

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.675>

<https://orcid.org/0009-0002-0321-236X>

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Algirdas Žalimas

Molekuliniai ir klinikiniai inkstų vėžio prognozės rodikliai

DAKTARO DISERTACIJA

Gamtos mokslai,
biologija (N 010)

VILNIUS 2024

Mokslo daktaro disertacija rengta 2017-2023 metais Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centre ir Nacionaliniame vėžio institute.
Tyrimas iš dalies paremtas Lietuvos mokslo tarybos projekto Nr. S-MIP-17/54 (Prof. Sonata Jarmalaitė) lėšomis.

Disertacija ginama eksternu.

Mokslinė konsultantė – prof. dr. Sonata Jarmalaitė (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, biologija, N 010).

Gynimo taryba:

Pirmininkė – prof. dr. Rūta Navakauskienė (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, biochemija, N 004).

Nariai:

prof. habil. dr. Juozas Rimantas Lazutka (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, biologija, N 010),

doc. dr. Dalia Barsyte-Lovejoy (Toronto universitetas, Kanada, gamtos mokslai, biologija, N 010),

prof. dr. Tomas Poškus (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001),

prof. dr. Arūnas Želvys (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001).

Disertacija ginama viešame Gynimo tarybos posėdyje 2024 m. spalio mėn. 4 d. 13.00 val. Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro R401 auditorijoje.
Adresas: (Saulėtekio al. 7, Vilnius, Lietuva), tel. +370 5 223 4419; el. paštas phd@gmc.vu.lt

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto ir VU interneto svetainėje adresu: <https://www.vu.lt/naujienos/ivykiu-kalendorius>

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.675>

<https://orcid.org/0009-0002-0321-236X>

VILNIUS UNIVERSITY

Algirdas Zalimas

Molecular and Clinical Prognostic Indicators of Kidney Cancer

DOCTORAL DISSERTATION

Natural Sciences,
Biology (N010)

VILNIUS 2024

The dissertation was prepared between 2017 and 2023 at the National Cancer Institute (Vilnius, Lithuania) and Vilnius University, Life sciences center (Vilnius, Lithuania).

The research was partially supported by Research Council of Lithuania, Nr. S-MIP-17/54 (Prof. Sonata Jarmalaite).

The dissertation is defended on an external basis.

Academic consultant – Prof. Dr. Sonata Jarmalaite (Vilnius University, Natural Sciences, Biology, N 010).

This doctoral dissertation will be defended in a public/closed meeting of the Dissertation Defence Panel:

Chairman – Prof. Dr. Ruta Navakauskiene (Vilnius University, Natural Sciences, Biochemistry, N 004).

Members:

Prof. Habil. Dr. Juozas Rimantas Lazutka (Vilnius University, Natural Sciences, Biology, N 010),

Assoc. Prof. Dr. Dalia Barsyte-Lovejoy (University of Toronto, Canada, Natural Sciences, Biology, N 010),

Prof. Dr. Tomas Poskus (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine, M 001),

Prof. Dr. Arunas Zelvys (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine, M 001).

The dissertation shall be defended at a public/closed meeting of the Dissertation Defence Panel at 13 (hour)/ on October 2024 in meeting room R401 of the Life Sciences Center (Vilnius University)

Address: Sauletekio al. 7, Vilnius, Lithuania

Tel. +370 5 223 4419; e-mail: phd@gmc.vu.lt

The text of this dissertation can be accessed at the libraries of Vilnius University, as well as on the website of Vilnius University:

www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius

SANTRUMPOS

AUC	Dvimatis plotas po ROC kreive (angl. Area under the ROC Curve)
BHD	Birt-Hogg-Dube sindromas. Paveldima būklė, sukelianti didesnę inkstų vėžio atsiradimo tikimybę
CCI	Charlsono gretutinių ligų indeksas (angl., Charlson Comorbidity Index)
CK1	Kazeino kinazė 1 (angl. Casein kinase 1)
CpG	Citozino ir guanino dinukleotidai
CrCl	Kreatinino klirensas (angl. Creatinine Clearance)
CTLA-4	Citotoksinių T limfocitų antigenas-4
ECOG	Skalė, kuri apibūdina paciento funkcionavimo lygį, atsižvelgiant į jų gebėjimą pasirūpinti savimi, kasdienę veiklą ir fizinius gebėjimus (angl. Eastern Cooperative Oncology Group)
EORTC-QLQ	Vėžiu sergančių pacientų gyvenimo kokybei įvertinti sukurtas klausimynas (angl. European Organisation for Research and Treatment of Cancer, Quality of Life Questionnaire)
ESMO	Europos medicinos onkologijos draugija
G1/S	Łstelės ciklo etapas, esantis ties riba tarp G1 fazės, kurioje łstelė auga, ir S fazės, kurios metu replikuojasi DNR
GSK3β	Glikogeo sintazės kinazė 3 β (angl. Glycogen synthase kinase 3 beta)
H3K36	Histono H3 36 lizinas
H3K36me3	Histono H3 36 lizino trimetilinimas
HADS	Keturiolikos punktų skalė, kuri generuoja septynis elementus susijusius su nerimu ir septynis - su depresija (angl. The Hospital Anxiety and Depression Scale)
HIF1	Hipoksiją indukuojantis veiksnys 1 (angl. hypoxia-inducible factor 1)
HLRCC	Paveldima būklė, susijusi su daugybinių lejomiomų (lygiųjų raumenų navikų) išsivystymu odoje ir gimdoje, taip pat su agresyvia inkstų vėžio forma (angl. Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer)
IGF	Insulino augimo veiksnys (angl. Insulin growth factor)
IM	Imunoterapija
IMDC	angl. International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium criteria
IQR	Tarpkvartilinis intervalas
KT	Kompiuterinė tomografija

MRT	Magnetinio rezonanso tomografija
mTOR	Žinduolių rapamicino taikiny (angl. Mammalian target of rapamycin)
NCCN	Nacionalinis visuotinis vėžio tinklas
NVI	Nacionalinis vėžio institutas
P21	Nuo ciklino priklausomas kinazės inhibitorius
PADUA	Nefrometrijos vertinimo sistema, kuri susideda iš 5 inkstų navikų anatominių parametų
<i>PBRM1</i>	<i>Polibromo 1 genas (angl. Polybromo 1)</i>
PDGF	Trombocitų kilmės augimo faktoriaus
PI3K	Fosfoinozotido 3 kinazė (angl. Phosphoinositide 3-kinase)
PSO/ISUP	Pasaulio sveikatos organizacija/Tarptautinė urologinių patologų draugija
pVHL	von-Hippel-Lindau geno koduojamas baltymas
RECIST v.1.1	Gydymo atsako vertinimo kriterijai esant solidiniams navikams (angl. Response evaluation criteria in solid tumors)
RENAL	Nefrometrijos vertinimo sistema apibūdina navikus 5 kriterijais atitinkamai pagal dydį, augimo pobūdį, atstumą iki išskiriamosios inkstų sistemos, padėtį inksto atžvilgiu
RING	RING piršto domenai yra specializuotas cinko piršto tipas, jungiantis porą cinko atomų ir dalyvaujantis tarpininkaujant baltymų sąveikai
ROC	Grafikas, rodantis klasifikatoriaus (šiuo atveju testo) jautrumo ir specifiškumo sąryšį (angl. receiver operating characteristic curve)
<i>SETD2</i>	<i>SET domain-containing 2 genas</i>
SWI/SNF	Nuo ATP priklausomas chromatiną pertvarkantis kompleksas (angl. SWItch/Sucrose Non-Fermentable ATP-dependent chromatin remodeling complexes)
TGF- α	Transformuojantis augimo veiksnys α (angl. Transforming growth factor α)
TKI	Tirozinkinazės inhibitoriai
TNM	Piktybinių navikų klasifikavimo sistema (angl. Tumor, Nodes, Metastases)
UGT	Ultragarso tyrimas
VEGF	Kraujagyslių endotelio augimo veiksnys (angl. Vascular endothelial growth factor)
<i>VHL</i>	<i>von-Hippel-Lindau genas</i>

TURINYS

ĮVADAS.....	9
1. INKSTŲ VĖŽYS	12
1.1. Etiologija ir epidemiologija.....	12
1.2. Inkstų vėžio tipai ir klasifikacija	13
1.3. Diagnostika.....	15
1.4. Molekuliniai inkstų vėžio patogenezės mechanizmai	17
1.5. DNR metilinimo pokyčiai inkstų navikuose	20
1.6. Inkstų vėžio gydymas	23
1.6.1. Aktyvus stebėjimas.....	23
1.6.2. Lokalių inkstų navikų gydymas.....	24
1.6.3. Išplitusio inkstų vėžio gydymas	25
2. TIRIMIEJI ASMENYS IR METODAI	30
2.1. Aktyviai stebimų pacientų atranka ir tyrimai	30
2.2. Aktyviai stebimų pacientų šlapimo mėginių tyrimas	34
2.3. Išplitusiu inkstų vėžiu sergančių pacientų atranka	36
2.4. Statistinė analizė.....	36
3. REZULTATAI.....	38
3.1. Aktyviai stebimi maži inkstų navikai	38
3.1.1. Pacientų charakteristika.....	38
3.1.2. Navikų charakteristika.....	44
3.1.3. Epigenetiniai biožymenys.....	46
3.2. Atsako į gydymą vertinimas sergant išplitusiu inkstų vėžiu	51
3.2.1. Pacientų charakteristika.....	51
3.2.2. Sisteminio gydymo efektyvumas ir pacientų išgyvenamumas	53
REZULTATŲ APTARIMAS	57
IŠVADOS.....	63
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	64

PRIEDAI	86
SANTRAUKA	99
APIE AUTORIŲ	119
PADĖKA.....	120
PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS	121
KONFERENCIJŲ SĄRAŠAS	123

ĮVADAS

Inkstų ląstelių karcinoma yra viena agresyviausių vėžio rūšių urologijoje ir sudaro 2-3% visų suaugusiųjų vėžių [1-3]. Per pastaruosius dešimtmečius inkstų navikų skaičius nuolat didėja [4]. Atvejų augimo tendencija pastebėta visame pasaulyje ir siejama su diagnostinių tyrimų tobulėjimu [5, 6]. Šiuo metu didelis sergamumas yra Europoje, Šiaurės Amerikoje ir Australijoje. Europoje daugiausia inkstų navikų diagnozuojama Čekijos Respublikoje, Lietuva yra antroje vietoje (13,2 atvejų 100 000 gyventojų), Latvija ir Estija rikiuojasi greta [2]. Deja, Lietuva pagal inkstų vėžio mirtingumą pirmauja pasaulyje - 4,9 atvejo 100 000 gyventojų [2].

Pastaruoju metu vis daugiau inkstų navikų nustatoma įvairiose amžiaus grupėse ir ankstyvose stadijose [5, 7]. Dauguma inkstų ląstelių karcinomos atvejų yra besimptomiai ir aptinkami atsitiktinai, atliekant ultragarso tyrimus profilaktinės patikros metu arba kompiuterinę tomografiją ar magnetinį rezonansą, kai tiriama dėl kitų ligų [1]. Nepaisant to, iki 30% pacientų vis dar serga metastazavusia liga [2]. Išplitusių inkstų vėžiu sergančių pacientų prognozė istoriškai prasta, 5 metų išgyvenamumas yra mažesnis nei 10 % [3].

Pagrindinis mažų lokalių inkstų navikų gydymas yra nefronus tausojančios operacijos, padedančios išsaugoti inkstų funkciją [8]. Penkerių metų chirurgiškai gydytų lokalių inkstų navikų išgyvenamumo be vėžio rodikliai yra labai geri ir siekia 97% [9]. Tobulėjant chirurginei technikai, ankstyvų ir vėlyvų komplikacijų rizika mažėja, tačiau vis dar išlieka pakankamai didelė, apie 11-40% [8, 10-12]. Žinoma, kad pacientų, turinčių mažus inkstų navikus, mirtingumas dėl gretutinių priežasčių didėja su amžiumi, o chirurginis gydymas gali pabloginti bendrą išgyvenamumą. Po 5 metų trečdalis pagyvenusių pacientų (70 metų ir daugiau) mirs dėl kitų priežasčių [13]. Atliktos didelės studijos [13, 14] leidžia daryti prielaidą, kad maži, atsitiktinai aptikti inkstų navikai lėtai progresuoja, o mirtingumas reikšmingai koreliuoja su amžiumi ir gretutinėmis ligomis. Pastebėta, kad apie 30 % išoperuojamų mažų inkstų navikų yra gerybiniai, o net 87 % patvirtintų inkstų ląstelių karcinomos atvejų yra žemo piktybiškumo, ir tai paaiškėja tik po operacijos, galutinio pataloginio tyrimo metu [15, 16].

Aktyvaus stebėjimo taktika gali būti pasirinkta senyviems, daug gretutinių ligų turintiems pacientams, kurie nėra tinkami kandidatai chirurginiam gydymui [13, 17]. Aktyvaus stebėjimo koncepcija reiškia pradinio stebėjimo laikotarpį su galimybe atidėti aktyvų, operacinį gydymą tiems pacientams, kuriems naviko augimo tempas nėra greitas, juolab, kad daugelis mokslinių publikacijų apie aktyvų stebėjimą aiškiai parodė, kad atsitiktinai aptikti maži inkstų navikai turi lėtą augimo tempą ir besimptomę kliniką, o metastazavimo

rizika yra mažai tikėtina, siekia iki 2,25 % [18]. Progresavimo iki metastazavimo atveju tokia pacientų grupė tikėtina, kad pakliūtų į geros ir vidutinės rizikos prognostines grupes.

Esant metastatinei ligai, pritaikomas sisteminis gydymas. Pirmosios eilės vaistai yra daugiafunkciniai tirozino kinazės inhibitoriai (TKI), tokie kaip sunitinibas [19] ir pazopanibas [20, 21]. Jie gali būti naudojami atskirai arba kartu su imunoterapija. Per pastaruosius 4 metus šeši nauji imunoterapijos (IM) vaistų deriniai, tokie kaip IM-TKI ir IM-IM režimai, įrodė reikšmingą klinikinį veiksmingumą, lyginant su standartiniais kraujagyslių endotelio augimo faktoriaus (VEGF) -TKI sunitinibo monoterapija [22]. Sunitinibas yra trombocitų kilmės augimo faktoriaus (PDGF) receptorių alfa ir beta, VEGF 1-3 ir kitų tirozino kinazių, stimuliuojančių angiogenezę, inhibitorius. Šis vaistas daugiau nei 14 metų sėkmingai naudojamas visame pasaulyje metastazavusios inkstų ląstelių karcinomos gydymui [19]. Šiuo metu, remiantis Europos medicinos onkologijos draugijos (ESMO) duomenimis ir Nacionalinio visuotinio vėžio tinklo (NCCN) gairėmis, sunitinibas gali būti skiriamas kaip pirmos eilės gydymo vaistas geros ir vidutinių rizikos grupių pacientams, sergantiems metastazavusia inkstų ląstelių karcinoma [23, 24].

Darbo tikslas ir uždaviniai

Šio darbo tikslas - atrinkti patikimiausius epigenetinius ir klinikinius mažų (iki 4 cm) inkstų navikų progresavimo žymenis bei įvertinti išplitusio inkstų vėžio gydymo efektyvumo klinikinius rodiklius.

Siekiant šio tikslo buvo išskeltos užduotys:

1. Įvertinti pasirinktų neinvazinių epigenetinių žymenų informatyvumą tiriant pacientų, kuriems diagnozuoti maži inkstų navikai, ir kontrolinių asmenų šlapimą.
2. Įvertinti mažiems inkstų navikams būdingus klinikinius ir patologinius greito naviko augimo ir progresavimo prognostinius rodiklius.
3. Nustatyti epigenetinių žymenų prognostinę vertę ir koreliacijas su klinikiniais pacientų, kuriems diagnozuoti maži inkstų navikai, rodikliais.
4. Išanalizuoti pacientų, sergančių metastazavusiu inkstų vėžiu, sisteminio gydymo efektyvumą ir išgyvenamumą skirtingose rizikos grupėse.

Darbo naujumas ir jo reikšmė

Tyrimė pateikiama mokslėškai pagrėsta informacija apie maų inkstų navikų aktyvaus stebėjimo onkologinę saugumą, įvardinami agresyvaus inkstų vėžio prognostiniai faktoriai, galintys padėti gydytojui urologui pasirinkti tinkamą gydymo taktiką. Darbe įvertinta epigenetinių žymenų prognostinė vertė, nustatant agresyviaus inkstų vėžio formas, numatant greitą naviko didėjimą. Mūsų žiniomis, šiame tyrime pirmą kartą buvo analizuojamas DNR metilinimas mažus inkstų navikus turinčių pacientų šlapimo mėginiuose ir parodyta galimybė jį pritaikyti kaip neinvazinę įrankį aptinkant mažus (iki 4 cm skersmens) piktybinius navikus. Mūsų turimais duomenimis, tyrimai, kuriuose vertinti klinikinių duomenų, tokių kaip: nutukimo, rūkymo, padidinto arterinio kraujospūdzio, metabolinio sindromo, dislipidemijos ar paciento psichoemocinės būsenos įtaka mažų, stebimų inkstų navikų progresijai t.y. sparčiam naviko augimui, iki šiol nebuvo atlikti.

Atsiųvelgiant į didelius mirtigumo rodiklius Lietuvoje, svarbu išsiaiškinti užleisto inkstų vėžio priežastis, valdymo būdus, tame tarpe įvykus metastazavimui stebimų pacientų dėl mažų inkstų navikų grupėje, bei įvertinti išplitusios ligos gydymo efektyvumą. Darbe, vieno klinikinio centro pavyzdžiu analizuojamas išplitusiu inkstų vėžiu sergančių pacientų atsakas į sisteminę gydymą vertinant geros ir vidutinės rizikos prognostines grupes.

