные контуры гломерулярной базальной мембраны, а также расширение субэндотелиального пространства; б) электронная микроскопия образца биопсии почки, демонстрирующая сглаживание ножковых отростков, сужение просвета клубочковых капилляров и двойные контуры мембраны; в) иммунопероксидазное окрашивание на CD68, инфильтрация клубочка CD68+ клетками

На сегодняшний день отсутствуют утвержденные клинические рекомендации по ведению пациентов с ТМА, развившейся на фоне антиангиогенной терапии, однако, в литературе встречаются единичные публикации, посвященные данной проблеме. Так Izzedine и соавт. провели проспективное когортное пилотное

исследование с включением 17 пациентов, у которых развилась морфологически подтвержденная ТМА на фоне антиангиогенных препаратов (медиана развития составила 3 месяца от начала терапии) [73]. Пациентам останавливали лечение анти-VEGF препаратами, далее они были рандомизированы в две группы: в первой группе пациенты получали интенсивную терапию (максимально переносимую дозу антигипертензивных препаратов + глюкокортикостероиды в дозе 0,5–1 мг/кг + терапию свежезамороженной плазмой), а во второй – стандартную терапию (только максимально переносимую дозу антигипертензивных препаратов). В качестве антигипертензивных препаратов использовали ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, блокаторы ангиотензиновых рецепторов, блокаторы  $\beta$ -адренорецепторов, диуретики, блокаторы кальциевых каналов [72]. Не было получено статистически значимых различий с точки зрения увеличения СКФ между группами: стандартной консервативной терапии оказалось достаточно для восстановления функции почек.

Учитывая патогенез ТМА, возможно, терапевтической значимостью могут обладать также антикоагулянтные препараты. Такой подход используется в терапии ТМА, развившейся в результате системной красной волчанки, антифосфолипидного синдрома и COVID-19 [21, 135, 171].

### **1.3. Маркеры нефротоксичности**

В современной клинической фармакологии нефротоксичность лекарственных препаратов остается одной из наиболее актуальных проблем, поскольку приблизительно 25% случаев острого почечного повреждения ассоциированы именно с нефротоксическим действием лекарственных средств. ОПП – синдром внезапной потери функции почек, который сопровождается нарушением диуреза вплоть до анурии и ассоциируется с высоким риском ранней и отсроченной летальности, а также последующим развитием хронизации [1]. Согласно критериям KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) от 2012г., ОПП характеризуется либо повышением креатинина сыворотки в  $\geq 1,5$  раз по сравнению

с исходным уровнем (если это известно, или предполагается, что это произошло в течение предшествующих 7 дней), либо при выделении объема мочи  $< 0,5$  мл/кг/час за 6 часов, либо при повышении креатинина сыворотки на  $\geq 0,3$  мг/дл (или  $\geq 26,5$  мкмоль/л) в течение 48 часов [98]. Все перечисленные критерии относятся к уже развившемуся повреждению почек, а современные рутинные лабораторные исследования не обнаруживают проблему повреждения почек на ее ранних этапах, а также не позволяют выявить так называемую группу риска развития нефротоксичности [37, 95].

Механизм нефротоксичности, вызванной лекарственными препаратами, включает токсичность для клеток почечных канальцев, кристаллическую нефропатию, изменения в гломерулярной гемодинамике, рабдомиолиз и тромботическую микроангиопатию [97].

В настоящее время в рутинной клинической практике используется сывороточный креатинин как маркер почечного повреждения, но он не является идеальным биомаркером для выявления ОПП по ряду причин. Во-первых, даже на нормальный уровень креатинина в сыворотке влияют несколько внепочечных факторов, таких как возраст, пол, мышечная масса, мышечный метаболизм, медикаменты, состояние гидратации, состояние питания и секреция канальцев. Во-вторых, из-за ряд острых и хронических заболеваний почек могут протекать без увеличения уровня креатинина в сыворотке. Предполагается, что для повышения уровня креатинина должно быть потеряно более 50% функции почек. В-третьих, концентрация креатинина в сыворотке крови не отражают истинного снижения СКФ в острой фазе, поскольку должно пройти несколько часов или дней, прежде чем установится новое равновесие между образованием креатинина и снижением его экскреции [95].

Существует потребность в надежном биомаркере раннего повреждения почек, который должен быть чувствительным, специфичным, отражать ранние изменения после повреждения почек, быть легко измеримым и не требовать введения экзогенного вещества.

В идеальных условиях клинически применимые биомаркеры нефротоксичности должны [33, 82]:

- быть неинвазивными
- обнаруживаться в легкодоступных биологических образцах, таких как кровь или моча
- быстро и надежно измеряться с помощью стандартизированных платформ для клинического анализа
- быть чувствительными
- иметь широкий динамический диапазон и предельные значения, которые учитывают стратификацию риска
- демонстрировать высокие показатели биомаркеров при статистическом анализе, включая проверку точности по кривым рабочих характеристик
- быть высокоспецифичными

В настоящее время нет общепризнанных биомаркеров, которые могли бы применяться для определения нефротоксичности на ранних стадиях, до развития клинических проявлений, однако некоторые из них зарекомендовали себя как потенциально эффективные маркеры почечного повреждения.

### **1.3.1. Липокалин, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой (NGAL)**

По данным мировой литературы одним многообещающих биомаркеров является липокалин, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой (NGAL), который также встречается в публикациях как «липокалин 2» [94].

NGAL экспрессируется в небольших количествах в некоторых тканях человека, однако его экспрессия заметно повышается в поврежденных эпителиальных клетках, включая почку, толстую кишку, печень и легкие [103].

Показано, что экспрессия NGAL значительно активизируется в почке сразу же после острого повреждения, например, ишемического или прямого нефротоксического (в том числе и при использовании цисплатина) [104, 106, 146, 173].

Экспрессия NGAL активируется после ОПП в дистальных сегментах нефрона - особенно в толстой восходящей части петли Генле и собирательных трубочках [133]. Гиперэкспрессия NGAL в дистальных канальцах и быстрая секреция вероятна только в том случае, если имеется сопутствующее повреждение проксимального отдела почечных канальцев, которое препятствует реабсорбции NGAL и/или увеличивает его синтез *de novo* [106].

При этом повышение уровня NGAL в моче и сыворотке коррелирует с уровнем креатинина в сыворотке крови (однако нарастание креатинина происходит значительно медленнее нарастания уровня NGAL), а при ИГХ ткани почек пациентов с ОПП отмечается интенсивное окрашивание NGAL в канальцах коркового слоя почки, подтверждая, что NGAL является чувствительным маркером ОПП.

Кроме того, отмечено повышение уровня NGAL в моче у пациентов после использования аprotинина во время кардиологических операций до развития клинически значимого острого почечного повреждения с соответствующим повышением креатинина, что свидетельствует о потенциальном использовании NGAL для прогнозирования нефротоксичности [48, 158].

Ряд исследований продемонстрировал важность ранних измерений NGAL в моче для прогнозирования тяжести и клинических исходов ОПП. В ряде исследований раннее повышение уровня NGAL в моче коррелирует с продолжительностью и тяжестью почечного повреждения, продолжительностью пребывания в стационаре, потребностью в проведении гемодиализа и смертью [29, 83, 157]. В совокупности опубликованные исследования выявили значимость раннего повышения NGAL (с AUC-ROC 0,78) для прогнозирования потребности в последующем гемодиализе. Кроме того, в ряде исследований, проведенных в кардиохирургических стационарах и отделениях реанимации, раннее повышение NGAL было определено как важный прогностический маркер смертности (с общим AUC-ROC 0,71) в этих группах пациентов [30, 83, 125].

### 1.3.2. Молекула повреждения почек (KIM-1)

Молекула, индуцированная повреждением почек (KIM-1), представляет собой трансмембранный белок проксимальных канальцев, который практически не выделяется с мочой в нормальных условиях [69, 84]. При ишемическом повреждении или под действием нефротоксичных препаратов внеклеточный домен KIM-1 отделяется от клеточной мембраны эпителия канальцев и проникает в мочу [156]. Литературные данные свидетельствуют о том, что повышение уровня KIM-1 в моче является чувствительным и специфическим биомаркером для различных форм нефротоксического повреждения, а также на ранних стадиях развития хронических заболеваний почек [37]. Уже через 48 ч после возникновения реперфузионного повреждения экспрессия KIM-1 может быть обнаружена в недифференцированных пролиферирующих клетках эпителия проксимальных канальцев [36].

Согласно опубликованным данным, повышение уровня KIM-1 в моче предшествует обнаружению морфологических изменений у пациентов с почечным повреждением определенной этиологии [96, 120]. Метаанализ, включающий 11 исследований и 2979 пациентов, оценил показатель специфичности мочевого KIM-1 для диагностики острого почечного повреждения на 86,0% и чувствительности на 74,0% [136].

В эксперименте повышение экспрессии гена KIM-1 отражает продолжающееся повреждение в различных тубуло-интерстициальных сегментах в корковом слое почки [43]. В другом исследовании, включающем 4750 пациентов, наблюдавшихся в течение более 10 лет, повышенные уровни KIM-1 коррелировали со снижением расчетной СКФ, предполагая, что этот биомаркер может быть использован для прогнозирования ухудшения почечной функции у людей среднего возраста [134]. По этим причинам повышение KIM-1 в моче может рассматриваться как биомаркер повреждения почек и может иметь прогностическую ценность при применении нефротоксичных препаратов [49, 153].

Как на лабораторных моделях, так и в исследованиях у человека показано, что КИМ-1 является маркером нефротоксичности цисплатина [113, 129, 141]. Уровень КИМ-1 в моче повышался после однократного введения цисплатина, и это повышение соответствовало тяжести последующего ОПП. Таким образом, ранее повышение КИМ-1 в моче может предсказать развитие ОПП, вызванное цисплатином [105, 124].

### **1.3.3. Фактор, индуцируемый гипоксией (HIF-1 $\alpha$ )**

HIF-1 $\alpha$  или фактор, индуцируемый гипоксией, представляет собой протеин, вырабатываемый в клетке в ответ на снижение концентрации кислорода. Этот фактор вносит свой вклад в адаптацию клеток опухоли к гипоксическому состоянию, стимулирует неоангиогенез, миграцию эндотелиоцитов и приводит к повышению микрососудистой плотности в опухоли через запуск транскрипции генов сигнального каскада VEGF. Доказано, что гиперэкспрессия HIF-1 $\alpha$  является негативным прогностическим фактором при злокачественных новообразованиях и коррелирует со снижением общей выживаемости [31].

Описано, что HIF-1 $\alpha$  может быть вовлечен в механизмы нефротоксичности, индуцированные цисплатином, поскольку у экспериментальных животных продемонстрировано повышение уровня мРНК HIF-1 $\alpha$  после введения цисплатина [87]. Помимо непосредственно токсического действия на клетки почечных канальцев, цисплатин может влиять на сосуды, вызывая гипоперфузию тканей и гипоксию [138]. При применении антиангиогенных препаратов в опухолевой ткани неминуемо наступает гипоксическое состояние, что в свою очередь запускает попытки стимуляции неоангиогенеза путем увеличения секреции HIF-1 $\alpha$  и постоянного рекрутирования эндотелиоцитов [32].

Впервые HIF-1 $\alpha$  как маркер почечного повреждения изучен в кардиологической практике. По-видимому, повышение продукции этого фактора в условиях гипоксии имеет компенсаторное протективное значение. Так, при острой декомпенсации хронической сердечной недостаточности удалось доказать, что

уровень плазменного HIF-1 $\alpha$  был в два раза выше у умерших пациентов с ОПП, чем у выживших больных (1,64 $\pm$ 0,9 нг/мл и 1,17 $\pm$ 0,44 нг/мл, соответственно,  $p=0,004$ ) [6].

По данным литературы, интенсивность экспрессии HIF-1 $\alpha$  обратно коррелирует с показателем СКФ [28]. Также отмечено, что повышение уровня HIF-1 $\alpha$  развивается при хронической болезни почек. В почках кислород диффундирует путем шунтирования между венозными и артериальными сосудами, что приводит к относительно низкому парциальному давлению кислорода в тканях, особенно в мозговом веществе почек. При этом канальцы почек потребляют достаточно большое количество кислорода. Это несоответствие приводит к тому, что почки являются очень уязвимыми к гипоксическому повреждению. Поэтому HIF-1 $\alpha$  в ткани и в моче может играть важную роль как в диагностике острого почечного повреждения, так и хронической болезни почек [138].

Помимо измерения уровня HIF-1 $\alpha$  в плазме крови появляются данные об изучении уровня HIF-1 $\alpha$  в моче. Так Ма и соавт. проанализировали уровень HIF-1 $\alpha$  в моче у больных волчаночным нефритом с нарушением функции почек. Оказалось, что уровень HIF-1 $\alpha$  был значительно выше в моче пациентов с волчаночным нефритом, чем в моче здоровых пациентов, при этом нарастание уровня этого фактора в моче обратно коррелировало со показателем СКФ [89].

#### **1.3.4. Нефрин**

Нефрин представляет собой трансмембранный подоцитарный белок, который лежит в основе структуры щелевой диафрагмы и отвечает за ее селективную проницаемость для белков плазмы крови. Доказано, что при повреждении клубочков происходит усиленная экскреция нефрина с мочой за счет повреждения подоцитов: при нарушении структуры нефрина происходит нарушение архитектоники подоцита, сглаживание отростков ножек подоцитов, их отслоение от базальной мембраны и, как следствие, появляется протеинурия [66, 118].

VEGF экспрессируется в подоцитах, а также в клетках проксимальных и дистальных канальцев почек. При этом секретируемый VEGF необходим для поддержания структуры и функции клеток эндотелия, так и самих подоцитов [55].

Отмечено, что нефрин является ранним биомаркером повреждения подоцитов. Так, например, при сахарном диабете 2-го типа отмечена ранняя экскреция нефрина с мочой, предшествующая развитию клинически значимой альбуминурии и снижению СКФ [18, 82]. Аналогичные данные получены и при повреждении почек у беременных при развитии преэклампсии, а также у пациентов с ревматоидным артритом [115, 161]. По данным анализа базы научной зарубежной литературы NIH (National institute of Health) содержание нефрина в моче после введения цисплатина не изучалось, однако, выполнялся молекулярно-генетический анализ плазмы крови крыс с целью оценки уровня экспрессии мРНК гена нефрина после введения цисплатина. Исследователям удалось продемонстрировать снижение экспрессии мРНК нефрина после введения цисплатина в экспериментальной группе крыс [162].

Sugimoto и соавт. продемонстрировали, что при блокаде VEGF антиангиогенными препаратами происходит подавление транскрипции гена нефрина, увеличение его экскреции и развитие протеинурии [145].

Полученные данные могут косвенно свидетельствовать о потенциальной актуальности нефрина в качестве биомаркера ранней нефротоксичности после введения антиангиогенных препаратов.

#### **1.4. Заключение**

Несмотря на высокую эффективность противоопухолевой терапии как цисплатином, так и анти-VEGF препаратами, их использование сопряжено с развитием нежелательных явлений, одним из которых является нефротоксичность.

Цисплатин-ассоциированная нефротоксичность была описана еще на заре применения цисплатина в онкологической практике и до настоящего времени остается крайне значимой, поскольку встречается приблизительно у 30%

пациентов, получивших одно введение препарата в дозе 50-100 мг/м<sup>2</sup> [67, 116, 117]. После внутривенного введения приблизительно 60-90% цисплатина связывается с белками плазмы и экстретируется почками в течение первых 24 часов. Повреждение почек, ассоциированное с цисплатином, связано с прямым действием на клетки канальцев.

В ряде случаев повреждение почек на фоне терапии цисплатином является необратимым и лимитирует последующее применение химиопрепаратов в лечении пациентов, что является критически важным для их жизненного прогноза. Как правило, нефротоксичность проявляется снижением уровня скорости клубочковой фильтрации (СКФ), повышением уровня сывороточного креатинина и развитием протеинурии [26, 66].

Механизм нефротоксичности при применении анти-VEGF препаратов отличен от цисплатин-ассоциированного повреждения почек. Блокада сигнального каскада VEGFA приводит к подоцит-специфическому повреждению почек и ишемическому повреждению вследствие развития тромботической микроангиопатии (ТМА). ТМА представляет собой особый тип поражения мелких внутриорганных сосудов, преимущественно почечных, и характеризуется сочетанием острых тромбозов, отека эндотелиальных клеток с отслойкой от базальной мембраны, утолщения сосудистой стенки с хроническими сосудистыми изменениями, включающими фиброзную гиперплазию интимы, артерио- и артериолосклероз и организующиеся тромбы с реканализацией или без нее, что в итоге приводит к фиброзной окклюзии пораженных сосудов и может вызвать ишемическую атрофию коры почек вследствие нарушений перфузии [54]. Клинически ТМА проявляется как микроангиопатическая гемолитическая анемия, тромбоцитопения, артериальная гипертензия, острое повреждение почек с гематурией и протеинурией.

Именно поэтому крайне важен поиск ранних биомаркеров, которые бы позволили прогнозировать развитие снижения СКФ до того, как повреждение почек станет необратимым. Как правило, в качестве биомаркеров используется уровень сывороточного креатинина, однако он не может считаться «идеальным» и

«ранним» биомаркером, поскольку повышение креатинина в плазме крови происходит после утраты около 50% функции почек [95].

Выявление биомаркеров, которые позволят распознавать процессы ишемии почечного интерстиция и повреждение клубочков на ранних стадиях, может способствовать снижению риска почечной дисфункции при оптимизации лечения и сопутствующей терапии [152]. В настоящее время известна роль NGAL, KIM-1 и нефрина в моче как ранних маркеров острого почечного повреждения при ишемическом и токсическом повреждении, например, при терапии цисплатином [36, 156]. NGAL, KIM-1 отражают повреждение канальцев почек, в то время как нефрин является маркером повреждения подоцитов. Увеличение концентрации NGAL, KIM-1 и нефрина прямо коррелирует с уровнем сывороточного креатинина, но при этом скорость нарастания значительно превышает таковую у креатинина [104, 173]. Предполагают значение HIF-1 $\alpha$  как маркера острого повреждения почек [138].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Дизайн исследования

Диссертация выполнена в формате проспективного открытого клинического исследования. Группы пациентов формировались при помощи вероятностного метода (стратифицированной выборки) из популяции пациентов, получавших лечение в отделении химиотерапии и в отделении дневного стационара по химиотерапевтическому профилю ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова» ДЗМ.

Набор пациентов осуществлялся в период с февраля 2020 года по апрель 2021 года. Всего обследовано 100 больных, получавших лечение по поводу злокачественных новообразований, сформированы 2 группы:

В группу 1 (n=50): вошли пациенты, получавшие терапию цисплатином.

В группу 2 (n=50): вошли пациенты, получавшие терапию внутривенными антиангиогенными (анти-VEGF) препаратами.

#### 2.1.1. Критерии включения пациента в исследование

1. Возраст пациента от 18 до 80 лет.
2. Пациент получает терапию цисплатином (в сочетании с препаратами, не обладающими нефротоксичностью) или антиангиогенными препаратами (афлиберцепт/бевацизумаб/рамуцирумаб) в комбинации с химиопрепаратами, не обладающими нефротоксичностью.
3. Способность пациента выполнять процедуры исследования и предоставить письменное информированное согласие больного, соответствующее принципам GCP.

### 2.1.2. Критерии невключения пациента в исследование

1. Пациенты со злокачественными новообразованиями почек и мочевыводящих путей.
2. Пациенты, имеющие признаки активной инфекции мочевыводящих путей.
3. Пациенты с исходным уровнем расчетной СКФ  $<60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> по формуле СКД-ЕРІ
4. Пациенты с высокой альбуминурией более 30 мг/сут.
5. Пациенты с положительной пробой Кумбса (признаками аутоиммунного гемолиза).
6. Пациенты с декомпенсацией сердечной недостаточности.
7. Пациенты с неконтролируемой артериальной гипертензией.
8. Пациенты с декомпенсированным сахарным диабетом.
9. Пациенты с распространенным артериосклерозом почечных артерий.
10. Пациенты, имеющие противопоказания к назначению цисплатина или антиангиогенных препаратов.
11. Отказ пациента от проведения исследования.

Использовались следующие режимы химиотерапии с включением цисплатина:

- цисплатин 75 мг/м<sup>2</sup> – д.1 + паклитаксел 80 мг/м<sup>2</sup> – д.1,8,15; 1 раз каждые 4 недели

- цисплатин 75 мг/м<sup>2</sup> – д.1 + паклитаксел 175 мг/м<sup>2</sup> – д.1; 1 раз каждые 3 недели

- РФ: цисплатин 75 мг/м<sup>2</sup> – д.1 + 5-фторурацил 1000 мг/м<sup>2</sup> – д.1-4; 1 раз каждые 3 недели

- ХР: цисплатин 80 мг/м<sup>2</sup> – д.1 + капецитабин 2000 мг/м<sup>2</sup> – д.1-14; 1 раз каждые 3 недели

Медиана длительности терапии составила  $6,2 \pm 0,8$  месяцев.

Использовались следующие режимы химиотерапии с применением анти-VEGF препаратов:

- рамуцирумаб 8 мг/кг; 1 раз каждые 2 недели
  - mFOLFIRI: иринотекан 180 мг/м<sup>2</sup> – д.1, кальция фолинат (лейковорин) 400 мг/м<sup>2</sup> – д.1, 5-фторурацил 2400 мг/м<sup>2</sup> – д.1-2 + бевацизумаб 5 мг/кг – д.1, или афлиберцепт 4 мг/кг – д.1, или рамуцирумаб 8 мг/кг – д.1; 1 раз каждые 2 недели
  - иринотекан 150 мг/м<sup>2</sup> – д.1 + бевацизумаб 5 мг/кг – д.1, или афлиберцепт 4 мг/кг – д.1, или рамуцирумаб 8 мг/кг – д.1; 1 раз каждые 2 недели
  - капецитабин 2500 мг/м<sup>2</sup> – д.1-14 + бевацизумаб 7,5 мг/кг – д.1; 1 раз каждые 3 недели
  - паклитаксел 80 мг/м<sup>2</sup> – д.1,8,15 + бевацизумаб 10 мг/кг или рамуцирумаб 8 мг/кг – д.1,15; 1 раз каждые 4 недели
  - эрибулин 1,4 мг/м<sup>2</sup> – д.1,8 + бевацизумаб 15 мг/кг – д.1; 1 раз каждые 3 недели
- Медиана длительности терапии составила 7,1±0,4 месяцев.

### 2.1.3. Этическая сторона исследования

Исследование проведено с соблюдением этических принципов, заложенных в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Рекомендации для врачей, занимающихся биомедицинскими исследованиями с участием людей» (1964г., с последующими дополнениями, включая версию 2000г.) и отраженных в ОСТ 42-511-99 «Правила проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации» и действующих нормативных требованиях.

Проведение клинического исследования одобрено Локальным этическим комитетом ГБУЗ МКНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ на заседании от 17.02.2020 (протокол №2/2020).

До начала исследования было получено информированное согласие каждого пациента на участие в исследовании.

## 2.2. Протокол обследования и характеристика пациентов

До начала исследования врачом производился сбор анамнеза пациента, отражены данные анамнеза жизни и анамнеза болезни.

### 2.2.1. Сбор анамнестических данных:

1. Анкетная часть: пол, возраст, рост, вес пациента (также производился расчет индекса массы тела (ИМТ) по формуле  $\text{ИМТ} = \text{вес (кг)} / \text{рост}^2 \text{ (м)}$ , статус курения, соматический статус по шкале ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) [114],

2. Медицинский онкологический анамнез: диагноз основного заболевания по коду МКБ-10, вид получаемой противоопухолевой химиотерапии (помимо цисплатина), тип антиангиогенного препарата (афлиберцепт, бевацизумаб, рамуцирумаб), ранее проведенное лечение,

3. Медицинский неонкологический анамнез: наличие сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в анамнезе (острый инфаркт миокарда (ОИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), ишемической болезни сердца (ИБС)), почечного повреждения в анамнезе, прочих сопутствующих заболеваний (сахарного диабета (СД), гипертонической болезни (ГБ)). Также указывался прием сопутствующих лекарственных препаратов: антигипертензивных, анальгетических, антикоагулянтных или иных препаратов, которые могут оказать влияние на скорость клубочковой фильтрации.

### 2.2.2. Клиническая характеристика пациентов

В исследование включены пациенты с распространёнными морфологически верифицированными злокачественными новообразованиями (ЗНО) различной локализации за исключением почек и мочевыводящих путей. Пациенты распределены в две группы в соотношении 1:1, по 50 пациентов в каждой группе. Клиническая характеристика пациентов приведена в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 - Клиническая характеристика пациентов в группе цисплатина  
(Группа 1)

Характеристики	Значение
Возраст, медиана (разброс)	49 (24–75)
Пол, n (%): Женщины Мужчины	26 (52) 24 (48)
Диагноз, n (%): ЗНО ротоглотки (C10) ЗНО носоглотки (C11) ЗНО пищевода (C15) ЗНО желудка (C16) ЗНО гортани (C32) ЗНО молочной железы (C50) ЗНО шейки матки (C53)	6 (12) 5 (10) 5 (10) 5 (10) 9 (18) 16 (32) 4 (8)
ИМТ, медиана (разброс)	25,6 (15,2–42,0)
Статус курильщика, n (%): Курильщик Не курильщик	25 (50) 25 (50)
Функциональный статус, n (%): ECOG (PS) 0 ECOG (PS) 1	43 (86) 7 (14)
Ранее проведенная лучевая терапия, n (%): на область малого таза прочие локализации Нет	0 (0) 11 (22) 39 (78)
Ранее проведенная химиотерапия, n (%): нефротоксическая не нефротоксическая Нет	0 (0) 15 (30) 35 (70)
Сопутствующие заболевания, n (%): ОНМК ОИМ ИБС ГБ СД	2 (4) 1 (2) 14 (28) 26 (52) 6 (12)
Получает химиотерапию в комбинации с, n (%): 5-фторурацил капецитабин паклитаксел	12 (24) 5 (10) 33 (66)
Прием антигипертензивных средств, n (%): иАПФ бАТР β-блокаторы диуретики Нет	26 (52) 10 (20) 8 (16) 6 (12) 2 (4) 24 (48)

<i>Продолжение таблицы 1</i>	
Характеристики	Значение
Прием анальгетических средств, n (%):	17 (34)
парацетамол	5 (10)
ибупрофен	5(10)
нимесулид	2 (4)
трамадол	2 (4)
фентанил	3 (6)
Нет	33 (66)
Прием антикоагулянтных средств, n (%):	14 (28)
НМГ	7 (14)
иХа	7 (14)
Нет	36 (72)
Условные обозначения: ECOG (PS) – соматический статус (Performance Status) по шкале ECOG; ЗНО – злокачественные новообразования; ИМТ – индекс массы тела; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; ОИМ – острый инфаркт миокарда; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ГБ – гипертоническая болезнь; СД – сахарный диабет; иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента; БАТР – блокаторы ангиотензиновых рецепторов; НМГ – низкомолекулярные гепарины; иХа – ингибиторы Ха фактора.	

Таблица 2 - Клиническая характеристика пациентов в группе антиангиогенных препаратов (Группа 2)

Характеристики	Значение
Возраст, медиана (разброс)	46 (24–80)
Пол, n (%):	
Женщины	28 (56)
Мужчины	22 (44)
Диагноз, n (%):	
ЗНО желудка (C16)	4 (8)
ЗНО ободочной кишки (C18)	14 (28)
ЗНО ректосигмоидного соединения (C19)	6 (12)
ЗНО прямой кишки (C20)	6 (12)
ЗНО молочной железы (C50)	10 (20)
ЗНО яичника (C56)	10 (20)
ИМТ, медиана (разброс)	27,3 (16,4–40,3)
Статус курильщика, n (%):	
Курильщик	9 (18)
Не курильщик	41 (82)
Функциональный статус, n (%):	
ECOG (PS) 0	45 (90)
ECOG (PS) 1	5 (10)
Ранее проведенная лучевая терапия, n (%):	
на область малого таза	0 (0)
прочие локализации	3 (6)
Нет	47 (94)
Ранее проведенная химиотерапия, n (%):	
нефротоксическая	1 (2)
не нефротоксическая	16 (32)
Нет	33 (66)

<i>Продолжение таблицы 2</i>	
Характеристики	Значение
Сопутствующие заболевания, n (%):	
ОНМК	1 (2)
ОИМ	2 (4)
ИБС	14 (28)
ГБ	15 (30)
СД	6 (12)
Получает химиотерапию в режиме, n (%):	
Монотерапия	17 (34)
Полихимиотерапия, из них:	33 (66)
5-фторурацил + иринотекан	14 (28)
иринотекан	7 (14)
капецитабин	7 (14)
паклитаксел	3 (6)
эрибулин	2 (4)
Антиангиогенный препарат, n (%):	
Афлиберцепт	10 (20)
Бевацизумаб	29 (58)
Рамуцирумаб	11 (22)
Прием антигипертензивных средств, n (%):	15 (30)
иАПФ	5 (10)
БАТР	7 (14)
β-блокаторы	1 (2)
диуретики	2 (4)
Нет	35 (70)
Прием анальгетических средств, n (%):	12 (24)
парацетамол	3 (6)
ибупрофен	2 (4)
нимесулид	2 (4)
трамадол	2 (4)
фентанил	3 (6)
Нет	38 (76)
Прием антикоагулянтных средств, n (%):	13 (26)
НМГ	6 (12)
иХа	7 (14)
Нет	37 (74)
Условные обозначения: ECOG (PS) – соматический статус (Performance Status) по шкале ECOG; ЗНО – злокачественные новообразования; ИМТ – индекс массы тела; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; ОИМ – острый инфаркт миокарда; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ГБ – гипертоническая болезнь; СД – сахарный диабет; иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента; БАТР – блокаторы ангиотензиновых рецепторов; НМГ – низкомолекулярные гепарины; иХа – ингибиторы Ха фактора.	

### 2.2.3. Оценка клинико-лабораторных показателей

Артериальное давление измерялось при каждом заданном визите) в клинику непосредственно перед введениями препарата в каждой заданной временной точке (до начала лечения, через 1 неделю, через 2, 4 и 8 недель). Измерение

производилось трехкратно на обеих руках с интервалом в 2 минуты с помощью автоматизированного валидированного устройства с манжетой подходящего размера, после нахождения в положении сидя в течение 5 минут, с опорой под спиной, опираясь на пол обеими ногами.

Забор венозной крови для анализа проводили из кубитальной вены натошак, после 8 часов голодания. Первый забор крови осуществлялся непосредственно перед введением препарата, а также через 1 неделю, через 2, 4 и 8 недель после введения препарата.

Расчет скорости клубочковой проводили по креатинину с применением формул СКД-ЕПИ (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, 2012), MDRD (Modification of Diet in Renal Disease, 1999), Кокрофта-Голта (1976). Все три формулы в настоящее время продолжают одновременно применяться в практике врача-химиотерапевта. Для интерпретации полученных результатов в исследовании выбрана формула СКД-ЕПИ как наиболее информативная [2].

### **2.2.3.1. Оценка показателей в группе 1 (цисплатина)**

Оценивались различные лабораторные показатели по данным рутинно выполняемых в клинике анализам:

1. В клиническом анализе крови: уровень гемоглобина (г/л), количество эритроцитов ( $10^6$ /мкл), тромбоцитов ( $10^3$ /мкл).
2. В биохимическом анализе крови: уровень креатинина (мкмоль/л), мочевины (ммоль/л), калия (ммоль/л), альбумина (г/л), лактатдегидрогеназы (Ед/л).
3. Суточная альбуминурия (г/сут), которая измерялась иммунотурбидиметрическим методом.
4. Проводился расчет СКФ по креатинину.

### 2.2.3.2. Определение показателей в группе 2 (анти-VEGF препаратов)

Оценивались различные лабораторные показатели по данным рутинно выполняемых в клинике анализам:

1. В клиническом анализе крови: уровень гемоглобина (г/л), количество эритроцитов ( $10^6$ /мкл), тромбоцитов ( $10^3$ /мкл), шистоцитов в мазке крови (%).
2. В биохимическом анализе крови: уровень креатинина (мкмоль/л), мочевины (ммоль/л), калия (ммоль/л), альбумина (г/л), лактатдегидрогеназы (Ед/л).
3. В коагулограмме: фибриноген (г/л), D-димер (мг/л).
4. Суточная альбуминурия (г/сут), которая измерялась иммунотурбидиметрическим методом.
5. Проводился расчет СКФ по креатинину.

### 2.2.4. Определение уровня маркеров почечного повреждения в моче

В группе 1 определяли уровень биомаркеров NGAL и KIM-1 в моче

В группе 2 определяли уровень биомаркеров NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$ , нефрин в моче.

У всех обследованных больных в обеих группах определение уровня биомаркеров в моче производили непосредственно перед введением препарата, через 1 неделю после введения, через 2, 4 и 8 недель.

Пациенты самостоятельно осуществляли сбор средней порции утренней мочи и суточной мочи для определения альбуминурии в сухой стерильный контейнер, который доставляли в клинику для проведения последующей подготовки образцов.

Подготовка проб мочи:

1. Сбор утренней и суточной мочи пациентов в стерильный сухой контейнер.

2. Забор 10 мл из полученного контейнера в сухие пластиковые стерильные пробирки.

3. Центрифугирование пробирок с целью удаления клеточного и кристаллического осадка. Осуществлялось при комнатной температуре в течение 15 минут, R=3000.

4. Перенос супернатанта в 2 пробирки типа Эппендорф 2,5 мл.

5. Заморозка проб при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения последующего анализа.

Размораживание проб производилось при комнатной температуре непосредственно перед выполнением последующего анализа.

Уровень биомаркеров почечного повреждения (NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$ , нефрин) оценивали в порции утренней мочи методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Концентрации биомаркеров в опытных образцах супернатанта измерены методом ИФА с использованием диагностических наборов согласно прилагающимся к наборам инструкциям:

- «BioVendor» (Чехия) Lipocalin-2/NGAL Human ELISA (кат. №RD191102200R).

Чувствительность: 0,02 нг/мл, разброс определения: от 0,02 нг/мл.

- «RayBio» (США) Human KIM-1 ELISA Kit (кат. №ELH-TIM1).

Чувствительность: 2 пг/мл, разброс определения: 2 пг/мл – 3000 пг/мл.

- «RayBio» (США) Human HIF-1 alpha ELISA Kit (кат. №ELH-HIF-1 $\alpha$ ).

Чувствительность: 61 пг/мл, разброс определения: 61 пг/мл – 15 пг/мл.

- «Cloud Clone» (США) Human ELISA Kit for Nephtrin (кат. №SEA937Hu).

Чувствительность: 0,055 нг/мл, разброс определения: 0,055 нг/мл – 10 нг/мл.

Каждое измерение стандартных и опытных образцов проводили в 2-х повторах. Перед проведением анализа все реагенты набора и опытные образцы выдерживали 30 минут при комнатной температуре.

### 2.2.5. Критерии оценки нефротоксичности препаратов

В течение первых 8 недель от начала терапии оценивали частоту развития острой болезни почек:

- частоту развития острого почечного повреждения согласно критериям KDIGO 2012г. [98],
- число случаев снижения СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>.

Через 9 месяцев от начала терапии оценивали

- частоту отмены терапии по причине нефротоксичности (т.е. протеинурии более 1 г/сут и снижения СКФ менее 30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>),
- частоту тромбозов, кровотечений, неконтролируемой артериальной гипертензии, потребовавших отмены препарата.

### 2.3. Статистическая обработка результатов

Статистический анализ результатов проводили с помощью программы Jamovi (версия 2.2.2).

Для оценки распределения всех количественных признаков использовали критерий Шапиро-Уилка. Для дисперсионного анализа повторных измерений использовали критерий Фридмана (непараметрический анализ ANOVA) с апостериорным анализом критерием Дарбина-Коновера (критерий попарных множественных сравнений). В качестве непараметрического критерия сравнения между двумя группами использовали U-критерий Манна-Уитни, между несколькими группами – критерий Краскела-Уоллиса (с поправкой Бонферрони). Для анализа различий между несвязанными качественными признаками использовали точный тест Фишера и критерий Пирсона.

Нулевую гипотезу отвергали, т.е. статистически достоверными считали отличия, при  $p < 0,05$ .

Анализ корреляции непараметрических данных проводили с помощью метода ранговой корреляции Спирмена.

Для определения факторов риска снижения скорости клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин при лечении анти-VEGF препаратами выполнили логистический регрессионный анализ с включением следующих показателей – возраст, пол, индекс массы тела, наличие сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний (ИБС, ОИМ, ОНМК), артериальной гипертензии, сахарного диабета, статуса курения, учитывался прием обезболивающих препаратов из группы нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), антикоагулянтов. Среди лабораторных параметров оценивали уровень D-димера, гемоглобина, альбумина сыворотки, суточной альбуминурии и концентрация изучаемых биомаркеров в утренней моче до лечения, через 1 неделю и через 2 недели от начала терапии. Последовательно проводили однофакторный и многофакторный анализы с построением прогностической модели. Качество прогностической модели оценивали с помощью коэффициента детерминации  $R^2$ . Оценен показатель отношения шансов (odds ratio, OR) с 95% доверительным интервалом (95%ДИ). Статистически значимыми считали показатели с уровнем значимости  $p < 0,05$ .

Для определения чувствительности и специфичности диагностических методик был применен ROC-анализ (Receiver Operating Characteristic analysis) - математический анализ, позволяющий оценить чувствительность и специфичность диагностической системы. Оценивали следующие параметры:

Чувствительность (sensitivity, Se): вероятность того, что результаты теста будут положительны при наличии болезни (доля истинно положительных случаев).

Специфичность (specificity, Sp): вероятность того, что результаты теста будут отрицательны в случае отсутствия болезни (доля истинно отрицательных случаев).

Предсказательная ценность положительного результата (positive predictive values, PPV): вероятность того, что заболевание присутствует, когда тест положительный.

Предсказательная ценность отрицательного результата (negative predictive values, NPV): вероятность того, что заболевание отсутствует, когда тест отрицательный.

Сравнение ROC-кривых проводили с помощью оценки площади под кривыми – AUC, которая изменяется от 0,5 (диагональ, проходящая через начало координат) до 1 («идеальная» модель) [85]. О качестве диагностической модели судили по шкале значений AUC (Таблица 3).

Таблица 3 - Шкала значений AUC

Интервал AUC	Качество модели
0.9-1.0	«отличное»
0.8-0.9	«очень хорошее»
0.7-0.8	«хорошее»
0.6-0.7	«среднее»
0.5-0.6	«неудовлетворительное»

Для каждого биомаркера рассчитывали точку «отсечения» (cut-off), то есть, пограничное значение биомаркера, которое с высокой вероятностью (высокой чувствительностью и специфичностью) будет прогнозировать нефротоксичность при длительном лечении противоопухолевыми препаратами.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

### 3.1 Динамика лабораторных показателей и биомаркеров при лечении цисплатином (Группа 1)

Артериальная гипертензия с повышением систолического артериального давления (САД) выше 130 мм рт. ст. развилась у 14 (28%) из 50 пациентов. Не отмечено статистически значимого повышения уровня САД в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=5,78$ ;  $df$  4,  $p=0,216$ ) (Рисунок 9, а). Медиана САД во всей выборке пациентов составила 111 (IQR 102-111) мм рт.ст до начала терапии и 115 (IQR 100-132) мм рт.ст. через 8 недель терапии (Таблица 4). Полные данные по попарному сравнению АД и последующих показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.20.

Повышение диастолического артериального давления (ДАД) выше 90 мм рт.ст. развилось у 4 (8%) пациентов. Однако не отмечено статистически достоверного повышения уровня ДАД в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=20,2$ ;  $df$  4,  $p=0,067$ ). Медиана ДАД в нулевой точке составила 78 (IQR 74-80) мм рт.ст до начала терапии и 81 (IQR 78-89) мм рт.ст. через 8 недель терапии.

Отмечено статистически значимое повышение уровня сывороточного креатинина в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=166$ ;  $df$  4,  $p<0,001$ ) (Рисунок 9, б). Медиана креатинина составила 57,5 (IQR 50,3-72,8) мкмоль/л до начала лечения во всей выборке пациентов и 123,0 (IQR 111,0-141,0) мм рт.ст. через 8 недель от начала лечения (Таблица 4). Повышение креатинина выше референсных значений отмечено у 36% пациентов – через 2 недели, у 68% пациентов – через 4 недели и у 96% пациентов – через 8 недель после начала терапии (Рисунок 10).

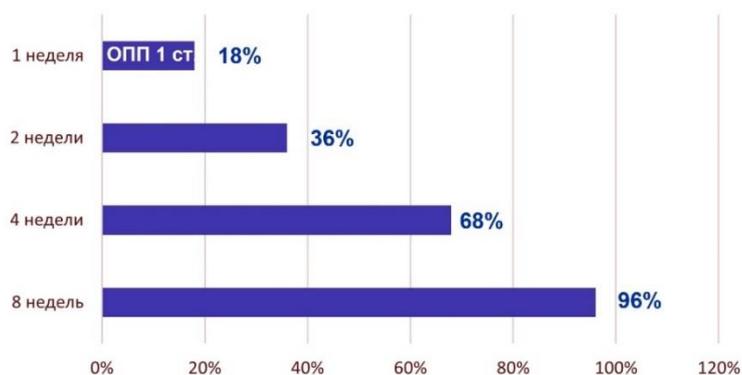


Рисунок 10 – Нарастание уровня креатинина в течение 8 недель от начала лечения в Группе 1 (цисплатин)

Повышение уровня креатинина в течение 1 недели более чем в 1,5 раза при лечении цисплатином препаратами отмечено у 9 (18%) пациентов, что согласно критериям KDIGO соответствует критериям острого повреждения почек 1 стадии. У 3 пациентов отмечалось восстановление функции почек, а у 6 наблюдалось дальнейшее повышение креатинина и снижение СКФ. ОПП 2 и 3 стадий зафиксировано не было.

Снижение расчетной СКФ (рСКФ) по формуле СКD-EPI менее 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> на 8 неделе лечения отмечено у 11 (22%) больных. Выявлено статистически значимое снижение рСКФ в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=32,3$ ; df 4,  $p<0,001$ ; Рисунок 9, в). Медиана рСКФ в группе составила 93,5 (IQR 80,3-106,0) мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> до начала лечения и 78,0 (IQR 63,5-91,5) мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> через 8 недель лечения (Таблица 4). Через 4 недели после начала терапии снижение рСКФ ниже 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> отмечено у 12% пациентов, а через 8 недель – у 22% пациентов.

Таким образом, случаи возникновения ОПП и снижения СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> к 8 неделе терапии цисплатином, которые можно объединить термином острая болезнь почек, составили 34% больных (n=17).

Мы использовали различные формулы для оценки расчетной СКФ (СКD-EPI, MDRD и Кокрофта-Голта) с целью определения той формулы, которая раньше других выявляет снижение СКФ при лечении цисплатином. Оказалось, что

наибольшее количество случаев снижения рСКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> к 8 неделе было выявлено с помощью формулы СКD-EPI – 11 случаев. Согласно формуле Кокрофта-Голта снижения СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> к 8 неделе лечения достигли 2 пациента; MDRD – 8 пациентов; СКD-EPI – 11 пациентов. Следовательно, при использовании формулы Кокрофта-Голта развитие нефротоксичности к 8 неделе лечения вероятно было пропущено у 82% пациентов, формулы MDRD – у 27% пациентов. Наибольшее число случаев снижения СКФ было выявлено при использовании формулы СКD-EPI.

Не отмечено достоверных различий в снижении рСКФ между подгруппами пациентов с различной локализацией злокачественного новообразования при попарном анализе непараметрическим критерием Краскела-Уоллиса ( $\chi^2_{KW} = 3,55$ ,  $p=0,616$ , Рисунок 11, а). Также не отмечено статистически значимых различий в динамике рСКФ в подгруппах пациентов, получавших в комбинации с цисплатином 5-фторурацил, капецитабин и паклитаксел ( $\chi^2_{KW} = 1,97$ ,  $p=0,374$ , Рисунок 11, б).

Не отмечено статистически значимого повышение уровня мочевины в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=5,78$ ;  $df 4$ ,  $p=0,116$ ) (Рисунок 9, з). Медиана уровня мочевины до начала лечения во всей выборке пациентов составила 5,20 (IQR 3,40-6,68) мкмоль/л и 4,90 (IQR 4,70-5,30 мкмоль/л через 8 недель (Таблица 4).

Отмечено повышение уровня калия в течение 8 недель терапии, однако у большинства пациентов калий оставался в пределах референсных значений ( $\chi^2=42$ ;  $df 4$ ,  $p<0,001$ , Рисунок 9, д). До начала лечения медиана уровня калия составила 4,47 (IQR 4,11-4,73) ммоль/л, а через 8 недель от начала терапии – 5,00 (IQR 4,64-5,29) ммоль/л (Таблица 4).

Уровень альбумина в сыворотке крови снижался в течение 8 недель ( $\chi^2=145$ ;  $df 4$ ,  $p<0,001$ , Рисунок 9, е). Медиана уровня альбумина составила 45,7 (IQR 43,3-49,4) г/л до начала терапии и 30,9 (IQR 29,1-32,5) г/л через 8 недель лечения (Таблица 4).

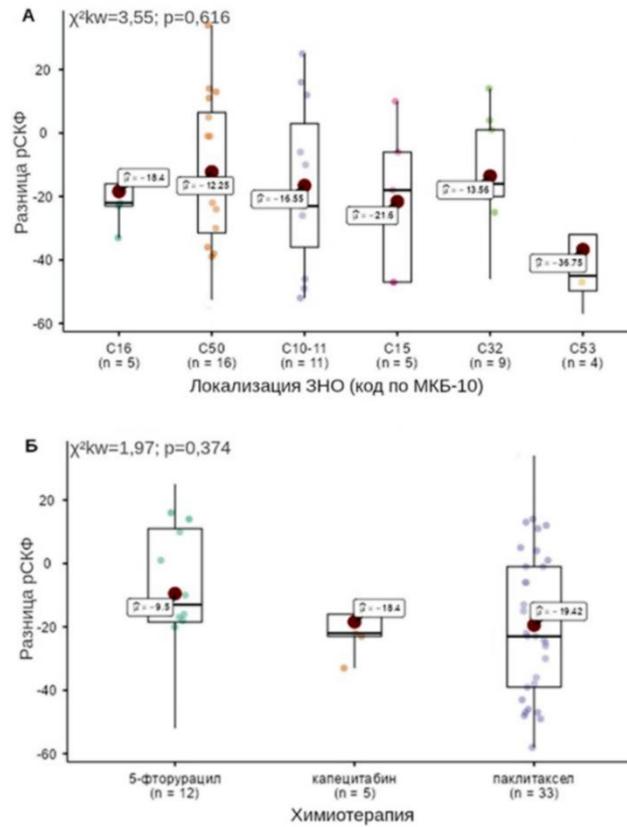
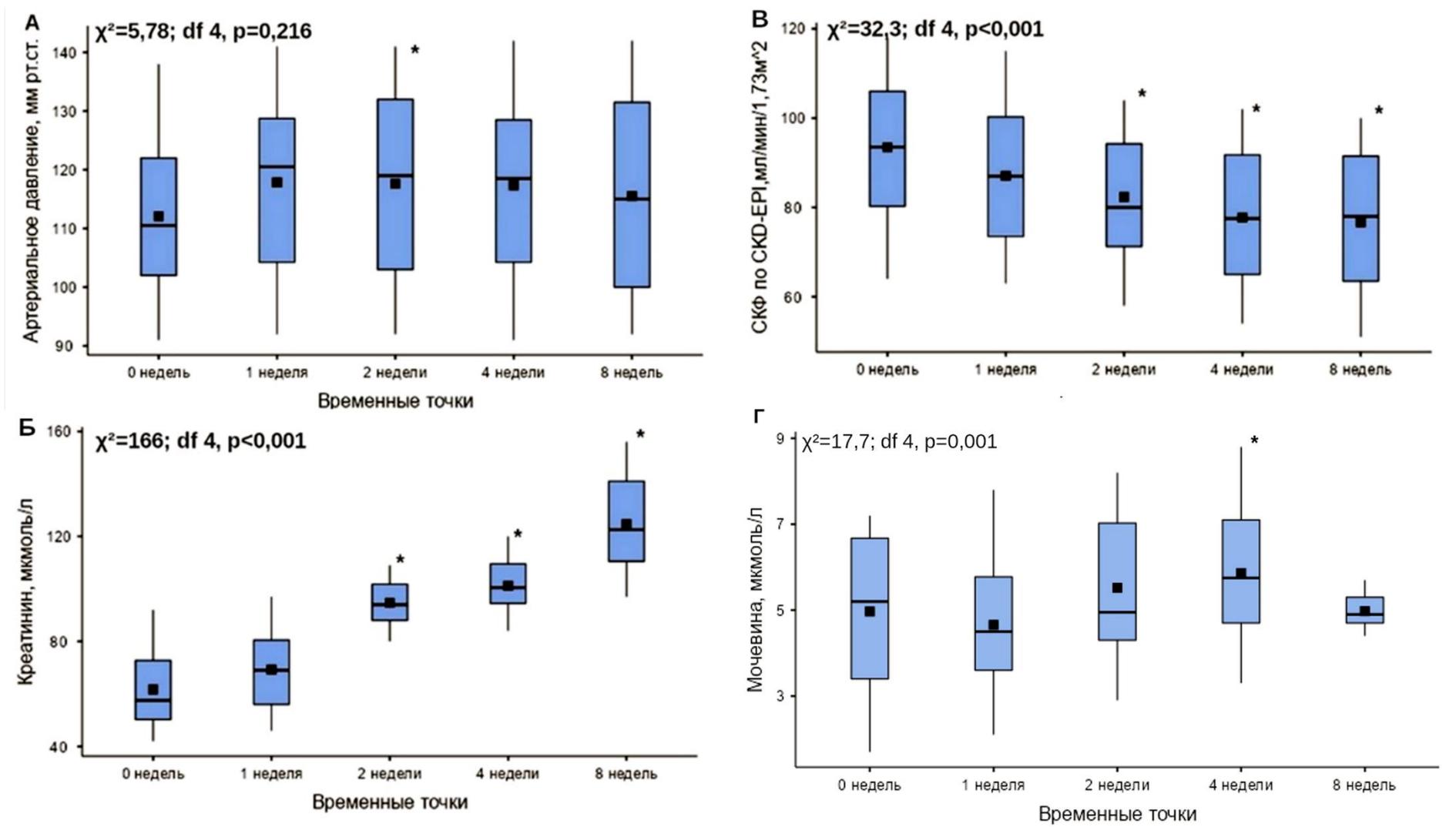


Рисунок 11 - Динамика рСКФ при лечении цисплатином в зависимости от: а) локализации злокачественного образования; б) химиотерапевтического компаньона. На рисунке представлена медиана и интерквартильный размах (25 и 75%)

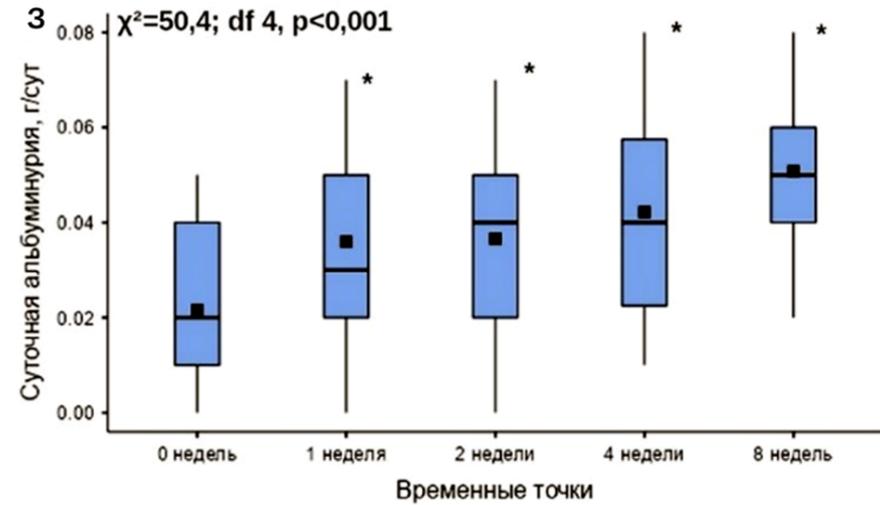
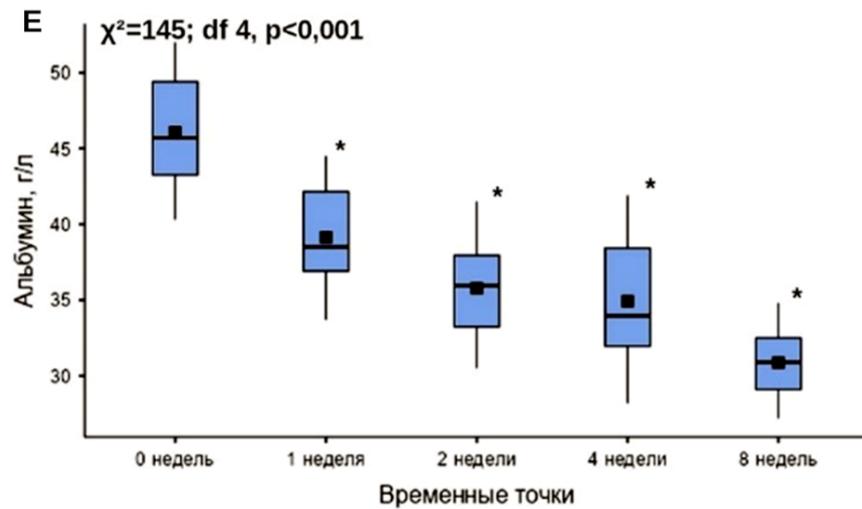
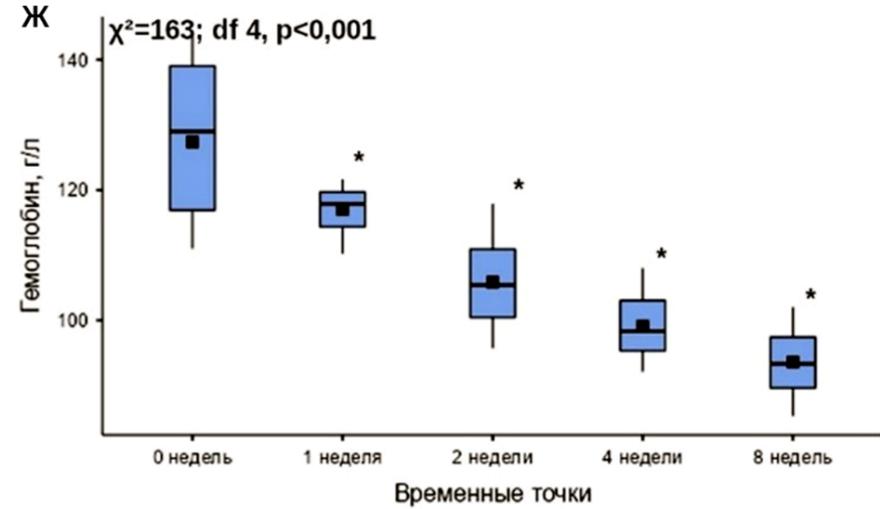
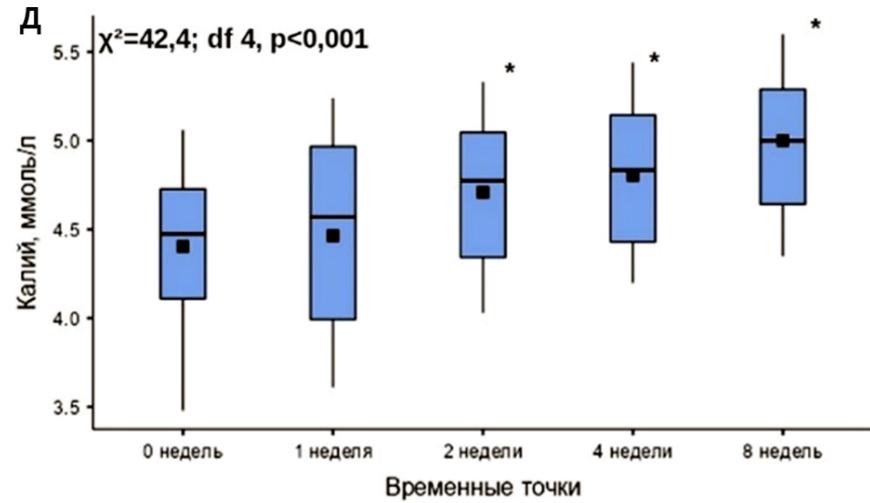
Анемия была выявлена у всех обследованных пациентов на 8 неделе лечения цисплатином при этом у всех пациентов уровень гемоглобина составил менее 105 г/л. Отмечено статистически значимое снижение уровня гемоглобина в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=163; df 4, p<0,001$ , Рисунок 9, ж). Медиана гемоглобина во всей выборке пациентов составила 129,0 (IQR 117,0-139,0) г/л до начала терапии и 93,3 (IQR 89,6-97,4) г/л через 8 недель терапии (Таблица 4).

Помимо повышения креатинина и снижения СКФ отмечено небольшое нарастание альбуминурии в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=50,4; df 4, p<0,001$ , Рисунок 9, з). Медиана суточной альбуминурии во всей выборке пациентов составила: 10,9 (IQR 7,85-14,7) мг/сут до начала лечения и 23,6 (IQR 18,9-28,8) мг/сут через 8 недель наблюдения (Таблица 4).



Условные обозначения: ■ – медиана показателя; \* ( $p<0,05$ ).

Рисунок 9 - Динамика клинико-лабораторных показателей при лечении цисплатином: а) АД; б) креатинин; в) рСКФ; г) мочевина. Подробные данные по попарному сравнению показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.20



Условные обозначения: — - медиана; ■ – среднее значение; \* ( $p<0,05$ ).