Autoriaus indėlis

Autorius dalyvavo rengiant tyrimo protokolus bei reikalingus dokumentus Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimams gauti. Atrinko pacientus, kurie buvo gydyti dėl išplitusio inkstų vėžio, atliko jų retrospektyvinę analizę. Konsultavo ir buvo atsakingas už pacientų įtraukimą į aktyvios stebėsenos tyrimo dalį. Atliko inksto naviko biopsijas, rinko klinikinius ir patologinius duomenis, koordinavo mokslinio darbo eigą, dalyvavo molekulinų žymenų atrinkimo procese bei analizavo klinikinius atvejus, siejo juos su klinikiniais ir patologiniais duomenimis, susistemino ir aprašė gautus rezultatus. Mokslo darbą viešino skaitydamas pranešimus nacionalinėse ir tarptautinėse mokslinėse konferencijose, kartu su bendraautoriais rengė mokslines publikacijas.

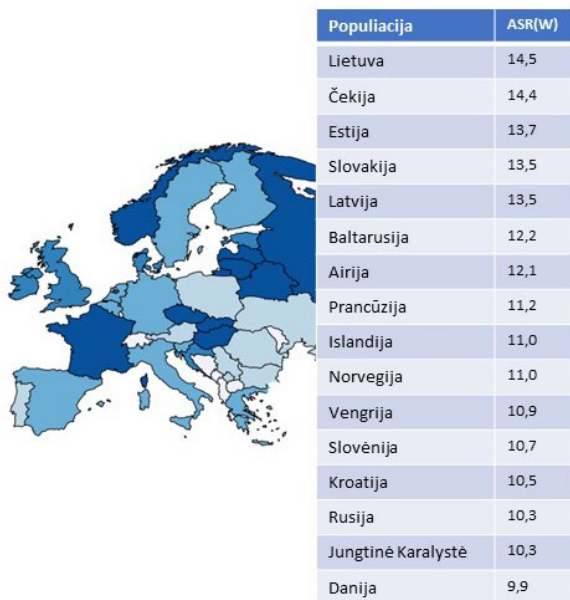
1. INKSTŲ VĖŽYS

1.1. Etiologija ir epidemiologija

Pagrindiniai vėžio rizikos veiksniai yra žalingi įpročiai, nesveikas gyvenimo būdas. Žinomi inkstų vėžio rizikos veiksniai yra rūkymas, nutukimas ir hipertenzija [2, 33]. Neseniai atliktoje sisteminėje apžvalgoje nustatyta, kad cukrinis diabetas taip pat yra rizikos veiksnys [34]. Teigiama šeiminė inkstų vėžio anamnezė siejama su padidėjusia rizika sirgti tos pačios srities vėžiu, ypač jeigu serga du ar daugiau giminaičių. Analizuoti kiti galimi rizikos veiksniai, įskaitant specifinius mitybos įpročius ir profesijas, kuriose dirbama su kancerogenų turinčiomis medžiagomis, tačiau patikimų sąsajų nerasta [36]. Žinoma, kad saikingas alkoholio vartojimas ir fizinis aktyvumas turi apsauginį poveikį [2, 37]. Veiksmingiausia profilaktika - vengti rūkyti ir sumažinti nutukimą [2, 33].

Iki šiol žinoma dešimt paveldimų inkstų vėžio riziką didinančių sindromų, dažniausi von Hippel – Lindau sindromas (rizika 70 %), Birto-Hoggo-Dube sindromas (rizika 25%), paveldima 1 tipo papiliarinė inkstų ląstelių karcinoma, paveldima lejomiomatozė ir inkstų ląstelių karcinoma (rizika 15 %), sukcinato dehidrogenazės subvienetu susijusi inkstų ląstelių karcinoma (rizika 10-15 %) [35]. Paveldimais inkstų vėžio sindromais suserga 5-8 % pacientų, simptomų pasireiškimo amžiaus vidurkis yra 37 metai [36].

Inkstų piktybiniai navikai sudaro apie 2-3 % visų vėžio atvejų, o didžiausias dažnis yra Vakarų šalyse [1, 2]. Per pastaruosius dešimtmečius inkstų navikų skaičius nuolat didėja [3]. Atvejų augimo tendencija pastebėta visame pasaulyje ir siejama su diagnostinių tyrimų tobulėjimu [3-5]. Paskutiniu metu vis daugiau inkstų navikų nustatoma pačiose pradinėse stadijose (T1a pagal TNM klasifikaciją) [4-7, 37, 38]. Pagerėjusi ankstyva diagnostika ir laiku pritaikytas gydymas pagerino mirtingumo nuo inkstų vėžio rodiklius. Pastebėta, kad Europoje bendras mirtingumas nuo inkstų vėžio didėjo iki 1990 metų pradžios, o vėliau stabilizavosi arba mažėjo [39]. 2018 metais Europos Sąjungoje buvo apie 99 200 naujų atvejų ir 39 100 mirčių nuo inkstų vėžio [1, 2]. Lietuvoje ir Čekijoje stebimas vienas didžiausių Europos Sąjungoje sergamumas ir mirtingumas nuo inkstų vėžio (1 pav.) [2].



1 pav. 2020 metų duomenimis, sergamumas inkstų vėžiu Europoje. ASR(W) – amžiumi standartizuotas rodiklis pagal pasaulinį standartą 100 000. Adaptuota pagal IARC (angl. International Agency for Research on Cancer).

Inkstų ląstelių karcinoma yra labiausiai paplitęs solidinis inkstų navikas, sudarantis apie 90 % visų inkstų piktybinių navikų. Jį sudaro skirtingi inkstų ląstelių karcinomos potipiai, turintys specifinių histopatologinių ir genetinių savybių [40]. Inkstų vėžiu vyrai serga dažniau nei moterys, santykis 1,5: 1, dažniausiai serga 50-70 metų amžiaus žmonės [2, 33].

1.2. Inkstų vėžio tipai ir klasifikacija

Inkstų ląstelių karcinomą sudaro įvairūs tipai, aprašyti 2016 m. Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) klasifikacijoje [40]. Pagrindiniai, dažniausiai pasireiškiantys inkstų ląstelių karcinomos tipai yra trys: šviesių ląstelių (~80-90 %), papilinė (10 %) ir chromofobinė (5 %). Inkstų ląstelių karcinomos tipas patvirtinamas citologine ir genetinė analize [40]

Histologinės diagnozės formavimas apima inkstų ląstelių karcinomos tipą, branduolio atipijos laipsnį, sarkomatoidinius pakitimus, kraujagyslių invaziją, naviko nekrozę ir kolektorinės sistemos pažeidimą bei invazija į inksto riebalus. Taip pat vertinamas plitimas į gretimus organus ir limfmazgius (pT ar pN kategorijų įvertinimas pagal TNM klasifikaciją) [40].

Šiuo metu patologinė diagnozė patvirtinama remiantis keturių piktybiškumo pakopų PSO/ISUP (Pasaulio sveikatos organizacijos/Tarptautinė urologinių

patologijų draugijos) vertinimo sistema, kuri pakeitė buvusią Fuhrman vertinimo sistemą [40].

Cistiniai inkstų pažeidimai grupuojami pagal BOSNIAK klasifikaciją. BOSNIAK I ir II cistos yra gerybinės, kurių nereikia aktyviai gydyti [41]. BOSNIAK III ir IV cistos priskiriami piktybiniams navikams. BOSNIAK IIF cistos išlieka sudėtingos diagnostiniu aspektu, dažniausiai rekomenduojamas stebėjimas, didėjant, keičiantis darinio struktūrai – operacinis gydymas.

Inkstų medulinė karcinoma yra labai retas navikas, sudaro <0,5 % visų inkstų ląstelių karcinomos atvejų [42], dažniausiai diagnozuojamas jauniems žmonėms (vidutinis amžius 28 metai). Tai viena agresyviausių inkstų ląstelių karcinomos formų, [43, 44], kadangi dauguma pacientų (~ 67 %) serga išplitusia liga [43, 45].

Klinikiniam ir moksliniam naudojimui rekomenduojama TNM klasifikavimo sistema, kurioje vertinamas naviko dydis, venų invazija, inksto kapsulės ar antinksčių pažeidimai, plitimas į limfmazgius arba kitus organus [46].

1 lentelė. TNM klasifikacija

T - pirminis navikas	
Tx	Pirminio naviko negalima įvertinti
T0	Nėra pirminio naviko požymių
T1	Navikas 7 cm ar mažesnis
T1a	Navikas 4 cm ar mažesnis
T1b	Navikas > 4 cm, bet <7 cm
T2	Navikas > 7 cm dydžio
T2a	Navikas > 7 cm, bet <10 cm
T2b	Navikas > 10 cm, apsiribojantis inkste
T3	Navikas plinta į pagrindines venas ar paranefrinius audinius, bet ne į tos pačios pusės antinkstį, neperauga Gerota fascijos
T3a	Navikas plinta į inksto veną arba jos segmentines šakas, perauga kolektorinę sistemą arba paranefrinius, ir/arba sinuso riebalus, bet neperauga Gerota fascijos
T3b	Naviko plitimas smarkiai tęsiasi į tuščiąją veną, esančią žemiau diafragmos
T3c	Navikas smarkiai prasiskverbia į vena cava virš diafragmos arba įsiskverbia į venos sieną
T4	Navikas perauga Gerota fasciją, plinta į tos pačios pusės antinkstį
N - regioniniai limfmazgiai	
Nx	Neįmanoma įvertinti regioninių limfmazgių
N0	Regioniniuose limfmazgiuose nėra metastazių
N1	Metastazės regioniniuose limfmazgiuose
M - tolimos metastazės	
M0	Nėra tolimų metastazių
M1	Tolimos metastazės

2 lentelė. TNM grupavimas

I stadija	T1	N0	M0
II stadija	T2	N0	M0
III stadija	T3	N0	M0
	T1,T2,T3	N1	M0
IV stadija	T4	bet koks N	M0
	Bet koks T	bet koks N	M1

Anatominės klasifikavimo sistemos padeda planuojant gydymą, vertina inksto rezekcijos sudėtingumą, gali gydytojui padėti sprendžiant pritaikyti kitus minimaliai invazinius gydymo metodus [47]. Renkantis optimalų gydymo būdą, reikia atsižvelgti ne tik į anatominius balus, tačiau ir į paciento ypatybes ir chirurgo patirtį.

Trys populiariausios nefrometrijos sistemos:

RENAL vertinimo sistema apibūdina navikus 5 kriterijais atitinkamai pagal dydį, augimo pobūdį, atstumą iki išskiriamosios inkstų sistemos, padėtį inksto atžvilgiu [48].

PADUA vertinimo sistema taip pat susideda iš 5 inkstų navikų anatominių parametrų. Ši sistema nuo RENAL sistemos skiriasi naviko padėties vertinimu (naudojama sinuso linija, ne poliarinė linija kaip RENAL atveju) [49].

C-Index santykio skaičiavimas pagrįstas atstumu (c) tarp naviko centro ir inksto centro bei tumorų spinduliu (r). C-Index apibūdina naviko sudėtingumą pagal tai, kaip toli jis yra nutolęs į inksto periferiją ir koks yra paties naviko dydis [49].

Kitos vertinimo sistemos yra Arterial Based Complexity (ABC) ir Zonal NePhRO, tačiau rečiau naudojamos [50, 51].

1.3. Diagnostika

Inkstų vėžys, ypač ankstyvųjų stadijų, yra besimtomė liga. Daugiau nei pusė inkstų vėžio atvejų aptinkami atsitiktinai, bendro sveikatos patikrinimo metu ar atliekant tyrimus dėl kitų ligų [52, 53]. Dažniausi pažengusios ir išplitusios ligos simptomai yra šono skausmas, hematurija ir pilve apčiuopiamas darinys, tačiau šie simptomai pasireiškia tik iki 10 % visų sergančių pacientų [54, 55]. Paraneoplastinis sindromas – metastazavusios ligos pranašas. Šių pacientų dažniausi nusiskundimai - kosulys, kaulų skausmai, kurie pasireiškia 30 % atvejų [56].

Objektyvus paciento ištyrimas mažiausiai informatyvus, tačiau pilve palpuojamas darinys, kakle apčiuopiami padidėję limfmazgiai, išsiplėtusios kapšelio venos (antrinė varikocelė) ar edema kojose, gali rodyti pažengusią ligą.

Ultragarso tyrimas (UGT) yra pradinis atrankinis tyrimas diagnozuojant inkstų navikus, kuris plačiai naudojamas, kadangi pigus ir lengvai prieinamas, nekenksmingas. UGT metu nustachius darinį inkste, visada tikslinama KT (kompiuterinė tomografija) ar MRT (magnetinio rezonanso tomografija).

Kompiuterinė tomografija ir magnetinio rezonanso tomografija. Pilvo KT suteikia informacijos apie tikslų inksto darinio dydį, lokalizaciją inkste, aplinkinių audinių, kraujagyslių įtraukimą, išplitimą į regioninius limfmazgius ar kitus organus [57]. Tyrimas turi būti atliekamas su intraveniniu kontrastavimu.

Solidinių inksto darinių didėjimas yra vienas iš pagrindinių piktybiškumo kriterijų [58]. KT metu inkstų masės padidėjimas nustatomas lyginant Hounsfieldo vienetus (HV) prieš ir po intraveninio kontrastavimo [59]. MRT skiriama pacientams, kuriems negalima atlikti KT dėl inkstų funkcijos nepakankamumo ar alergijos intraveninei kontrastinei medžiagai [60]. Dažnai rekomenduojama kaip papildomas, tikslinantis tyrimas vertinant sudėtingas inkstų cistas (Bosniak IIF-III) [61].

Krūtinės, galvos KT atliekamas ligos išplitimo vertinimui. Tyrimai neatliekami rutiniškai, dažniausiai atsižvelgiama į naviko dydį, klinikinę stadiją ir simptomų buvimą [62, 63].

Inkstų cistos vertinamos pagal BOSNIAK klasifikaciją [64]. Remiantis KT tyrimu, inkstų cistos skirstomos į penkias kategorijas, pagal kurias galima įvertinti pyktibiškumą ir numatyti gydymo strategiją [65].

3 lentelė. Inkstų cistų vertinimas pagal BOSNIAK klasifikaciją. Adaptuota pagal *EAU guidelines 2023*.

I	Paprasta gerybinė cista su plonomis sienomis, be pertvarų, kalcinatų ar kontrastinės medžiagos kaupiančių komponentų.
II	Gerybinė cista, kurioje gali būti keletas plonų pertvarų. Sienelėse ar pertvarose gali būti smulkių kalcifikacijų.
IIF	Cistose gali būti daugiau plonų pertvarų. Minimalus pertvarų ar cistos sienelės sustorėjimas, be kontrastinės medžiagos kaupimo. Cistose gali būti kalcifikacijų. Nėra kontrastinę medžiagą kaupiančių komponentų. Dažniausiai rekomenduojamas stebėjimas, kadangi tik 5 % gali būti piktybiniai.
III	Netaisyklingos formos cistinės masės su sustorėjusiomis netaisyklingomis sienelėmis arba pertvaros, kurios kaupia kontrastinę medžiagą. Daugiau nei 50 % yra piktybiniai. Operuojama arba taikomas aktyvus stebėjimas.
IV	Aiškiai piktybinis, turintis kontrastinę medžiagą kaupiančių komponentų. Operuojami, kadangi apie 90 % piktybiniai.

Perkutaninė inksto naviko biopsija – tai inksto naviko audinio gabaliuko paėmimas specialia adata per odą, įprastai atliekama ultragarso kontrolėje. Perkutaninė inksto naviko biopsija gali padėti diferencinėje diagnostikoje, kai radiologiškai neįmanoma atskirti inksto naviko tarp gerybinio ir piktybinio. Taip pat gali būti svarstoma pacientams, kuriems diagnozuotas mažas inksto navikas ir numatomas aktyvus stebėjimas. Biopsija visada atliekama prieš abliacinį gydymą arba blogos prognozės pacientams, kai liga metastazavusi, kadangi būtinas histologinis patvirtinimas pritaikant tinkamiausią sisteminį gydymą [65-70].

Daugiacentriniame retrospektyviniame tyrime buvo vertinami 542 pacientų histologiniai duomenys. Nustatyta, kad patologiniame tyrime gerybinių radinių tikimybė yra žymiai mažesnė centruose, kuriuose atliekamos biopsijos (5 %, palyginti su 16 %). Tai patvirtina, kad biopsijos gali padėti sumažinti bereikalingų operacijų ir su jomis susijusių komplikacijų tikimybę [71].

Inkstų navikų biopsija nėra rutininė procedūra vyresnio amžiaus, silpniems pacientams, turintiems daug gretutinių ligų, kuriems numatomas aktyvus stebėjimas. Pacientams, kuriems planuojamas aktyvus operacinis gydymas, dažniausiai biopsija neatliekama dėl didelio pilvo KT ar MRT diagnostinio tikslumo. Cistinių navikų biopsija nerekomenduojama, nebent yra aiškių solidinių struktūrų (BOSNIAK IV cistos) [65, 68]

Pacientai, kuriems didelė komplikacijų rizika, pvz.: vartojantys antikoagulantus, kurių negali nutraukti prieš procedūrą, arba kuriems techniškai apsunkinta ar rizikinga naviko biopsija dėl lokalizacijos (pvz.: navikas šalia inksto kraujagyslių arba inksto kolektorinės sistemos, naviką dengia gyvybiškai svarbūs organai, kaip kepenys ar blužnis) biopsija gali būti atliekama KT kontrolėje, arba sprendžiama dėl aktyvaus operacinio gydymo.