Окончание рисунка 9 - Динамика клинико-лабораторных показателей при лечении цисплатином: д) калий; е) альбумин; ж) гемоглобин; з) суточная альбуминурия. Подробные данные по попарному сравнению показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.20

Таблица 4 – Динамика клинико-лабораторных показателей в процессе лечения  
цисплатином

	0 недель	1 неделя	2 недели	4 недели	8 недель
<b>Систолическое артериальное давление</b>					
Медиана, мм рт.ст.	111	121	119	119	115
Разброс	91-138	92-141	92-141	91-142	92-142
25-ый процентиль	102	104	103	104	100
75-ый процентиль	111	129	132	129	132
<b>Креатинин</b>					
Медиана, мкмоль/л	57,5	69,0	94,0	101,0	123,0
25-ый процентиль	50,3	56,0	88,0	94,5	111,0
75-ый процентиль	72,8	80,5	102,0	110,0	141,0
<b>рСКФ по формуле СКД-EPI</b>					
Медиана, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	93,5	87,0	80,0	77,5	78,0
25-ый процентиль	80,3	73,5	71,3	65,0	63,5
75-ый процентиль	106,0	100,0	94,3	91,8	91,5
<b>Мочевина</b>					
Медиана, мкмоль/л	5,20	4,50	4,95	5,75	4,90
25-ый процентиль	3,40	3,60	4,30	4,70	4,70
75-ый процентиль	6,68	5,77	7,02	7,10	5,30
<b>Калий</b>					
Медиана, ммоль/л	4,47	4,57	4,78	4,83	5,00
25-ый процентиль	4,11	3,99	4,34	4,43	4,64
75-ый процентиль	4,73	4,97	5,05	5,15	5,29
<b>Альбумин</b>					
Медиана, г/л	25,7	38,5	36,0	34,0	30,9
25-ый процентиль	28,3	36,9	33,2	31,9	29,1
75-ый процентиль	24,4	42,2	38,0	38,4	32,5
<b>Гемоглобин</b>					
Медиана, г/л	129,0	118,0	105,0	98,3	93,3
25-ый процентиль	117,0	114,0	100,0	95,3	89,6
75-ый процентиль	139,0	120,0	111,0	103,0	97,4
<b>Суточная альбуминурия</b>					
Медиана, мг/сут	10,9	16,6	18,7	22,9	23,6
25-ый процентиль	7,85	14,9	14,8	18,5	18,9
75-ый процентиль	14,7	20,5	21,8	28,5	28,8

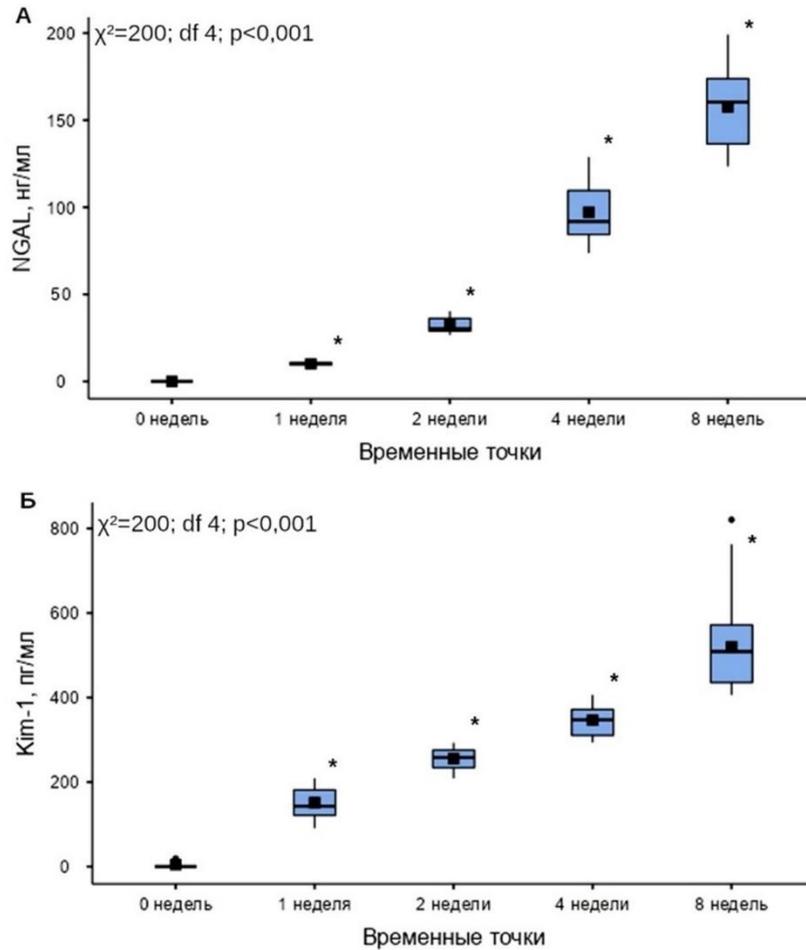
### 3.1.1 Динамика маркеров почечного повреждения в моче в группе цисплатина

Мы оценили уровень NGAL и KIM-1 в моче в динамике при лечении цисплатином как показателей прямого токсического повреждения канальцев. Отмечалось нарастание уровня NGAL в моче ( $\chi^2=200$ ; df 4,  $p<0,001$ , Рисунок 12, а), при этом статистически значимое увеличение отмечено уже через 1 неделю после введения цисплатина ( $p<0,001$ ). До начала лечения медиана уровня NGAL в моче составила  $1,00 \times 10^{-4}$  нг/мл, а через 8 недель терапии уровень NGAL в моче многократно превышал исходные значения и составил 160,0 (IQR 136,0-174,0) нг/мл (Таблица 5). Подробные данные по попарному сравнению показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.21.

Наряду с повышением NGAL через неделю после введения цисплатина выявлено статистически значимое нарастание уровня KIM-1 в моче ( $\chi^2=200$ ; df 4,  $p<0,001$ , Рисунок 12, б). До начала лечения KIM-1 в моче не определялся 0,00 пг/мл, а через 8 недель терапии уровень KIM-1 в моче составил 509,00 (IQR 435,0-572,0) пг/мл (Таблица 5).

Таблица 5 - Динамика NGAL и KIM-1 в моче в процессе лечения цисплатином

	0 недель	1 неделя	2 недели	4 недели	8 недель
NGAL					
Медиана, нг/мл	$1,00 \times 10^{-4}$	10,1	30,2	91,8	160
25-ый процентиль	$1,00 \times 10^{-4}$	9,44	28,9	84,4	136,0
75-ый процентиль	$1,00 \times 10^{-4}$	10,7	36,1	110,0	174,0
KIM-1					
Медиана, пг/мл	0	143	258	347	509
25-ый процентиль	0	121	234	310	435
75-ый процентиль	0	181	275	372	572



Условные обозначения: — - медиана; ■ – среднее значение; \* ( $p<0,05$ ).

Рисунок 12 - Динамика биомаркеров в моче в процессе лечения в процессе лечения цисплатином: а) NGAL; б) KIM-1. Подробные данные по попарному сравнению показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.21

### 3.2 Взаимосвязь между клинико-лабораторными показателями токсичности цисплатина

При проведении корреляционного анализа не было выявлено взаимосвязей между отдельными клинико-лабораторными показателями и уровнями биомаркеров в моче за исключением корреляции между уровнем KIM-1 и СКФ на восьмой неделе наблюдения (Таблица б).

Таблица 6 - Корреляционный анализ клинико-лабораторных показателей и биомаркеров NGAL и KIM-1 в моче, оцененными на 4 и 8 неделях от начала лечения. В таблице представлен показатель значимости  $p$

	4 недели		8 недель	
	NGAL	KIM-1	NGAL	KIM-1
САД	0,880	0,830	0,340	0,391
Креатинин	0,555	0,551	0,924	0,879
СКФ	0,700	0,352	0,458	<0,001 * rho= -0,640
Мочевина	0,056	0,667	0,172	0,401
Альбумин	0,591	0,806	0,548	0,714
Калий	0,265	0,490	0,670	0,271
Гемоглобин	0,497	0,959	0,621	0,586
Тромбоциты	0,411	0,276	0,761	0,286
ЛДГ	0,464	0,102	0,826	0,571
Альбуминурия	0,906	0,309	0,991	0,200
Условные обозначения: * $p < 0,05$ ; Rho – коэффициент ранговой корреляции Спирмена				

Определена прямая корреляционная зависимость нарастания уровня биомаркеров от разовой и кумулятивной дозы цисплатина к 8-ой неделе лечения (Таблица 7).

Таблица 7 - Корреляционный анализ дозы цисплатина и биомаркеров NGAL и KIM-1 в моче, оцененный 8 неделе от начала лечения. В таблице представлен показатель значимости  $p$

	NGAL	KIM-1
Разовая доза цисплатина	<0,001 * rho= 0,872	<0,001 * rho= 0,589
Кумулятивная доза цисплатина	<0,001 * rho= 0,872	<0,001 * rho= 0,589
Условные обозначения: * $p < 0,05$ ; Rho – коэффициент ранговой корреляции Спирмена		

### 3.3 Прогнозирование нефротоксичности цисплатина

#### 3.3.1 Факторы риска нефротоксичности цисплатина

При проведении однофакторного логистического регрессионного анализа было установлено несколько достоверных факторов риска нефротоксичности цисплатина (ОБП) к 8 неделе терапии - возраст, женский пол, наличие артериальной гипертензии, ИМТ, наличие сердечно-сосудистых заболеваний, снижение рСКФ менее 80 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> до начала лечения, локализация опухоли, разовая доза цисплатина и уровень в моче NGAL и KIM-1 через неделю терапии. (Таблица 8), при этом наиболее значимым фактором оказался NGAL-1 в моче, в меньшей степени на риск повреждения почек влиял уровень KIM-1 в моче, оцененные через 1 неделю терапии. В многофакторном регрессионном анализе независимыми факторами риска оказались повышение биомаркеров в моче через неделю терапии и исходное снижение СКФ менее 80 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Однако несмотря на то, что регрессионный анализ продемонстрировал достоверный результат для величины СКФ и разовой дозы цисплатина, показатель OR в этих случаях приближался к 1,0, что позволяет предположить, что эти факторы оказывали минимальное влияние на риск нефротоксичности (Рисунок 13). Риск (OR) нефротоксичности выше в 5,581 [95% ДИ 1,958-15,91] раза при увеличении NGAL в моче более 10,743 нг/мл и в 1,113 [95% ДИ 1,030-1,202] раза при увеличении KIM-1 в моче более 182,4 пг/мл, однако при оценке одновременно двух маркеров отмечается увеличение показателя OR до 8,636 [95%ДИ 4,635-95,841]. В конечную модель оценки риска нефротоксичности цисплатина были включены уровень NGAL и KIM-1 в моче. Качественная оценка модели получена путем определения коэффициента детерминации R<sup>2</sup>. Разработанная прогностическая модель учитывает 81,5% факторов, определяющих вероятность развития нефротоксичности на 8 неделе, при этом модель является статистически значимой (p<0,001).

Таблица 8 – Логистическая регрессия модели нефротоксичности, опосредованной цисплатином

Фактор	Монофакторный показатель OR [95% ДИ]	Значение $p$	Многофакторный показатель OR [95% ДИ]	Значение $p$
Возраст	0,962 [0,945-0,979]	0,0001 *	0,985 [0,942-1,029]	0,50
Женский пол	0,182 [0,063-0,528]	0,002 *	0,197 [0,003-125,6]	0,619
ИМТ	0,930 [0,900-0,962]	0,0001 *	0,937 [0,799-1,098]	0,420
Статус курения	1,091 [0,417-2,853]	0,859	-	-
Наличие ССЗ	0,970 [0,923-0,989]	0,001 *	0,23 [0-2,001]	0,098
АГ	0,982 [0,975-0,990]	0,0001 *	8,042 [0,287-22,5]	0,220
Начальное снижение рСКФ	0,978 [0,969-0,988]	0,001 *	0,955 [0,922-0,981]	0,002 *
Локализация опухоли	0,937 [0,906-0,969]	0,0001 *	1,040 [0,994-1,089]	0,088
Препарат-компаньон	1,006 [9,811-1,249]	0,956	0,753 [0,277-2,047]	0,578
Разовая доза цисплатина	1,058 [1,017-1,100]	0,005 *	1,053 [1,011-1,097]	0,012*
КИМ-1 (1 неделя)	1,113 [1,030-1,202]	0,007 *	-	-
NGAL (1 неделя)	5,581 [1,958-15,91]	0,001 *	-	-
Объединенная модель: NGAL+КИМ (1 неделя)	3,452 [1,034-17,779]	0,001*	8,636 [4,635-95,841]	0,001 *
Условные обозначения: * $p < 0,05$ ; АГ – артериальная гипертензия; ИМТ – индекс массы тела; рСКФ – расчетная скорость клубочковой фильтрации; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания.				

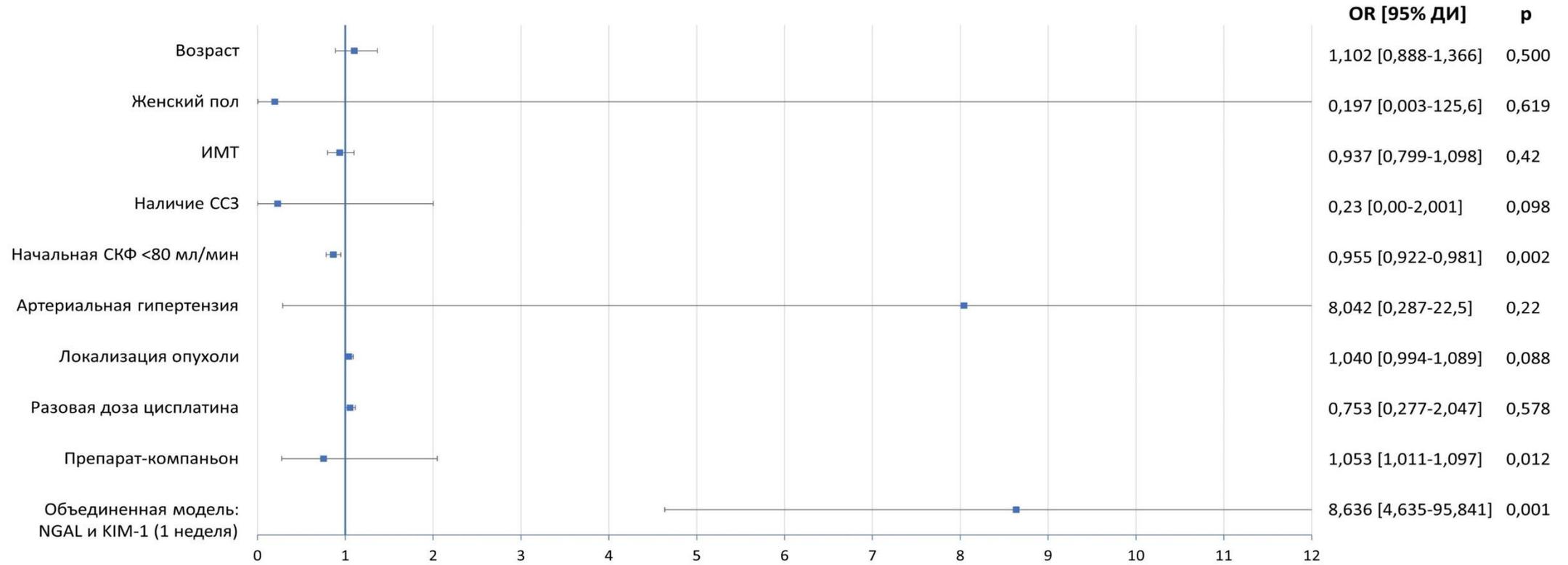


Рисунок 13 – Многофакторный логистический регрессионный анализ факторов риска нефротоксичности цисплатина (forest plot отношения шансов нефротоксичности)

### 3.3.2 Информативность рутинных лабораторных показателей и биомаркеров в моче и дозы цисплатина для прогнозирования нефротоксичности цисплатина

По данным ROC-анализа рутинные лабораторные маркеры почечной функции (креатинин и расчетная СКФ), оцененные в ранние сроки после начала терапии (первая и вторая недели) не продемонстрировали свою информативность для прогнозирования развития нефротоксичности – острой болезни почек со снижением СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> через 8 недель терапии (Таблица 9).

Таблица 9 - Информативность креатинина и рСКФ для прогнозирования нефротоксичности цисплатина на 8 неделе терапии (ROC-анализ)

	Cut-off	Se	Sp	PPV	NPV	AUC	Индекс Юдена
Креатинин 1 неделя	88 мкмоль/л	27,3%	87,2%	37,5%	80,9%	0,51	0,145
СКФ 1 неделя	92 мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	54,6%	64,1%	30%	83,3%	0,52	0,018
Условные обозначения: AUC – area under the curve; NPV - предсказательная ценность отрицательного результата; PPV - предсказательная ценность положительного результата; Se – чувствительность; Sp – специфичность.							

Однако повышение уровня биомаркеров канальцевого повреждения - NGAL более 10,743 нг/мл (AUC 0,96) и KIM-1 в моче в концентрации более 82,4 пг/мл (AUC 0,96) уже через неделю после инфузии препарата позволяет прогнозировать развитие нефротоксичности к 8 неделе лечения (Таблица 10, Рисунок 14). Учитывая поставленную задачу определения ранних биомаркеров повреждения почек при терапии цисплатином, уровни NGAL, KIM-1 в моче на 2 и 4 неделе терапии в регрессионной логистической модели не учитывались.

Таблица 10 - Информативность биомаркеров NGAL и KIM-1 в моче через 1 неделю терапии для прогнозирования снижения рСКФ через 8 недель терапии

	Cut-off	Se	Sp	PPV	NPV	AUC	Индекс Юдена
NGAL 1 неделя	10,743 нг/мл	90,9%	94,9%	83,3%	97,4%	0,96	0,858
KIM-1 1 неделя	182,4 пг/мл	90,9%	94,9%	83,3%	97,4%	0,96	0,858

Условные обозначения:  
 AUC – area under the curve; NPV - предсказательная ценность отрицательного результата;  
 PPV - предсказательная ценность положительного результата; Se – чувствительность; Sp - специфичность.

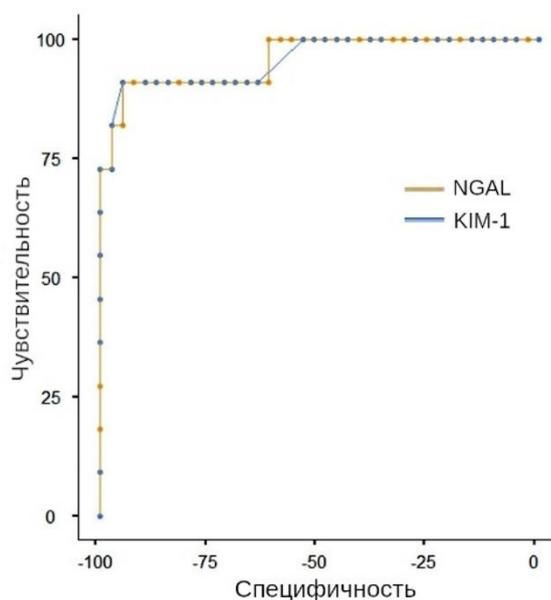


Рисунок 14 - ROC-кривые для биомаркеров NGAL, KIM-1 через 1 неделю терапии

Определена точка cut-off разовой дозы цисплатина, превышение которой может прогнозировать развитие нефротоксичности снижения СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) через 8 недель терапии: 143 мг (Se 54,6%, Sp 94,9% , PPV 75,0%, NPV 88,1%, AUC 0,77, индекс Юдена 0,494). ROC-кривая представлена на рисунке 15.

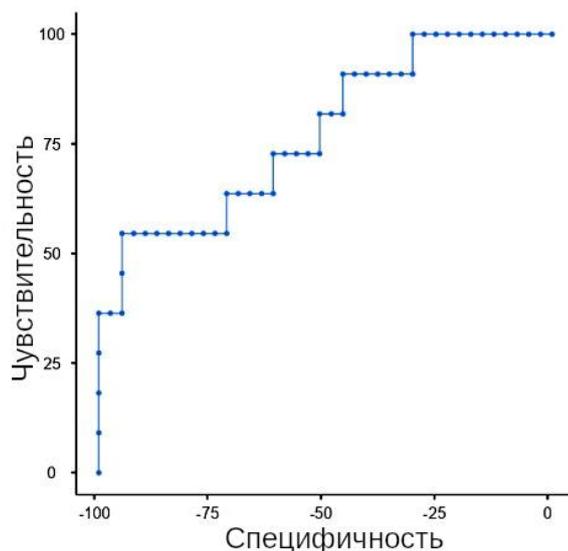


Рисунок 15 - ROC-кривая для разовой дозы цисплатина для прогнозирования нефротоксичности на 8-ой неделе

Для объединенной модели, включающей оба маркера (NGAL и KIM-1 в моче), площадь под кривой составляет 0,958 [95%ДИ 0,889-1,000],  $p=0,0001$ , чувствительность 90,9%, специфичность 99,8% (Рисунок 16).

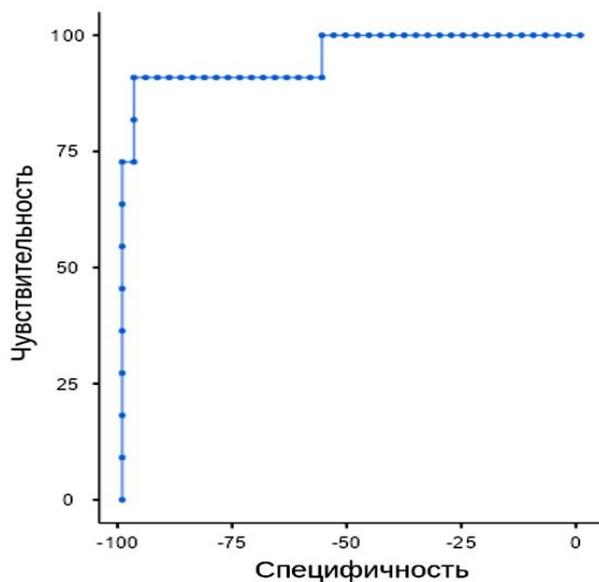


Рисунок 16 - ROC-кривая для модели, включающей NGAL и KIM-1 для прогнозирования нефротоксичности на 8-ой неделе

### 3.4 Оценка проявлений токсичности цисплатина через 6 и 9 месяцев наблюдения

При последующем наблюдении в течение 6 месяцев цисплатин был заменен на карбоплатин у 14% (n=7) пациентов. У 36% (n=18) пациентов терапия цисплатином была завершена: у 24% (n=12) в связи с развитием нефротоксичности (т.е. в связи с возникновением протеинурии более 1 г/сут и снижением СКФ менее 30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>), у 2% (n=1) - ототоксичности, у 10% (n=5) в связи с прогрессированием опухолевого процесса.

Через 9 месяцев наблюдения еще 6% (n=3) пациентов были переведены на терапию карбоплатином, а у оставшихся 44% (n=22) терапия с содержанием цисплатина была отменена: у 22% (n=11) в связи с развитием нефротоксичности (высокой протеинурии и снижения рСКФ менее 30/мин/1,73 м<sup>2</sup>), у 2% (n=1) - ототоксичности, у 14% (n=7) по поводу прогрессирования основного заболевания. У 3 пациентов причину отмены терапии установить не удалось. Суммарные данные представлены в таблице 11.

Отмена цисплатина по причине нефротоксичности производилась при медиане дозы 150±5,8 мг.

Таблица 11 - Данные по отмене цисплатина при дальнейшем наблюдении за пациентами (срез через 6 месяцев и через 9 месяцев)

	Через 6 месяцев, n (%)	Через 9 месяцев, суммарный показатель, n (%)
Замена на карбоплатин	7 (14)	10 (20)
Отмена:	18 (36)	40 (80)
- нефротоксичность	12 (24)	23 (46)
- ототоксичность	1 (2)	2 (4)
- прогрессирование	5 (10)	12 (24)
- неизвестно	0 (0)	3 (6)

### 3.5 Динамика лабораторных показателей и биомаркеров при лечении анти-VEGF препаратами (Группа 2)

К 8 неделе от начала лечения частота почечной дисфункции у больных, получающих терапию анти-VEGF препаратами, составила 42% (n=21).

Артериальная гипертензия с повышением САД выше 130 мм рт. ст. развилась у 26 (52%) из 50 пациентов, получающих лечение анти-VEGF препаратами. Отмечено статистически значимое повышение уровня САД в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=44,6$ ; df 4,  $p<0,001$ , Рисунок 17, а). Медиана САД во всей выборке пациентов составила 128 (IQR 121-137) мм рт.ст до начала терапии и 143 (IQR 132-153) мм рт.ст. через 8 недель терапии (Таблица 12), при этом статистически значимое повышение САД отмечено через 4 недели с момента начала терапии ( $p<0,001$ ). Подробные данные по попарному сравнению АД и последующих показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.22.

Повышение ДАД выше 90 мм рт.ст. отмечено у 25 (50%) в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=40,2$ ; df 4,  $p<0,001$ ). Медиана ДАД до начала лечения составила 79 (IQR 76-88) мм рт.ст до начала терапии и 91 (IQR 85-99) мм рт.ст. через 8 недель терапии, при этом статистически значимые различия установлены, начиная с 4 недели терапии ( $p<0,001$ ).

Отмечено значимое повышение уровня сывороточного креатинина в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=146$ ; df 4,  $p<0,001$ , Рисунок 17, б). Медиана креатинина во всей выборке пациентов составила 80,5 (IQR 76,0-85,0) мкмоль/л до начала терапии и 101,0 (IQR 93,0-107,0) мм рт.ст. через 8 недель (Таблица 12).

Повышение уровня креатинина в течение 1 недели более чем в 1,5 раза при лечении анти-VEGF препаратами отмечено только у 3 (6%) пациентов, что согласно критериям KDIGO соответствует критериям острого повреждения почек 1 стадии (Рисунок 18). У больных с ОПП было зарегистрировано дальнейшее прогрессирование почечной дисфункции и снижение рСКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> к 8 неделе терапии анти-VEGF препаратами.

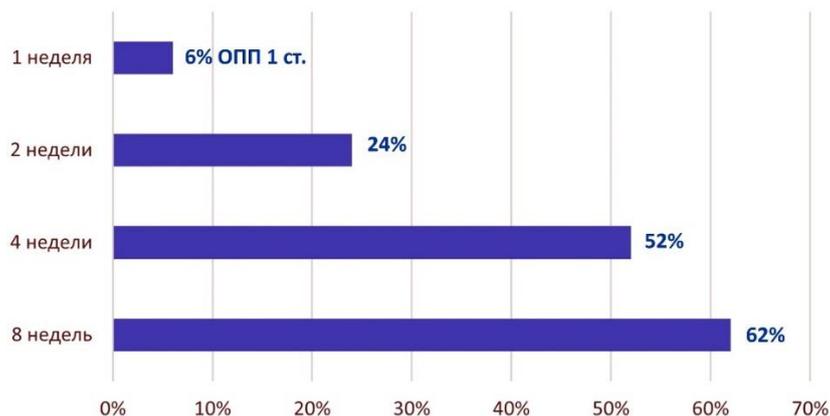


Рисунок 18 – Нарастание уровня креатинина в течение 8 недель от начала лечения в Группе 2 (анти-VEGF препараты)

Снижение рСКФ СКD-EPI менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> на 8 неделе лечения отмечено у 21 (42%) больных ( $\chi^2=144$ ; df 4,  $p<0,001$ , Рисунок 16, в). Таким образом, частота развития почечной дисфункции у больных, получающих терапию анти-VEGF препаратами, к 8 неделе наблюдения составила 42% (n=21).

Медиана рСКФ составила 90 (IQR 76,5-94,8) мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> до начала лечения и 65 (IQR 57,0-74,8) мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> через 8 недель терапии (Таблица 12).

Мы использовали различные формулы для оценки расчетной СКФ (СКD-EPI, MDRD и Кокрофта-Голта) с целью определения той формулы, которая раньше выявляет снижение СКФ. Оказалось, что наибольшее количество случаев снижения рСКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> к 8 неделе было выявлено с помощью формулы СКD-EPI. Согласно формуле Кокрофта-Голта снижения СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> к 8 неделе лечения достигли 6 пациентов; MDRD – 19 пациентов; СКD-EPI – 21 пациент. Следовательно, при использовании формулы Кокрофта-Голта развитие нефротоксичности к 8 неделе лечения вероятно было пропущено у 71% пациентов, формулы MDRD – у 9% пациентов. Наибольшее число случаев снижения СКФ было выявлено при использовании формулы СКD-EPI. Следует отметить, что у этих пациентов в дальнейшем отмечено дальнейшее ухудшение функции почек, потребовавшее отмены препарата.

Отмечено статистически значимое повышение уровня мочевины в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=104$ ;  $df$  4,  $p<0,001$ , Рисунок 17, *з*), однако, при этом показатели оказались в пределах референсных значений. Медиана показателя мочевины во всей выборке до начала лечения составила 3,30 (IQR 2,80-2,70) мкмоль/л и 6,75 (IQR 6,00-7,55) мкмоль/л через 8 недель (Таблица 12).

Изменение уровня калия в течение 8 недель терапии оказалось статистически не значимым ( $\chi^2=5,39$ ;  $df$  4,  $p=0,356$ , Рисунок 17, *д*). Медиана уровня калия до начала лечения составила 4,44 (IQR 3,98-4,77) ммоль/л, а через 8 недель – 4,50 (IQR 4,02-4,76) ммоль/л (Таблица 12). При этом также не отмечено статистически значимого повышения ни в одной временной точке при проведении попарного анализа (все  $p>0,05$ ).

Уровень фибриногена в сыворотке крови значимо повышался в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=25,6$ ;  $df$  4,  $p<0,001$ , Рисунок 17, *е*). Медиана уровня фибриногена в нулевой точке составила 3,87 (IQR 3,08-4,7) г/л, через 8 недель терапии – 5,57 (IQR 4,69-6,01) г/л (Таблица 12).

Отмечалось также небольшое, однако, статистически достоверное нарастание уровня ЛДГ ( $\chi^2=21,5$ ;  $df$  4,  $p<0,001$ , Рисунок 17, *ж*). Медиана уровня ЛДГ составила 260 (IQR 204-295) Ед/л до начала лечения и 319 (IQR 262-390) Ед/л через 8 недель от первого введения антиангиогенного препарата (Таблица 12).

Отмечено постепенное повышение уровня D-димера в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=19,8$ ;  $df$  4,  $p<0,001$ , Рисунок 17, *з*). Медиана уровня D-димера составила 0,410 (IQR 0,230-0,600) мкг/мл в нулевой точке и 0,509 (IQR 0,520-1,150) мкг/мл в восьминедельной точке (Таблица 12). При этом статистически значимое повышение выше референсных значений ( $>0,5$  мкг/мл) зарегистрировано через 8 недель с момента начала терапии ( $p<0,001$ ).

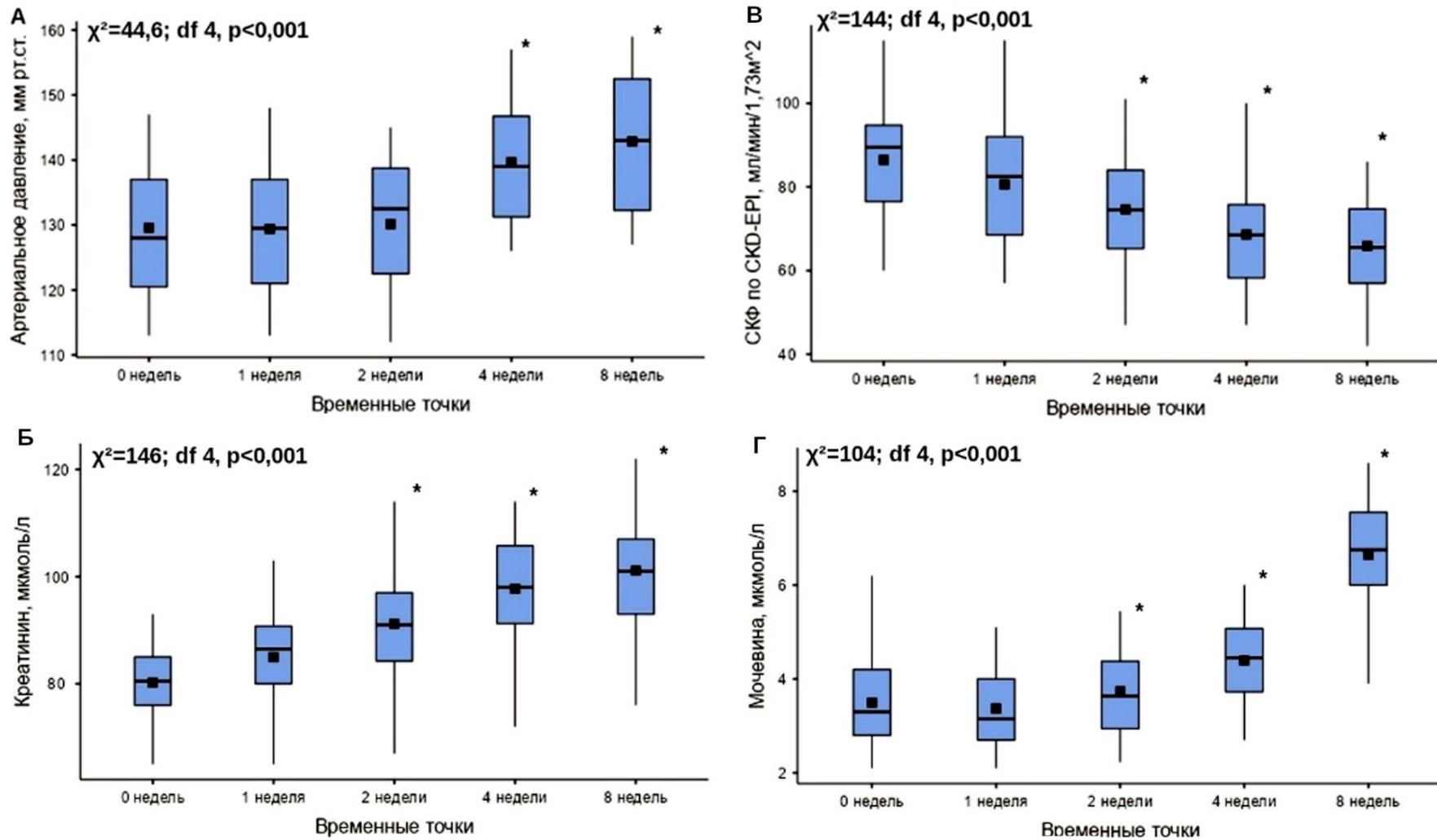
Анемия была выявлена у всех обследованных пациентов на 8 неделе лечения анти-VEGF препаратами, при этом снижение гемоглобина ниже 110 г/л наблюдалось у 24 (48%) больных. Отмечено статистически значимое нарастание анемии в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=162$ ;  $df$  4,  $p<0,001$ , Рисунок 17, *и*). Медиана гемоглобина составила 132,0 (IQR 129,0–135,0) г/л до начала терапии и 105,0 (IQR

99,5-107,0) г/л через 8 недель терапии (Таблица 12), при этом значимое снижение гемоглобина отмечено уже через 2 недели с момента начала терапии ( $p < 0,001$ ).

Также мы наблюдали постепенное увеличение количества шистоцитов в периферической крови к 8 неделе лечения ( $\chi^2=139$ ;  $df$  4,  $p < 0,001$ , Рисунок 17, *к*). Медиана числа шистоцитов до начала терапии составила 0,7 (IQR 0,3-1,4) % до начала лечения и 3,4 (IQR 3,1-4,1) % через 8 недель терапии (Таблица 12).

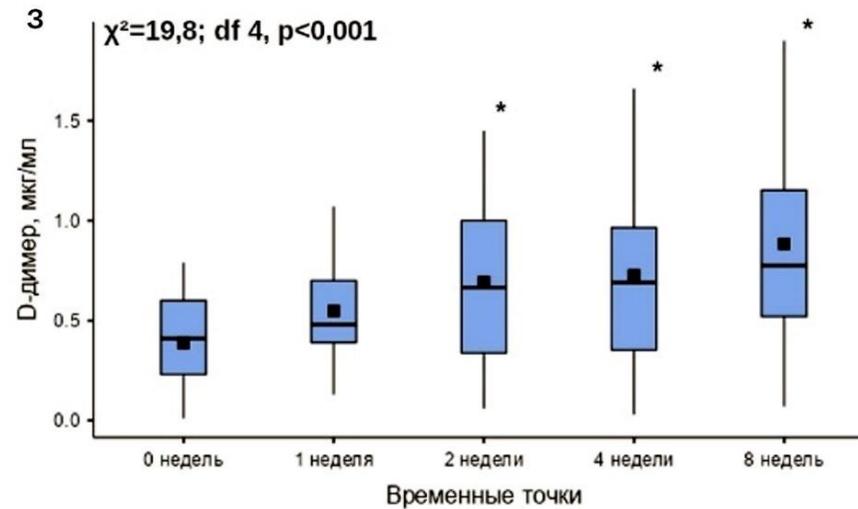
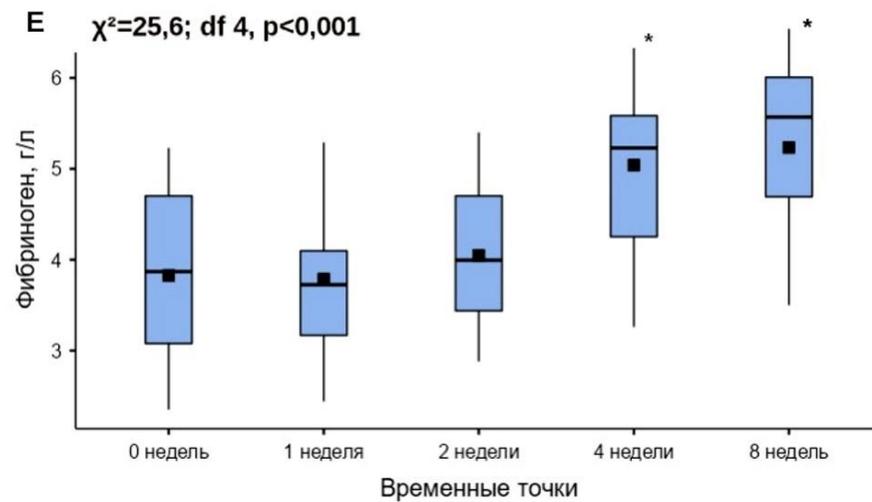
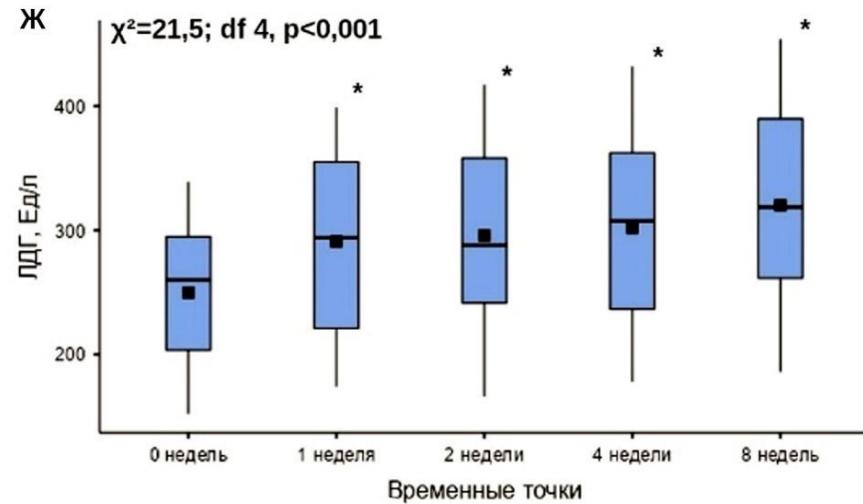
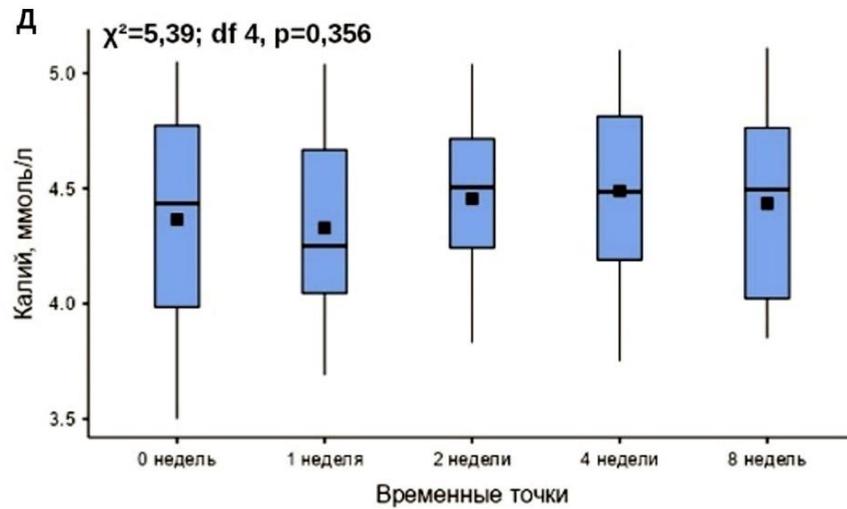
Отмечено статистически значимое снижение медианы уровня тромбоцитов на 8 неделе лечения антиангиогенными препаратами ( $\chi^2=18,6$ ;  $df$  4,  $p < 0,001$ , Рисунок 17, *л*). Медиана количества тромбоцитов составила 348 (IQR 297-428)  $10^3$ /мкл до начала терапии и 277 (IQR 221-340)  $10^3$ /мкл через 8 недель терапии (Таблица 12), то есть было выявлено 21% снижение от начального уровня.

Отмечено статистически значимое повышение уровня альбуминурии в течение 8 недель терапии ( $\chi^2=105$ ;  $df$  4,  $p < 0,001$ , Рисунок 17, *м*). Медиана альбуминурии во всей выборке пациентов составила: 16,3 (IQR 9,43-21,7) мг/сут до начала лечения и 23,2 (IQR 20,1-26,9) мг/сут через 8 недель лечения (Таблица 12).



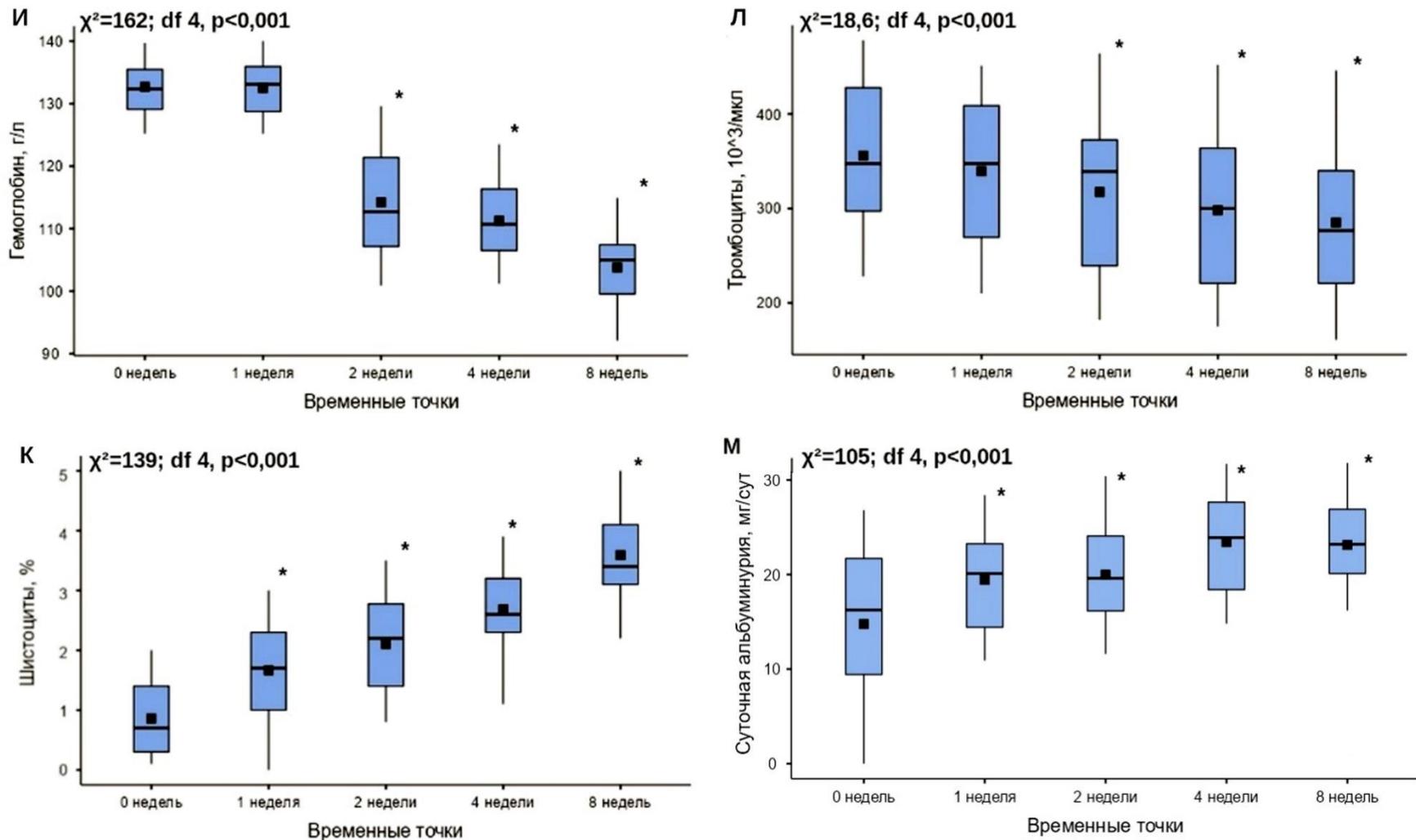
Условные обозначения: — - медиана; ■ – среднее значение; \* ( $p<0,05$ ).

Рисунок 17 - Динамика клинично-лабораторных показателей в процессе лечения пациентов анти-VEGF препаратами: а) АД; б) креатинин; в) рСКФ; г) мочевина. Полные данные по попарному сравнению показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.22



Условные обозначения: — - медиана; ■ – среднее значение; \* ( $p<0,05$ ).

Продолжение рисунка 17 - Динамика клинично-лабораторных показателей в процессе лечения пациентов анти-VEGF препаратами: д) калий; е) ЛДГ; ж) фибриноген; з) D-димер. Полные данные по попарному сравнению показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.22



Условные обозначения: — - медиана; ■ – среднее значение; \* ( $p<0,05$ ).

Окончание рисунка 17 - Динамика клинико-лабораторных показателей в процессе лечения пациентов анти-VEGF препаратами: и) гемоглобин; к) шистоциты; л) тромбоциты; м) суточная альбуминурия. Полные данные по попарному сравнению показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.22

Таблица 12 – Динамика клинико-лабораторных показателей в процессе лечения пациентов анти-VEGF препаратами

	0 недель	1 неделя	2 недели	4 недели	8 недель
<b>Систолическое артериальное давление</b>					
Медиана, мм рт.ст.	128	130	133	139	143
Разброс	113-147	113-148	112-145	126-157	127-159
25-ый процентиль	121	121	123	131	132
75-ый процентиль	137	137	139	147	153
<b>Креатинин</b>					
Медиана, мкмоль/л	80,5	86,5	91,0	98,0	101,0
25-ый процентиль	76,0	80,0	84,3	91,3	93,0
75-ый процентиль	85,0	90,8	97,0	106,0	107,0
<b>рСКФ по формуле СКД-ЕPI</b>					
Медиана, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	89,5	82,5	74,5	68,5	65,5
25-ый процентиль	76,5	68,5	65,3	58,3	57,0
75-ый процентиль	94,8	92,0	84,0	75,8	74,8
<b>Мочевина</b>					
Медиана, мкмоль/л	3,30	3,15	3,63	4,45	6,75
25-ый процентиль	2,80	2,70	2,94	3,73	6,00
75-ый процентиль	4,20	4,00	4,38	5,07	7,55
<b>Калий</b>					
Медиана, ммоль/л	4,44	4,25	4,50	4,49	4,50
25-ый процентиль	3,98	4,04	4,24	4,19	4,02
75-ый процентиль	4,77	4,67	4,71	4,81	4,76
<b>ЛДГ</b>					
Медиана, Ед/л	260	294	288	308	319
25-ый процентиль	204	221	242	237	262
75-ый процентиль	295	255	358	362	390
<b>Фибриноген</b>					
Медиана, мкг/мл	0,410	0,480	0,665	0,690	0,775
25-ый процентиль	0,230	0,390	0,338	0,353	0,520
75-ый процентиль	0,600	0,700	1,000	0,965	1,150
<b>D-димер</b>					
Медиана, мкг/мл	0,410	0,480	0,665	0,690	0,775
25-ый процентиль	0,230	0,390	0,338	0,353	0,520
75-ый процентиль	0,600	0,700	1,000	0,965	1,150
<b>Гемоглобин</b>					
Медиана, г/л	132,0	133,0	113,0	111,0	105,0
25-ый процентиль	129,0	129,0	107,0	107,0	99,5
75-ый процентиль	135,0	136,0	121,0	116,0	107,0

<i>Продолжение таблицы 12</i>					
	0 недель	1 неделя	2 недели	4 недели	8 недель
<b>Шистоциты</b>					
Медиана, %	0,0	1,7	2,2	2,6	3,4
25-ый процентиль	0,3	1,0	1,4	2,3	3,1
75-ый процентиль	1,4	2,3	2,8	3,2	4,1
<b>Тромбоциты</b>					
Медиана, 10 <sup>3</sup> /мкл	348	348	339	300	277
25-ый процентиль	297	270	239	221	221
75-ый процентиль	428	409	373	364	340
<b>Суточная альбуминурия</b>					
Медиана, мг/сут	16,3	20,1	19,6	23,9	23,2
25-ый процентиль	9,43	14,4	16,2	18,4	20,1
75-ый процентиль	21,7	23,3	24,1	27,6	26,9

### **3.5.1 Выраженность ухудшения функции почек в зависимости от анти-VEGF-препарата, сопутствующих препаратов химиотерапии и локализации опухоли**

При попарном сравнении критерием Краскелла-Уоллиса не отмечено достоверных различий по степени снижения СКФ между подгруппами пациентов с различными локализациями злокачественного новообразования ( $\chi^2_{\text{кв}} = 3,79$ ,  $p=0,285$ , Рисунок 19, а).

Кроме того, не было отмечено статистически значимых различий в степени снижения СКФ между группами пациентов, получавших монотерапию анти-VEGF препаратами либо комбинации анти-VEGF препарата с другими химиопрепаратами ( $\chi^2_{\text{кв}} = 6,77$ ,  $p=0,238$ , Рисунок 19, б), а также между группами пациентов, получавших бевацизумаб, афлиберцепт или рамуцирумаб ( $\chi^2_{\text{кв}} = 2,47$ ,  $p=0,290$ , Рисунок 19, в).

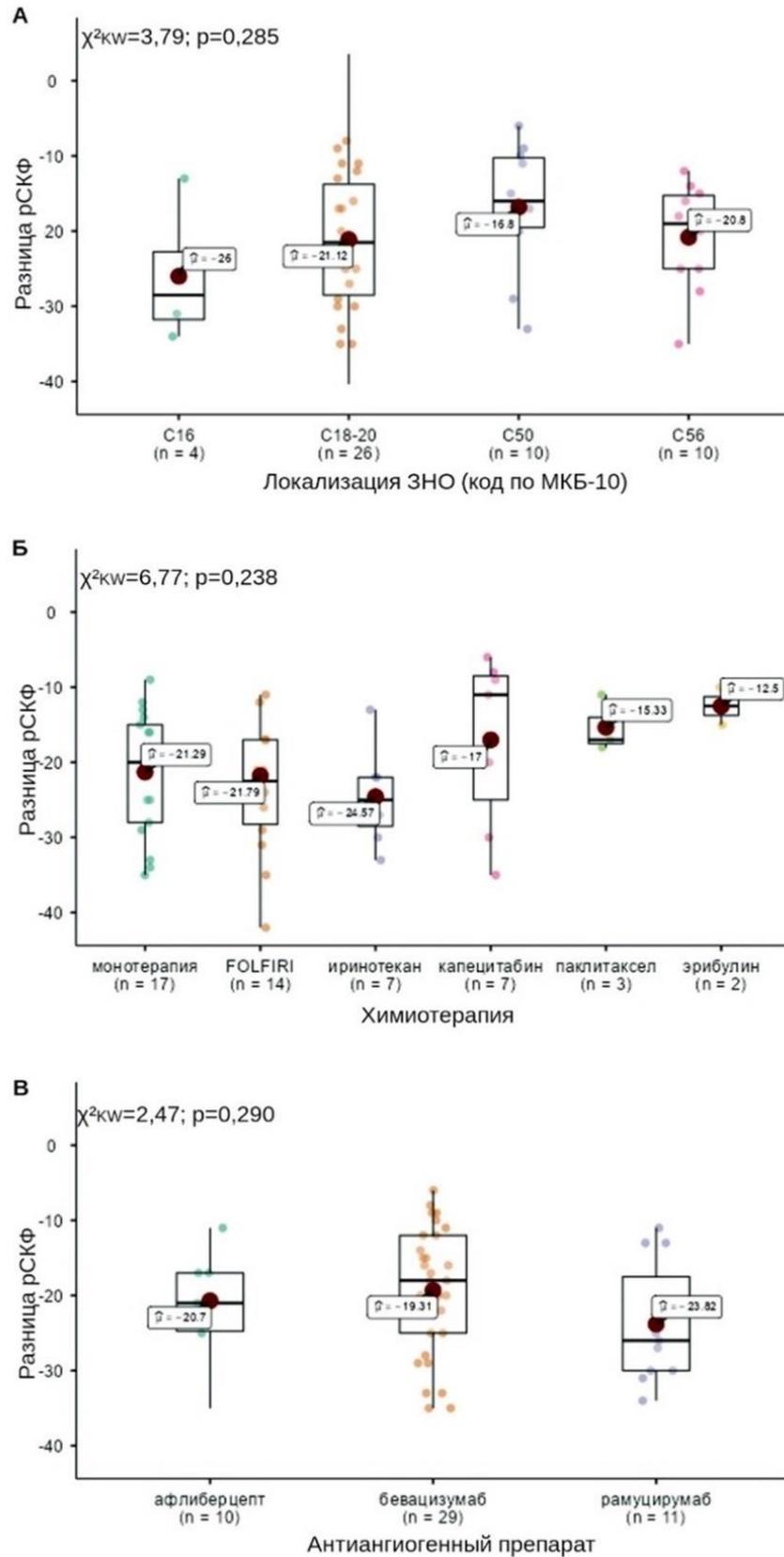


Рисунок 19 - Степень снижения рСКФ в зависимости от: а) локализации злокачественного образования; б) химиотерапевтического компаньона; в) типа антиангиогенного препарата

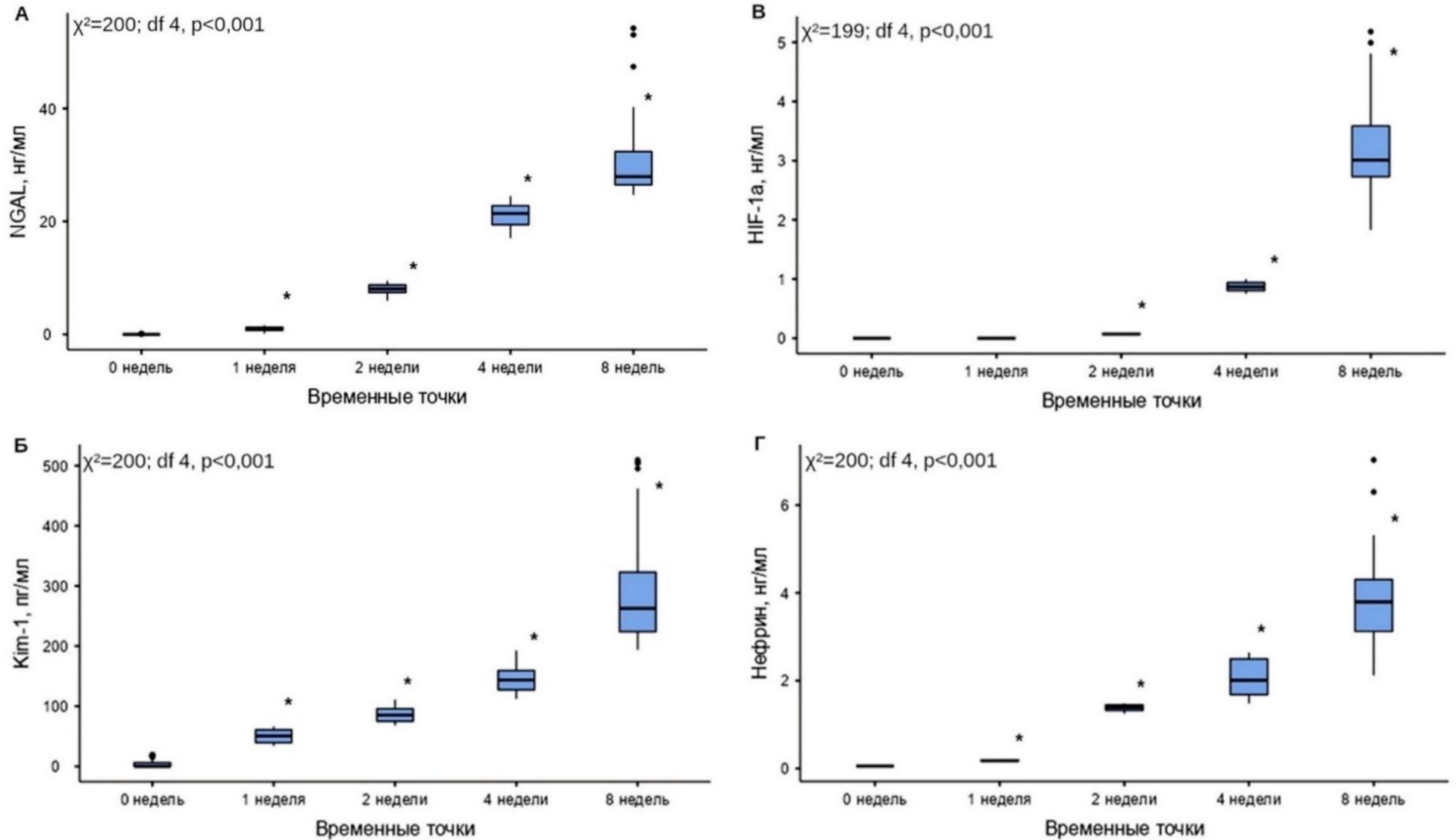
### 3.5.2 Динамика маркеров почечного повреждения в моче при лечении анти-VEGF препаратами

Мы оценили уровень нескольких факторов в моче, отражающих повреждение различных структур в почке и свидетельствующие об активации различных механизмов повреждения - NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$  и нефрина в динамике при лечении анти-VEGF препаратами. Отмечалось нарастание уровня NGAL в моче ( $\chi^2=200$ ; df 4,  $p<0,001$ , Рисунок 20, а), статистически значимое через 1 неделю после введения препарата ( $p<0,001$ ). Медиана уровня NGAL в моче составила  $1,00 \times 10^{-4}$  нг/мл до начала лечения и 27,90 (IQR 26,5-32,4) нг/мл через 8 недель терапии (Таблица 13). Подробные данные по попарному сравнению показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.23.

Также выявлено статистически значимое нарастание уровня KIM-1 в моче ( $\chi^2=200$ ; df 4,  $p<0,001$ , Рисунок 20, б) уже через 1 неделю после введения препарата ( $p<0,001$ ). Медиана уровня биомаркера KIM-1 в моче до начала лечения составила 0,00 (IQR 0,00-6,14) пг/мл и 263,00 (IQR 224,0-323,0) пг/мл через 8 недель терапии (Таблица 13).

Отмечалось достоверное нарастание уровня HIF-1 $\alpha$  в моче ( $\chi^2=199$ ; df 4,  $p<0,001$ , Рисунок 20, в) через 1 неделю и в десятки раз - через 2 недели после введения препарата ( $p<0,001$ ). До начала лечения HIF-1 $\alpha$  в моче не определялся 0,00 нг/мл, а через 8 недель терапии составлял 3,01 (IQR 2,73-3,59) нг/мл (Таблица 13).

Также выявлено значимое нарастание нефринурии ( $\chi^2=200$ ; df 4,  $p<0,001$ , Рисунок 20, г), начиная с 1 недели после введения препарата ( $p<0,001$ ). До начала лечения медиана уровня нефрина в моче составила 0,0550 (IQR 0,0550-0,0550) нг/мл, а через 8 недель терапии - 3,8000 (IQR 3,80-4,31) нг/мл (Таблица 13).



Условные обозначения: \* ( $p<0,05$ ).

Рисунок 20 - Динамика уровня биомаркеров в моче в процессе лечения: а) NGAL; б) KIM-1; в) HIF-1 $\alpha$ ; г) нефрин.

Полные данные по попарному сравнению показателей в течение 8 недель представлены в таблице А.23

Таблица 13 – Динамика мочевых биомаркеров почечного повреждения в процессе лечения пациентов анти-VEGF препаратами

	0 недель	1 неделя	2 недели	4 недели	8 недель
<b>NGAL</b>					
Медиана, нг/мл	1,00x10 <sup>-4</sup>	0,951	8,05	21,40	27,90
25-ый процентиль	1,00x10 <sup>-4</sup>	0,740	7,40	19,40	26,50
75-ый процентиль	1,00x10 <sup>-4</sup>	1,24	8,77	22,8	32,4
<b>KIM-1</b>					
Медиана, пг/мл	0,00	50,50	85,10	144,00	263,00
25-ый процентиль	0,00	39,3	74,9	127,0	224,0
75-ый процентиль	6,14	60,70	95,80	159,0	323,0
<b>HIF-1α</b>					
Медиана, нг/мл	0,00	5,00x10 <sup>-5</sup>	0,0687	0,868	3,01
25-ый процентиль	0,00	3,00x10 <sup>-5</sup>	0,0658	0,803	2,73
75-ый процентиль	0,00	7,00x10 <sup>-5</sup>	0,0705	0,942	3,59
<b>Нефрин</b>					
Медиана, нг/мл	0,0550	0,178	1,40	2,01	3,80
25-ый процентиль	0,0550	0,178	1,40	2,01	3,80
75-ый процентиль	0,0550	0,195	1,45	2,50	4,31

### 3.6.2.1 Динамика биомаркеров в зависимости от типа антиангиогенной терапии и сопутствующей терапии

При оценке динамики биомаркеров в подгруппах пациентов получавших афлиберцепт, бевацизумаб и рамуцирумаб, статистически значимых различий получено не было (Рисунок 21). Также не отмечено достоверной разницы между подгруппами, которые получали антиангиогенные препараты в сочетании с другими химиопрепаратами (Рисунок 22).