1.4. Molekuliniai inkstų vėžio patogenezės mechanizmai

Vystantis inkstų karcinomoms, vyksta įvairūs genominiai ir epigenominiai pakitimai, tokie kaip genetinės mutacijos, chromosomų pertvarkos (delecijos, amplifikacijos, translokacijos), DNR metilinimo pokyčiai, tačiau tikslūs molekuliniai mechanizmai atsakingi už ligos formavimąsi bei progresavimą nėra nustatyti [72]. Apie 95 % ligos atvejams nustatomas inkstų karcinomos genetinis pakitimas yra 3p chromosomos trumpojo peties praradimas [73]. Taip pat vystantis vėžiui, vyksta 5q, 7q chromosomų genetinės medžiagos pagrausėjimas ir 14q, 8p, 9p chromosomų genetinės medžiagos praradimas [74]. Daugiausiai su inkstų kancerogeneze bei ligos agresyvumu yra susiję *VHL*, *PBRM1*, *BAP1* ir *SETD2* genų mutacijos [30].

Von Hippel – Lindau genas (VHL). *VHL* – tai naviko supresijos genas bei svarbiausias veiksnys formuojantis šviesių ląstelių inkstų karcinoma [75]. Nustatyta, kad kas antram pacientui, sergančiam šviesių ląstelių inkstų karcinoma, yra būdingi pakitimai *VHL* gene [76]. *VHL* genas koduoja pVHL baltymą, kuris veikia kaip naviko supresorius [77]. Šis baltymas formuoja VBC (pVHL baltymo ir elongino B) kompleksą su kitais baltymais, tokiais kaip, elonginas C bei celiulinas 2 [77]. Pagrindinė šio baltymų komplekso funkcija yra HIF-1 α baltymų nukreipimas degradacijai proteosomose [77]. Navikui pasiekus tam tikrą dydį, pradeda trūkti deguonies, todėl skatinama hipoksijos atsako regulatoriaus HIF-1 α raiška [77]. Šis veiksnys patenka į branduolį, susijungia su HIF-1 β veiksniumi, p300/CBP transkripcijos koaktyvatoriais ir aktyvina hipoksijos atsako genus, tokius kaip kraujagyslių endotelio augimo veiksnys (VEGF), trombocitų augimo veiksnys β (PDGFB) ar transformuojantis augimo veiksnys α (TGF α) [77]. Šie veiksniai skatina angiogenezę ir naviko augimą [77]. Tuo tarpu esant įprastam deguonies kiekiui, HIF-1 α veiksnys prisijungia VHL ir yra degraduojamas proteosomose [78].

HIF-1 α kiekis yra reguliuojamas ubikvitino ligazės pVHL. Inkstų vėžio atveju, *VHL* gali būti išjungtas dėl delecijos ar promotoriaus hipermetilinimo, todėl vėžinės ląstelės mažiau jautrios deguonies trūkumui [79]. Esant mutavusiam šiam genui, HIF-1 α nenukreipiamas degradacijai proteosomose, todėl kaupiasi ląstelėje ir nuolat skatina VEGF raišką. Taip pat inkstų vėžio atveju, HIF-1 α ir HIF-2 α veiksniai kaupiasi ir aktyvuoja genų, susijusių su angiogeneze, proliferacija, apoptoze, metabolizmu, transkripciją [75]. HIF-1 α veiksnys inkstų kancerogenezėje funkcionuoja kaip naviko supresorius, o HIF-2 α – kaip naviko augimą bei angiogenezę skatinantis veiksnys [80]. *VHL* geno funkcija išjungta gali būti ir dėl *VHL* promotoriaus metilinimo. Tokie epigenetiniai pakitimai aptinkami 3 – 42 % visų šviesių ląstelių inkstų karcinomos atvejuose [75]. Riziką susirgti inkstų karcinoma padidina paveldima Von Hippel–Lindau liga, kuriai būdinga paveldėta *VHL* geno mutacija.

***PBRM1*.** Šis genas taip pat yra naviko supresijos genas, svarbus šviesių ląstelių inkstų karcinomos patogenezėi. Jis koduoja BAF180 baltymą, kuris įeina į chromatiną pertvarkančių veiksnių kompleksą SWI/SNF bei kontroliuoja ląstelės ciklą ir DNR replikaciją [81]. Šis kompleksas – tai grupė baltymų, kurie dalyvauja chromatino būsenos keitime ir tokiu būdu reguliuoja ląstelių proliferaciją, diferenciaciją, DNR pažaidų taisymą ir genų raišką [81]. Taip pat šis *PBRM1* geno koduojamas baltymas reguliuoja genų, atsakingų už ląstelės adheziją, raišką [30]. *PBRM1* mutacijos nustatomos kas trečiam pacientui, sergančiam inkstų karcinoma, o mutacijos šiame gene lemia

sutrikusį ląstelės ciklą, nekontroliuojamą ląstelių proliferaciją, naviko augimą, metastazavimą bei yra susijusios su *VHL* geno praradimu [30].

Su BRCA1 asocijuotas baltymas 1 (*BAP1*). *BAP1* yra naviko supresijos genas, lokalizuotas 3p chromosomoje ir jo mutacijos aptinkamos 15 % pacientų, kurie serga įvairiomis inkstų karcinomomis [82]. Šis genas koduoja ubikvitilinti gebantį baltymą, kuris formuoja kompleksą kartu su BRCA1 (krūties vėžio 1 – ojo tipo baltymas) ir BARD1 (su BRCA1 asocijuotas RING domeno baltymas) baltymais. Šis kompleksas dalyvauja DNR pažaidų atsake bei ląstelės ciklo kontroliavime. Pagrindinė *BAP1* baltymo funkcija yra ląstelių proliferacijos slopinimas. Taip pat jis sąveikauja su transkripcijos veiksniu HCF-1 (angl. *host cell factor 1*). Šis transkripcijos veiksnys svarbus ląstelės ciklo valdymui. Mutavęs *BAP1* baltymas nebesąveikauja su HCF-1 ir dėl to ląstelės proliferacija nėra kontroliuojama [33]. Taip pat riziką susirgti inkstų karcinoma padidina paveldimas *BAP1* vėžio sindromas. Nors tikslus *BAP1* geno vaidmuo inkstų kancerogenezeje nėra žinomas, tačiau jis siejamas su mTOR signalinio kelio aktyvavimu [33].

***SETD2*.** *SETD2* yra naviko supresijos genas, lokalizuotas 3p chromosomoje [83]. *SETD2* geno koduojamas baltymas yra metiltransferazė, kuri metilina trečio histono 36 liziną [84]. H3K36me3 yra siejamas aktyviu chromatinu bei sumažėjusiu CpG salų metiliniu [75]. Mutacijos šiame gene nustatomos apie 12 % pacientų sergančių šviesių ląstelių inkstų karcinoma ir lemia DNR transkripcijos, reparacijos pakitimus bei naviko vystymąsi [83]. Nustatyta, kad *SETD2* geno mutacijos koreliuoja su *NSD1* geno, kuris taip pat koduoja H3K36 metiltransferazę, metiliniu [98]. *NSD1* genas yra metilintas 29 % sergančiuosiuose šviesių ląstelių inkstų karcinoma atvejuose ir yra siejamas su ligos progresavimu ir agresyvumu [83].

Wnt signalinis kelias. Wnt signalinis kelias yra svarbus įvairių audinių kancerogenezeje. Jis reguliuoja ląstelės proliferaciją, apoptozę, kamieninių ląstelių diferenciaciją. Padidėjus jo aktyvumui, vystosi įvairios degeneracinės ligos bei vėžys [85]. Taip pat Wnt signalinis kelias svarbus inkstų organogenezės metu, reguliuojant šlaplės pumpuro vystymosi eigą bei mezenchiminių ląstelių nefrogenezę [79].

mTOR signalinis kelias. *MTOR* genas koduoja kinazę mTOR, kuri svarbi ląstelės ciklo reguliavimui. mTOR-PI3K signalinis kelias prasideda kai insulinas ar IGF sąveikauja su ląstelės paviršiuje esančiais receptoriais, o tai aktyvuoja PI3K baltymą [86]. Aktyvus PI3K baltymas aktyvuoja mTOR ir suformuoja pirmą ir antrą mTOR kompleksus (mTORC1 ir mTORC2) [87]. mTOR kompleksų funkcijoms turi įtakos tokie veiksniai kaip aminorūgštys, stresas, deguonis, energijos kiekis, augimo faktoriai. Susiformavus mTORC1 kompleksui toliau yra fosforilinamas P70SK baltymas, fosforilintas baltymas

keliauja į branduolį ir inicijuoja *HIF-1α* geno transkripciją. Kaip jau minėta *HIF-1α* baltymas toliau inicijuoja angiogenezę skatinančius augimo veiksnius: VEGF, PDGF ir TGFB, o tai skatina naviko augimą [88].

1.5. DNR metilinimo pokyčiai inkstų navikuose

Įvairūs DNR metilinimo pokyčiai inkstų audiniuose nustatomi dar pirminiuose kancerogenezės etapuose ir dažnai siejami su įvairiais klinikiniais-patologiniais parametrais [89, 90], todėl gali būti naudingi ne tik ankstyvai diagnostikai, bet ir prognozavimui. Be to, DNR metilinimo pokyčiai nesudėtingai aptinkami kūno skysčiuose cirkuliuojančioje DNR, todėl gali pasitarnauti kaip neinvaziniai ligos biožymenys, kurie gali būti panaudojami kaip priemonė gydytojams greitam ir tiksliam ligos aptikimui, stebėsenai ar net gydymo pritaikymui. Nepaisant iki šiol įdėtų pastangų aptikti naujus inkstų vėžio DNR metilinimo biožymenis [91-95], kol kas nei vienas iš jų nėra naudojamas klinikoje.

Ankstesnių tyrimų metu [96, 97] nustatytos dvi šviesių inkstų ląstelių karcinomos navikų grupės – turinčios aukštą ir žemą DNR metilinimo lygį. Lyginant šviesių ląstelių inkstų karcinomos audinius su nepakitusiais inkstų audiniais, nustatyti DNR metilinimo pokyčiai [92-94]. Pakitusio metilinimo genai reikšmingai susieti su įvairiais molekuliniiais atsako keliais, dalyvaujančiais vėžio augime ir progresijoje. Genų promotorių ar stipriklių sričių metilinimas daro daugiausiai įtakos geno raiškos pokyčiams ir greičiausiai turi didžiausią klinikinę reikšmę [98].

Lietuvoje, Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centre, 2021 metais pirmą kartą buvo ištirtas DNR metilinimas ir genų raiška šviesių ląstelių inkstų karcinomos ligonų imtyje, (apginta R. Kubiliūtės disertacija) [99]. Išanalizuoti bei palyginti genetiniai pokyčiai inksto navikiniuose ir sveikuose audiniuose bei pacientų ir sveikų asmenų šlapime. Inkstų navikuose atlikus visuminę DNR metilinimo pokyčių analizę, tarp didelio kiekio skirtingai metilintų genų, tolimesniam validavimo etapui atrinkti 10 baltymus koduojančių genų *ZNF677*, *FBN2*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1*, *FLRT2*, *ADAMTS19*, *BMP7*, *SIMI* ir *SFRP1*. Minėtų genų reguliacinės sritys šviesių ląstelių inkstų karcinomos audiniuose metilintos statistiškai reikšmingai dažniau lyginant su nepakitusiais inkstų audiniais. Šešių genų kombinacija – *ZNF677*, *FBN2*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1* ir *SFRP1* pasižymėjo aukštu diagnostiniu jautrumu ir specifiškumu tiek navikiniuose audiniuose, tiek pacientų šlapime [100].

Genų *FBN2*, *PCDH8* ir *SFRP1* metilinimas inkstų vėžio atveju jau buvo analizuotas ankstesniuose tyrimuose [101-104]. Visų genų metilinimas buvo

ypač specifiškas šviesių ląstelių inkstų karcinomos audiniams (89-100 %), tuo tarpu jautrumas svyravo nuo 18 % iki 60 %. Genų rinkinys, susidedantis iš *ZNF677*, *FBN2*, *PCDH8*, *TAC1* ir *SFRP1* (su ar be *TFAP2B*) pasižymėjo aukštu tiek diagnostiniu jautrumu – 83,7–85,4 %, tiek ir specifiskumu – 95,8–97,8 %.

Genas *ZNF677* (angl. *zinc finger protein 677*), koduoja transkripcijos veiksnį. Ankstesnių tyrimų metu padidėjusi šio geno raiška susieta su ląstelių proliferacijos, migracijos ir invazijos slopinimu, ląstelės ciklo stabdymu ir apoptozės indukcija, todėl jis priskiriamas prie naviką slopinančių genų [105, 106]. Sumažėjusi šio geno raiška dėl promotoriaus DNR metilavimo nustatyta burnos [107], skyd liaukės [106] ir plaučių [105] navikų atveju. Inkstų vėžio atveju *ZNF677* hipermetilinimas nustatytas 33,3 % šviesių ląstelių inkstų karcinoma sergančių ligonių ir reikšmingai susietas su geno raiškos sumažėjimu [100]. Metilinta šio geno būsena taip pat siejosi su vėžio progresavimu susijusiais klinikiniais-patologiniais rodikliais, įskaitant didesnės apimties navikus, aukštesnę naviko stadiją, laipsnį, naviko nekrozę ir trumpesnį ligonių bendrą išgyvenamumą [100].

Genas *FBN2* (angl. *Fibrilin-2*) koduoja pagrindinį žmogaus mikrofibrilių komponentą –fibriliną 2. Viena iš šio glikoproteino funkcijų yra reguliuoti transformuojančio augimo veiksnio β (TGF- β) bioprieinamumą ląstelei, kuris yra susijungęs su ekstraląstelinio matriksu [108]. Ankstesnių tyrimų metu fibrilino 2 raiškos sumažėjimas inkstų vėžio atveju buvo susietas su piktybiniu ląstelių fenotipu, kuris yra apibrėžiamas pakitusia TGF- β aktyvinamų signalinių kelių reguliacija, angiogeneze ir ląstelių metastazavimu [101]. Sumažėjusi fibrilino 2 raiška lemia latentinio TGF- β , išsilaisvinimą iš ekstraląstelinio matriksu, kas lemia jo aktyvinimą ir ląstelių transformaciją, apibrėžiamą spartesne jų proliferacija ir epitelinė-mezenchimine tranzicija [101, 109]. *FBN2* hipermetilinimas nustatytas 48 % šviesių ląstelių inkstų karcinomos atveju ir reikšmingai susietas su trumpesniu jų bendru išgyvenamumu, tuo tarpu ankstesni tyrimai šios sąsajos neparodė [103].

Genas *TFAP2B* (angl. *transcription factor AP-2 beta*) koduoja kitą transkripcijos veiksnį - AP-2 β , priklausantį AP-2 transkripcijos veiksnių šeimai, kurie stimuliuoja ląstelių proliferaciją ir slopina jų perėjimą į galutinės diferenciacijos būseną. Pats *TFAP2B* yra labia svarbus normaliam inkstų vystymuisi ir dalyvauja nefrono epitelinių ląstelių diferenciacijoje [110, 111]. Manoma, kad *TFAP2B* skatina WNT/ β -katenino signalinį kelią [112] ir prisideda ir prie vėžinių inksto ląstelių diferenciacijos [113, 114]. Šis transkripcijos veiksnys gali tiek slopinti, tiek ir skatinti vėžio vystymąsi ir jo vaidmuo priklauso tiek nuo audinio tipo, tiek ir nuo naviko vystymosi stadijos [115]. Kadangi tarp AP-2 β indukuojamų genų yra ir p21 (slopina G1/S ląstelės

ciklo tranziciją), šio transkripcijos veiksnio raiška siejama su mažais ir žemo piktybiškumo laipsnio navikais [116]. AP-2 β taip pat gali veikti ir kaip transkripcijos represorius ir šiuo būdu jis slopina endotelio augimo veiksnio receptoriaus 2 (VEGFR2) raišką, tuo tarpu AP-2 β praradimas lemia išaugusią VEGFR2 raišką, kas skatina angiogenezę ir šviesių ląstelių inkstų karcinomos progresiją [117, 118, 119]. Tyrimuose stebimas žymus *TFAP2B* raiškos sumažėjimas šviesių ląstelių inkstų karcinomos audiniuose [100, 120]. Taigi *TFAP2B* yra perspektyvus šviesių ląstelių inkstų karcinomos biožymuo, tačiau reikalingi išsamesni tyrimai jo klinicinei reikšmei patvirtinti.

Genas *PCDH8* (angl. *Protocadherin-8*) koduoja protokadheriną – transmembraninį ląstelės baltymą, svarbų ląstelės adhezijos, proliferacijos ir migracijos procesuose [121]. Šio geno vaidmuo kancerogenezėje nėra pilnai išaiškintas. Dalis autorių *PCDH8* apibrėžia kaip naviką slopinantį geną, kurio produktas lemia lėtesnę ląstelių proliferaciją, migraciją ir net apoptozės indukciją, todėl jis yra dažnai nuslopinamas promotoriaus metilavimo būdu įvairiose karcinomose [122-124]. Priešingai, kiti autoriai nurodo, jog *PCDH8* gali skatinti metastazių susidarymą, nes padidėjusi jo raiška *in vitro* siejama su ląstelių migracija [125, 126]. *PCDH8* hipermetilavimas reikšmingai susietas su didesniais navikais, aukštesne naviko stadija ir diferenciacijos laipsniu, kas patvirtina svarbų šio geno vaidmenį šviesių ląstelių inkstų karcinomos vystymesi ir progresijoje [100, 102].

Genas *FLRT2* (angl. *Fibronectin leucine-rich transmembrane protein 2*) koduoja kitą transmembraninį adhezijos baltymą, turintį ekstraląstelinį leucinu praturtintą domeną, kuris veikia tiek kaip adhezijos, tiek kaip signalinė molekulė [127]. Ankstesnių tyrimų metu nustatyta, jog būtent dėl promotoriaus metilavimo sumažėjusi *FLRT2* raiška skatino ląstelių proliferaciją ir migraciją, tuo tarpu išaugusi raiška turėjo priešingą poveikį ląstelėms [128]. Taigi *FLRT2* galimai veikia kaip naviko supresorius. Kai kuriuose tyrimuose nustatyta sumažėjusi *FLRT2* raiška ir dažnas (45 %) promotoriaus hipermetilavimas šviesių ląstelių inkstų karcinomos audiniuose [100]. Sumažėjusi *FLRT2* raiška reikšmingai susieta su naviko nekroze, tuo tarpu hipermetilavimas su didesniais navikais, kas patvirtina galimą šio geno, kaip naviko supresoriaus vaidmenį.