26% пациентов в группе анти-VEGF препаратов получали антикоагулянтную терапию после оценки риска тромботических осложнений: 14% - оральные ингибиторы Ха фактора (ривароксабан, апиксабан и т. д.), 12% - низкомолекулярный гепарин (эноксапарин, надропарин и т. д.).

При отсутствии значимых изменений рСКФ на 8 неделе наблюдения уровень NGAL в моче был достоверно ниже в группе пациентов, получающих антикоагулянтные препараты, чем у пациентов, которые не получали терапию антикоагулянтами:  $W_{\text{Manna-Whitney}} = 5,08$ ;  $p=0,001$  (Рисунок 23, а-б). Те же

закономерности были отмечены и в отношении КИМ-1 в моче ( $W_{\text{Manna-Whitney}} = 5,95$ ;  $p=0,001$ ), НIF-1  $\alpha$  и нефрина (Рисунок 23, в-д).

Кроме того, добавление к терапии антикоагулянтных препаратов было ассоциировано с меньшим числом случаев нефротоксичности, приведшей к отмене препарата, через 9 месяцев наблюдения (точный критерий Фишера ( $p=0,01$ ), а также критерий  $\chi^2$  Пирсона:  $\chi^2 = 6,83$ ,  $df 1$ ,  $p=0,009$ ).

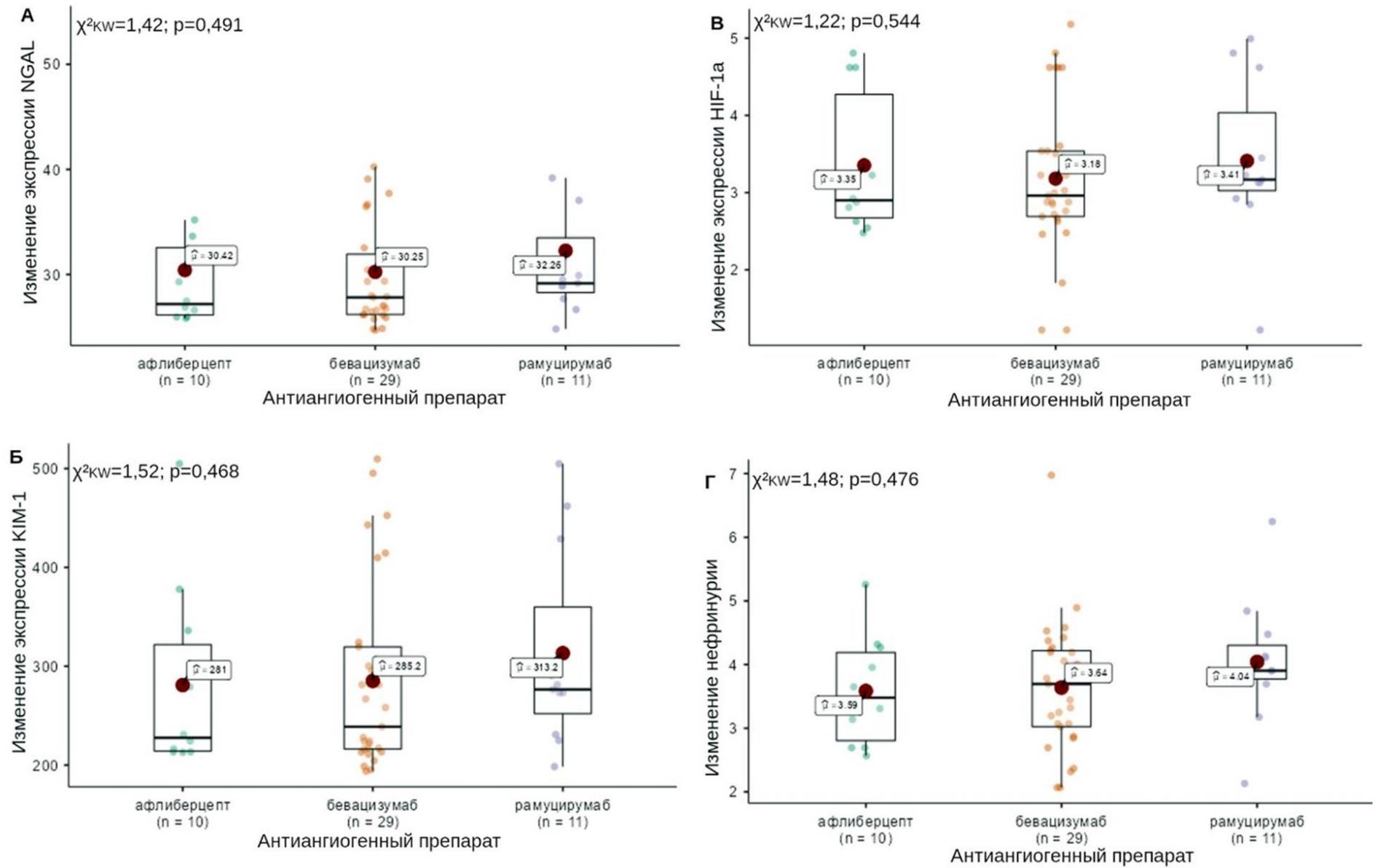


Рисунок 21 - Динамика нарастания маркеров в зависимости от типа антиангиогенного препарата: а) NGAL; б) KIM-1; в) HIF-1α; г) нефрин

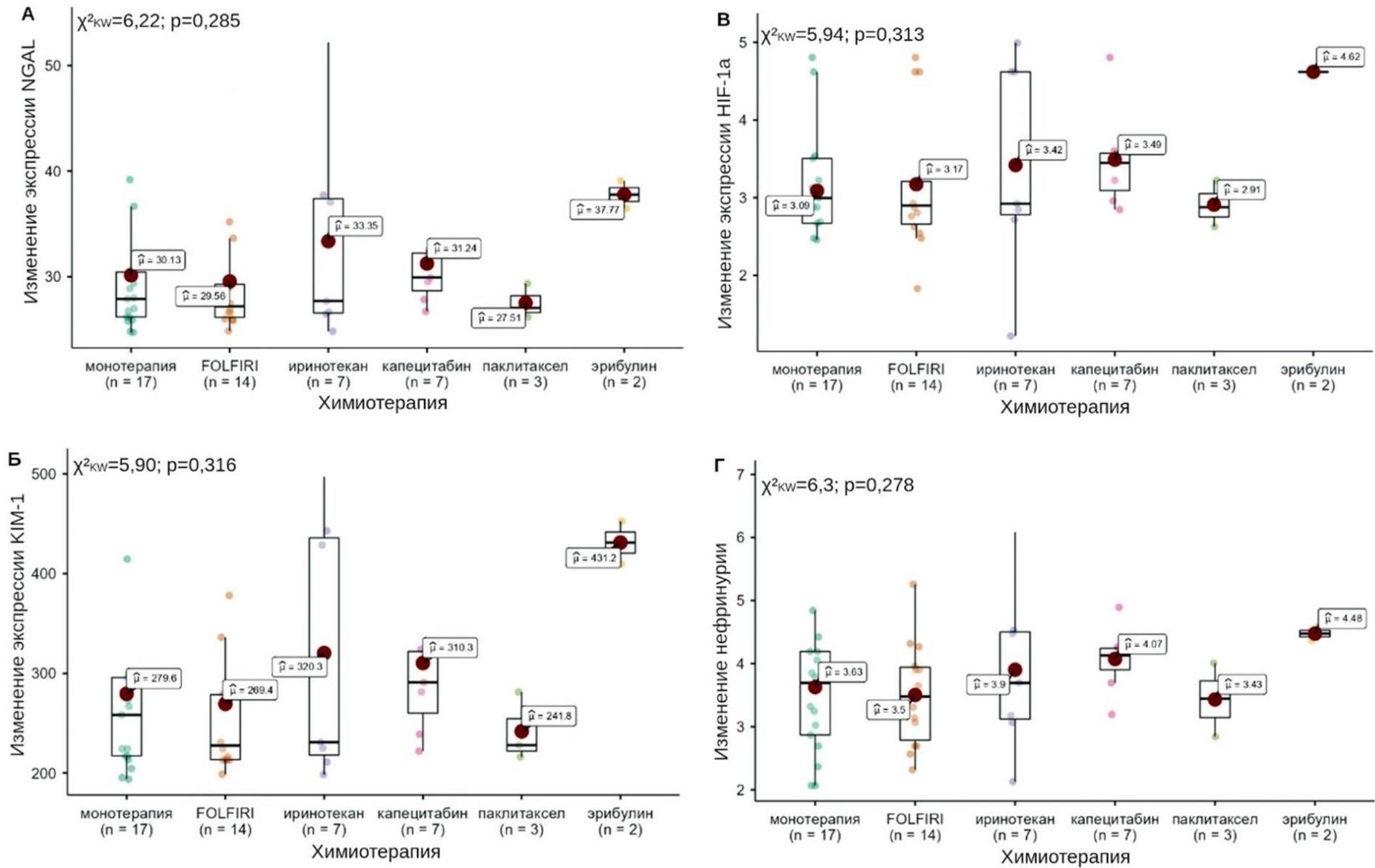


Рисунок 22 - Динамика нарастания маркеров в зависимости от типа химиопрепарата: а) NGAL; б) KIM-1; в) HIF-1α; г) нефрин

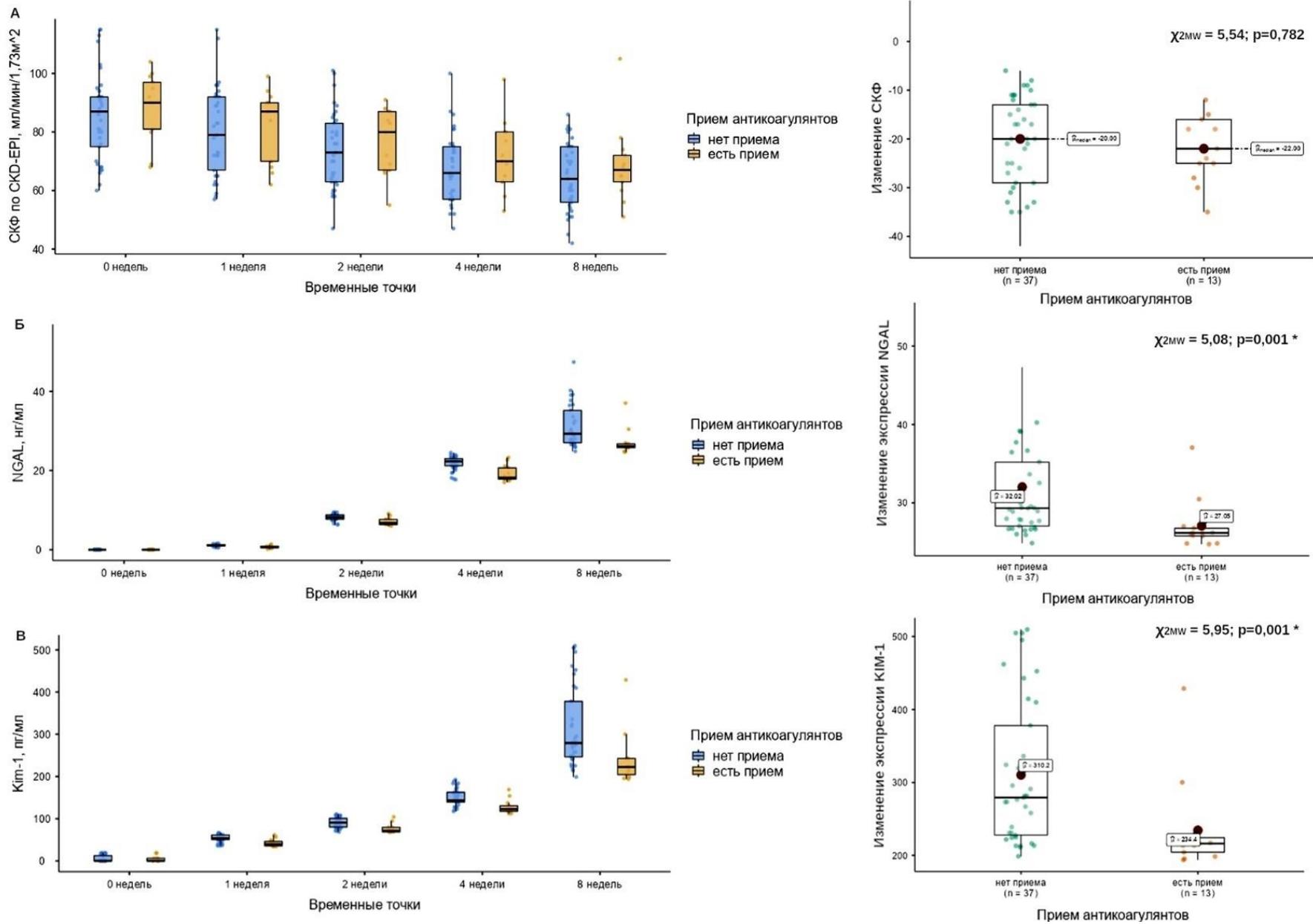
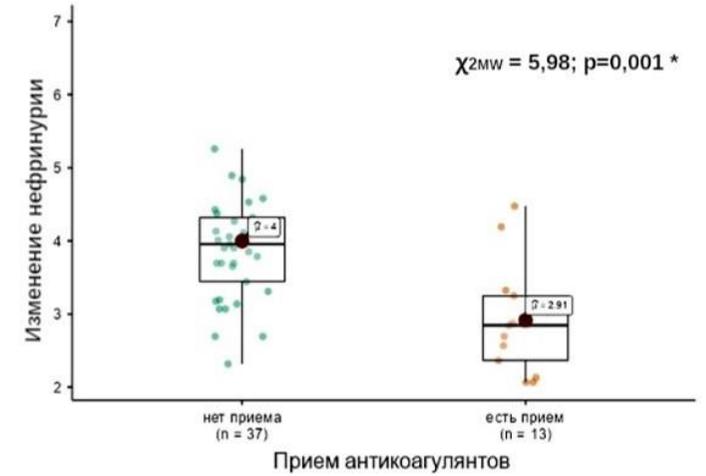
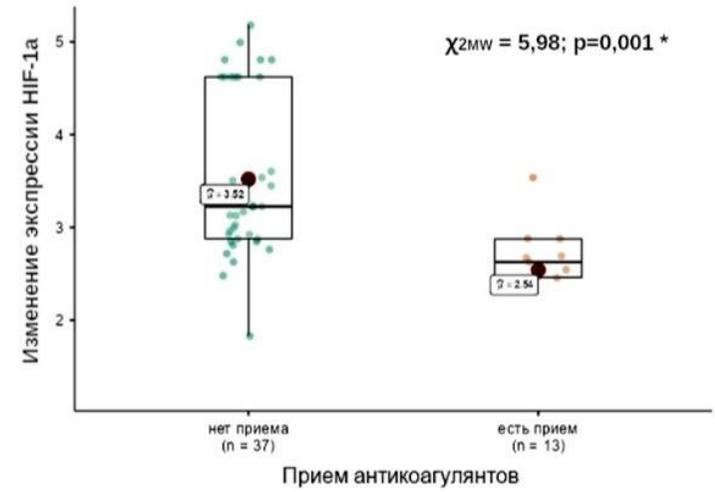
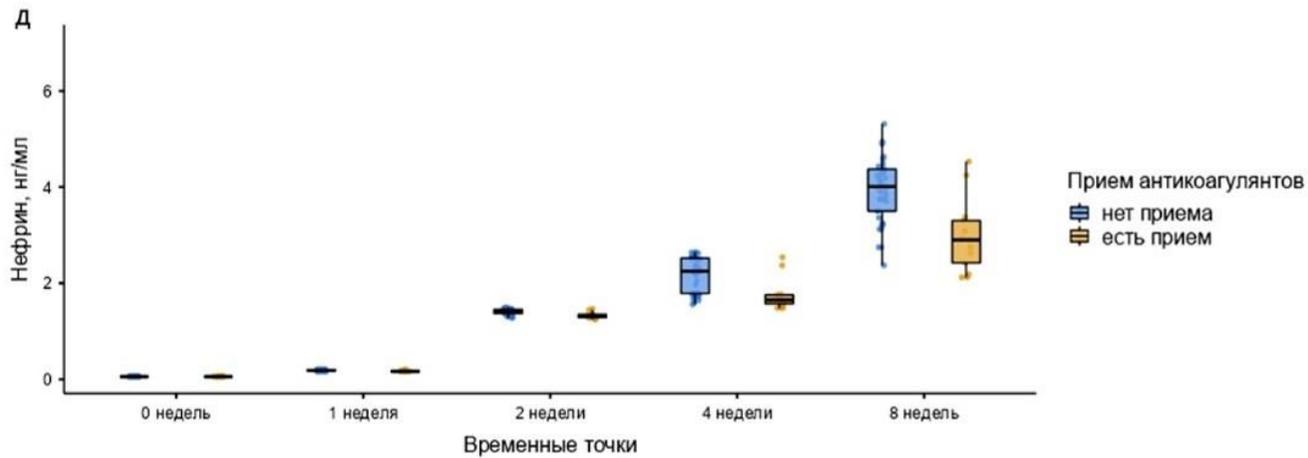
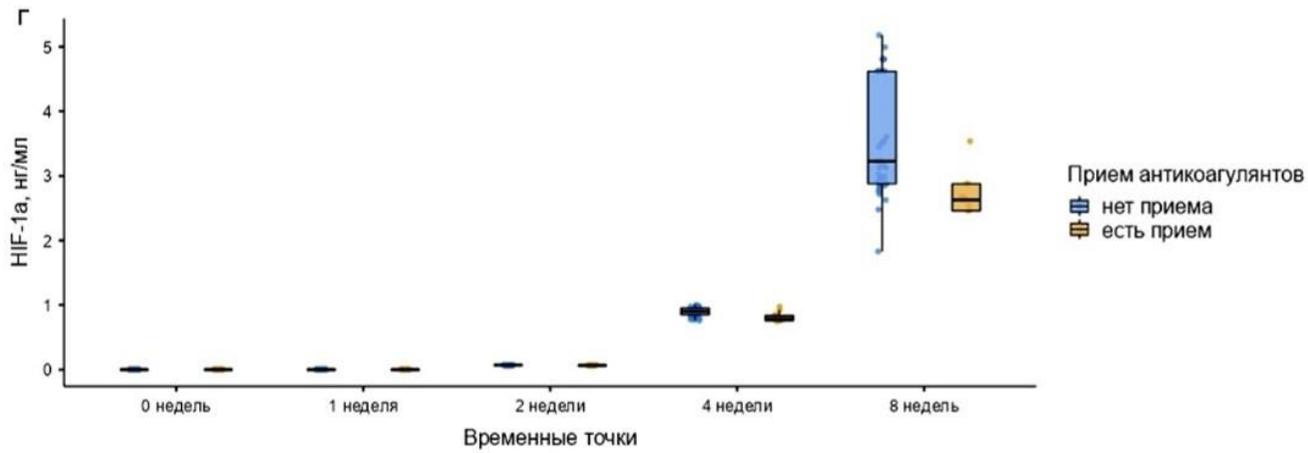


Рисунок 23 - Динамика показателей в моче в подгруппах пациентов, получавших и не получавших терапию антикоагулянтами: а) pСКФ; б) NGAL; в) KIM-1



Продолжение рисунка 23 - Динамика показателей в моче в подгруппах пациентов, получавших и не получавших терапию антикоагулянтами: г) НIF-1а; д) нефрин

### **3.6 Взаимосвязь между клинико-лабораторными показателями токсичности анти-VEGF препаратов**

При анализе корреляций между уровнем биомаркеров почечного повреждения NGAL, KIM-1, NIF-1 $\alpha$ , нефрина и основными лабораторными показателями токсичности приема препаратов была отмечена статистически значимая обратная корреляция с уровнем гемоглобина и прямая корреляция шистоцитов на 4 неделе от начала терапии (Таблица 14).

При анализе показателей на 8 неделе наблюдения выявлены корреляции показателей биомаркеров мочи и количества тромбоцитов, шистоцитов, уровня ЛДГ, альбуминурии и показателя D-димера (Таблица 14). Нарастание числа корреляционных связей уровней NGAL, KIM-1, NIF-1 $\alpha$ , нефрина мочи и маркеров гемолиза к 8 неделе лечения, по-видимому, отражает прогрессирование почечного повреждения, сопряженного с тромботической микроангиопатией и микроангиопатическим гемолизом с ишемическим повреждением клубочков и тубуло-интерстиция почки.

Среди 29 пациентов, получавших бевацизумаб, выявлена прямая зависимость нарастания мочевых биомаркеров и маркеров ТМА от дозы бевацизумаба (Таблица 15). Корреляционный анализ пациентов, получавших афлиберцепт или рамуцирумаб не производился ввиду размера выборки.

Таблица 14 - Корреляционный анализ клинико-лабораторных показателей токсичности и уровня биомаркеров NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$ , нефрина в моче через 4 и 8 недель от начала терапии анти-VEGF. В таблице представлен показатель  $p$

	АД	СКФ	Креатинин	Мочевина	Калий	Hb	Шистоциты	Plt	ЛДГ	Альбуминурия	Фибриноген	D-димер
4 недели												
NGAL	0,700	0,057	0,457	0,465	0,507	0,009* rho= -0,367	0,041* rho=0,290	0,502	0,580	0,550	0,458	0,592
KIM-1	0,712	0,074	0,481	0,478	0,487	0,010* rho= -0,360	0,046* rho=0,284	0,514	0,605	0,541	0,461	0,581
HIF-1 $\alpha$	0,700	0,057	0,457	0,465	0,507	0,050* rho= -0,367	0,041* rho=0,290	0,502	0,580	0,550	0,458	0,592
Нефрин	0,704	0,056	0,465	0,477	0,508	0,008* rho= -0,372	0,041* rho=0,290	0,514	0,576	0,542	0,447	0,589
8 недель												
NGAL	0,860	0,224	0,592	0,985	0,785	0,121	0,003* rho=0,416	<0,001* rho= -0,453	0,030* rho=0,306	0,002* rho=0,433	0,354	0,026* rho=0,423
KIM-1	0,862	0,226	0,601	0,966	0,776	0,116	0,003* rho=0,418	<0,001* rho= -0,452	0,030* rho=0,304	0,002* rho=0,432	0,365	0,028* rho=0,414
HIF-1 $\alpha$	0,902	0,232	0,608	0,970	0,753	0,131	0,002* rho=0,435	<0,001* rho= -0,460	0,038* rho=0,294	0,002* rho=0,432	0,372	0,026* rho=0,421
Нефрин	0,852	0,240	0,608	0,980	0,769	0,120	0,003* rho=0,418	0,001* rho= -0,448	0,030* rho=0,307	0,002* rho=0,435	0,342	0,024* rho=0,426

Условные обозначения:

\*  $p < 0,05$ ; Hb - гемоглобин; Plt - тромбоциты; Rho – коэффициент ранговой корреляции Спирмена; АД – артериальное давление; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; СКФ – скорость клубочковой фильтрации.

Таблица 15 - Корреляционный анализ дозы бевацизумаба и лабораторных показателей ТМА, уровня биомаркеров NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$ , нефрина в моче через 8 недель от начала терапии. В таблице представлен показатель  $p$

	Нб	Шистоциты	Plt	ЛДГ	D-димер	NGAL	KIM-1	HIF-1 $\alpha$	Нефрин
Доза бевацизумаба	0,001* rho= 0,567	0,044 * rho= 0,457	0,394	0,003 rho= 0,527	<0,001* rho=0,923	<0,001* rho=0,944	<0,001* rho=0,943	<0,001* rho=0,954	<0,001* rho=0,943
<p>Условные обозначения: * <math>p &lt; 0,05</math>; Нб - гемоглобин; Plt - тромбоциты; Rho – коэффициент ранговой корреляции Спирмена; ЛДГ – лактатдегидрогеназа.</p>									

### 3.7 Прогнозирование нефротоксичности анти-VEGF препаратов

#### 3.7.1 Факторы риска нефротоксичности анти-VEGF препаратов

При проведении однофакторного логистического регрессионного анализа оказалось, что факторами риска развития нефротоксичности (или ОБП) на 8 неделе терапии анти-VEGF препаратами являются возраст пациентов, наличие артериальной гипертензии, курение, изначальное снижение рСКФ ниже 80 мл/мин, а также нарастание уровня NGAL, KIM-1, нефрина через 1 неделю и NIF-1 $\alpha$  через 2 недели начала терапии (Таблица 16). (Рисунок 24, Таблица 16). Так как на первой неделе терапии определялись лишь следовые количества NIF-1 $\alpha$  в моче, в логистической регрессионной модели учитывали уровень NIF-1 $\alpha$  в моче на 2 неделе терапии, когда NIF-1 $\alpha$  определяется методом ИФА, повышение остальных маркеров в моче было значимо, начиная с 1 недели терапии.

При включении достоверных факторов риска в многофакторный логистический регрессионный анализ установлено, что исходное снижение расчетной скорости клубочковой фильтрации ниже 80 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> повышает риск (OR) нефротоксичности (ОБП) в 3,25 раз, наличие в анамнезе артериальной гипертензии повышает риск в 1,5 раза к 8 неделе наблюдения. Благоприятными факторами, ассоциированными со стабильными показателями СКФ при лечении анти-VEGF препаратами, являлись хорошая коррекция артериальной гипертензии с достижением целевых показателей артериального давления ( $\leq 130/80$  мм рт.ст.) и нормальный уровень D-димера в течение всего времени наблюдения. Наибольший показатель OR в многофакторной модели оценки риска нефротоксичности был определен в случае одновременного определения четырех мочевых биомаркеров (7,965 [95%ДИ 1,296-35,55]) (Таблица 16, Рисунок 24).

Качественная оценка модели получена путем определения коэффициента детерминации R<sup>2</sup>. Разработанная прогностическая модель учитывает 66,4% факторов,

определяющих вероятность развития нефротоксичности на 8 неделе, при этом модель является статистически значимой ( $p=0,03$ ).

Таблица 16 – Логистическая регрессия модели нефротоксичности, опосредованной анти-VEGF препаратами на 8 неделе терапии

Фактор	Монофакторный показатель OR [95% ДИ]	Значение $p$	Многофакторный показатель OR [95% ДИ]	Значение $p$
Возраст	1,061 [1,007-1,119]	0,026 *	1,018 [0,965-1,075]	0,51
Женский пол	4,875 [0,875-24,15]	0,071	2,631 [0,157-44,123]	0,501
Статус курения	6,782 [1,08-42,57]	0,041 *	0,654 [0,049-8,808]	0,749
ИМТ	1,009 [0,892-1,14]	0,892	-	
Наличие ССЗ	1,5 [0,267-8,411]	0,645	-	
АГ	3,5 [1,405-31,314]	0,042 *	1,503 [1,135-1,99]	0,013 *
СД	0,316 [0,047-2,118]	0,235	-	-
Изначальное снижение рСКФ	7,474 [1,033-59,856]	0,048 *	3,25 [1,06-9,967]	0,039 *
Локализация опухоли	1,269 [0,795-2,062]	0,318	-	
Вид анти-VEGF препарата	0,974 [0,385-2,464]	0,955	-	
Контроль АД	0,250 [0,071-0,886]	0,032 *	0,129 [0,045-0,365]	0,001 *
Нормальный показатель D-димера	0,323 [0,100-0,980]	0,048 *	0,308 [0,090-0,930]	0,039 *
КIM-1 (1 неделя)	1,014 [1,002-1,026]	0,021 *	-	-
NGAL (1 неделя)	1,973 [1,099-3,543]	0,025 *	-	-
HIF-1 $\alpha$ (2 недели)	6,944 [3,652-11,520]	0,024 *	-	-
Нефрин (1 неделя)	4,036 [1,596 - 10,200]	0,025*	-	-
Сочетание мочевых биомаркеров	3,128 [1,280-7,654]	0,012*	7,965 [1,296- 35,55]	0,010 *
Условные обозначения: * $p<0,05$ ; АГ – артериальная гипертензия; ИМТ – индекс массы тела; рСКФ – расчетная скорость клубочковой фильтрации; СД – сахарный диабет; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания.				

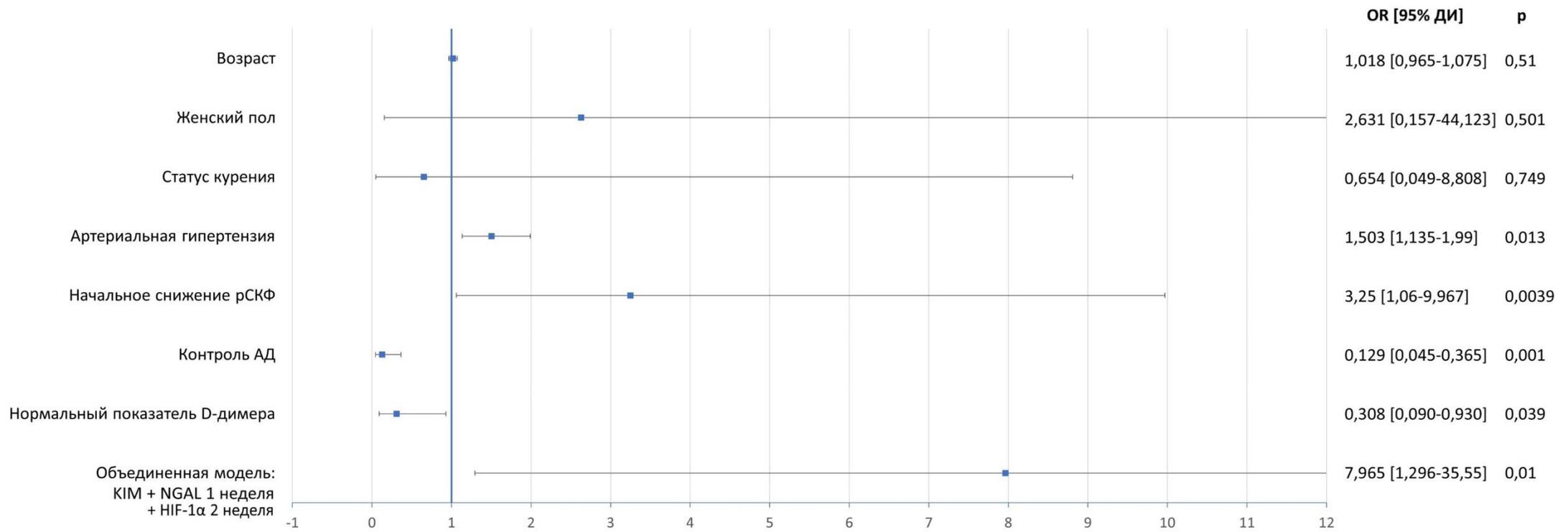


Рисунок 24 – Многофакторный логистический регрессионный анализ факторов риска нефротоксичности антиангиогенных препаратов (forest plot отношения шансов нефротоксичности)

### 3.7.2 Информативность лабораторных показателей для прогнозирования нефротоксичности анти-VEGF препаратов

Также, как и в группе цисплатина, рутинные лабораторные маркеры почечной функции (креатинин и расчетная СКФ), оцененные в ранние сроки после начала терапии (первая и вторая недели) по данным ROC-анализа не продемонстрировали свою информативность для прогнозирования развития нефротоксичности анти-VEGF препаратов (снижения СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) через 8 недель терапии (Таблица 17).

Таблица 17 - Информативность лабораторных показателей почечной функции (креатинина, СКФ) для прогнозирования снижения рСКФ через 8 недель терапии

	Cut-off	Se	Sp	PPV	NPV	AUC	Индекс Юдена
Креатинин 1 неделя	93 мкмоль/л	31,2%	97,0%	83,3%	75%	0,55	0,283
Мочевина 1 неделя	4,7 мкмоль/л	18,7%	88,2%	42,8%	69,7%	0,43	0,069
СКФ 1 неделя	66 мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	81,2%	20,5%	32,5%	70%	0,41	0,018
Условные обозначения: AUC – area under the curve; NPV - предсказательная ценность отрицательного результата; PPV - предсказательная ценность положительного результата; Se – чувствительность; Sp - специфичность.							

Однако, нарастание в моче пациентов, получающих анти-VEGF терапию, NGAL в концентрации 1,045 нг/мл (AUC 0,70), KIM-1 в концентрации 54,068 пг/мл (AUC 0,69), нефрина в концентрации 0,184 нг/мл (AUC 0,70) уже на первой неделе терапии и NIF-1 $\alpha$  в концентрации 0,068 нг/мл (AUC 0,70) на второй неделе терапии и позволяет предсказать снижение уровня рСКФ <60 мл/мин к 8 неделе лечения анти-VEGF препаратами (Рисунок 25, Таблица 18).

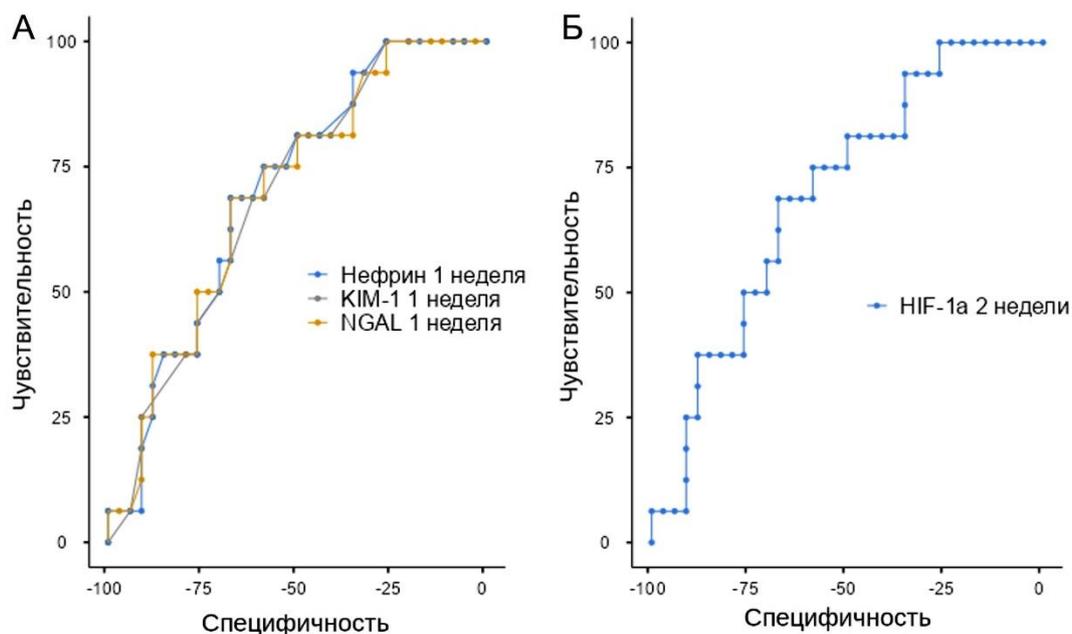


Рисунок 25 – Информативность мочевых биомаркеров для прогнозирования снижения рСКФ через 8 недель терапии: а) NGAL, KIM-1 и нефрина через 1 неделю после начала терапии; б) HIF-1 $\alpha$  через 2 недели после начала терапии.

Таблица 18 - Информативность отдельных биомаркеров NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$  и нефрина в моче, оцененных через неделю после начала терапии, для прогнозирования снижения рСКФ через 8 недель терапии

	Cut-off	Se	Sp	PPV	NPV	AUC	Индекс Юдена
NGAL 1 неделя	1,045 нг/мл	68,8%	67,8%	50,0%	82,1%	0,70	0,364
KIM-1 1 неделя	54,068 пг/мл	68,8%	61,8%	45,8%	80,7	0,69	0,305
Нефрин 1 неделя	0,184 нг/мл	68,8%	67,8%	50,0%	82,1%	0,70	0,364
HIF-1 $\alpha$ 2 недели	0,068 нг/мл	68,8%	67,8%	50,0%	82,1%	0,70	0,364

Условные обозначения:

AUC – area under the curve; NPV - предсказательная ценность отрицательного результата; PPV - предсказательная ценность положительного результата; Se – чувствительность; Sp - специфичность.

Информативность прогностической модели с включением биомаркеров мочи составляет AUC 0,828 [95%ДИ 0,679 -0,978],  $p=0,003$  с чувствительностью 81,8% и специфичностью 77,8% (Рисунок 26).

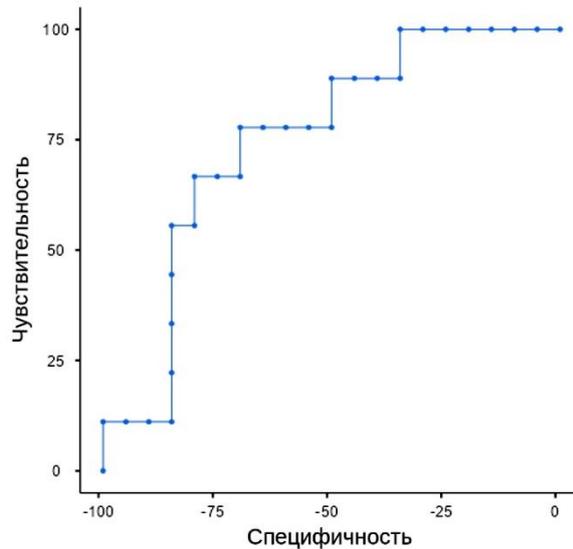


Рисунок 26 - ROC-кривая для объединенной модели NGAL, KIM-1, нефрина и HIF-1 $\alpha$  для прогнозирования нефротоксичности анти-VEGF препаратов к 8-ой неделе терапии

### 3.8 Проявления токсичности анти-VEGF препаратами через 6 и 9 месяцев наблюдения

При последующем наблюдении в течение 9 месяцев антиангиогенная терапия была отменена у всех пациентов: у 28% (n=14) пациентов - в связи с развитием нефротоксичности (протеинурии более 1 г/сут и снижения СКФ менее 30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>), у 14% (n=7) пациентов по поводу неконтролируемой артериальной гипертензии, у 10% (n=5) – в связи с тромботическими осложнениями, у 2% (n=1) – по поводу кровотечения. У 32% (n=16) отмена терапии проведена из-за прогрессирования опухоли. У 7 пациентов причину отмены терапии установить не удалось (Таблица 19).

Отмена анти-VEGF по причине нефротоксичности производилась при медиане дозы афлиберцепта  $315 \pm 2,7$  мг, бевацизумаба –  $1050 \pm 58,4$  мг, рамуцирумаба -  $700 \pm 44,7$  мг.

Таблица 19 - Причины отмены анти-VEGF препаратов при дальнейшем наблюдении за пациентами (через 6 месяцев и через 9 месяцев наблюдения)

	Через 6 месяцев, n (%)	Через 9 месяцев
Отмена препарата	12 (24)	50 (100)
Нефротоксичность	5 (10)	14 (28)
Неконтролируемая артериальная гипертензия	3 (6)	7 (14)
Тромбоз	2 (4)	5 (10)
Кровотечение	0 (0)	2 (4)
Прогрессирование	4 (8)	16 (32)
Неизвестно	0 (0)	7 (14)

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Проведение противоопухолевой терапии у пациентов с распространенными злокачественными опухолями нацелено на увеличение продолжительности жизни, а также на поддержание ее качества [170]. В подавляющем большинстве случаев пациенты получают терапию либо до прогрессирования болезни, либо до развития непереносимой токсичности. К непереносимой токсичности относят различные нежелательные явления, которые затрагивают разные системы и органы организма. Поддержание регулярности введения и своевременная коррекция нежелательных явлений может способствовать более эффективному лечению пациентов, таким образом, косвенно влияя на увеличение выживаемости пациентов.

Среди нежелательных явлений выделяют нефротоксичность, к которой относят и снижение рСКФ, и развитие протеинурии, случаи ОПП или хронической болезни почек [154].

Нефротоксичность, ассоциированная с платиносодержащей терапией (в особенности, цисплатином), была и остается актуальной проблемой с момента внедрения препарата в рутинную онкологическую практику. В нашем исследовании через 8 недель терапии снижение рСКФ по СКД-ЕРІ рСКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> достигли 22% пациентов, а в целом поражение почек, включающее случаи ОПП и снижения СКФ менее 60 мл/мин к 8 неделе терапии, развилась у 34% пациентов. К концу 9 месяцев у 46% пациентов препарат был отменен в связи со снижением СКФ менее 30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> и в связи с развитием высокой протеинурии. Наши данные согласуются с данными других исследовательских групп о том, что нарушение функции почек на фоне терапии цисплатином развивается приблизительно у трети пациентов [82, 116, 124].

Нефротоксичность цисплатина опосредована прямым токсическим действием на тубулярные клетки [40, 90]: после парентерального введения препарат связывается с белками плазмы крови и затем в течение суток экстретируется почками, вовлекая в апоптоз клетки канальцев различными путями [116]. Происходит запуск сигнальных каскадов MAPK, p53, ROS, что в свою очередь

приводит к апоптозу клеток, активации оксидативного стресса либо через нарушение дыхательной цепи в митохондриях, либо через активацию системы цитохрома P450 (CYP), гиперэкспрессии провоспалительных факторов (прежде всего IL-1 и TNF- $\alpha$ ), активации клеточного провоспалительного иммунитета (тучных клеток, NK-клеток, макрофагов и Т-лимфоцитов), и непосредственного влияния на сосуды почек с развитием повреждения ишемического характера (патологическая вазоконстрикция возникает из-за нарушенной функции эндотелиоцитов) [116].

Повреждение почек под действием цисплатина проявляется нарастанием уровня сывороточного креатинина, снижением рСКФ и появлением протеинурии. Мы наблюдали развитие почечной дисфункции со снижением СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> в первые 8 недель, нарушение функции почек прогрессировало при дальнейшем наблюдении. Небольшое увеличение альбуминурии клинического значения не имело. Через 1 неделю после введения цисплатина у 9 (18%) пациентов развилось ОПП 1 стадии (по критериям KDIGO). При последующем наблюдении пациентов с ОПП 1 стадии дальнейшего ухудшения функции почек не было выявлено. При последующих введениях препарата пациентам с нарастанием креатинина увеличивали водную нагрузку, в связи с чем у 3 пациентов отмечалось восстановление функции почек, а у 6 наблюдалось дальнейшее повышение креатинина и снижение СКФ. Случаев тяжелого острого почечного повреждения 2-3 стадии у пациентов, находящихся под тщательным динамическим наблюдением, в первые 8 недель не отмечено. Таким образом, частота почечной дисфункции, включающей случаи ОПП и снижения СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> к 8 неделе терапии цисплатином, развилась у 34% больных. Развитие почечной дисфункции в указанные сроки можно отнести к острой болезни почек.

Среди других проявлений токсичности цисплатина следует отметить снижение уровня гемоглобина ниже 120 г/л и тромбоцитов через 8 недель от начала терапии у всех пациентов, что связано с миелотоксическим действием препарата. Учитывая, что пациенты получали цисплатин в комбинации с другим химиопрепаратом, мы оценили вклад препарата-компаньона в развитие

нефротоксичности и не получили статистически значимых различий в подгруппах пациентов, получавших разные химиотерапевтические схемы: снижение рСКФ отмечалось вне зависимости от комбинации другого цитостатика с цисплатином. Локализация опухолевого процесса также не влияла на реализацию нефротоксичности цисплатина.

Учитывая, что повышение креатинина сигнализирует о повреждении почек при вовлечении более 50% нефронов, остается актуальным поиск ранних маркеров нефротоксичности, обнаружение которых на ранних сроках позволит выделить группу риска, и прогнозировать дальнейшее прогрессирование почечной дисфункции [95].

В нашем исследовании клинически значимое нарушение функции почек отмечено через 8 недель терапии, тогда как повышение уровня NGAL и KIM-1 у больных с последующим развитием почечной дисфункции было выявлено гораздо раньше, уже через неделю после введения. По данным ROC-анализа не удалось получить удовлетворительных результатов по показателям креатинина или значению рСКФ для прогнозирования ухудшения функции почек в ближайшие 8 недель.

Концентрация NGAL и KIM-1 в моче обладала прогностической значимостью и позволяла предсказать развитие нефротоксичности (ОБП) к восьминедельной точке с высокой чувствительностью и специфичностью. В нашем исследовании показано, что появление биомаркера NGAL в концентрации 10,743 нг/мл (AUC 0,96), KIM-1 в концентрации 182,4 пг/мл (AUC 0,96) уже на первой неделе терапии позволяет предсказать снижение уровня рСКФ <60 мл/мин через 8 недель после начала терапии.

Полученные данные согласуются с данными мировой литературы, которые показали, что мочевые биомаркеры позволяют с большой точностью предсказать острое почечное повреждение. Описано увеличение концентрации NGAL в моче уже в первые часы после ишемического или прямого токсического поражения почек [85]. Как прогностический маркер NGAL был изучен в кардиореанимационной практике: у пациентов, у которых впоследствии развилось

ОПП, отмечалось повышение уровня мочевого NGAL уже в первые часы после кардиохирургических операций [31, 93, 139]. В случае ОПП NGAL или липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов, изучен как маркер, отражал повреждение клеток проксимальных канальцев почек [173].

Экспрессия KIM-1 или молекулы повреждения почек-1 увеличивается при повреждении дистальных канальцев почек. Как и NGAL, уровень KIM-1 повышается в моче уже в первые сутки повреждения почек [36]. Роль KIM-1 отмечена и при цисплатин-ассоциированной нефротоксичности [94]: описано, что даже однократное введения цисплатина приводит к нарастанию уровня KIM-1, а скорость его нарастания прямо коррелирует со степенью повреждения почек и опережает темпы нарастания сывороточного креатинина [93].

Учитывая дозозависимый характер нефротоксичности, опосредованной цисплатином, был проведен корреляционный анализ разовой и кумулятивной дозы цисплатина и уровня биомаркеров почечного повреждения, который продемонстрировал достоверную прямую зависимость нарастания NGAL и KIM-1 по мере повышения дозы.

Таким образом, нарастание уровня мочевых NGAL и KIM-1 происходит с опережением стандартных лабораторных маркеров (креатинина и pСКФ) и позволяет выявить ОПП в более раннем периоде [23, 85].

Раннее обнаружение нарастания концентрации этих маркеров может использоваться для обсуждения редукции дозы препарата, замены цисплатина на карбоплатин (как наименее нефротоксичный) или для пропуска очередного введения препарата.

При оценке через 6 месяцев терапии у 14% пациентов потребовалась замена на карбоплатин в связи с развитием нефротоксичности, а у 24% пациентов терапия цисплатином вовсе была отменена. Через 9 месяцев от начала терапии завершили первоначальную терапию все исследованные пациенты – из них 22% в связи с развитием нарушения функции почек. Суммарно в последующем наблюдении в связи с нефротоксичностью завершили лечение 46% пациентов, что несколько превышает описанные в литературе 30% [82, 116, 124].

Так же, как и при лечении цисплатином, проблема нефротоксичности является актуальной и при назначении антиангиогенных (анти-VEGF) препаратов. Анти-VEGF препараты активно применяются для лечения метастатических форм множественных солидных опухолей, увеличивая такие показатели как общая выживаемость, выживаемость без прогрессирования и частота объективного ответа. Учитывая, что препараты применяются до прогрессирования или до непереносимой токсичности, крайне важно проводить лечение как можно дольше.

В наше исследование вошли пациенты, получающие один из трех анти-VEGF препаратов для парентерального введения: афлиберцепт, бевацизумаб, рамуцирумаб.

Афлиберцепт является рекомбинантным белком, который непосредственно блокирует рецепторы VEGF - VEGFR1 и VEGFR2. Он используется для лечения распространенных форм колоректального рака в комбинации либо с иринотеканом, либо с режимом FOLFIRI.

Бевацизумаб связывается непосредственно с VEGF в плазме крови, а также блокирует сигнальную пути VEGFR1, VEGFR2 [15]. Его спектр применения наиболее широк – он применяется для лечения распространенных форм рака яичника, колоректального рака, злокачественных новообразований головного мозга, рака молочной железы, а также ранее использовался при раке почки.

Рамуцирумаб специфически связывает только VEGFR2 и применяется в терапии рака желудка, колоректального рака и немелкоклеточного рака легких [44, 46, 122, 140].

Одними из наиболее частых нежелательных явлений являются повышение артериального давления и протеинурия, которые связаны с формированием системной эндотелиальной дисфункции и подоцитопатии, соответственно [74, 152]. В нашем исследовании развитие артериальной гипертензии (повышение АД выше 130/80 мм рт.ст.) в течение 8 недель отмечено у половины пациентов. Этот показатель несколько превышает частоту развития АГ по данным литературы. Так, по данным мета-анализ Maitland и соавт. данное нежелательное явление отмечено у 23,6% пациентов (7,9% АГ 3-4 степени по STCAE v.5.0) [74]. Схожие результаты

получены и при лечении рамуцирумабом - 21% [25]. Наиболее высокую частоту артериальной гипертензии вызывал афлиберцепт – 42,4% [107]. Возможно, более высокая частота выявления АГ в нашем исследовании обусловлена выбором строгих целевых показателей артериального давления (менее 130/80 мм рт. ст.).

В нашем исследовании отмечено статистически достоверное нарастание уровня альбуминурии в течение 8 недель, однако эти показатели не были клинически значимыми и не превышали референсных значений. Более высокие показатели протеинурии, потребовавшие отмены терапии, были зафиксированы позднее - к 9 месяцам наблюдения. По данным других исследований значимая протеинурия развивается у пациентов приблизительно через 6 месяцев терапии [141]. Некоторые исследователи отмечают, что протеинурия 1+ или 2+ появляется на фоне терапии бевацизумабом через 23,7 и 31,9 месяцев терапии, соответственно [119]. Только у 6,5% пациентов выявляется протеинурия более 3,5 мг/сут (нефротического уровня), в целом ее значения редко превышают 2 г/сут [15, 90].

В нашем исследовании гораздо более ранним проявлением токсичности анти-VEGF препаратов, чем протеинурия, оказались повышение АД и снижение СКФ. Через 1 неделю у 3 (6%) пациентов выявлено ОПП 1 стадии согласно критериям KDIGO, более тяжелых стадий ОПП выявлено не было. У больных с ОПП было зарегистрировано дальнейшее прогрессирование почечной дисфункции и снижение рСКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> к 8 неделе терапии анти-VEGF препаратами. Скорость клубочковой фильтрации снижалась статистически значимо уже через 2 недели. И к 8 неделе терапии нефротоксичность у больных, получающих терапию анти-VEGF препаратами, составила 42%. На развитие нефротоксичности не влияли тип антиангиогенного препарата, сопутствующие препараты-компаньоны и основное заболевание (локализация опухоли).

Исходное снижение уровня рСКФ менее 80 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> (оцененной с помощью формулы СКД-ЕPI) имело неблагоприятное прогностическое значение в отношении развития нефротоксичности через 8 недель терапии, что демонстрирует необходимость тщательной оценки функции почки не только по уровню креатинина, но с необходимым расчетом СКФ до начала терапии. Даже небольшое

отклонение СКФ от нормы требует более тщательного мониторинга клинико-лабораторных показателей с коррекцией АД, метаболических нарушений и исключения других факторов, которые могут оказать негативное влияние на функцию почек. По данным ROC-анализа не было выявлено прогностической значимости уровня изменения креатинина или СКФ в динамике в течение первых недель лечения, в отношении дальнейшего снижения почечной функции.

Учитывая необходимость поиска ранних маркеров нефротоксичности, мы оценили уровень мочевых маркеров NGAL, KIM-1, HIF-1 $\alpha$  и нефрина. В нашем исследовании уровни NGAL и KIM-1 достоверно повышались уже через неделю после начала анти-VEGF-терапии, отмечено неуклонное их нарастание в динамике, в то время как показатель рСКФ оставался выше 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> у большинства больных до 4 недели лечения. Таким образом, повышение NGAL и KIM-1 в моче уже на раннем этапе отражает повреждение почек (в первую очередь повреждение проксимальных и дистальных канальцев) и прогнозирует дальнейшее ухудшение параметров почечной функции и развития острой болезни почек.

Мы оценили экскрецию с мочой нефрина – трансмембранный подоцитарный белок, который составляет основу щелевой диафрагмы и регулируется VEGF. Нефрин играет важную роль в формировании протеинурии и является известным ранним маркером повреждения подоцитов. В основе формирования протеинурии при лечении анти-VEGF препаратами лежит отщепление нефрина от подоцита и разрушение щелевой диафрагмы и гломерулярного фильтра при блокировании эффектов VEGF [52, 100]. Изоформа VEGF-A экспрессируется в почке подоцитами (преимущественно) и в меньшей степени – тубулярными клетками [130]. Известно, что на эндотелиоцитах клубочков, перитубулярных капиллярах и в небольших количествах на самих подоцитах есть рецепторы VEGFR1, VEGFR2, которые выполняют роль поддержания гломерулярного фильтрационного барьера и внутрипочечного кровотока [53]. Подавление экспрессии VEGFR1 и VEGFR2 связывают с возникновением протеинурии [65]. Лечение анти-VEGF препаратами приводит к нарушению функции VEGF с нарушением паракринного воздействия на подоцит и с повышением фосфорилирования нефрина, его отщепления от

мембраны подоцита и возникновению дефектов щелевой диафрагмы и, соответственно, развитию протеинурии [63]. Среди обследованных нами пациентов наблюдалась ранее повышение нефрина в моче и тенденция к повышению суточной альбуминурии, однако на 8 неделе терапии при высоких уровнях нефринурии не было выявлено ни одного случая развития высокой протеинурии или нефротического синдрома.

Учитывая роль ТМА в развитии нефротоксичности анти-VEGF препаратов, мы изучили содержание в моче фактора, индуцируемого гипоксией - HIF-1 $\alpha$ . Последний представляет собой белок, который экспрессируется в клетке в ответ на снижение концентрации внутриклеточного кислорода [117]. В нашем исследовании HIF-1 $\alpha$  достоверно повышался через 7 дней от начала терапии и продолжал прогрессирующе нарастать к 8 неделе после начала терапии. Связь показателей HIF-1 $\alpha$  с уровнем маркеров микроангиопатического гемолиза и скорости клубочковой фильтрации предполагает значение хронической ишемии в развитии почечной дисфункции при лечении анти-VEGF препаратами. Имеются описания повышения HIF-1 $\alpha$  при хронической болезни почек, коррелирующее с потерей перитубулярных капилляров и гипоксией почечной ткани [71, 72].

Учитывая невыраженную альбуминурию, мы не выполняли биопсию почки в исследовании. Однако по имеющимся данным у пациентов с развившейся нефротоксичностью анти-VEGF препаратов при морфологическом исследовании ткани почки имеются признаки ТМА: отек эндотелиоцитов с отслойкой от базальной мембраны, тромбоз микроциркуляторного русла почек, утолщение сосудистой стенки, артериолосклероз, что приводит к ишемии коркового слоя почки и последующей почечной дисфункции [27, 34, 54, 68, 75]. Клинически почечная ТМА проявляется снижением СКФ в сочетании с гемолитической анемией, снижением уровня тромбоцитов, повышением уровня ЛДГ, что подтверждается полученными данными [59]. В нашем исследовании не отмечено случаев острой ТМА, однако, отмечено достоверное снижение уровня гемоглобина, тромбоцитов, повышение ЛДГ, количества шистоцитов и уровня D-димера, что также может указывать на субклиническую ТМА с микротромбозами

в почечных сосудах. Получены данные о нарастании уровня фибриногена, что может свидетельствовать в пользу активации свертывания крови, однако фибриноген является менее специфичным показателем тромбообразования, чем D-димер: у пациентов с онкологическими заболеваниями уровень фибриногена может быть повышенным в рамках паранеопластического синдрома, а также на его уровень может влиять наличие метастазов в печени [107, 122, 131, 139].

По данным ROC – анализа все изученные биомаркеры обладают прогностической значимостью: так появление биомаркера NGAL в концентрации 1,045 нг/мл (AUC 0,70), KIM-1 в концентрации 54,068 пг/мл (AUC 0,69), HIF-1 $\alpha$  в концентрации 0,068 нг/мл (AUC 0,70), нефрина в концентрации 0,184 нг/мл (AUC 0,70) уже на первой неделе терапии позволяет предсказать снижение уровня рСКФ <60 мл/мин через 8 недель после начала лечения антиангиогенными препаратами. Следует отметить, что нарастание креатинина и снижение СКФ в течение первых 8 недель наблюдения происходило постепенно, и не у всех пациентов соответствовало критериям острого почечного повреждения, однако в этом случае можно классифицировать почечное повреждение как развитие острой болезни почек у больных, получающих анти-VEGF-препараты.

При многофакторном анализе факторов риска развития нефротоксичности (ОБП) отмечено, что риск нефротоксичности увеличивался в 3,25 раз при исходном снижении рСКФ ниже 80 мл/мин; и в 1,5 раза при наличии артериальной гипертензии. Наибольший риск развития нефротоксичности отмечен при построении прогностической модели при сочетании следующих факторов: повышения мочевых KIM-1, NGAL и нефрина через 1 неделю и HIF-1 $\alpha$  через 2 недели в моче после введения.

В то же время благоприятными факторами, которые позволяли сохранить удовлетворительную функцию почек при лечении анти-VEGF препаратами, являлись хорошая коррекция артериальной гипертензии с достижением целевых показателей АД – риск снижался в 7,75 раз, а также нормальный уровень D-димера на протяжении всех 8 недель наблюдения – риск снижался в 3,2 раза.

При оценке через 6 месяцев у 10% пациентов препарат отменили в связи с развитием хронической болезни почек (высокой протеинурией и снижением СКФ менее 30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>), а 6% - в связи с неконтролируемой артериальной гипертензией. Через 9 месяцев от начала терапии завершили все исследованные пациенты, из них суммарно 28% - в связи с нефротоксичностью, а 14% - в связи с неконтролируемой артериальной гипертензией.

Лечение анти-VEGF-препаратами сопровождается повышенным риском тромботических осложнений, в том числе и артериальных, включая инсульт, транзиторную ишемическую атаку, инфаркт миокарда и стенокардию, особенно у пациентов старше 65 лет или с тромбоэмболическими событиями в анамнезе. В исследуемой группе пациентов частота тромботических осложнений анти-VEGF-терапии к 9 месяцам терапии, которые привели к отмене препарата, была выше, чем частота кровотечений. Механизмы тромбообразования связаны со способностью анти-VEGF снижать регенераторные свойства эндотелиальных клеток и вызывать дефекты, которые открывают прокоагулянтные фосфолипиды на плазматической мембране, что в свою очередь приводит к тромбозу [80]. Снижение NO и PGI<sub>2</sub> может способствовать тромбоэмболическим событиям, так как VEGF увеличивает выработку NO и простаглицлина, препятствует прокоагулянтным изменениям, а также подавляет пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов [174].

Мы установили неблагоприятное значение и прогрессирование ухудшения функции почек при стойком повышении уровня D-димера, что, по-видимому, связано с тромбозами микроциркуляторного русла почек, так как не было выявлено признаков тромбоза другой локализации. Напротив, сохранение нормального уровня D-димера в течение всего времени наблюдения отмечалось у пациентов со стабильной нормальной функцией почек. Наши данные согласуются с работой Mischi M и соавт., которые показали, что повышение уровня D-димера на фоне лечения бевацизумабом прогнозирует тромботические события за четыре недели до наступления осложнения [101].

При анализе пяти клинических исследований применения бевацизумаба при злокачественных новообразованиях различных локализаций, оказалось, что общая

частота тромбоемболических событий составила 4% у пациентов, получавших бевацизумаб в сочетании с другими химиопрепаратами, и 2% у пациентов, получавших только химиотерапию без включения бевацизумаба. Смертность, связанная с тромбоемболическими событиями, составила около 0,4-0,8% [142]. В настоящее время рутинная тромбопрофилактика не рекомендована всем амбулаторным больным. Однако пациентам со злокачественными новообразованиями из группы высокого риска согласно шкале Khorana может быть предложена тромбопрофилактика, что, по-видимому, может также улучшать почечный прогноз [79].