Genas *TAC1* (angl. *tachykinin-1*) tachikininą 1 – sekretuojamą baltymą, priklausantį neuropeptidų šeimai. *TAC1* dalyvauja ląstelės sekrecijos ir uždegiminiuose procesuose bei slopina ląstelių proliferaciją [129], dėl to yra laikomas naviką slopinančiu genu. Tačiau tikslus šio geno vaidmuo kancerogenezės procese nėra aiškus, nors šio geno hipermetilavimas nustatytas daugelio navikų atveju, įskaitant krūtis [130], kasos [131], stemplės [132], plaučių [133], storžarnos [134] bei galvos ir kaklo [135] navikus ir pasižymėjo prognostinėmis savybėmis. *TAC1* šviesių ląstelių inkstų karcinomos audiniuose metilavimas siekė 60 % iš visų tirtų genų, o metilinta šio geno būsena ir

sumažėjusi raiška reikšmingai susieti su didesniais šviesių ląstelių inkstų karcinomos navikais [100]. Taigi, aukštas geno metilinimo dažnis ir sąsaja su naviko dydžiu rodo tiek diagnostinį, tiek prognostinį šio geno potencialą.

1.6. Inkstų vėžio gydymas

1.6.1. Aktyvus stebėjimas

Tobulėjant chirurginei technikai, pooperacinis sergamumas mažėja, tačiau vis dar išlieka pakankamai didelis, apie 11-40 % [8, 10, 136]. Pooperacinį sergamumą ir mirtingumą didina tai, kad inkstų navikai dažnai aptinkami senyvo amžiaus, daug gretutinių ligų turintiems pacientams.

Populiacinis tyrimas, apimantis 26 618 pacientų, kuriems buvo chirurgiškai gydytas lokalus inkstų vėžys, parodė, kad mirtingumo augimas susijęs su pacientų amžiumi, tačiau nesusijęs su naviko dydžiu (pacientų, > 70 metų amžiaus, mirtingumas siekė 28,2 %) [11]. Arrontes ir kt. pastebėjo, kad didesnis Charlson gretutinių ligų indeksas (CCI) (> 2) buvo reikšmingai susijęs su blogesniu bendru išgyvenamumu po chirurginio gydymo ($p < 0,001$) [14]. Tai leidžia daryti prielaidą, kad maži, atsitiktinai aptikti inkstų navikai lėtai progresuoja, o mirtingumas reikšmingai koreliuoja su amžiumi ir gretutinėmis ligomis.

Aktyvaus stebėjimo taktika gali būti pasirinkta senyviems, daug gretutinių ligų turintiems pacientams, kurie nėra patys geriausi kandidatai chirurginiam gydymui [14]. Aktyvaus stebėjimo koncepcija reiškia pradinio stebėjimo laikotarpį su galimybe atidėti aktyvų, operacinį gydymą tiems pacientams, kuriems naviko augimo tempas nėra greitas [137]. Viršutinė saugi riba yra 3-4 cm naviko skersmuo ir tūrio dvigubėjimo laikas ilgesnis nei 1 metai [138-140].

Daugelis mokslinių publikacijų apie aktyvų stebėjimą aiškiai parodė, kad atsitiktinai aptikti maži inkstų navikai turi lėtą augimo tempą ir besimptomę kliniką, o metastazavimo rizika yra mažai tikėtina. Bosniak ir kt. [141-144] retrospektyviai apžvelgė 40 atsitiktinai diagnozuotų, <3,5 cm dydžio inkstų navikų vaizdus. Pacientai vidutiniškai buvo stebėti 3,2 metus. Dvidešimt šeši navikai galiausiai buvo pašalinti po 3,8 metų ir 84,6 % iš jų histologiškai nustatyta inkstų ląstelių karcinoma. Kintantis naviko augimo elgesys ir bendras vidutinis linijinis augimas buvo 0,36 cm / metus (0-1.1 cm / metus). Devyniolika navikų augo mažiau nei 0,35 cm per metus, nė vienam pacientui nebuvo nustatyta metastatinė liga. Smaldone ir kt. [18] atliko 18 studijų metaanalizę (880 pacientams vidutiniškai 33,5 mėnesių aktyviai stebėti inkstų navikai) ir nustatė, kad metastazavimo rizika siekia 2,25 %. Išanalizavus

progresavimo kohortą nustatyta, kad didesnis amžius (75,1 vs 66,6; $p = 0,03$), didesnis pradinis naviko dydis (4.1 cm vs 2,3 cm, $p < 0,0001$) ir naviko tūris (66,3 vs 15,1 cm³; $p = 0,0001$) susijęs su greitesniu naviko linijiniu (0,8 vs 0,3 cm / metus; $p = 0,0001$) ir naviko tūrio augimo tempu (27,1 vs 6,2 cm³ / metus; $p < 0,0001$).

Tiek trumpo, tiek vidutinio laikotarpio inkstų vėžio tyrimai vis labiau įtikina, kad atrinktiems pacientams (senyvo amžiaus ir / ar gretutinėmis ligomis) aktyvus stebėjimas yra tinkama pradinė mažų inkstų navikų gydymo strategija. Tik vėliau, jei navikas sparčiai didėja, yra aktyviai gydoma.

1.6.2. Lokalių inkstų navikų gydymas

Pagrindiniai piktybinių inkstų navikų chirurginiai gydymo būdai yra pilnas inksto pašalinimas - nefrektomija, dalinis inksto pašalinimas - inksto rezekcija, dar vadinama nefronus tausojanti operacija. Robotinė, laparoskopinė ar atvira operacija išlieka pirmo pasirinkimo inkstų navikų gydyme.

Remiantis sisteminėmis apžvalgomis nustatytas mažesnis sergamumas ir greitesnis atsigavimas šalinant inkstą laparoskopiniu metodu nei atviru [145-147]. Laparoskopinės radiklios nefrektomijos grupės pacientams reikėjo žymiai mažesnio nuskausminančio gydymo, trumpesnio hospitalizavimo ir reabilitacijos laikotarpio [146]. Komplikacijų skirtumo tarp atviros ir laparoskopinės operacijos nebuvo, tačiau atviros nefrektomijos ar inksto rezekcijos operavimo laikai buvo trumpesni [148-151]. Pranašumas robotinės chirurgijos prieš atvirą - mažesnis bendras komplikacijų ir kraujo perpylimų dažnis, trumpesnis hospitalizavimo laikotarpis [149]. Palyginamų studijų rezultatai buvo panašūs, kuriose vertinti onkologiniai rezultatai praėjus 5 metams po atvirų, laparoskopinių ir robotinių inksto operacijų [153].

Mažų lokalių (T1a pagal TNM klasifikaciją) inkstų navikų pirmo pasirinkimo gydymas yra nefronus tausojančios operacijos, padedančios išsaugoti inkstų funkciją ir laikoma gydymo aukso standartu [14]. Penkių metų chirurgiškai gydytų pT1a inkstų navikų išgyvenamumas be vėžio siekia 97 % [9, 154-156]. Įrodyta, kad nefronus tausojanti chirurgija ne tik išsaugo geresnę inkstų funkciją, bet sumažina širdies ir kraujagyslių ligų išsivystymo riziką ir pagerina bendrą išgyvenamumą [157-161].

Didesniems navikams dažniausiai atliekama nefrektomija, tačiau gydymo pasirinkimas gali priklausyti nuo paciento amžiaus, gretutinių ligų, naviko stadijos bei lokalizacijos inkste. Kai navikas išplitęs, sprendžiama dėl pirminio navikinio židinio šalinimo – citoredukcinės nefrektomijos. Parinktiems pacientams kombinuotas gydymas taikant citoredukcinę

operaciją ir sisteminį gydymą prailgina bendrą išgyvenamumą [163]. Metastazių šalinimas turi būti individualiai sprendžiamas, kadangi taip pat prailgina pacientų bendrą išgyvenamumą [164-166].

Inkstų navikų abliacija – minimaliai invazyvus gydymo metodas. Dažniausiai atliekamos: radiodažnuminė abliacija, krioabliacija ir mikrobangų abliacija [167]. Abliacijas galima atlikti keliais būdais – perkutaniniu, laparoskopiniu ir atviruoju. Vyresnio amžiaus pacientai, turintys daug gretutinių ligų ar dėl išreikšto inkstų funkcijos nepakankamumo yra netinkantys operaciniam gydymui dėl didelės operacinio ir pooperacinio mirtingumo rizikos, todėl kaip alternatyva yra dažniausiai taikoma perkutaninė naviko abliacija [168].

Mažiems inkstų navikams abliacija efektyvus metodas, radikalumas siekia 94-96 %, aprašomas komplikacijų dažnis iki 29 %, tačiau jos būna lengvos, nereikalaujančios intervencinio gydymo [169-171].

Embolizacija - kraujagyslės spindžio užkimšimas, kraujo tėkmės sustabdymas navikiniame darinyje. Prieš įprastą nefrektomiją naviko embolizacija nėra rekomenduojama [173]. Embolizacija gali sumažinti simptomus, tokius kaip hematuriją ar šono skausmas ir dažniausiai atliekama pacientams, kurie serga neoperabilia liga [173, 174].

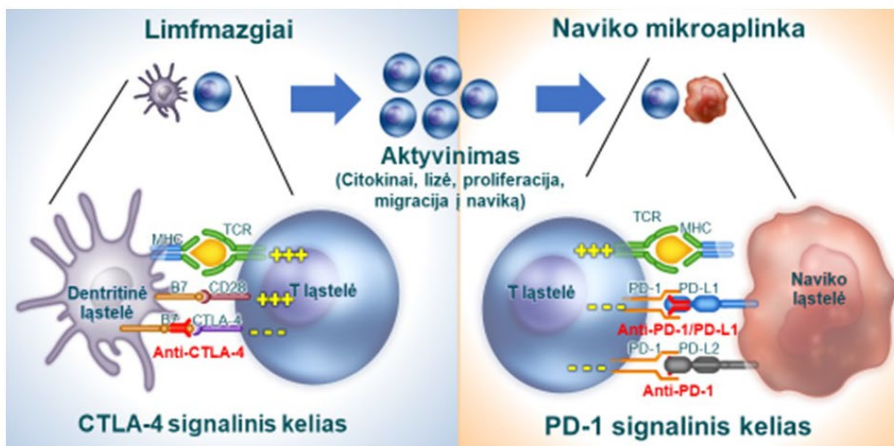
1.6.3. Išplitusio inkstų vėžio gydymas

Iki 2006 metų imunoterapija citokiniais IL-2 (interleukinu 2) ir IFN α (alfa interferonu) buvo vienintelė, bet pakankamai toksiška sisteminio gydymo galimybė išplitusiam ir metastazavusiam inkstų ląstelių vėžiui gydyti. Nuo 2006 metų išplitusio inkstų ląstelių vėžio medikamentinio gydymo galimybės pradėjo keistis iš esmės, kai buvo sukurti ir į klinikinę praktiką įdiegti taikinių terapijos preparatai - tirozinkinazės inhibitoriai (TKI). Šių vaistų veikimo mechanizmas pasireiškė kraujagyslių endotelio augimo faktoriaus receptorių (KEAFR) blokavimu, taip sustabdant kraujotaką navike. Sunitinibas ir sorafenibas buvo pirmieji taikinių terapijos medikamentai, patvirtinti Europos Sąjungoje išplitusiam inkstų vėžiui gydyti 2006 metais. Po to buvo sukurta visa eilė taikinių terapijos medikamentų: pazopanibas, aksitinibas, lenvatinibas. 2018 metais klinikinėje praktikoje buvo pradėtas taikyti kabozantinibas kaip pirmos arba antros eilės gydymo pasirinkimas. Klinikiniuose tyrimuose buvo įrodyta, kad angiogenezės inhibitorius, monokloninis antikūnas bevacizumabas derinyje su IFN α yra veiksmingas metastazavusiam inkstų ląstelių vėžiui gydyti; klinikinį pritaikymą sekančios eilės gydymui, kai liga progresuoja po gydymo TKI surado ir žinduolių rapamicino taikinio (mTOR) inhibitoriai temsirolimus bei everolimus.

Pacientams, sergantiems metastazavusia inkstų ląstelių karcinoma, ypač svarbu tinkamai parinkti pirmos eilės sisteminį gydymą. Nuo to priklauso paciento gydymo sėkmė. Šiuo metu tarptautinėse gydymo rekomendacijose parenkant sisteminį gydymą inkstų vėžiui sergantiems pacientams dažniausiai naudojama IMDC prognostiniai kriterijai (International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium Criteria). Vertinant paciento prognozę pagal IMDC skalę, atsižvelgiama kiek laiko praėjo nuo inkstų vėžio diagnozės iki metastazių nustatymo (jei mažiau metai – blogesnė prognozė), vertinama paciento bendra būklė, ar nustatyta anemija, hiperkalcemija, trombocitozė, padidėjęs neutrofilų kiekis kraujyje. Jei nėra rizikos kriterijų – gera prognozė, jei nustatomi 1-2 kriterijai – vidutinė prognozė, jei 3-6 kriterijai – bloga prognozė [24].

Ryškus progresas medikamentinio vėžio gydymo srityje buvo imunoterapijos preparatų sukūrimas ir įdiegimas į klinikinę praktiką. Ženklus postūmis įvyko ir inkstų vėžio gydymui pradėjus taikyti šiuos preparatus.

Nivolumabas yra žmogui pritaikytas imunoglobulinas G4 (IgG4) – monokloninis antikūnas (HuMAb), kuris prisijungia prie programuotos ląstelių žūties (angl. *programmed death*) pirmųjų receptorių (PD-1) ir blokuoja jų sąveiką su PD-L1 ir PD-L2. Nustatyta, kad PD-1 receptorių yra T ląstelių aktyvumo neigiamas reguliatorius, kuris dalyvauja T ląstelių imuninio atsako kontrolėje. Prie PD-1 prisijungus ligandams PD-L1 ar PD-L2, kurie yra išreikšti antigenais pateikiančiose ląstelėse bei gali būti išreikšti navikuose ir kitose jų mikroaplinkos ląstelėse, slopinama T ląstelių proliferacija ir citokinų sekrecija. Nivolumabas stiprina T ląstelių atsaką, įskaitant citotoksiinį atsaką į navikines ląsteles, blokuodamas PD-L1 ir PD-L2 ligandų jungimąsi prie PD-1 receptorių [175]. (2 pav.)



2 pav. CTLA-4 ir PD-1 signalinių kelių blokada. CTLA-4 reguliuoja naujų ir atminties T ląstelių ankstesnio aktyvinimo amplitudę, o PD-1 riboja T ląstelių aktyvaciją periferijoje uždegiminės reakcijos metu [176].

Citotoksinių T limfocitų antigenas-4 (CTLA-4) yra svarbiausias T ląstelių aktyvumo reguliatorius. Ipilimumabas yra CTLA-4 imuninės kontrolės taško inhibitorius, kuris blokuoja per CTLA-4 perduodamus T ląsteles slopinančius signalus, todėl padidina reaktyvių T efektorinių ląstelių skaičių – tuomet pastarosios mobilizuojamos tiesioginiam T ląstelių imuniniam atsakui prieš navikines ląsteles. Be to, užblokavus CTLA-4 gali susilpnėti reguliacinių T ląstelių funkcija, o tai gali sustiprinti imuninį atsaką prieš naviką. Ipilimumabas taip pat gali selektyviai sumažinti reguliacinių T ląstelių skaičių navike ir dėl to padidinti T efektorinių bei T reguliacinių ląstelių santykį jame, o tai skatina navikinių ląstelių žuvimą (Ipimumab preparato charakteristika).

2016 metais Europos vaistų agentūra registravo nivolumabą inkstų ląstelių vėžiui gydyti, kai liga progresavo po gydymo TKI, remiantis klinikinio tyrimo Check Mate025 rezultatais. Šis tyrimas parodė, kad bendras išgyvenamumas, laikas iki ligos progresavimo bei pacientų gyvenimo kokybė buvo geresni nivolumabo grupėje lyginant su everolimu [177].

Nuo 2018 metų klinikinėje praktikoje gydant išplitusį inkstų vėžį pradėti taikyti imunoterapijos preparatų deriniai bei TKI ir imunoterapijos preparatų deriniai: ipilimumabas su nivolumabu (šie preparatai veikia sinergistiškai), nivolumabas su kabozantinibu, pembrolizumabas su aksitinibu.

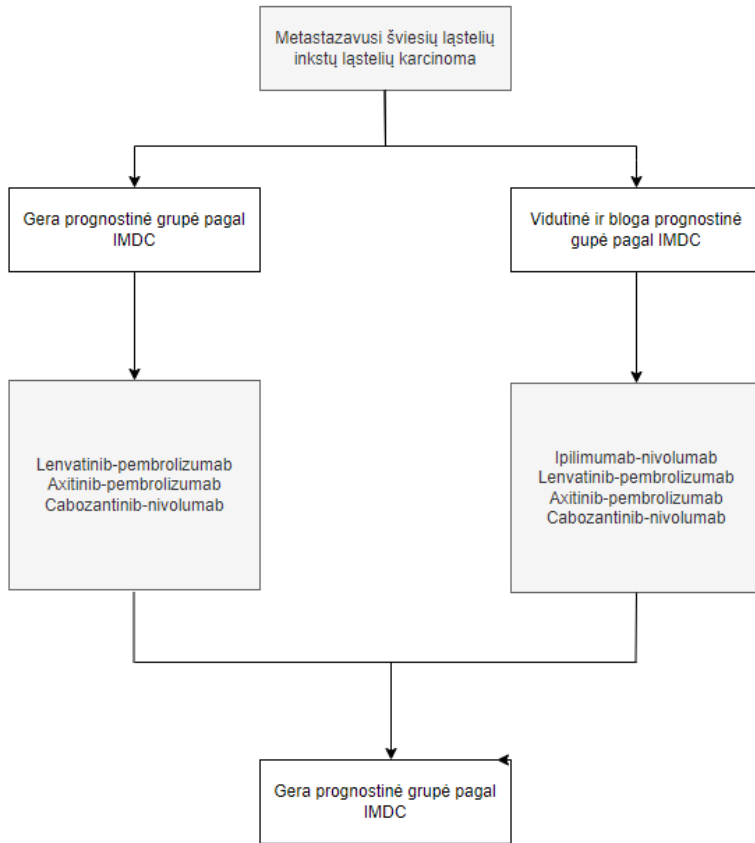
CheckMate 214 - atviras, randomizuotas, 3 fazės klinikinis tyrimas, kuriame lyginta nivolumabo ir ipilimumabo derinio veiksmingumas su sunitinibu pirmos eilės išplitusio inkstų ląstelių vėžio gydymui. Vykdamas

stebėjimą 25,2 mėn, vidutinės ir blogos prognozės pacientų 18 mėnesių išgyveno 75 % nivolumabo ir ipilimumabo grupėje (95 % PI 70-72) ir 60 % (95 % PI 55-65) sunitinibo grupėje. Išgyvenamumo mediana nebuvo pasiekta imunoterapijos grupėje lyginant su 26,0 mėn sunitinibo grupėje [RS (rizikos santykis) 0,63, $p < 0,001$]. Stebint pacientus toliau (32 ir 42 mėn.), geresnis išgyvenamumas ir toliau stebėtas nivolumabo ir ipilimumabo grupėje lyginant su sunitinibu [178, 179].

Keynote-426 – lyginta pembrolizumabo ir aksitinibo derinys su gydymu sunitinibo monoterapija. Pirminė analizė parodė, kad pacientų, gydytų deriniu, bendrojo išgyvenamumo mediana buvo didesnė, negu gydytų sunitinibo monoterapija (78 %, HR 0,53, 95 % PI 0,38-0,74, $p < 0,01$). Gydant pembrolizumabo ir aksitinibo deriniu, nustatytas ilgesnis laikotarpis be ligos progresavimo, geresnis bendras atsako dažnis negu sunitinibo grupėje [180].

Check Mate 9ER tyrimas – lyginta kabozantinibo ir nivolumabo derinys su gydymu sunitinibo monoterapija. Pacientų, gydytų deriniu, buvo ilgesnis laikas iki ligos progresavimo, negu gydytų sunitinibo monoterapija (atitinkamai 16,6 ir 8,3 mėn, HR 0,51, 95 % PI 0,41-0,64, $p < 0,01$). Kabozantinibo ir nivolumabo deriniu gydytiems pacientams buvo stebėta mažesnė mirties rizika ir dažnesnis naviko atsakas į gydymą negu sunitinibo grupėje [181].

Per pastaruosius du metus įvyko esminių pokyčių pirmos eilės išplitusio inkstų vėžio sisteminio gydymo rekomendacijose. Daugiau kaip dešimtmetį taikytą monoterapiją TKI inhibitoriais keičia rekomendacija gydyti vaistų kombinacijomis, ypač vidutinės ir blogos prognostinės grupės pacientus. Geri gydymo rezultatai stebimi derinant imunoterapijos preparatus tarpusavyje arba su TKI. CheckMate 214 klinikinio tyrimo duomenys parodė, kad dviejų imunoterapijos preparatų – nivolumabo ir ipilimumabo – derinys ženkliai prailgino vidutinės ir blogos prognozės inkstų vėžiu sergančių pacientų išgyvenamumą be ligos progresavimo ir bendrą išgyvenamumą lyginant su gydymu sunitinibu. Imunoterapija gydytiems pacientams pasireiškė mažiau nepageidaujamų su gydymu susijusių reiškinių, negu sunitinibu gydytiems pacientams. 2020 metais nivolumabo ir ipilimumabo derinys buvo įtrauktas į ESMO rekomendacijas kaip pirmos eilės gydymo galimybė pacientams, sergantiems vidutinės ir blogos prognozės inkstų ląstelių vėžiu (3 pav.).



3 pav. Išplitusio šviesių ląstelių inkstų vėžio pirmosios ir antrosios eilės sisteminio gydymo rekomendacijos remiantis ESMO rekomendacijas. Adaptuota pagal ESMO gairių 2021 m. rugsėjo 28 d. atnaujinimą.

2. TIRIMIEJI ASMENYS IR METODAI

2.1. Aktyviai stebimų pacientų atranka ir tyrimai

Į tyrimą įtraukti pacientai, stebėti Nacionaliniame vėžio institute (NVI) nuo 2018 iki 2023 metų. Visi dalyvaujantys pacientai ir sveiki kontroliniai asmenys buvo davę informuotą sutikimą naudoti jų šlapimą ir duomenis tyrimų tikslais, tyrimą patvirtino Vilniaus Bioetikos komitetas, Nr.: 158200-17-952-457 (1 priedas).

Pacientų įtraukimo kriterijai:

1. Vyrai ar moterys, amžius ≥ 18 metų.
2. Atsitiktinė vaizdinė inksto naviko diagnostika (echoskopija, KT, MRT).
3. Maksimalus inksto naviko skersmuo 4 cm.
4. Perkutaninės adatinės biopsijos metu histologiškai patvirtinta inkstų ląstelių karcinoma. Visi inkstų ląstelės karcinomos subtipai yra tinkami tyrimui.
5. Pacientai netinkami operaciniam inksto vėžio gydymui dėl senyvo amžiaus arba gretutinių ligų. Pacientai, atsisakę operacinio gydymo.
6. Pacientai, pasirašę informuotą sutikimą.
7. Pacientai, pasiruošę laikytis stebėjimo protokolo ir sutikę perkutaninei inksto naviko biopsijai.

Pacientų neįtraukimo kriterijai:

1. Inkstų navikai histologiškai ne inkstų ląstelių karcinomos (sarkomos, limfomos ir kt.).
2. Metastazių buvimas diagnozės metu.
3. Simptominis inkstų navikas.
4. Pacientai su žinomomis inkstų ląstelių karcinoma asocijuotomis genetinėmis ligomis. (VHL, BHD, HLRCC ir t.t).
5. Pacientai, netinkantys biopsijai dėl antikoagulantų ar antiagregantų naudojimo, kuriems negalima net ir laikinai nutraukti šių preparatų vartojimo.
6. Pacientai, netinkantys biopsijai dėl naviko vietos ar labai mažo naviko dydžio.
7. Pacientai, kuriems vienu metu taikomas sisteminis gydymas dėl kito vėžio.
8. Pacientai, kurių tikėtina gyvenimo trukmė < 1 metų.

Renkami mėginiai ir duomenys apie pacientą (4 lentelė):

1. Pasirašytas informuotas sutikimas.
2. Pacientų demografiniai rodikliai (gimimo data / amžius, lytis, rūkymo statusas).
3. Ligos istorija: pagrindinės ir gretutinės ligos pagal Charlson gretutinių ligų indeksą (CCI, žr. 1 priedą).
4. Su naviku susiję simptomai.
5. ECOG kriterijai (žr. 2 priedą).
6. EORTC QLQ C30 klausimynas (žr. 3 priedą).
7. Ligoninės nerimo ir depresijos skalė (ang. HADS, žr. 4 priedą).
8. Gydymas / kartu vartojami vaistai.
9. Fizinis ištyrimas, pilvo apimties ir AKS matavimas.
10. KMI (svoris ir ūgis).
11. Inkstų funkcija (kreatinino koncentracija kraujo serume ir GRG (apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis) pagal Cockcroft-Gault formulę:

$$\text{CrCl} = \frac{[140 - \text{amžius (metais)}] \times \text{svoris (kg)}}{72 \times \text{serumo kreatininas (mg/dL)}} \{ \times 0.85 \text{ moterims} \}$$

12. Bendras kraujo tyrimas, kepenų funkcijos rodikliai (AST, ALT, ALP, γ GT), lipidograma (cholesterolis, MTL, DTL, trigliceridai) ir gliukozės koncentracijos nustatymas kraujo serume nevalgius.
13. Pilvo vaizdinis tyrimas (KT, MRT).
14. Krūtinės ląstos vaizdinis tyrimas (KT, plaučių rentgenograma).
15. Inkstų naviko stadija pagal TNM (žr. 5 priedą).
16. Anatominė inkstų naviko klasifikavimo sistema pagal PADUA (žr. 6 priedą) ir REANAL (žr. 7 priedą).
17. Metabolinio sindromo kriterijai pagal NCEP/ATP-III (žr. 8 priede).
18. Histologinė informacija iš perkutaninės biopsijos (inkstų ląstelių subtipo, branduolių rūšiavimo).
19. Navikinis audinys.
20. Kraujo mėginiai.
21. Šlapimo mėginiai.

4 lentelė. Detalus vizitų dažnio ir diagnostinių tyrimų planas.

	Pradinis	3 mėn	6 mėn	12 mėn	18 mėn	24 mėn	30 mėn	36 mėn	Kasmet	NP
Informuotas sutikimas	x									
Demografiniai duomenys:	x									
Ligos istorija	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Vartojami vaistai	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Charlsono gretutinių ligų indeksas	x		x	x		x		x	x	x
ECOG kriterijai	x		x	x		x		x	x	x
EORTC QLQ C30 klausimynas	x		x	x		x		x	x	x
HADS klausimynas	x		x	x		x		x	x	x
Fizinis ištyrimas	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
KMI (svoris ir ūgis)	x		x	x		x		x	x	x
Serumo kreatininas/GFG	x		x	x		x		x	x	x
Bendras kraujo tyrimas	x		x	x		x		x	x	x
Kepenų funkcijos rodikliai	x		x	x		x		x	x	x
Lipidograma ir gliukozės konc. nustay	x									
Pilvo ir krūtinės vaizdinis tyrimas	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Kraujo ir šlapimo surinkimas saugojimui	x		x	x		x		x	x	x
Perkutaninė adatinė biopsija	x									x ¹
Vėžinio audinio saugojimas	x									x ¹

Inkstų navikų biopsija

Visais atvejais atlikta perkutaninė inkstų navikų biopsija, siekiant histologiškai patvirtinti inkstų ląstelių karcinomos diagnozę. Biopsiniai mėginiai paimti taikant vietinę nejautrą ir kontroliuojant ultragarsu arba KT.

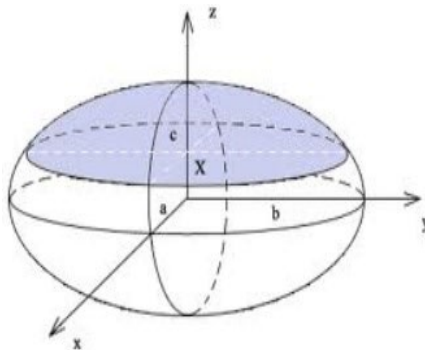
Biopsijos atliktos naudojant specialią adatą su automatiniu šautuvu. Kiekvienu atveju paimti bent trys geros kokybės biopsiniai stulpeliai. Paimami du mėginiai (vienas paimtas iš naviko centro, o kitas – iš periferijos, adatos galiukas padėtas pažeidimo krašte prieš šaudymą) diagnostikos tikslais, o trečias - greitai užšaldomas skystame azote genetiniams tyrimams, siekiant optimaliai išsaugoti aukštos kokybės DNR ir RNR ir laikui bėgant išvengti audinių dehidratacijos.

Gavus nediagnostinį arba neapibrėžtą naviko biopsijos rezultatą, gali būti kartojama biopsija naviko patologijai nustatyti.

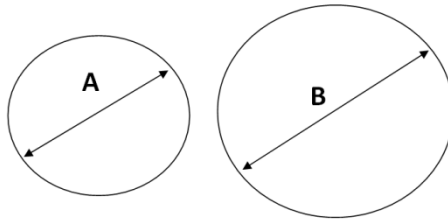
Naviko dydis vertinamas remiantis KT, MRT ar UGT tyrimais. Kiekvieno vizito metu, pagal stebėjimo algoritmą (4 lentelė), atliekamas vienas iš šių vizualinių tyrimų. Du vienas nuo kito nepriklausomi radiologai vertina naviko skersmenį, apskaičiuoja tūrį (5 priedas) bei naviko lokalizaciją pagal RENA ir PADUA skales (6, 7 priedai).

Naviko augimas aprašomas:

1. cm^3 / metus (tūrio augimo greitis); formulė: Naviko tūris (mm) $=0.5326*x*y*z$. (4 pav.)
2. cm / metus, 2 didžiausi skersmens matmenys 90 laipsnių viena kitai (linijinis augimo greitis); Naviko linijinis augimas (mm) $=b-a$. (5 pav.)
3. procentinis padidėjimas nuo pradinio naviko tūrio per bet kurį vienerių metų laikotarpį



4 pav. Inksto navikas yra elipsės formos, todėl jo tūrio apskaičiavimui naudojama formulė: Naviko tūris (mm³) $=0.5326 *X*Y* Z$.



5 pav. Linijinio augimo tempo apskaičiavimas. (Vėlesnio tyrimo skersmuo b - pradinio tyrimo skersmuo a) / vėlesnio tyrimo data – ankstesnio tyrimo data (mėn) = linijinis augimas (mm/mėn).

Pacientai stebimi iki:

1. Navikas progresuoja (naviko progresavimas patvirtinamas, kai nustatomas vienas iš šių kriterijų):
 - a. apskaičiuota naviko apimtis dvigubėja (100 % padidėjimas) per bet kokį vienerių metų laikotarpį.
 - b. didžiausias naviko skersmuo viršija 4 cm.
 - c. padidėja TNM stadija.
 - d. neabejotinas įrodymas tolimųjų metastazių.
 - e. naviko simptomų didėjimas, kai reikia chirurginio ar kitokio gydymo.
2. Atšaukiamas paciento informuotas sutikimas.

Atidėtas aktyvus gydymas planuojamas pacientams, kuriems:

1. Navikas sparčiai auga, sprendžiama dėl atidėto aktyvaus gydymo numatant operaciją arba abliaciją.
2. Liga progresuoja, atsiranda metastazių, sprendžiama dėl tikslinės sisteminės terapijos.

Nustačius progresiją, perkutaninė biopsija atliekama tik tuo atveju, jei tai naudinga tolimesnei gydymo eigai ir tik tada, kai chirurginis naviko pašalinimas nesvarstomas.

2.2. Aktyviai stebimų pacientų šlapimo mėginių tyrimas

Šlapimo rinkimas ir DNR gryninimas. Serijiniai šlapimo mėginiai buvo paimti iš 39 pacientų, kuriems diagnozuoti maži inkstų navikai (iki 4 cm). Mėginiai rinkti skirtingais aktyvaus stebėjimo etapais (iš viso 165 mėginiai): stebėjimo pradžioje ir stebėjimo metu. Kaip kontrolė buvo naudojami sveikų

asmenų šlapimo mėginiai (92 besimptomų savanorių) iš ankstesnio tyrimo [78].

Šlapimo mėginiai (iki 100 ml) buvo centrifuguojami $2000 \times g$ 15 minučių $4^\circ C$ temperatūroje. Supernatantas (ekstraktas) buvo pašalintas, o šlapimo nuosėdos du kartus plaunamos fosfatiniu buferiniu tirpalu. DNR iš šlapimo nuosėdų (~2 ml) buvo išskirta apdorojant mėginius 18 valandų $55^\circ C$ temperatūroje su 10 μl proteinazės K (Thermo Scientific™, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, JAV) 500 μl lizės buferio, kurį sudaro 175 mM EDTA, 750 mM NaCl, 100 mM Tris-HCl (pH = 8,0) ir 1 % natrio dodecilsulfato (visi iš Carl Roth, Karlsruhe, Vokietija). DNR buvo išgryninta pagal standartinį fenolio-chloroformo protokolą [182].

Kiekybinė DNR metilinimo analizė. Keturi šimtai ng išgrynintos DNR buvo modifikuota bisulfitu, kad būtų galima atlikti tikslinių genų DNR metilinimo analizę, naudojant EZ DNA Methylation™ rinkinį (Zymo Research, Irvine, CA, JAV), vadovaujantis gamintojo instrukcijomis, išskyrus atvejus, kai pirminė mėginių inkubacija buvo atlikta $15 \text{ min } 42^\circ C$ temperatūroje. Modifikuoti DNR mėginiai buvo analizuojami nedelsiant arba laikomi $\leq -20^\circ C$ temperatūroje.

Bisulfitu modifikuota DNR buvo naudojama kaip kiekybinės metilinimui specifinės polimerazės grandininės reakcijos (qMSP) matrica. Kaip endogeninis kontrolinis genas, *ACTB* buvo įtrauktas į kiekvieną tyrimą, siekiant normalizuoti DNR įvestį. Kiekybinės metilinimo specifinės polimerazės pradmenys ir hidrolizės zondai, specifiniai *ZNF677*, *FBN2*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1* ir *FLRT2* genų metilintai DNR, buvo sukurti dr. R. Kubiliūtės [91] ir užsakyti iš Metabion (Martinsried, Vokietija). qMSP buvo atlikta kiekvienam pradmenų rinkiniui atskiruose šuliniuose trimis pakartojimais.

Į visus kiekvienos pradmenų poros eksperimentus buvo įtraukiamo metilinimui teigiami ir neigiami kontroliniai mėginiai. *In vitro* pilnai metilinta ir bisulfitu modifikuota žmogaus leukocitų DNR buvo naudojama kaip metilinta kontrolė. 20 μl galutinio tūrio reakcijos mišinį sudarė $1 \times$ TaqMan® Universal Master Mix II, be UNG (Applied Biosystems™), 300 nM kiekvieno pradmens, 50 nM zondo ir 10 ng bisulfitu konvertuotos DNR. Visi tyrimai buvo atlikti naudojant ViiA7 qPCR sistemą (Applied Biosystems™) tokiu režimu: $95^\circ C$ 10 min., po to 50 ciklų $95^\circ C$ 15 s ir $60^\circ C$ 1 min. Tyrimas laikomas tinkamu, kai teigiama metilinimo kontrolė rodo signalą, o mėginiai be DNR matricos produkto neturi. Kiekvieno geno metilinimo intensyvumas buvo įvertintas procentais nuo teigiamos metilinimo kontrolės. Metilinimo lygis (%) apskaičiuotas formule = $100 \times$ (metilintos DNR molekulių

skaičius)/(metilintos DNR molekulių skaičius + nemetilintų DNR molekulių skaičius).