Определяя риск токсичности противоопухолевых препаратов, мы оценили информативность различных формул для расчета СКФ - СКД-EPI, MDRD и Кокрофта-Голта. В нашем исследовании формула Кокрофта-Голта несколько завышала рСКФ. При ее использовании снижение СКФ менее 60 мл/мин было пропущено у 71% пациентов. С помощью формулы СКД-EPI начальное снижение СКФ с дальнейшим прогрессирующим ухудшением функции почек удалось зафиксировать, начиная уже с 1-ой недели лечения.

Несмотря на то, что ограничением нашего исследования является отсутствие золотого стандарта определения СКФ (клиренсовых методов исследования), мы полагаем, что для более тщательного мониторингования СКФ при лечении нефротоксичными препаратами следует применять формулы СКД-EPI или MDRD, учитывая число пропущенных случаев снижения СКФ по формуле Кокрофта-Голта, но выявленные с помощью формул СКД-EPI и MDRD. Кроме того, у пациентов с начальным снижением рСКФ по формулам MDRD и СКД-EPI отмечалось дальнейшее ухудшение функции почек при последующем наблюдении в течение 6-9 мес. Подтверждением нашего заключения являются также данные других исследований. Так, в крупном исследовании с включением 24516 пациентов с диабетической нефропатией оценивались чувствительность и специфичность, а также точность оценки рСКФ по вышеуказанным формулам. Показано, что формула Кокрофта-Голта завышала истинные значения СКФ [113]. Другие исследователи также отметили, что формула СКД-EPI дает более точную оценку

СКФ [80]. В рекомендациях KDIGO отмечено, что формула Кокрофта-Голта была разработана и исследована до момента внедрения стандартизованных методов определения креатинина сыворотки крови, и после введения таких методов не была оценена повторно, что ставит ее валидизацию под сомнение. Также коллектив авторов рекомендаций отмечает, что при использовании формулы MDRD значения рСКФ завышаются, потому ее разрешено использовать только при значениях СКФ более 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Таким образом, единственным в настоящее время рекомендуемым методом расчета рСКФ является формула СКД-ЕPI, которая имеет минимальные отличия от измеренной «золотым методом» СКФ [2]. К последнему можно отнести клиренсовые методы определения СКФ, например, с различными маркерами (цистатин С, инулин и т.п.) или проба Реберга-Тареева.

Так как для раннего выявления нефротоксичности противоопухолевых препаратов важна более точная оценка СКФ с выявлением начальных признаков снижения функции почек, для мониторингования СКФ, по-видимому, следует использовать формулу СКД-ЕPI или, что менее предпочтительно, MDRD.

## ВЫВОДЫ

1. Развитие почечного повреждения через 8 недель терапии наблюдалось у 17 (34%) из 50 больных, получавших терапию цисплатином, и у 21 (42%) из 50 больных при применении антиангиогенных (анти-VEGF) препаратов. Тяжелая нефротоксичность привела к отмене цисплатина и анти-VEGF препаратов у 23 (46%) и 14 (28%) из 50 больных соответственно; влияния варианта антиангиогенного препарата, сопутствующей терапии или локализации/распространенности опухолевого процесса на частоту почечного повреждения не выявлено.

2. Клинико-лабораторными проявлениями нефротоксичности через 8 недель терапии являлись снижение СКФ  $<60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> при лечении цисплатином и снижение СКФ  $<60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> в сочетании с артериальной гипертензией и нарастанием альбуминурии при применении анти-VEGF препаратов. Ранними биомаркерами нефротоксичности цисплатина можно считать повышение уровня NGAL и KIM-1 в моче через неделю после начала терапии; а биомаркерами почечного повреждения при лечении анти-VEGF препаратами - повышение NGAL, KIM-1, нефрина и HIF-1 $\alpha$  в моче через 1-2 недели и дальнейшее нарастание через 4-8 недель терапии.

3. Повышенные концентрации в моче подоцитарного белка нефрина, фактора гипоксии HIF-1 $\alpha$ , а также маркеров канальцевого повреждения KIM-1 и NGAL, коррелирующие с лабораторными показателями микроангиопатического гемолiza (снижением гемоглобина, повышением уровня лактатдегидрогеназы сыворотки, количества шистоцитов периферической крови), отражают инициацию процессов тромботической микроангиопатии и ишемического повреждения ткани почки при лечении анти-VEGF препаратами; повышение концентраций в моче NGAL и KIM-1 в процессе лечения цисплатином обусловлено его токсическим действием на клетки канальцев.

4. Факторами риска нефротоксичности антиангиогенных препаратов являются исходное снижение скорости клубочковой фильтрации менее 80 мл/мин,

наличие артериальной гипертензии, повышение концентрации в моче KIM-1, NGAL, нефрина через 1 неделю HIF-1а через 2 недели от начала терапии (OR 7,965 [95%ДИ 1,296–35,55],  $p=0,01$ ). Риск нефротоксичности цисплатина увеличивается в 8,636 раза ([95%ДИ 4,635-95,84],  $p=0,001$ ) к 8-ой неделе лечения при повышении уровня NGAL и KIM-1 в моче через 1 неделю после начала терапии.

5. Благоприятными факторами, ассоциированными с сохранением нормальной функции почек и стабильными показателями СКФ при лечении антиангиогенными препаратами, являлись достижение целевых показателей артериального давления OR 0,129 ([95%ДИ 0,045-0,365],  $p=0,001$ ) и референсных значений D-димера OR 0,308 ([95%ДИ 0,090 – 0,930],  $p=0,039$ ) в течение всего срока наблюдения; применение антикоагулянтных препаратов с целью профилактики тромботических осложнений ассоциировано с более медленным темпом нарастания мочевых биомаркеров и меньшим риском отмены анти-VEGF препаратов в связи с тяжелой нефротоксичностью.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При лечении цисплатином и анти-VEGF препаратами необходим регулярный контроль функции почек с оценкой расчетной СКФ предпочтительно по формулам СКD-EPI или MDRD и оценка уровня в моче ранних биомаркеров почечного повреждения (NGAL, KIM-1, NIF-1 $\alpha$ , нефрина);

2. При лечении цисплатином концентрация биомаркеров мочи, свидетельствующая о риске ухудшения функции почек, составляет более 10,743 нг/мл для NGAL и более 82,4 пг/мл для KIM-1 через неделю от начала терапии. Для анти-VEGF препаратов риск нефротоксичности увеличивается при превышении концентрации NGAL в моче более 1,045 нг/мл, KIM-1 >54,068 пг/мл, NIF-1 $\alpha$  >0,065 нг/мл, нефрина >0,184 нг/мл. В случае раннего (через 1-2 недели) повышения биомаркеров в моче требуются более частые исследования креатинина сыворотки, СКФ (1 раз в 1-2 недели) и измерения артериального давления;

3. В группу риска развития нефротоксичности анти-VEGF препаратов можно отнести пациентов с недостаточным контролем артериальной гипертензии и исходным снижением СКФ <80 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>; при выявлении факторов риска и ранних признаков нефротоксичности следует пересмотреть схему химиотерапии, исключить нефротоксичные препараты и оценить степень коррекции артериальной гипертензии;

4. У больных, входящих в группу риска нефротоксичности, наряду с рутинными тестами коагулограммы и оценкой по шкале Khorana следует включать в план обследования D-димер для определения риска тромботических осложнений, что позволит принять решение о своевременном назначении антикоагулянтной терапии.

**ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ**

АД – артериальное давление

БАТР – блокаторы ангиотензиновых рецепторов

ВБП – выживаемость без прогрессирования

ГБ – гипертоническая болезнь

ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза

ДАД – диастолическое артериальное давление

ДИ – доверительный интервал

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗНО – злокачественное новообразование

иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

ИМТ – индекс массы тела

иХа – ингибитор Ха фактора свертывания

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

МАГ – микроангиопатический гемолиз

НМГ – низкомолекулярный гепарин

НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты

ЛБП – острая болезнь почек

ОВ – общая выживаемость

ОИМ – острый инфаркт миокарда

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ОПП – острое повреждение почек

ПИКС – постинфарктный кардиосклероз

САД – систолическое артериальное давление

СД – сахарный диабет

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СЭР – стресс эндоплазматического ретикулума

ТМА – тромботическая микроангиопатия

Х/т – химиотерапия

ЧОО – частота объективного ответа

AUC – area under curve – площадь под кривыми

CKD–EPI - Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

CTCAE v.5.0 - Common Terminology Criteria for Adverse Events, версия 5.0

df – степени свободы

ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group

Hb – гемоглобин

HR – hazard ratio – отношение рисков

HIF-1 $\alpha$  - фактор, индуцированный гипоксией

IQR – интерквартильный размах

KDIGO - Kidney Disease: Improving Global Outcomes

KIM-1 - молекула повреждения почек

MDRD – Modification of Diet in Renal Disease

НИH - National institute of Health

NGAL - липокалин, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой

NPV - Negative Predictive Value – отрицательное прогностическое значение

OR – Odds Ratio – отношение шансов

Plt – тромбоциты

PPV – Positive Predictive Value – положительное прогностическое значение

PS – Performance status – соматический статус

ROC – Receiver Operating Characteristic analysis

Se – sensitivity – чувствительность

Sp – specificity - специфичность

TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли- $\alpha$

VEGF - фактора роста эндотелия сосудов

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Батюшин, М. М. Острое почечное повреждение: современный взгляд на проблему / Батюшин М. М., Руденко Л. И., Кастанаян А. А. [и др.] // *Consilium Medicum*. – 2017. – Т. 18. – № 7. – С. 43–48.
2. Батюшин, М. М. Методические основы оценки скорости клубочковой фильтрации в урологической практике / М. М. Батюшин // *Вестник урологии*. – 2017. – Т. 5. – № 1. – С. 42–51.
3. Ганьшина, И. П. Антиангиогенная терапия при раке молочной железы с тройным негативным фенотипом / И. П. Ганьшина, К. А. Иванова, О. О. Гордеева [и др.] // *Современная онкология*. – 2021. – Т. 23. – № 1. – С. 88–92.
4. Гасанов, М. З. Эндотелиальная дисфункция у пациентов с хронической болезнью почек: прогностический потенциал эндотелина-1 / М. З. Гасанов, М. Г. Панченко, М. М. Батюшин [и др.] // *Клиническая нефрология*. – 2021. – № 4. – С. 8–15.
5. Гордеева, О. О. Эффективность и безопасность неоадьювантной химиотерапии в режиме P1aTаx у больных трижды негативным раком молочной железы II–III стадий / О. О. Гордеева, И. В. Колядина, Л. Г. Жукова [и др.] // *Опухоли женской репродуктивной системы*. – 2020. – Т. 16. – № 2. – С. 25–37.
6. Ефремова, Е. В. Фактор, индуцируемый гипоксией-1 (HIF-1) как биомаркер острого повреждения почек у больных с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности / Е. В. Ефремова, А. М. Шутов, Е. Р. Макеева [и др.] // *Кардиология*. – 2019. – № 59. – С. 25–30.
7. Карасева, А. Д. Влияние экскреции с мочой биомаркеров нарушения ангиогенеза и тубулярного повреждения на антипротеинурический эффект терапии у больных хроническим гломерулонефритом / А. Д. Карасева, М. Ю. Швецов, Т. А. Семерюк // *Нефрология*. – 2019. – № 23. – С. 55–74.

8. Льянова, А. А. Молекулярные основы современной таргетной терапии плоскоклеточного рака языка и слизистой дна полости рта моноклональными антителами / А. А. Льянова, Л. Ю. Владимирова, Е. М. Франциянц [и др.] // Злокачественные опухоли. – 2017. – Т. 7. – № 4. – С. 77–87.
9. Мещеряков, А. А. Лечение и профилактика побочных эффектов антиангиогенной терапии у больных метастатическим колоректальным раком / А. А. Мещеряков // Российский онкологический журнал. – 2017. – Т. 22. – № 3. – С. 164–168.
10. Орлова, Р. В. Терапия рамуцирумабом при раке желудка поздних стадий: обсуждение клинических случаев / Р. В. Орлова, Л. Г. Жукова, И. П. Ганьшина [и др.] // Современная онкология. – 2018. – Т. 20. – № 1. – С. 35–41.
11. Прокопенко, Е. И. Атипичный гемолитико-уремический синдром, ассоциированный с беременностью: жизнеспасаящая терапия экулизумабом / Е. И. Прокопенко, В. В. Лихванцев, А. В. Ватазин [и др.] // Клиническая нефрология. – 2016. – № 3–4. – С. 63–68.
12. Прокопенко, Е. И. Тромботическая микроангиопатия после трансплантации почки: что скрывается за морфологической картиной? Обзор литературы / Е. И. Прокопенко // Нефрология и диализ. – 2019. – Т. 21. – № 4. – С. 404–418.
13. Прокопенко, Е. И. Тромботическая микроангиопатия после трансплантации почки: причины, клинические особенности и исходы / Е. И. Прокопенко, Е. О. Щербакова, Р. О. Кантария [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2020. – Т. 48. – № 3. – С. 177–186.
14. Светозарский, Н. Л. Фактор роста эндотелия сосудов: биологические свойства и практическое значение (обзор литературы) / Н. Л. Светозарский, А. А. Артифексова, С. Н. Светозарский // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2015. – № 5. – С. 1–12.

15. Трякин, А. А. Таргетная терапия колоректального рака, рака желудка и поджелудочной железы / А. А. Трякин // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11. – № 3. – С. 143–150.
16. Федоров, В. Э. Проблемы в лечении рака молочной железы: взгляд со стороны, мнение и опыт онколога-хирурга / В. Э. Федоров, Ю. С. Гергенретер, К. С. Титов [и др.] // Ремедиум Приволжье. – 2017. – № 6. – С. 15–18.
17. Швецов, М. Ю. Мочевая экскреция факторов регуляции ангиогенеза и маркеров повреждения почек при хроническом гломерулонефрите: значение в оценке прогрессирования / М. Ю. Швецов, А. Чжэн, Л. В. Козловская [и др.] // Терапевтический архив. – 2015. – Т. 87. – № 6. – С. 75–82.
18. Яркова, Н. А. Нефрин - ранний маркер повреждения почек при сахарном диабете 2-го типа / Н. А. Яркова // Медицинский альманах. – 2017. – № 2. – С. 2016–2018.
19. Abbas, A. Renal Toxicities of Targeted Therapies / A. Abbas, M. Mirza, A. Ganti [et al.] // Targeted Oncology. – 2015. – Vol. 10. – № 4. – P. 487–499.
20. Abdel-Rahman, O. Proteinuria in Patients with Solid Tumors Treated with Ramucirumab: A Systematic Review and Meta-Analysis / O. Abdel-Rahman, H. Elhalawani // Chemotherapy. – 2015. – Vol. 610. – № 5–6. – P. 325–333.
21. Airoidi, A. COVID-19-related thrombotic microangiopathy in a cirrhotic patient / A. Airoidi, G. Perricone, S. De Nicola [et al.] // Digestive and Liver Disease. – 2020. – Vol. 52. – № 9. – P. 946.
22. Al-Batran, S. E. Phase III trial in metastatic gastroesophageal adenocarcinoma with fluorouracil, leucovorin plus either oxaliplatin or cisplatin: A study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie / S. E. Al-Batran, J. Hartmann, S. Probst [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2008. – Vol. 26. – № 9. – P. 1435–1442.
23. Al-Majed, A. A. Propionyl-L-carnitine prevents the progression of cisplatin-induced cardiomyopathy in a carnitine-depleted rat model / A. A. Al-Majed, M. Sayed-Ahmed,

- A. Al-Yahya [et al.] // *Pharmacological Research*. – 2006. – Vol. 53. – № 3. – P. 278–286.
24. Arany, I. Cisplatin nephrotoxicity / I. Arany, R. L. Safirstein // *Seminars in Nephrology*. – 2003. – Vol. 23. – № 5. – P. 460–464.
25. Arnold, D. Meta-analysis of individual patient safety data from six randomized, placebo-controlled trials with the antiangiogenic VEGFR2-binding monoclonal antibody ramucirumab / D. Arnold, C. Fuchs, J. Tabernero [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2017. – Vol. 28. – № 12. – P. 2932–2942.
26. Atilano-Roque, A. Nrf2 activators as potential modulators of injury in human kidney cells / A. Atilano-Roque, X. Wen, L. Aleksunes [et al.] // *Toxicology Reports*. – 2016. – № 3. – P. 153–159.
27. Azad, N. S. Combination targeted therapy with sorafenib and bevacizumab results in enhanced toxicity and antitumor activity / N. S. Azad, E. Posadas, V. Kwitkowski [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2008. – Vol. 26. – № 22. – P. 3709–3714.
28. Bao, L. Methylation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  by G9a/GLP inhibits HIF-1 transcriptional activity and cell migration / L. Bao, Y. Chen, H. Lai [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2018. – Vol. 46. – № 13. – P. 6576–6591.
29. Bennett, M. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: A prospective study / M. Bennett, C. Dent, Q. Ma [et al.] // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. – 2008. – Vol. 3. – № 3. – P. 665–673.
30. Bennouna, J. Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): A randomised phase 3 trial / J. Bennouna, J. Sastre, D. Arnold [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2013. – Vol. 14. – № 1. – P. 29–37.
31. Berk, V. Predictive significance of VEGF and HIF-1 $\alpha$  expression in patients with metastatic colorectal cancer receiving chemotherapy combinations with bevacizumab / V. Berk, K. Deniz, O. Bozkurt [et al.] // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2015. – Vol. 16. – № 14. – P. 6149–6154.

32. Blagosklonny, M. v Hypoxia-inducible factor: Achilles' heel of antiangiogenic cancer therapy (review). / M. Blagosklonny // International journal of oncology. – 2001. – Vol. 19. – № 2. – P. 257–262.
33. Bolisetty, S. Proximal tubule-targeted heme oxygenase-1 in cisplatin-induced acute kidney injury / S. Bolisetty, A. Traylor, R. Joseph [et al.] // American Journal of Physiology - Renal Physiology. – 2016. – Vol. 310. – № 5. – P. 385–394.
34. Bollée, G. Thrombotic microangiopathy secondary to VEGF pathway inhibition by sunitinib / G. Bollée, N. Patey, G. Cazajous [et al.] // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2009. – Vol. 24. – № 2. – P. 682–685.
35. Bonventre, J. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): A specific and sensitive biomarker of kidney injury / J. Bonventre // Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. – 2008. – Vol. 68. – № 24. – P. 78–83.
36. Bonventre, J. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): A urinary biomarker and much more / J. Bonventre // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2009. – Vol. 24. – № 11. – P. 3265–3268.
37. Bonventre, J. Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity / J. Bonventre, V. S. Vaidya, R. Schmouder [et al.] // Nature Biotechnology. – 2010. – Vol. 28. – № 5. – P. 436–440.
38. Botrel, T. E. Efficacy and safety of bevacizumab plus chemotherapy compared to chemotherapy alone in previously untreated advanced or metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis / T. E. Botrel, L. O. Clark, L. Paladini [et al.] // BMC Cancer. – 2016. – Vol. 16. – № 1. – P. 677.
39. Brocklebank, V. Thrombotic microangiopathy and the kidney / V. Brocklebank, K. M. Wood, D. Kavanagh // Clinical Journal of the American Society of Nephrology. – 2018. – Vol. 13. – № 2. – P. 300–317.

40. Browning, R. J. Drug Delivery Strategies for Platinum-Based Chemotherapy / R. J. Browning, P. J. T. Reardon, M. Parhizkar [et al.] // *ACS Nano*. – 2017. – Vol. 11. – № 9. – P. 8560–8578.
41. Capasso, A. Summary of the International Conference on Onco-Nephrology: an emerging field in medicine / A. Capasso, A. Benigni, U. Capitanio [et al.] // *Kidney International*. – 2019. – Vol. 96. – № 3. – P. 555–567.
42. Carmeliet, P. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis / P. Carmeliet, R. K. Jain // *Nature*. – 2011. – Vol. 473. – № 7347. – P. 298–307.
43. Chiusolo, A. Kidney Injury Molecule-1 Expression in Rat Proximal Tubule after Treatment with Segment-Specific Nephrotoxics: A Tool for Early Screening of Potential Kidney Toxicity / A. Chiusolo, R. Defazio, E. Zanetti [et al.] // *Toxicologic Pathology*. – 2010. – Vol. 38. – № 3. – P. 338–345.
44. Clarke, J. M. Understanding the mechanisms of action of antiangiogenic agents in metastatic colorectal cancer: A clinician's perspective / J. M. Clarke, H. I. Hurwitz, F. Rangwala // *Cancer Treatment Reviews*. – 2014. – Vol. 40. – № 9. – P. 1065–1072.
45. Cruz, D. N. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early biomarker for acute kidney injury in an adult ICU population / D. N. Cruz, M. de Cal, F. Garzotto [et al.] // *Intensive Care Medicine*. – 2010. – Vol. 36. – № 3. – P. 444–451.
46. Cutsem, E. van. Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatin-based regimen / E. Cutsem van, J. Tabernero, R. Lakomy [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2012. – Vol. 30. – № 28. – P. 3499–3506.
47. Dasari, S. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action / S. Dasari, P. Bernard-Tchounwou // *European Journal of Pharmacology*. – 2014. – № 740. – P. 364–378.

48. Devarajan, P. Review: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: A troponin-like biomarker for human acute kidney injury / P. Devarajan // *Nephrology*. – 2010. – Vol. 15. – № 4. – P. 419–428.
49. Dieterle, F. Renal biomarker qualification submission: A dialog between the FDA-EMEA and Predictive Safety Testing Consortium / F. Dieterle, F. Sistare, F. Goodsaid [et al.] // *Nature Biotechnology*. – 2010. – Vol. 28. – № 5. – P. 455–462.
50. Dimke, H. Tubulovascular cross-talk by vascular endothelial growth factor a maintains peritubular microvasculature in kidney / H. Dimke, M. A. Sparks, B. R. Thomson [et al.] // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2015. – Vol. 26. – № 5. – P. 1027–1038.
51. Eremina, V. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases / V. Eremina, M. Sood, J. Haigh [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2003. – Vol. 111. – № 5. – P. 707–716.
52. Eremina, V. VEGF Inhibition and Renal Thrombotic Microangiopathy / V. Eremina, J. A. Jefferson, J. Kowalewska [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2008. – Vol. 358. – № 11. – P. 1129–1136.
53. Eremina, V. Role of the VEGF-A signaling pathway in the glomerulus: Evidence for crosstalk between components of the glomerular filtration barrier / V. Eremina, H. J. Baelde, S. E. Quaggin // *Nephron Physiology*. – 2007. – Vol. 2. – № 106. – P. 32–27.
54. Estrada, P. C. Therapeutic inhibition of VEGF signaling and associated nephrotoxicities / P. C. Estrada, A. Maldonado, S. K. Mallipattu // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2019. – Vol. 30. – № 2. – P. 187–200.
55. Fan, Q. Reduction in VEGF protein and phosphorylated nephrin associated with proteinuria in adriamycin nephropathy rats / Q. Fan, Y. Xing, J. Ding [et al.] // *Nephron - Experimental Nephrology*. – 2009. – Vol. 111. – № 4. – P. 92–102.

56. Feliu, J. Correlation of hypertension and proteinuria with outcome in elderly bevacizumab-treated patients with metastatic colorectal cancer / J. Feliu, A. Salud, M. J. Safont [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10. – № 1. – P. e0116527.
57. Fliedl, L. Controversial role of gamma-glutamyl transferase activity in cisplatin nephrotoxicity / L. Fliedl, M. Wieser, G. Manhart [et al.] // Altex. – 2014. – Vol. 31. – № 3. – P. 269–278.
58. Fuchs, P. S. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): An international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial / P. S. Fuchs, J. Tomasek, P. J. Yong [et al.] // The Lancet. – 2014. – Vol. 383. – № 9911. – P. 31–39.
59. Fujii, T. Nephrotic syndrome associated with ramucirumab therapy: A single-center case series and literature review / T. Fujii, K. Kawasoe, A. Tonooka [et al.] // Medicine. – 2019. – Vol. 98. – № 27. – P. e16236.
60. Garon, E. B. Ramucirumab plus docetaxel versus placebo plus docetaxel for second-line treatment of stage IV non-small-cell lung cancer after disease progression on platinum-based therapy (REVEL): a multicentre, double-blind, randomised phase 3 trial / E. B. Garon, T.-E. Ciuleanu, O. Arrieta [et al.] // The Lancet. – 2014. – Vol. 384. – № 9944. – P. 665–673.
61. Giantonio, B. J. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: Results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200 / B. J. Giantonio, P. J. Catalano, N. J. Meropol [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2007. – Vol. 25. – № 12. – P. 1539–1544.
62. Gordon, M. S. Vascular endothelial growth factor as a target for antiangiogenic therapy / M. S. Gordon // Journal of Clinical Oncology. – 2000. – Vol. 18. – P. 21.

63. Hara, A. Blockade of VEGF accelerates proteinuria, via decrease in nephrin expression in rat crescentic glomerulonephritis / A. Hara, T. Wada, K. Furuichi [et al.] // *Kidney International*. – 2006. – Vol. 69. – № 11. – P. 1986–1995.
64. Hartmann, J. T. A randomized trial comparing the nephrotoxicity of cisplatin/ifosfamide-based combination chemotherapy with or without amifostine in patients with solid tumors / J. T. Hartmann, L. M. Fels, S. Knop [et al.] // *Investigational New Drugs*. – 2000. – Vol. 18. – № 3. – P. 281–289.
65. Hartmann, J. T. Toxicity of platinum compounds / J. T. Hartmann, H. P. Lipp // *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. – 2003. – Vol. 4. – № 6. – P. 889–901.
66. Hauser, P. Nephrin and endothelial injury / P. Hauser, F. Collino, B. Bussolati [et al.] // *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. – 2009. – Vol. 18. – № 1. – P. 3–8.
67. Hill, J. M. Organo-platinum complexes as antitumor agents / J. M. Hill, R. J. Speer // *Anticancer Research*. – 1982. – Vol. 2. – № 3. – P. 173–185.
68. Horowitz, J. R. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor produces nitric oxide-dependent hypotension: Evidence for a maintenance role in quiescent adult endothelium / J. R. Horowitz, A. Rivard, R. van der Zee [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 1997. – Vol. 17. – № 11. – P. 2793–2800.
69. Hubank, M. Identifying differences in mRNA expression by representational difference analysis of cDNA / M. Hubank, D. G. Schatz // *Nucleic Acids Research*. – 1994. – № 25 (22). – P. 5640–5648.
70. Inoue, T. M1 macrophage triggered by Mincle leads to a deterioration of acute kidney injury / T. Inoue // *Kidney International*. – 2017. – Vol. 91. – № 3. – P. 526–529.
71. Iwasa, S. Lack of association of proteinuria and clinical outcome in patients treated with bevacizumab for metastatic colorectal cancer / S. Iwasa, T. E. Nakajima, K. Nagashima [et al.] // *Anticancer Research*. – 2013. – Vol. 33. – № 1. – P. 309–316.

72. Izzedine, H. Management of hypertension in angiogenesis inhibitor-treated patients / H. Izzedine, S. Ederhy, F. Goldwasser [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2009. – Vol. 20. – № 5. – P. 807–815.
73. Izzedine, H. Thrombotic microangiopathy related to anti-VEGF agents: Intensive versus conservative treatment? / H. Izzedine, L. Camous, G. Deray // *Annals of Oncology*. – 2011. – Vol. 22. – № 2. – P. 387–490.
74. Izzedine, H. Kidney diseases associated with anti-vascular endothelial growth factor (VEGF): An 8-year observational study at a single center / H. Izzedine, B. Escudier, P. Lhomme [et al.] // *Medicine (United States)*. – 2014. – Vol. 93. – № 24. – P. 333–339.
75. Izzedine, H. Thrombotic microangiopathy and anti-VEGF agents / H. Izzedine, L. Camous, G. Deray // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2007. – Vol. 22. – № 5. – P. 1480–1481.
76. Jayson, G. P. Antiangiogenic therapy in oncology: current status and future directions / G. C. Jayson, R. Kerbel, L. M. Ellis [et al.] // *The Lancet*. – 2016. – Vol. 388 – № 10043. – P. 518–529.
77. Jongh, F. E. Weekly high-dose cisplatin is a feasible treatment option: Analysis on prognostic factors for toxicity in 400 patients / F. E. Jongh, R. N. van Veen, S. J. Veltman [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2003. – Vol. 88. – № 8. – P. 1199–1206.
78. Kanbayashi, Y. Predictive factors for the development of proteinuria in cancer patients treated with bevacizumab, ramucirumab, and aflibercept: a single-institution retrospective analysis / Y. Kanbayashi, T. Ishikawa, Y. Tabuchi [et al.] // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10. – № 1. – P. 2011.
79. Key, N. S. Venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with cancer: ASCO clinical practice guideline update / N. S. Key, A. A. Khorana, N. M. Kuderer [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2020. – Vol. 38. – № 5. – P. 496–520.
80. Kilickap, S. Bevacizumab, bleeding, thrombosis, and warfarin / S. Kilickap, H. Abali, I. Celik // *Journal of Clinical Oncology*. – 2003. – Vol. 21. – № 18. – P. 3542.