2.3. Išplitusiu inkstų vėžiu sergančių pacientų atranka

Tyrimas patvirtintas Vilniaus Bioetikos komiteto, Nr.: 2019/2-1074-586 (2 priedas).

Įtraukimo kriterijai:

1. Aštuoniolika metų ir vyresni pacientai, kuriems morfologiškai ir kliniškai patvirtinta metastazavusios inkstų ląstelių karcinomos diagnozė (daugiausia šviesių ląstelių karcinoma).
2. Nustatytas bent vienas išmatuojamas taikinyss pagal atsako įvertinimo kriterijus solidiniams navikams (RECIST) v1.1.
3. IMDC duomenimis, pacientai buvo suskirstyti į geros ir vidutinės rizikos grupes. Vidutinė rizikos grupė buvo suformuota pagal rizikos veiksnių skaičių (1 arba 2), o geros rizikos grupė neturėjo IMDC rizikos veiksnių.
4. Sunitinibas buvo pirmos eilės gydymas, skiriant 50 mg paros dozę 14 dienų ir 7 pertraukų ciklais arba 28 dienų ir 14 dienų pertrauka kas 6 savaites.

Duomenys apie pacientą

Pagal metastazių skaičių pacientai buvo suskirstyti į dvi grupes: didesnė ligos našta (≥ 3 metastazės) ir mažesnės ligos našta (< 3 metastazės). Antros eilės gydymas aksitinibu, kabozantinibu arba nivolumabu buvo skirtas pirmosios eilės gydymo progresavimo atveju.

Bendras išgyvenamumas buvo apibrėžtas kaip laikas nuo gydymo sunitinibu pradžios iki mirties arba praradimo stebint. Išgyvenamumas be ligos progresavimo buvo apibrėžtas kaip laikas nuo gydymo sunitinibu pradžios iki ligos progresavimo arba antrosios eilės gydymo pradžios datos.

Pirmas pacientas, įtrauktas į numatomą analizę, gydymą sunitinibu pradėjęs 2012 m. gruodžio 14 d. Galutinė analizė buvo atlikta remiantis 2022 m. gegužės 1 dienos duomenimis.

2.4. Statistinė analizė

Statistinė analizė biožymenų vertės nustatyme buvo atlikta naudojant MedCalc® v14.0 programinę įrangą (MedCalc Software, Ostenda, Belgija),

STATISTICA™ v8.0 (StatSoft, Talsa, Oklahoma, JAV), GraphPad Prism v8.0.1 (GraphPad Software, Inc., San Diegas, Kalifornija, JAV). Kiekybiniams kintamiesiems, atsižvelgiant į nenormalų (iškreiptą) pasiskirstymą, dviejų grupių palyginimui buvo taikomas neparametrinis Mann-Whitney U testas. Norint patikrinti dviejų nuolatinių kintamųjų sąsajas, buvo apskaičiuoti Spearmano (RS) rango koreliacijos koeficientai. Siekiant įvertinti biožymenų diagnostinę vertę, išskirstant mažus inkstų navikus ir asimtominių, sveikų asmenų grupes, buvo atlikta veikimo charakteristikų (ROC) kreivės analizė ir ploto po kreive (AUC) įvertinimas. Diagnostinio testo veikimo parametrai – specifiskumas ir jautrumas – buvo gauti remiantis Youden indeksu. Logistinės regresijos analizė buvo pritaikyta įvairiems biožymenų deriniams. Laikoma, kad skirtumai ir asociacijos yra statistiškai reikšmingi, kai $p < 0,05$.

Vertinant sunitinibo veiksmingumą ir efektyvumą buvo pasitelkta IBM SPSS Statistics 21 (IBM, Armonk, New York, USA), R versija 4.0.3 (R Foundation, Vienna, Austria, Worldwide) ir RStudio 2022.07.1 (Posit, Boston, Massachusetts, USA). Pacientų charakteristika buvo apibendrinta naudojant aprašomąją statistiką – bendras tiriamųjų skaičius, vidurkis, standartinis nuokrypis, mediana, minimali ir maksimali reikšmės, atskirų aprašomų kategorijų skaičius ir procentas. Analogiškai analizuojami inkstų ląstelių karcinomos potipiai. Buvo nustatytos gydymo veiksmingumo priemonės, įskaitant išgyvenamumą be ligos progresavimo ir bendrą išgyvenamumą. Išgyvenamumo rezultatai buvo aprašyti naudojant vidutinį išgyvenamumo be ligos progresavimo ir bendro išgyvenamumo laiką su 95 % PI. Statistinis skirtumas tarp išgyvenamumo baigčių buvo nustatytas naudojant Cox regresijos analizę, o rizikos santykio (HR) skaičiavimams taikyta 95 % PI. Taip pat Kaplan-Meier kreivės buvo naudojamos duomenims vizualizuoti, o tendencijos arba statistiškai reikšmingi rezultatų pokyčiai buvo pavaizduoti kaip grafikai. Priklausomybė tarp kintamųjų buvo laikoma statistiškai nereikšminga, kai visų šios kategorijos kriterijų dvipusė p vertė yra didesnė ar lygi, nei nustatytas 0,05 reikšmingumo lygis ($p \geq 0,05$), ir statistiškai reikšminga, kai $p < 0,05$. Pasikliautinis intervalas (PI) buvo apskaičiuotas 95 % pasikliovimo lygiui.

3. REZULTATAI

3.1. Aktyviai stebimi maži inkstų navikai

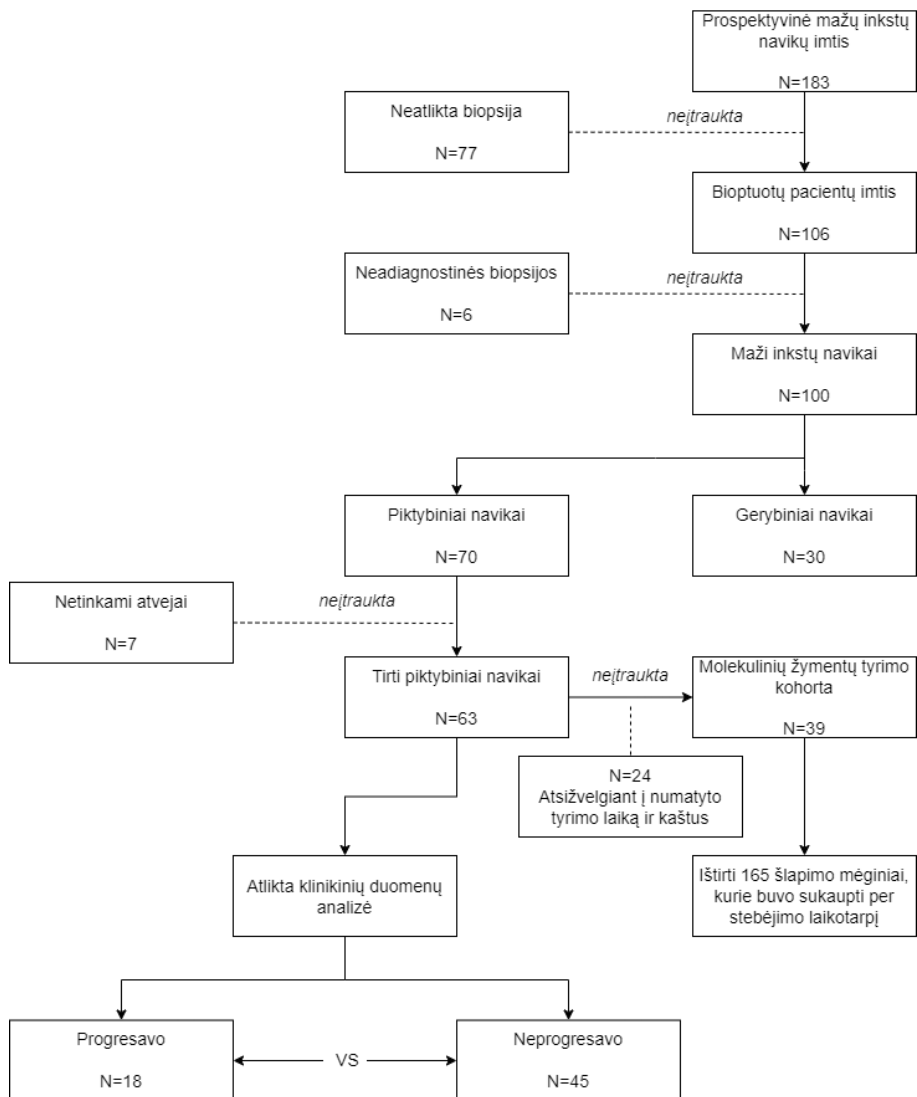
Šiame punkte pateikiami aktyviai stebėtų pacientų dėl mažų inkstų navikų gauti klinikiniai ir demografiniai rodikliai, inkstų naviko dydžio pokyčiai stebėjimo laikotarpiu bei atlikti šlapimo biožymenų tyrimai. Visi šie rodikliai lyginti ir derinti tarpusavyje, ieškant sąsajos su naviko progresija.

3.1.1. Pacientų charakteristika

Pradinė analizė atlikta pacientų, kurie buvo įtraukti į tyrimą ir stebėti NVI nuo 2018 iki 2023 m. spalio mėnesio. Prospektyviame tyrime dalyvavo 183 pacientai, kuriems diagnozuoti maži inkstų navikai (< 4 cm), iš kurių 106 buvo atlikta biopsija, siekiant histologiškai patvirtinti inkstų ląstelių karcinomos diagnozę. Septyniasdešimt pacientų patvirtinta inkstų ląstelių karcinoma, iš kurių 63 pacientai toliau analizuoti, vertinant klinikinius rodiklius, o 39 pacientams buvo atlikti epigenetinių biožymenų tyrimai (6 pav.). Vidutinis pacientų amžius diagnozės nustatymo metu buvo 74 metai. Stebėjimas vidutiniškai truko 33 mėnesius. Septyniasdešimt trys procentai stebėti mažiausiai 1 metus, 41 % bent 2 metus, 21 % apie 3 metus, o 4 ar daugiau metų stebėti apie 5 % pacientų.

Pagrindinės pacientų neįtraukimo priežastys:

1. Aštuoniasdešimt devyniems pacientams buvo neatlikta arba netiksli biopsija dėl nepatogios naviko lokalizacijos arba itin mažo naviko dydžio, taip pat dalis pacientų atsisakė biopsijos. Minėta pacientų grupė toliau stebėta arba taikytas aktyvus gydymas remiantis NVI ir Europos urologų asociacijos inkstų vėžio gydymo rekomendacijomis.
2. Šešiams pacientams nustatytas inksto navikas, bet tuo pačiu metu dėl kitos lokalizacijos vėžio pradėtas taikyti sisteminis gydymas.
3. Vienas pacientas neįtrauktas, kadangi mirė nuo kitos, ne onkologinės ligos, praėjus vos 3 mėnesiams nuo stebėjimo pradžios ir nespėjęs atlikti kontrolinio vizualinio tyrimo.
4. Histologiškai nustačius gerybinį inksto naviką, pacientai nestebėti.



6 pav. Aktyviai stebėti pacientai dėl mažų inkstų navikų, pacientų atrankos ir stebėjimo schema.

Išanalizavus pacientų klinikinius ir demografinius rodiklius aktyvios stebėsenos metu ir palyginus juos tarp progresuojančių ir neprogresuojančių mažų inkstų navikų, nustatyti keli reikšmingi skirtumai. Pastebėtas ribinio patikimumo ilgesnis pirminės arterinės hipertenzijos sirgimo laikotarpis bei statistiškai patikimai per mažas didelio tankio lipoproteino kiekis progresuojančių navikų grupėje, palyginus su neprogresuojančių navikų grupe (5 lentelė).

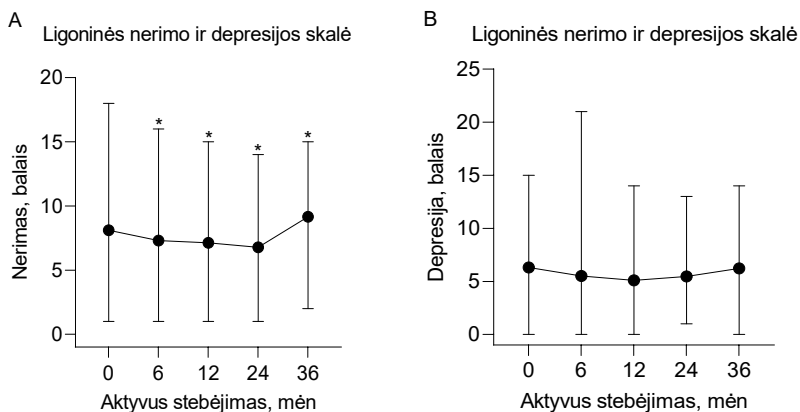
5 lentelė. Mažų inksto navikų progresavimo sąsajos su demografiniais ir klinikiniais parametrais

Klinikiniai ir demografiniai parametrai	Neprogresuojantys navikai (N=45)	Progresuojantys navikai (N=18)	p-rodiklis
Stebėjimo laikotarpis (mėnesiai)	34,0 (±20,2)	15,1 (±7,8)	<0,001
Lytis (Vyrai vs. Moteris)	44,4% vs. 55,6%	38,9% vs. 61,1%	0,688
Amžius diagnozės metu, metai (Vidurkis; ±SD)	74,1 (±9,7)	75,2 (±8,1)	0,689
Rūkymas (Taip vs. Ne)	8,9% vs. 91,1%	16,7% vs. 83,3%	0,382
Kūno masės indeksas (Vidurkis; ±SD)	29,8 (±6,8)	30,2 (±4,2)	0,554
PAH (Taip vs. Ne)	84,4% vs. 15,6%	94,4% vs. 5,6%	0,303
PAH stažas, metais (Vidurkis; ±SD)	11,3 (±9,9)	17,1 (±12,1)	0,054
Antihipertenzinių vaistų skaičius (Vidurkis; ±SD)	1,6 (±1,1)	1,9 (±1,1)	0,249
Cukrinis diabetas (Taip vs. Ne)	26,7% vs. 73,3%	22,2% vs. 77,8%	0,715
ECOG (Vidurkis; ±SD)	0,9 (±0,9)	0,7 (±0,8)	0,503
Metabolinis sindromas (Taip vs. Ne)	53,3% vs. 46,7%	50% vs. 50%	0,811
Buvęs kitas onkologinis susirgimas (Taip vs. Ne)	24,4% vs. 75,6%	11,1% vs. 88,9%	0,250
DTL sumažėjimas (Taip vs. Ne)	17,8% vs. 82,2%	44,4% vs. 55,6%	0,033
Trigliceridų padidėjimas (Taip vs. Ne)	26,7% vs. 73,3%	38,9% vs. 61,1%	0,342
MTL (<3 mmol/l vs. ≥3 mmol/l)	33,3% vs. 66,7%	33,3% vs. 66,7%	1,00
Bendras Cholesterolis (<5,2 mmol/l vs. ≥5,2 mmol/l)	57,8% vs. 42,2%	55,6% vs. 44,4%	0,872
Charlsono gretutinių ligų indeksas (Vidurkis; ±SD)	4,3 (±1,7)	4,1 (±1,3)	0,622
Glomerulų filtracijos greitis, mL/min	76,2 (±31,1)	78,5 (±31,4)	0,791
Kreatininas, μmol/L (Vidurkis; ±SD)	89,9 (±45,3)	85,0 (±33,7)	0,524
Naviko histologija (Šviesių ląstelių ILK vs. kiti subtipai)	71,1% vs. 28,9%	77,8% vs. 22,2%	0,688
Piktybiškumo laipsnis pagal ISUP (2 vs. 1)	61,5% vs. 38,5%	58,8% vs. 41,2%	0,848

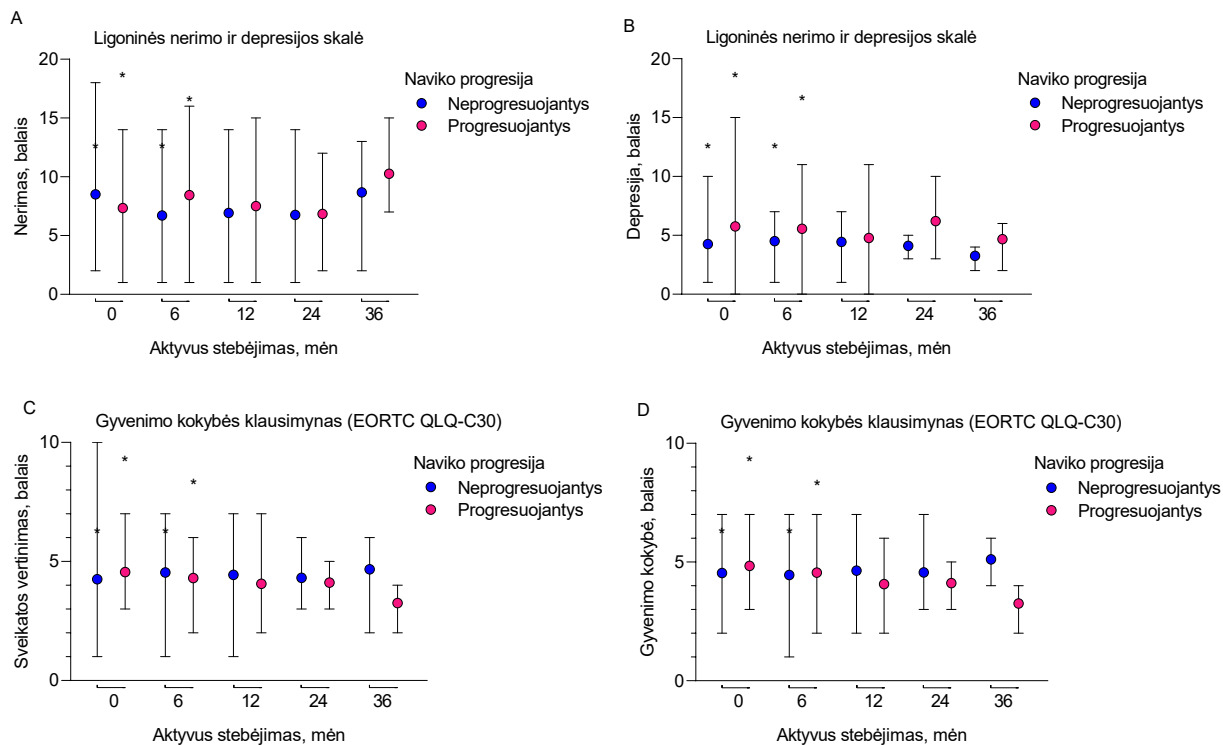
Klinikiniai ir demografiniai parametrai	Neprogresuojantys navikai (N=45)	Progresuojantys navikai (N=18)	p-rodiklis
Naviko tūris, cm ³ (Vidurkis; ±SD)			
<i>Pirmas skenavimas</i>	6,4 (±5,5)	8,9 (±6,9)	0,139
<i>Paskutinis skenavimas</i>	7,8 (±7,6)	21,1 (±11,4)	<0,001
Naviko maksimalus diametras, cm (Vidurkis; ±SD)			
<i>Pirmas skenavimas</i>	2,3 (±0,7)	2,6 (±0,7)	0,177
<i>Paskutinis skenavimas</i>	2,4 (±8,6)	3,6 (±8,4)	<0,001

PAH – pirminė arterinė hipertenzija; ECOG – *ang.* Eastern Cooperative Oncology Group performance status; DTL - didelio tankio lipoproteinai; MTL - mažo tankio lipoproteinai; ISUP – *ang.* International Society of Urological Pathology grade; SD – standartinė derivacija. Reikšmingos p reikšmės yra paryškintos.

Išanalizavus ligininės nerimo ir depresijos (HADS) bei gyvenimo kokybės (EORTC QLQ-C30) klausimynus, įvertinta pacientų emocinė būseną ir pasitenkinimas gyvenimu pradinio vizito metu, taip pat ir aktyvios stebėsenos laikotarpiu. Bendras pacientų nerimo ir depresijos lygis viso stebėjimo laikotarpiu buvo panašus (7 pav.). Ligininės nerimo ir depresijos skalėse pirmais stebėjimo etapais nerimo (7 pav. A grafikas) pacientai nejuto (0-7 balai). Po 36 mėn aktyvaus stebėjimo nerimas padidėjo iki lengvo laipsnio, vidurkis 9,2 ($\pm 3,3$). Aktyvaus stebėjimo laikotarpiu depresijos (7 pav. B grafikas) pacientai nejautė (0-7 balai). Reikšmingų emocinės būsenos ir su gyvenimo kokybe susijusių pokyčių, galinčių įtakoti naviko spartesnę augimą, nebuvo nustatyta (8 pav.). Ligininės nerimo ir depresijos skalėse, tiek neprogresuojančių, tiek progresuojančių inkstų navikų grupėse, nerimo ir depresijos (8 pav. A ir B grafikas) pacientai nejuto (0-7 balai), arba jis buvo lengvo laipsnio (8-10 balų). Aktyvaus stebėjimo laikotarpiu, progresuojančių ir neprogresuojančių inkstų navikų grupėse, pacientai bendrą sveikatą ir gyvenimo kokybę vertino stabiliai panašiai (8 pav. C ir D grafikai).



7 pav. Pacientų nerimo (A grafikas) ir depresijos (B grafikas) pokyčiai aktyvaus stebėjimo laikotarpiu remiantis ligininės nerimo ir depresijos skale (HADS).



8 pav. Pacientų nerimo (A grafikas), depresijos (B grafikas), bendros sveikatos (C grafikas) ir gyvenimo kokybės (D grafikas) vertinimo pokyčiai progresuojančių ir neprogressuojančių mažų inkstų navikų grupėse aktyvaus stebėjimo laikotarpiu remiantis ligoninės nerimo ir depresijos skale (HADS) ir gyvenimo kokybės (EORTC QLQ-C30) klausimynu.

3.1.2. Navikų charakteristika

Iš 63 pacientų, kuriems atlikus biopsiją nustatyti piktybiniai inkstų navikai, 46 (73 %) histologiškai patvirtinta šviesių inkstų ląstelių karcinoma, 10 (15,9 %) papilinė inkstų ląstelių karcinoma, 4 (6,3 %) chromofobinė inkstų ląstelių karcinoma ir 3 (4,8 %) navikai buvo mišraus tipo, kurių sudarė šviesių ląstelių ir papilinė inkstų karcinoma. Vertinant pagal naviko piktybiškumą, 22 (34,9 %) navikams buvo 1 laipsnio pagal ISUP, 34 (54 %) 2 laipsnio, o likusių 7 (11,1 %) atvejų ISUP laipsnis nebuvo nustatytas.

Iš minėtų 63 pacientų, aštuoniolikai (28,6 %) navikai progresavo. Iš jų 12 (66,7 %) navikų greitai augo (dvigubėjo tūris), o 6 (33,3 %) naviko dydis stebėjimo metu pasiekė ar viršijo 4 cm maksimalaus naviko skersmens. Keturiolikai (77,8 %) progresavusių atvejų histologiškai nustatyta šviesių ląstelių karcinoma, 10 (55,6 %) vyravo ISUP 2 laipsnio piktybiškumas, ISUP 1 laipsnio buvo 7 (38,9 %) atvejai. Trys atvejai progresavo per pirmuosius aktyvaus stebėjimo metus, 8 atvejai – antraisiais stebėjimo metais, o likę 7 trečiaisiais metais ar vėliau. Trims pacientams buvo atlikta inksto rezekcija, 2 – radikali nefrektomija, 7 – abliacija, o likusiems 6 pratęstas stebėjimas dėl aktyvaus gydymo kontraindikacijų (amžiaus ir gretutinių ligų). Stebėjimo metu metastazavusios ligos atvejų nepasireiškė, tačiau vienas navikas progresavo iki klinikinės T3a stadijos. Dviems pacientams taikytas atidėtas aktyvus gydymas dėl vertintos radiologinės progresijos, tačiau atlikus operaciją (inksto rezekciją ir nefrektomiją), galutiniame pataloginiame tyrime naviko dydžio pokyčių nenustatyta. Papildomai dviems pacientams atliktas aktyvus gydymas dėl pacientų sprendimo nutraukti stebėjimą, nors navikas neprogresavo. Šie pacientai nebuvo įtraukti į progresavusių grupę.

Vidutinis maksimalus naviko skersmuo diagnozės metu buvo 2,3 (diapazonas 1,0-3,7) cm, o naviko tūrio vidurkis buvo 7,1 (diapazonas 0,5-22,1) cm³. Vidutinis maksimalus naviko skersmuo paskutinio KT tyrimo metu buvo 2,8 (diapazonas 0,6-5,2) cm, o naviko tūrio vidurkis buvo 11,7 (diapazonas 0,1-44,1) cm³. Vertinant didžiausio naviko skersmens ir naviko tūrio pokyčius aktyvios stebėsenos periodu ir juos palyginus tarp neprogresuojančių ir progresuojančių inkstų navikų, reikšmingas naviko padidėjimas pastebėtas po trečiojo skenavimo, t. y. po ~6 mėnesių aktyvaus stebėjimo, atitinkamai 2,2 cm ir 2,9 cm ($p=0,001$) bei 6 cm³ ir 12,5 cm³ ($p=0,002$), o po ~12 mėnesių skirtumas ženkliai padidėjo, atitinkamai 2,2 cm ir 3,2 cm ($p<0,001$) bei 6,1 cm³ ir 15,3 cm³ ($p=0,001$) (6 lentelė).

6 lentelė. Mažų, histologiškai patvirtinų, inkstų navikų augimo kinetikos vertinimas skirtingose grupėse

KT tyrimo atlikimo etapai	Neprogresuojantys navikai	Progresuojantys navikai	p-rodiklis
Naviko maksimalus diametras, cm			
Pradinis vizitas (Vidurkis; \pm SD)	2,3 (\pm 0,7)	2,5 (\pm 0,7)	0,172
Vizitas po 3 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	2,3 (\pm 0,7)	2,6 (\pm 0,7)	0,117
Vizitas po 6 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	2,2 (\pm 0,7)	2,9 (\pm 0,7)	0,001*
Vizitas po 12 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	2,2 (\pm 0,7)	3,2 (\pm 0,8)	<0,001*
Vizitas po 18 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	2,3 (\pm 0,7)	3,4 (\pm 0,9)	<0,001*
Vizitas po 24 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	2,3 (\pm 0,9)	3,6 (\pm 1,2)	0,007*
Vizitas po 30 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	2,0 (\pm 0,6)	3,3 (\pm 1,2)	0,008*
Vizitas po 36 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	1,9 (\pm 0,7)	3,6 (\pm 1,2)	0,008*
Naviko tūris, cm³			
Pradinis vizitas (Vidurkis; \pm SD)	6,3 (\pm 5,4)	8,9 (\pm 6,9)	0,103
Vizitas po 3 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	6,7 (\pm 5,8)	9,7 (\pm 7,8)	0,100
Vizitas po 6 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	6,0 (\pm 5,7)	12,5 (\pm 9,6)	0,002*
Vizitas po 12 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	6,1 (\pm 5,7)	15,3 (\pm 12,5)	0,001*
Vizitas po 18 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	6,8 (\pm 6,3)	17,7 (\pm 10,1)	0,001*
Vizitas po 24 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	7,5 (\pm 7,9)	17,1 (\pm 10,9)	0,017*
Vizitas po 30 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	4,8 (\pm 4,0)	16,9 (\pm 13,7)	0,010*
Vizitas po 36 mėn; (Vidurkis; \pm SD)	4,5 (\pm 4,1)	24,2 (\pm 17,4)	0,006*

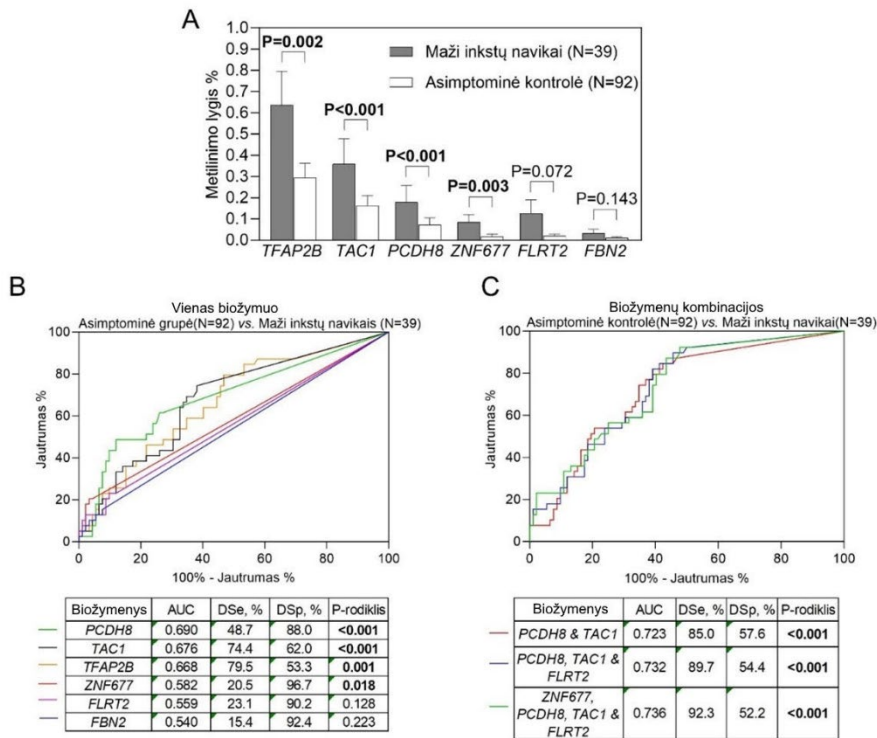
* parodo reikšmingus skirtumus tarp grupių (Neprogresuojantys navikai vs. Progresuojantys navikai); KT – kompiuterinė tomografika; SD – standartinė derivacija.

Vidutinis visų navikų maksimalaus naviko skersmens augimo greitis aktyvios stebėsenos laikotarpiu buvo 18,4 % (0,4 cm), o tūrio augimo greitis – 98,2 % (4,4 cm³). Palyginti vidutiniai maksimalaus naviko skersmens ir tūrio augimo greičiai neprogresuojančių navikų grupėje, atitinkamai buvo 4,3 % (0,05 cm) ir 33 % (0,8 cm³), tuo tarpu progresuojančių navikų augimo tempai buvo reikšmingai didesni, atitinkamai 48,2 % (1,1 cm) ir 228,8 % (12,1 cm³) ($p < 0,001$).

3.1.3. Epigenetiniai biožymenys

Siekiant sukurti molekulinę testą, kuris pasitarnautų neinvaziniam mažų inkstų navikų stebėjimui, šešių genų *ZNF677*, *FBN2*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1* ir *FLRT2* promotoriaus DNR metilinimas buvo kiekybiškai ištirtas šlapimo nuosėdų mėginiuose, surinktuose iš pacientų, kuriems diagnozuoti ir histologiškai patvirtinti piktybiniai inkstų navikai iki 4 cm (N = 39), ir besimptomų savanorių (N = 92) grupėse. Pradiniame etape vertintas diagnostinis žymenų rinkinio potencialas. Genai *ZNF677*, *PCDH8*, *TFAP2B* ir *TAC1* buvo intensyviau metilinti ištirtuose šlapimo mėginiuose, surinktuose iš pacientų, kuriems diagnozuoti maži inkstų navikai, palyginus su kontroline grupe (visi $p < 0,050$; 9 pav. A grafikas).

Vertinant kiekvieno iš tirtų genų diagnostinį potencialą atskirai, didžiausia diagnostine verte pasižymėjo *PCDH8* (AUC = 0,69; $p < 0,001$), kurio jautrumas ir specifiskumas atitinkamai buvo 48,7 % ir 88,0 % (9B pav.). Atlikus visų biožymenų galimų derinių analizę, keturi biožymenys, ypač *ZNF677*, *PCDH8*, *TAC1* ir *FLRT2* derinys, pasižymėjo geriausiu diagnostiniu potencialu (AUC = 0,74), siekiančiu 92 % jautrumą ir 52 % specifiskumą. (9 pav. C grafikas).

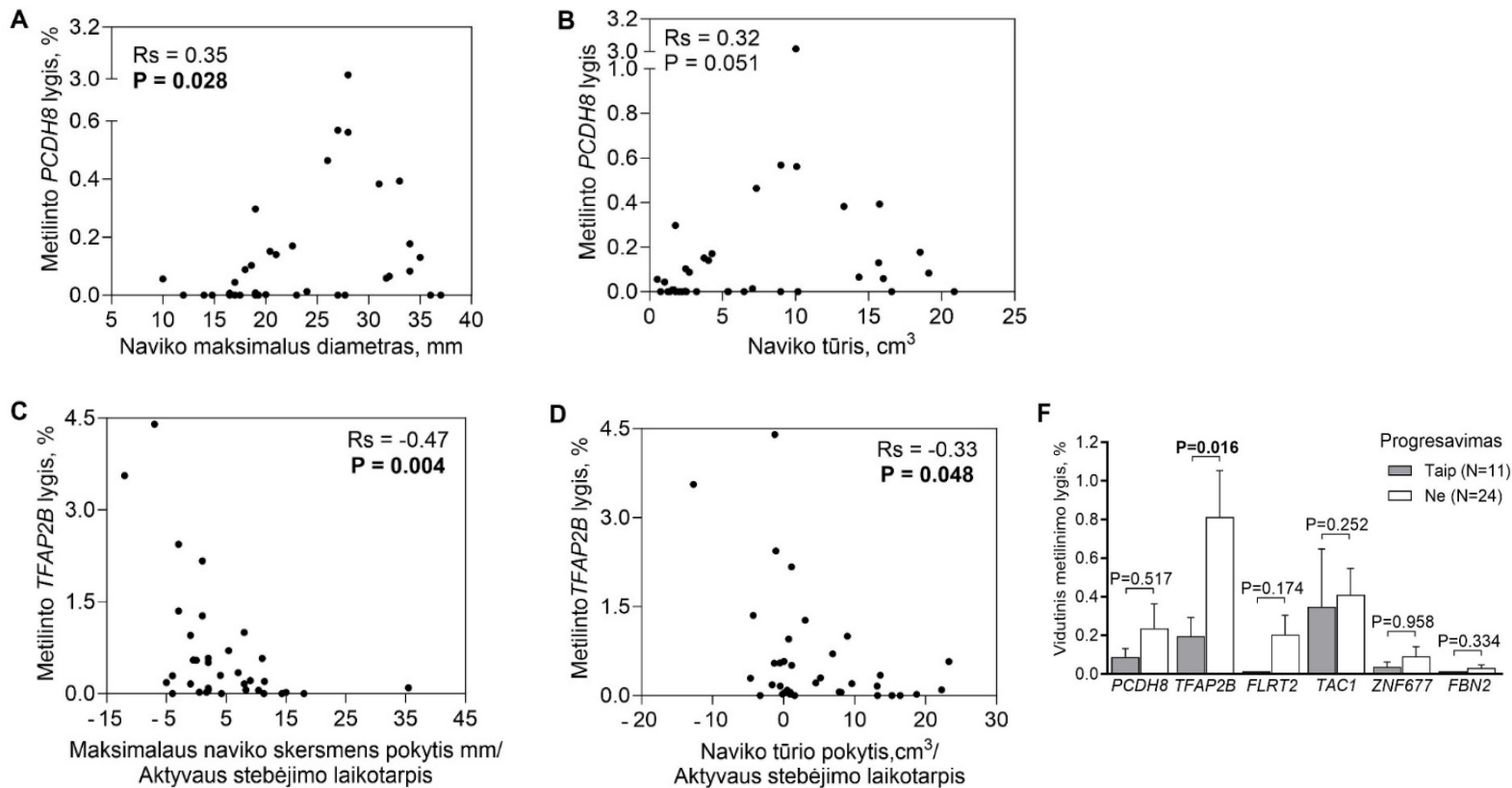


9 pav. Tirtų biožymenų diagnostinės charakteristikos. A – *ZNF677*, *FBN2*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1* ir *FLRT2* metilinimo lygiai pacientų, kuriems diagnozuoti maži inkstų navikai (pT1a; ≤ 4 cm) ir asimptominė kontrolė, šlapimo mėginiuose. B – pavienių biožymenų ROC kreivės analizė ir C – biožymenų derinys skiriant pacientus, turinčius mažus inkstų navikus ir asimptominę grupę. Kreivėse parodyti vidutiniai DNR metilinimo lygiai su standartine vidurkio paklaida. ROC – veikimo charakteristikos krevė; AUC – plotas po kreive; DSe – diagnostinis jautrumas; DSp – diagnostinis specifiskumas. Reikšmingos p reikšmės yra paryškintos.