81. Kitamoto, Y. Vascular endothelial growth factor is an essential molecule for mouse kidney development: Glomerulogenesis and nephrogenesis / Y. Kitamoto, H. Tokunaga, K. Tomita // *Journal of Clinical Investigation*. – 1997. – Vol. 99. – № 10. – P. 2351–2357.
82. Kostovska, I. Urinary nephrin is earlier, more sensitive and specific marker of diabetic nephropathy than microalbuminuria / I. Kostovska, T Trajkovska, S. Topuzovska [et al.] // *Journal of Medical Biochemistry*. – 2019. – Vol. 1. – № 39. – P. 83–90.
83. Koyner, J. L. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery / J. L. Koyner, M. R. Bennett, E. M. Worcester [et al.] // *Kidney International*. – 2008. – Vol. 74. – № 8. – P. 1059–1069.
84. Kuchroo, V. K. TIM Family of Genes in Immunity and Tolerance / V. K. Kuchroo, J. H. Meyers, D. T. Umetsu [et al.] // *Advances in Immunology*. – 2006. – № 91. – P. 227–249.
85. Kumar, R. Receiver operating characteristic (ROC) curve for medical researchers / R. Kumar, A. Indrayan // *Indian Pediatrics*. – 2011. – Vol. 48. – № 4. – P. 277–287.
86. Li, J. Addition of bevacizumab to chemotherapy in patients with ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized trials / J. Li, L. Zhou, X. Chen [et al.] // *Clinical and Translational Oncology*. – 2015. – Vol. 17. – № 9. – P. 673–683.
87. Li, S. HIF in nephrotoxicity during cisplatin chemotherapy: Regulation, function and therapeutic potential / S. Li, L. Wen, X. Hu [et al.] // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13. – № 2. – P. 1–25.
88. Liu, J. Hypoxia, HIF, and associated signaling networks in chronic kidney disease / J. Liu, Q. Wei, P. Guo [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – Vol. 18. – № 5. – P. 950.
89. Ma, C. Urinary hypoxia-inducible factor-1alpha levels are associated with histologic chronicity changes and renal function in patients with lupus nephritis / C. Ma, J. Wei, F. Zhan [et al.] // *Yonsei Medical Journal*. – 2012. – Vol. 53. – № 3. – P. 587–592.

90. Maase, H. von der. Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer / H. Maase von der, L. Sengelov, J. T. Roberts [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2005. – Vol. 23. – № 21. – P. 4602–4608.
91. Maitland, M. L. Initial assessment, surveillance, and management of blood pressure in patients receiving vascular endothelial growth factor signaling pathway inhibitors / M. L. Maitland, G. L. Bakris, H. R. Black [et al.] // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2010. – Vol. 102. – № 9. – P. 596–604.
92. Mandic, A. Cisplatin induces endoplasmic reticulum stress and nucleus-independent apoptotic signaling / A. Mandic, J. Hansson, S. Linder [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2003. – Vol. 278 – № 11. – P. 9100–9106.
93. Manohar, S. Cisplatin nephrotoxicity: a review of the literature / S. Manohar, N. Leung // *Journal of Nephrology*. – 2018. – Vol. 31. – № 1. – P. 15–25.
94. Mårtensson, J. Association of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) with sepsis and acute kidney dysfunction / J. Mårtensson, M. Bell, S. Xu [et al.] // *Biomarkers*. – 2013. – Vol. 18. – № 4. – P. 349–356.
95. McCullough, P. A. ADQI Consensus on AKI Biomarkers and Cardiorenal Syndromes / P. A. McCullough, J. Bouchard, S. S. Waikar [et al.] // *Contributions to nephrology*. – 2013. – Vol. 182. – № 2. – P. 5–12.
96. Medić, B. Kidney Injury Molecule-1 and Cardiovascular Diseases: From Basic Science to Clinical Practice / B. Medić, B. Rovčanin, G. Basta Jovanović [et al.] // *BioMed Research International*. – 2015. – Vol. 2015. – P. 854070.
97. Meer, L. van Urinary kidney biomarkers for early detection of nephrotoxicity in clinical drug development / L. Meer van, M. Moerland, A. F. Cohen [et al.] // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 2014. – Vol. 77. – № 6. – P. 947–957.

98. Milik, A. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease / A. Milik, E. Hryniewicz // *Journal of the international Society of nephrology*. – 2013. – Vol. 3. – № 1. – P. 30–130.
99. Miller, K. Paclitaxel plus Bevacizumab versus Paclitaxel Alone for Metastatic Breast Cancer / K. Miller, M. Wang, J. Gralow [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2007. – Vol. 357. – № 26. – P. 2666–2676.
100. Miller, R. P. Mechanisms of cisplatin nephrotoxicity / R. P. Miller, R. K. Tadagavadi, G. Ramesh [et al.] // *Toxins*. – 2010. – Vol. 2. – № 11. – P. 2490–2518.
101. Misch, M. D-dimer elevation and paresis predict thromboembolic events during bevacizumab therapy for recurrent malignant glioma/ M. Misch, M. Czabanka, J. Dengler [et al.] // *Anticancer Research*. – 2013. – Vol. 33. – № 5. – P. 2093–2098.
102. Mishra, J. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: A novel early urinary biomarker for cisplatin nephrotoxicity / J. Mishra, K. Mori, Q. Ma [et al.] // *American Journal of Nephrology*. – 2004. – Vol. 24. – № 3. – P. 307–315.
103. Mishra, J. Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin / J. Mishra, K. Mori, Q. Ma [et al.] // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2004. – Vol. 15. – № 12. – P. 3073–3082.
104. Mishra, J. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery / J. Mishra, C. Dent, R. Tarabishi [et al.] // *The Lancet*. – 2005. – Vol. 365. – № 9466. – P. 1231–1238.
105. Moore, D. H. Phase III study of cisplatin with or without paclitaxel in stage IVB, recurrent, or persistent squamous cell carcinoma of the cervix: A Gynecologic Oncology Group study/ D. H. Moore, J. A. Blessing, R. P. McQuellon [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2004. – Vol. 22. – № 15. – P. 3113–3119.
106. Mori, K. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury / K. Mori, H. T. Lee, D. Rapoport [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2005. – Vol. 115. – № 3. – P. 610–621.

107. Mosesson, M. W. Plasma fibrinogen  $\gamma'$  chain content in the thrombotic microangiopathy syndrome / M. W. Mosesson, I. Hernandez, T. J. Raife [et al.] // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2007. – Vol. 5. – № 1 – P. 62–69.
108. Motzer, R. J. Phase I trial of bevacizumab plus escalated doses of sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma / R. J. Motzer, D. R. Feldman, M. S. Baum [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2009. – Vol. 27. – № 9. – P. 1432–1439.
109. Muhl, L. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-B and its receptor (VEGFR1) in murine heart, lung and kidney / L. Muhl, C. Moessinger, M. Z. Adzemovic [et al.] // *Cell and Tissue Research*. – 2016. – Vol. 365. – № 1 (365). – P. 51–63.
110. Mukhopadhyay, P. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 is a key mediator of cisplatin-induced kidney inflammation and injury / P. Mukhopadhyay, B. Horváth, M. Kechrid [et al.] // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2011. – Vol. 51. – № 9. – P. 1774–1788.
111. Nguyen, M. T. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury / M. T. Nguyen, P. Devarajan // *Pediatric Nephrology*. – 2008. – Vol. 23. – № 12. – P. 2151–2157.
112. Nickolas, T. L. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury / T. L. Nickolas, M. J. O'Rourke, J. Yang [et al.] // *Annals of Internal Medicine*. – 2008. – Vol. 148. – № 11. – P. 810–819.
113. Nozaki, Y. Signaling Rho-kinase mediates inflammation and apoptosis in T cells and renal tubules in cisplatin nephrotoxicity / Y. Nozaki, K. Kinoshita, S. Hino [et al.] // *American Journal of Physiology - Renal Physiology*. – 2015. – Vol. 308. – № 8. – P. F899–F909.
114. Oken, M. M. Toxicology and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group / M. M. Oken, R. H. Creech, T. E. Davis // *American Journal of Clinical Oncology: Cancer Clinical Trials*. – 1982. – Vol. 5. – № 6. – P. 649–655.

115. Oranskiy, S. P. Urinary excretion of nephrin in rheumatoid arthritis patients with proteinuria / S. P. Oranskiy, L. N. Yeliseyeva // *Clinical and Experimental Rheumatology*. – 2014. – Vol. 32. – № 4. – P. 572–574.
116. Ozkok, A. Pathophysiology of cisplatin-induced acute kidney injury / A. Ozkok, P. L. Edelstein // *BioMed Research International*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 967826.
117. Pabla, N. Cisplatin nephrotoxicity: Mechanisms and renoprotective strategies / N. Pabla, Z. Dong // *Kidney International*. 2008. – Vol. 73. – № 9. – P. 994–1007.
118. Patrakka, J. Nephrin - a unique structural and signaling protein of the kidney filter / J. Patrakka, K. Tryggvason // *Trends in Molecular Medicine*. – 2007. – Vol. 13. – № 9. – P. 396–403.
119. Perazella, M. A. Onco-nephrology: Renal toxicities of chemotherapeutic agents / M. A. Perazella // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. – 2012. – Vol. 7. – № 10. – P. 1713–1721.
120. Perco, P. Kidney injury molecule-1 as a biomarker of acute kidney injury in renal transplant recipients - Commentary / P. Perco, R. Oberbauer // *Nature Clinical Practice Nephrology*. – 2008. – Vol. 4. – № 7. – P. 362–363.
121. Pérez-Valdivia, M. A. Relapse of minimal change disease nephrotic syndrome after administering intravitreal bevacizumab / M. A. Pérez-Valdivia, M. López-Mendoza, F. J. Toro-Prieto [et al.] // *Nefrologia*. – 2014. – Vol. 34. – № 3. – P. 421–422.
122. Perisanidis, P. Prognostic role of pretreatment plasma fibrinogen in patients with solid tumors: A systematic review and meta-analysis / C. Perisanidis, A. Psyrris, E. E. Cohen [et al.] // *Cancer Treatment Reviews*. – 2015. – Vol. 41. – № 10. – P. 960–970.
123. Pfister, F. Characteristic morphological changes in anti-VEGF therapy-induced glomerular microangiopathy / F. Pfister, K. Amann, P. Daniel [et al.] // *Histopathology*. – 2018. – Vol. 73. – № 6. – P. 990–1001.

124. Prasaja, Y. Incidence of cisplatin-induced nephrotoxicity and associated factors among cancer patients in Indonesia / Y. Prasaja, N. Sutandyo, R. Andrajati // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2015. – Vol. 16. – № 3. – P. 1117–1122.
125. Pujade-Lauraine, E. Bevacizumab combined with chemotherapy for platinum-resistant recurrent ovarian cancer: The AURELIA open-label randomized phase III trial / E. Pujade-Lauraine, F. Hilpert, B. Weber [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2014. – Vol. 32. – № 13. – P. 1302–1308.
126. Qi, W. X. Risk of hypertension in cancer patients treated with aflibercept: A systematic review and meta-analysis / W. X. Qi, Z. Shen, L. N. Tang [et al.] // *Clinical Drug Investigation*. – 2014. – Vol. 34. – № 4. – P. 231–240.
127. Quesada, A. R. Anti-angiogenic drugs: From bench to clinical trials/ A. R. Quesada, R. Muñoz-Chápuli, M. A. Medina // *Medicinal Research Reviews*. – 2006. – Vol. 26. – № 4. – P. 483–530.
128. Raouf, S. Real-world use of bevacizumab in metastatic colorectal, metastatic breast, advanced ovarian and cervical cancer: A systematic literature review / S. Raouf, G. Bertelli, A. Ograbek [et al.] // *Future Oncology*. – 2019. – Vol. 15. – № 5. – P. 543–561.
129. Rizo-Topete, L. M. Acute Kidney Injury Risk Assessment and the Nephrology Rapid Response Team / L. M. Rizo-Topete, M. H. Rosner, P. Ronco // *Blood Purification*. – 2017. – Vol. 43. – № 1–3. – P. 82–88.
130. Ronco, P. Oliguria, creatinine and other biomarkers of acute kidney injury / C. Ronco, S. Grammaticopoulos, M. Rosner [et al.] // *Contributions to Nephrology*. – 2010. – № 164. – P. 118–127.
131. Sakurai, S. Profiles of coagulation and fibrinolysis activation-associated molecular markers of atypical hemolytic uremic syndrome in the acute phase / S. Sakurai, H. Kato, Y. Yoshida [et al.] // *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. – 2020. – Vol. 27. – № 4. – P. 353–362.

132. Santos, N. A. dos. Cisplatin-induced nephrotoxicity and targets of nephroprotection: An update / N. A. Santos dos, M. A. Rodrigues, N. M. Martins [et al.] // *Archives of Toxicology*. – 2012. – Vol. 86. – № 8. – P. 1233–1250.
133. Schmidt-Ott, K. M. Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin / K. M. Schmidt-Ott, K. Mori, Y. L. Jau [et al.] // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2007. – Vol. 18. – № 2. – P. 407–413.
134. Schulz, P. A. Plasma kidney injury molecule-1 (p-KIM-1) levels and deterioration of kidney function over 16 years / P. A. Schulz, G. Engström, J. Nilsson [et al.] // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2020. – Vol. 35. – № 2. – P. 265–273.
135. Sciascia, S. Anticoagulation in patients with concomitant lupus nephritis and thrombotic microangiopathy: A multicentre cohort study / S. Sciascia, J. Yazdany, M. Dall’Era [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2019. – Vol. 78. – № 7. – P. 1004–1006.
136. Shao, X. Diagnostic value of urinary kidney injury molecule 1 for acute kidney injury: A meta-analysis / X. Shao, L. Tian, W. Xu [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 19. – № 1. – P. 84131.
137. Shimamura, Y. Bevacizumab-induced thrombotic microangiopathy and nephrotic syndrome / Y. Shimamura, T. Maeda, H. Takizawa // *Clinical and Experimental Nephrology*. – 2019. – Vol. 23. – № 1. – P. 142–143.
138. Shu, S. Hypoxia and Hypoxia-Inducible Factors in Kidney Injury and Repair / S. Shu, Y. Wang, M. Zheng [et al.] // *Cells*. – 2019. – Vol. 8. – № 3. – P. 207.
139. Simpson-Haidaris, P. J. Tumors and fibrinogen: The role of fibrinogen as an extracellular matrix protein / P. J. Simpson-Haidaris, B. Rybarczyk // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2001. – Vol. 936. – № 1. – P. 406–425.
140. Sinha, V. Urinary tubular protein-based biomarkers in the rodent model of cisplatin nephrotoxicity: A comparative analysis of serum creatinine, renal histology, and urinary KIM-1, NGAL, and NAG in the initiation, maintenance, and recovery phases of acute

kidney injury / V. Sinha, L. M. Vence, A. K. Salahudeen // *Journal of Investigative Medicine*. – 2013. – Vol. 61. – № 3. – P. 564–568.

141. Sinha, V. Urinary Tubular Protein-Based Biomarkers in the Rodent Model of Cisplatin Nephrotoxicity / V. Sinha, L. M. Vence, A. K. Salahudeen // *Journal of Investigative Medicine*. – 2013. – Vol. 61. – № 3. – P. 564–568.

142. Skillings, J. R. Arterial thromboembolic events (ATEs) in a pooled analysis of 5 randomized, controlled trials (RCTs) of bevacizumab (BV) with chemotherapy / J. R. Skillings, D. H. Johnson, K. Miller [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2005. – Vol. 23. – № 16\_suppl. – P. 3019–3019.

143. Slocum, J. L. Marking renal injury: Can we move beyond serum creatinine? / J. L. Slocum, M. Heung, S. Pennathur // *Translational Research*. – 2012. – Vol. 159. – № 4. – P. 277–289.

144. Slusarz, K. M. Long-term toxicity of bevacizumab therapy in neurofibromatosis 2 patients / K. M. Slusarz, V. L. Merker, A. Muzikansky [et al.] // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. – 2014. – Vol. 73. – № 6. – P. 1197–1204.

145. Sugimoto, H. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria / H. Sugimoto, Y. Hamanog, D. Charytan [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2003. – Vol. 278. – № 15. – P. 12605–12608.

146. Supavekin, S. Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion / S. Supavekin, W. Zhang, R. Kucherlapati [et al.] // *Kidney International*. – 2003. – Vol. 63. – № 5. – P. 1714–1724.

147. Tabernero, J. Ramucirumab versus placebo in combination with second-line FOLFIRI in patients with metastatic colorectal carcinoma that progressed during or after first-line therapy with bevacizumab, oxaliplatin, and a fluoropyrimidine (RAISE): A randomised, double-blind / J. Tabernero, T. Yoshino, A. L. Cohn [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2015. – Vol. 16. – № 5. – P. 499–508.

148. Tanaka, H. Hypertension and proteinuria as predictive factors of effects of bevacizumab on advanced breast cancer in Japan / H. Tanaka, K. Takahashi, K. Yamaguchi [et al.] // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. – 2018. – Vol. 41. – № 4. – P. 644–648.
149. Tekce, B. K. Does the kidney injury molecule-1 predict cisplatin-induced kidney injury in early stage? / B. K. Tekce, U. Uyeturk, H. Tekce [et al.] // *Annals of Clinical Biochemistry*. – 2015. – Vol. 52. – № 1. – P. 88–94.
150. Thongprasert, S. Phase II study of gemcitabine and cisplatin as first-line chemotherapy in inoperable biliary tract carcinoma / S. Thongprasert, S. Napapan, P. Charoentum [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2005. – Vol. 16. – № 2. – P. 279–281.
151. Toriu, N. Renal-Limited Thrombotic Microangiopathy due to Bevacizumab Therapy for Metastatic Colorectal Cancer: A Case Report / N. Toriu, A. Sekine, H. Mizuno [et al.] // *Case Reports in Oncology*. – 2019. – Vol. 12. – № 2. – P. 391–400.
152. Touyz, R. M. Vascular toxicities with VEGF inhibitor therapies—focus on hypertension and arterial thrombotic events / R. M. Touyz, S. M. S. Herrmann, J. Herrmann // *Journal of the American Society of Hypertension*. – 2018. – Vol. 12. – № 6. – P. 409–425.
153. Tsigou, E. Role of new biomarkers: Functional and structural damage / E. Tsigou, V. Psallida, P. Demponeras [et al.] // *Critical Care Research and Practice*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 201.
154. US Department of Health and Human Services Common Terminology Criteria for Adverse Events, v.4.03 / US Department of Health and Human Services, 2010 // [Электронный ресурс]. URL: [https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic\\_applications/docs/CTCAE\\_v5\\_Quick\\_Reference\\_8.5x11](https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick_Reference_8.5x11)
155. Usui, J. Clinicopathological spectrum of kidney diseases in cancer patients treated with vascular endothelial growth factor inhibitors: A report of 5 cases and review of

- literature / J. Usui, I. G. Glezerman, S. P. Salvatore [et al.] // *Human Pathology*. – 2014. – Vol. 45. – № 9. – P. 1918–1927.
156. Vaidya, V. S. Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies / V. S. Vaidya, J. S. Ozer, F. Dieterle [et al.] // *Nature Biotechnology*. – 2010. – Vol. 28. – № 5. – P. 478–485.
157. Wagener, G. Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin and Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery / G. Wagener, G. Gubitosa, S. Wang [et al.] // *American Journal of Kidney Diseases*. – 2008. – Vol. 52. – № 3. – P. 425–433.
158. Wagener, G. Increased incidence of acute kidney injury with aprotinin use during cardiac surgery detected with urinary NGAL / G. Wagener, G. Gubitosa, S. Wang [et al.] // *American Journal of Nephrology*. – 2008. – Vol. 28. – № 4. – P. 576–582.
159. Wang, J. Incidence and Risk of Hypertension with Ramucirumab in Cancer Patients: A Meta-Analysis of Published Studies / J. Wang, Z. Wang, Y. Zhao // *Clinical Drug Investigation*. – 2015. – Vol. 35. – № 4. – P. 221–228.
160. Wang, K. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in patients with prostate cancer: A systematic review with meta-analysis / K. Wang, H. L. Peng, L. K. Li // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2012. – Vol. 13. – № 11. – P. 5665–5669.
161. Wang, Y. Increased urinary excretion of nephrin, podocalyxin, and  $\beta$ ig-h3 in women with preeclampsia / Y. Wang, S. Zhao, S. Loyd [et al.] // *American Journal of Physiology - Renal Physiology*. – 2012. – Vol. 302. – № 9. – P. 1084–1089.
162. Wehaish, F. E. Molecular and immunohistochemical evidences for cardiovascular damage in addition to renal toxicity of cisplatin in rats / F. E. Wehaish, Y. Y. Elseady, R. M. Saleh [et al.] // *Life Science Journal*. – 2014. – Vol. 11. – № 6. – P. 1–8.
163. Wey, J. S. Vascular endothelial growth factor receptor-1 promotes migration and invasion in pancreatic carcinoma cell lines / J. S. Wey, F. Fan, M. J. Gray [et al.] // *Cancer*. – 2005. – Vol. 104. – № 2. – P. 427–438.

164. Wheeler, D. S. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock / D. S. Wheeler, P. Devarajan, Q. Ma [et al.] // *Critical Care Medicine*. – 2008. – Vol. 36. – № 4. – P. 1297–1303.
165. Wilke, H. Ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (RAINBOW): A double-blind, randomised phase 3 trial / H. Wilke, K. Muro, E. van Cutsem [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2014. – Vol. 15. – № 11. – P. 1224–1235.
166. Wu, S. Incidence and risk of hypertension with sorafenib in patients with cancer: a systematic review and meta-analysis / S. Wu, J. J. Chen, A. Kudelka [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2008. – Vol. 9. – № 2. – P. 117–123.
167. Wu, S. Bevacizumab increases risk for severe proteinuria in cancer patients / S. Wu, C. Kim, L. Baer [et al.] // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2010. – Vol. 21. – № 8. – P. 1381–1389.
168. Xu, Y. A role for tubular necroptosis in cisplatin-induced AKI / Y. Xu, H. Ma, J. Shao [et al.] // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2015. – Vol. 26. – № 11. – P. 2647–2658.
169. Yamada, R. Renal-limited thrombotic microangiopathy after switching from bevacizumab to ramucirumab: A case report / R. Yamada, T. Okawa, K. Matsuo [et al.] // *BMC Nephrology*. – 2019. – Vol. 20. – № 1. – P. 14.
170. Yardley, D. A. MONALEESA clinical program: A review of ribociclib use in different clinical settings / D. A. Yardley // *Future Oncology*. – 2019. – Vol. 15. – № 23. – P. 2673–2686.
171. Yee, Y. Chronic thrombotic microangiopathy secondary to antiphospholipid syndrome, presenting with severe hypertension and chronic renal impairment / Y. Yee, S. Angkodjojo, P. H. Tan // *BMJ Case Reports*. – 2019. – Vol. 12. – № 9. – P. 231434.

172. Yuan, B. A. Vascular Endothelial Growth Factor 189 mRNA Isoform Expression Specifically Correlates With Tumor Angiogenesis, Patient Survival, and Postoperative Relapse in Non-Small-Cell Lung Cancer / B. A. Yuan, C. Yu, S. Kuo [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 19. – № 2. – P. 432–441.
173. Yuen, P. S. T. Ischemic and nephrotoxic acute renal failure are distinguished by their broad transcriptomic responses / P. S. T. Yuen, S. K. Jo, M. K. Holly [et al.] // *Physiological Genomics.* – 2006. – Vol. 25. – № 3. – P. 375–386.
174. Zachary, I. Signaling mechanisms mediating vascular protective actions of vascular endothelial growth factor / I. Zachary // *American Journal of Physiology - Cell Physiology.* – 2001. – Vol. 280. – № 6. – P. 1375–1386.
175. Zakarija, A. Thrombotic microangiopathy syndromes / A. Zakarija // *Cancer Treatment and Research.* – 2009. – Vol. 148. – P. 115–136.
176. Zhang, B. Cisplatin-induced nephrotoxicity is mediated by tumor necrosis factor- $\alpha$  produced by renal parenchymal cells / B. Zhang, G. Ramesh, P. C. Norbury [et al.] // *Kidney International.* – 2007. – Vol. 72. – № 1. – P. 37–44.
177. Zhu, S. DNA damage response in cisplatin-induced nephrotoxicity / S. Zhu, N. Pabla, P. Tang [et al.] // *Archives of Toxicology.* – 2015. – Vol. 89. – № 12. – P. 2197–2205.
178. Zhu, X. Risks of Proteinuria and Hypertension With Bevacizumab, an Antibody Against Vascular Endothelial Growth Factor: Systematic Review and Meta-Analysis / X. Zhu, S. Wu, W. L. Dahut [et al.] // *American Journal of Kidney Diseases.* – 2007. – Vol. 49. – № 2. – P. 186–193.
179. Zirlik, K. Anti-Angiogenics: Current Situation and Future Perspectives / K. Zirlik, J. Duyster // *Oncology Research and Treatment.* – 2018. – Vol. 41. – № 4. – P. 166–171.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.20 - Попарный анализ клинико-лабораторных показателей в течение 8 недель критерием Дарбина-Коновера в группе пациентов, получающих терапию цисплатином

Параметр	Временная точка	Значимость (p)
Артериальное давление	0 недель – 1 неделя	0,071
	0 недель – 2 недели	0,034 *
	0 недель – 4 недели	0,093
	0 недель – 8 недель	0,066
	1 неделя – 2 недели	0,750
	1 неделя – 4 недели	0,899
	1 неделя – 8 недель	0,975
	2 недели – 4 недели	0,656
	2 недели – 8 недель	0,774
	4 недели – 8 недель	0,873
Сывороточный креатинин	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *
СКФ	0 недель – 1 неделя	0,015 *
	0 недель – 2 недели	0,003 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	0,561
	1 неделя – 4 недели	0,011 *
	1 неделя – 8 недель	0,004 *
	2 недели – 4 недели	0,049 *
	2 недели – 8 недель	0,021 *
	4 недели – 8 недель	0,733
Мочевина	0 недель – 1 неделя	0,225
	0 недель – 2 недели	0,430
	0 недель – 4 недели	0,003 *
	0 недель – 8 недель	0,921
	1 неделя – 2 недели	0,046 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	0,189
	2 недели – 4 недели	0,031 *
	2 недели – 8 недель	0,490
	4 недели – 8 недель	0,005 *

<i>Продолжение таблицы А.20</i>		
Параметр	Временная точка	Значимость (p)
Калий	0 недель – 1 неделя	0,275
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	0,016 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	0,950
	2 недели – 8 недель	0,635
	4 недели – 8 недель	0,591
Альбумин	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	0,011 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *
ЛДГ	0 недель – 1 неделя	0,812
	0 недель – 2 недели	0,005 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	0,002 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	0,342
Гемоглобин	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *
Тромбоциты	0 недель – 1 неделя	0,577
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *

Окончание таблицы А.20		
Параметр	Временная точка	Значимость (p)
Альбуминурия	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	0,940
	1 неделя – 4 недели	0,177
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	0,154
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	0,027 *
Условные обозначения: * $p < 0,05$ ; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; СКФ – скорость клубочковой фильтрации.		

Таблица А.21 - Попарный анализ показателей биомаркеров в течение 8 недель критерием Дарбина-Коновера в группе пациентов, получающих терапию цисплатином

Параметр	Временная точка	Значимость (p)
NGAL	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *
KIM-1	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *
Условные обозначения: * $p < 0,05$		

Таблица А.22 - Попарный анализ показателей клинико-лабораторных показателей в течение 8 недель критерием Дарбина-Коновера в группе пациентов, получающих терапию внутривенными антиангиогенными препаратами

Параметр	Временная точка	Значимость ( <i>p</i> )
Артериальное давление	0 недель – 1 неделя	0,374
	0 недель – 2 недели	0,695
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	0,618
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	0,166
Сывороточный креатинин	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	0,007 *
СКФ	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	0,005 *
Мочевина	0 недель – 1 неделя	0,928
	0 недель – 2 недели	0,034 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	0,027 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *

<i>Продолжение таблицы А.22</i>		
Параметр	Временная точка	Значимость (p)
Калий	0 недель – 1 неделя	0,269
	0 недель – 2 недели	0,506
	0 недель – 4 недели	0,467
	0 недель – 8 недель	0,849
	1 неделя – 2 недели	0,077
	1 неделя – 4 недели	0,067
	1 неделя – 8 недель	0,195
	2 недели – 4 недели	0,950
	2 недели – 8 недель	0,635
Альбумин	4 недели – 8 недель	0,591
	0 недель – 1 неделя	0,569
	0 недель – 2 недели	0,002 *
	0 недель – 4 недели	0,022 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	0,004 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	0,422
ЛДГ	2 недели – 8 недель	0,569
	4 недели – 8 недель	0,170
	0 недель – 1 неделя	0,01 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	0,508
	2 недели – 4 недели	0,895
	2 недели – 8 недель	0,221
Гемоглобин	4 недели – 8 недель	0,275
	0 недель – 1 неделя	0,318
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	0,033 *
Тромбоциты	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *
	0 недель – 1 неделя	0,51
	0 недель – 2 недели	0,046 *
	0 недель – 4 недели	0,002 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	0,179
	1 неделя – 4 недели	0,013 *
	1 неделя – 8 недель	0,003 *
2 недели – 4 недели	0,251	
2 недели – 8 недель	0,089	
4 недели – 8 недель	0,577	

Окончание таблицы А.22		
Параметр	Временная точка	Значимость (p)
Шистоциты	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	0,005 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
D-димер	0 недель – 1 неделя	0,141
	0 недель – 2 недели	0,006 *
	0 недель – 4 недели	0,009 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	0,188
	1 неделя – 4 недели	0,246
	1 неделя – 8 недель	0,002 *
	2 недели – 4 недели	0,874
	2 недели – 8 недель	0,059
Альбуминурия	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
4 недели – 8 недель	<0,001 *	
Условные обозначения: * p<0,05; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; СКФ – скорость клубочковой фильтрации.		

Таблица А.23 - Парный анализ показателей биомаркеров в течение 8 недель критерием Дарбина-Коновера в группе пациентов, получающих терапию внутривенными антиангиогенными препаратами

Параметр	Временная точка	Значимость (p)
NGAL	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *

<i>Окончание таблицы А.23</i>		
Параметр	Временная точка	Значимость ( <i>p</i> )
КИМ-1	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *
НIF-1 $\alpha$	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *
Нефрин	0 недель – 1 неделя	<0,001 *
	0 недель – 2 недели	<0,001 *
	0 недель – 4 недели	<0,001 *
	0 недель – 8 недель	<0,001 *
	1 неделя – 2 недели	<0,001 *
	1 неделя – 4 недели	<0,001 *
	1 неделя – 8 недель	<0,001 *
	2 недели – 4 недели	<0,001 *
	2 недели – 8 недель	<0,001 *
	4 недели – 8 недель	<0,001 *
Условные обозначения: * $p < 0,05$		