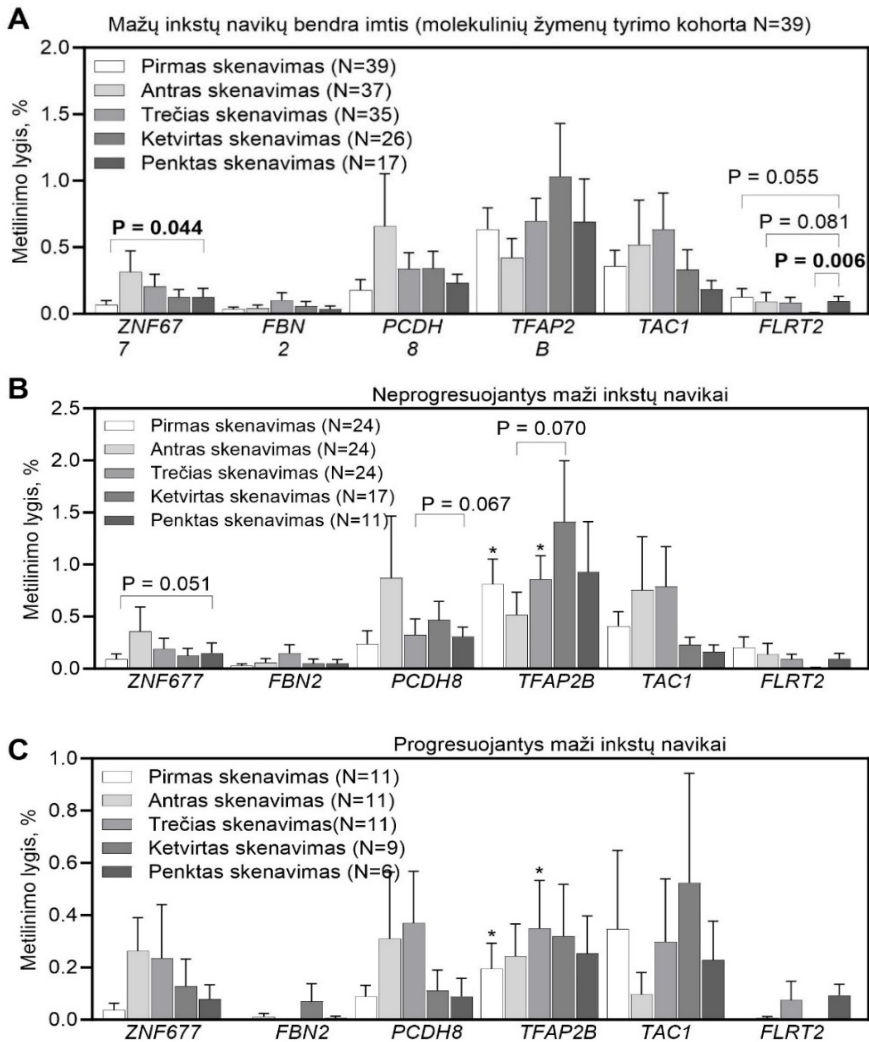
Pakitęs tiriamų genų metilinimas buvo toliau analizuojamas, vertinant klinikinius ir demografinius rodiklius. Moterų *PCDH8* ir *TFAP2B* metilinimo lygis buvo žymiai didesnis, palyginus su vyrų (atitinkamai $p = 0,009$ ir $p = 0,042$). Be to, metilintų *TFAP2B* ir *TAC1* kiekiai koreliavo su glomerulų filtracijos greičiu, o *ZNF677* ir *PCDH8* buvo susiję su kreatinino kiekiu kraujyje ($R_s = -0,33$; $p = 0,048$ ir $R_s = -0,36$; $p = 0,028$ atitinkamai), kas rodo galimą šių genų sąveiką su inkstų funkcija (11 priedas). Tačiau, reikalingi išsamesni tyrimai, kurie patvirtintų šiuos teiginius.

Buvo įvertinti genų metilinimo intensyvumo pokyčiai serijiniuose mėginiuose ir palyginti su inksto naviko dydžio pokyčiais skirtinguose stebėjimo etapuose. Nustatytas reikšmingas metilinto *PCDH8* lygio ryšys su didžiausiu naviko skersmeniu ($R_s = 0,35$; $p = 0,028$), taip pat ribinio patikimumo ryšys su naviko tūriu ($R_s = 0,32$; $p = 0,051$) (10 pav. A-B grafikai), o *TFAP2B* metilinimo lygis buvo neigiamai susijęs su didžiausiu naviko skersmeniu ir tūrio augimo greičiu (10 pav. C-D grafikai). Be to, mažesnis metilinto *TFAP2B* lygis diagnozės metu buvo reikšmingai susijęs su progresuojančiais navikais (10 pav. F; $p = 0,016$), nors reikšmingų šio geno metilinimo pokyčių skirtingais pacientų stebėjimo laiko momentais nenustatyta (11 pav.).

Apibendrinant galima sakyti, kad kai kurių biožymenų, ypač *PCDH8* ir *TFAP2B*, metilinimo pokyčiai gali papildyti radiologinius duomenis, stebint mažų inkstų navikų augimą. Tačiau bendra tirtų genų metilinimo lygio variacija pacientų stebėjimo metu buvo gana nenuspėjama ir tik iš dalies atspindėjo naviko augimą.



10 pav. Ištirtų biožymenų ryšys su mažų inkstų navikų dydžiu ir augimo greičiu. A-B – koreliacija tarp metilinto *PCDH8* lygio ir inkstų naviko dydžio diagnozės metu; C-D – koreliacija tarp metilinto *TFAP2B* lygio ir naviko dydžio pasikeitimo aktyvaus stebėjimo laikotarpiu. F – tirtų biožymenų metilinimo lygis pagal naviko progresavimą. R_s – Spirmano koreliacijos koeficientas. Patikimos P reikšmės yra paryškintos.



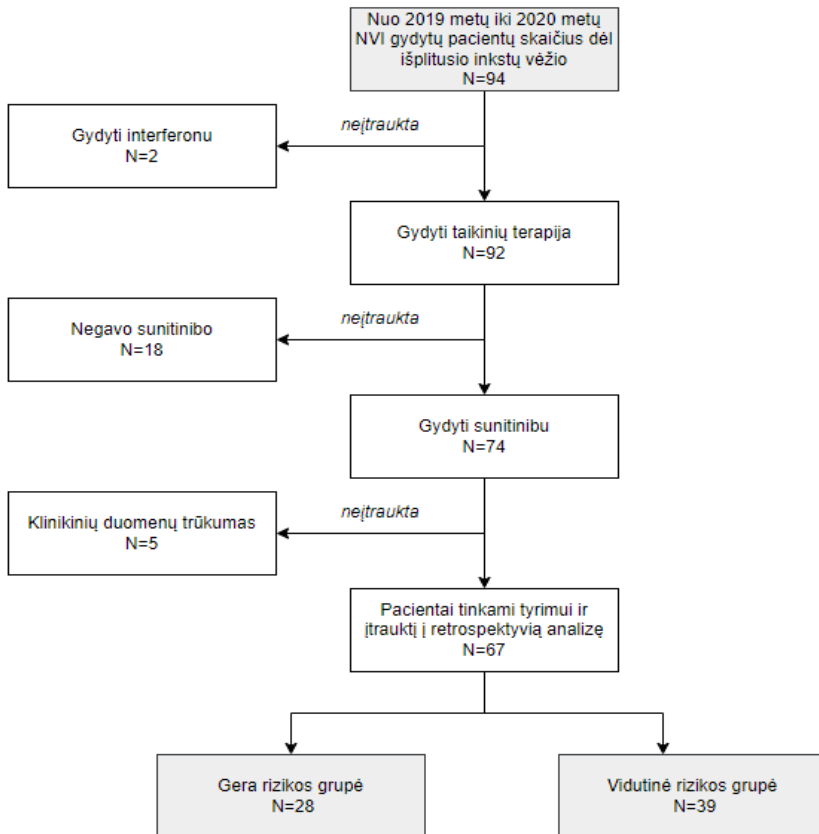
11 pav. Tirtų biožymenų metilinimo lygių pokyčiai skirtingais laiko momentais (pirmas – penktas skenavimas: paciento vizitai, kurių metu atliktas vizualinis tyrimas ir paimtas šlapimas). A – metilinti *ZNF677*, *FBN2*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1* ir *FLRT2* mažų inkstų navikų bendroje imtyje. B – metilinti *ZNF677*, *FBN2*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1* ir *FLRT2* lygiai skirtingais aktyvios stebėsenos laiko momentais neprogresuojančioje pacientų grupėje. C – metilinti *ZNF677*, *FBN2*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1* ir *FLRT2* lygiai skirtingais aktyvios stebėsenos laiko momentais progresuojančioje pacientų grupėje. * – vaizduoja reikšmingus metilinimo lygių skirtumus tarp neprogresuojančių ir progresuojančių. Patikimos p reikšmės yra paryškintos.

3.2. Atsako į gydymą vertinimas sergant išplitusiu inkstų vėžiu

Šioje dalyje aprašyti rezultatai, gauti įvertinus išplitusių inkstų navikų atsaką į sisteminį gydymą sunitinibu. Pateikti klinikiniai, patologiniai ir demografiniai duomenys apie pacientą. Sisteminio gydymo efektyvumas ir pacientų išgyvenamumas vertintas pasitelkiant atskiras prognostines rizikos grupes pagal IMDC.

3.2.1. Pacientų charakteristika

Nuo 2019 m. sausio 1 d. iki 2020 m. gruodžio 31 d. NVI gydyti 94 pacientai, sergantys išplitusiu inkstų vėžiu. Retrospektyviniam tyrimui atrinkti 67 pacientai, kurie gydyti pirmos eilės pasirinkimo vaistu sunitinibu. Dvidešimt septyni pacientai netiko ir buvo pašalinti iš tyrimo dėl pasirinkto kito gydymo (daugiausia pazopanibu), klinikinių duomenų trūkumo, pacientų neatvykimo/dingimo, nereguliaraus vaistų vartojimo ar visiško atsisakymo tolimesniam gydymui. Pacientų rizikos grupės vertintos pagal IMDC: 28 pacientai atitiko geros rizikos grupę, 39 vidutinės rizikos grupę, o blogos rizikos grupės nebuvo nustatyta (12 pav.).



12 pav. Pacientų, sergančių metastazavusia inkstų ląstelių karcinoma, atranka. Prognostinė pacientų rizika vertinta pagal IMDC.

Tiriamų pacientų amžiaus vidurkis buvo 62 metai, 52 vyrai ir 15 moterų. Gydomo pradžioje visų pacientų ECOG balas ≤ 2 . Gydomas sunitinibu pradėtas 50 mg/d peroraliai 2/1 (dvi savaitės / viena savaitė pertrauka) arba 4/2 (keturios savaitės / dvi pertraukos). Įvertinus kliniškes charakteristikas, nustatyta, kad kohortą sudarė pacientai, kuriems 60 % atvejų diagnozuoti T3 ir T4 stadijos navikai, o 33 % atvejais liga buvo metastazavusi (M1). Išanalizavus histologinius duomenis, dominavo šviesių inksto ląstelių karcinoma (94 %), 71 % diferenciacijos balas buvo blogesnis (G2-G4). Nefrektomija atlikta 63 pacientams, keturiems atliktos biopsijos. Kalbant apie ligos apimtį, 48 % pacientų turėjo daugiau nei 3 metastazavimo vietas. Pagrindinės metastazių lokalizacijos buvo plaučiuose (70 %) ir (arba) limfmazgiuose (27 %) ir (arba) kauluose (31 %). Trečdaliui pacientų buvo atlikta metastazektomija. Nustačius progresavimą gydant sunitinibu, antros eilės gydymas daugeliu atveju pasirinktas aksitinibu (47.8 %), o kabozantinibu ir nivomulabu, atitinkamai 9 % ir 10 % (7 lentelė).

7 lentelė. Tiriamoji grupė, jų klinikinės - pataloginės ir demografinės charakteristikos.

Klinikiniai ir kiti rodikliai	N	%
Amžius, metai ($\leq 60 / > 60$)	27/40	40/60
Lytis (vyrai/moterys)	52/15	77,6/22,4
Naviko stadija:		
T1	19	28,4
T2	8	11,9
T3	37	55,2
T4	3	4,5
Limfmazgių stadija:		
N0	56	83,6
N1	9	14,4
Nx	2	3
Metastazių stadija:		
M0	44	65,7
M1	22	32,8
Mx	1	1,5
Naviko piktybiškumo laipsnis:		
G1	4	6
G2	18	26,8
G3	30	44,8
G4	1	1,5
Nežinoma	14	20,9
Histologija:		
Šviesių ląstelių ILK*	63	94
Papilinių ląstelių ILK*	3	4,5
Chromofobinė ILK*	1	1,5
Metastazių skaičius ($< 3 / \geq 3$)	35/32	52,2/47,8
Nefrektomija/biopsija	63/4	94/6
Pirmos eilės gydymas:		
Sunitinib	67	100
Antros eilės gydymas:	46	68,7
Axitinib	32	47,8
Cabozantinib	6	9
Nivolumab	7	10,4
Denosumab	1	1,5

*ILK – inkstų ląstelių karcinoma.

3.2.2. Sisteminio gydymo efektyvumas ir pacientų išgyvenamumas

Įvertinus pacientų laiką nuo gydymo sunitinibu pradžios iki ligos progresijos ir antros eilės gydymo pradžios, bendras atsakas į gydymą sunitinibu buvo 23,4 mėn. (95 % PI, 17,3–29,5 mėn.), o vidutinis bendras išgyvenamumas buvo 66,0 mėn (95 % PI, 44,9–87,1 mėnesio) (8 lentelė).

8 lentelė. Išgyvenamumo laiko ir Cox regresijos analizė, skirta įvertinti reikšmingus veiksnius, susijusius su išgyvenimo rezultatais

Parametras	Išgyvenamumas iki ligos progresavimo, mėnesiai			Bendras išgyvenamumas, mėnesiai		
	Pogrupis	Atvejai: Iš viso N/N įvykių	Laikas, mediana (95%PI)	HR (95%CI), <i>p</i> - reikšmė	Atvejai: Iš viso N/N įvykių	Laikas, mediana (95%PI)
Iš viso	67/53	23,4 (17,3-29,5)		67/32	66,0 (44,9-87,1)	
Amžius, metai:						
iki 60*	27/18	27,4 (7,0-47,8)	2,04 (1,1-3,7), 0,02	27/8	79,0 (58,8-99,2)	2,6 (1,1-5,8), 0,02
60 ir daugiau	40/35	21,2 (16,4-25,9)		40/24	44,0 (29,6-58,4)	
Lytis						
Vyrai*	52/41	22,0 (17,8-26,3)	0,8 (0,39-1,5), 0,42	52/26	58,0 (38,2-77,8)	0,53 (0,20-1,4), 0,19
Moterys	15/12	32,1 (3,6-60,7)		15/6	NA (NA)	
Metastazių skaičius						
<3*	35/27	24,5 (17,8-26,3)	1,4 (0,8-2,4), 0,24	35/14	70,0 (52,8-87,2)	1,8 (0,91-3,7), 0,09
≥3	32/26	32,1 (3,6-60,7)		32/18	44,0 (17,3-70,7)	
IMDC rizikos grupė						
Palanki*	28/20	26,0 (16,6-35,4)	1,6 (0,9-2,8), 0,13	28/13	68,0 (29,7-106,3)	1,16 (0,57-2,3), 0,69
Vidutinė	39/33	20,5 (11,8-29,2)		39/19	66,0 (31,8-100,15)	
IMDC rizikos faktorių skaičius						
0*	28/20	26,0 (16,6-35,4)	1,4 (0,7-2,6), 0,32 2,1 (1,0-4,5), 0,048	28/13	68,0 (29,7-106,3)	0,97 (0,44-2,1), 1,74 (0,68-4,4), 0,24
1	25/21	27,4 (13,6-41,2)		25/12	66,0 (49,8-82,2)	
2	14/12	16,2 (14,3-18,1)		14/7	36,0 (12,9-59,1)	
Ankstesnė nefrektomija						
Taip*	63/50	22,9 (17,7-28,0)	0,67 (0,21-2,2), 0,51	63/30	66,0 (45,8-86,2)	1,1 (0,25-4,4), 0,93
Ne	4/3	37,6 (0,8-74,4)		4/2	30,0 (NA)	

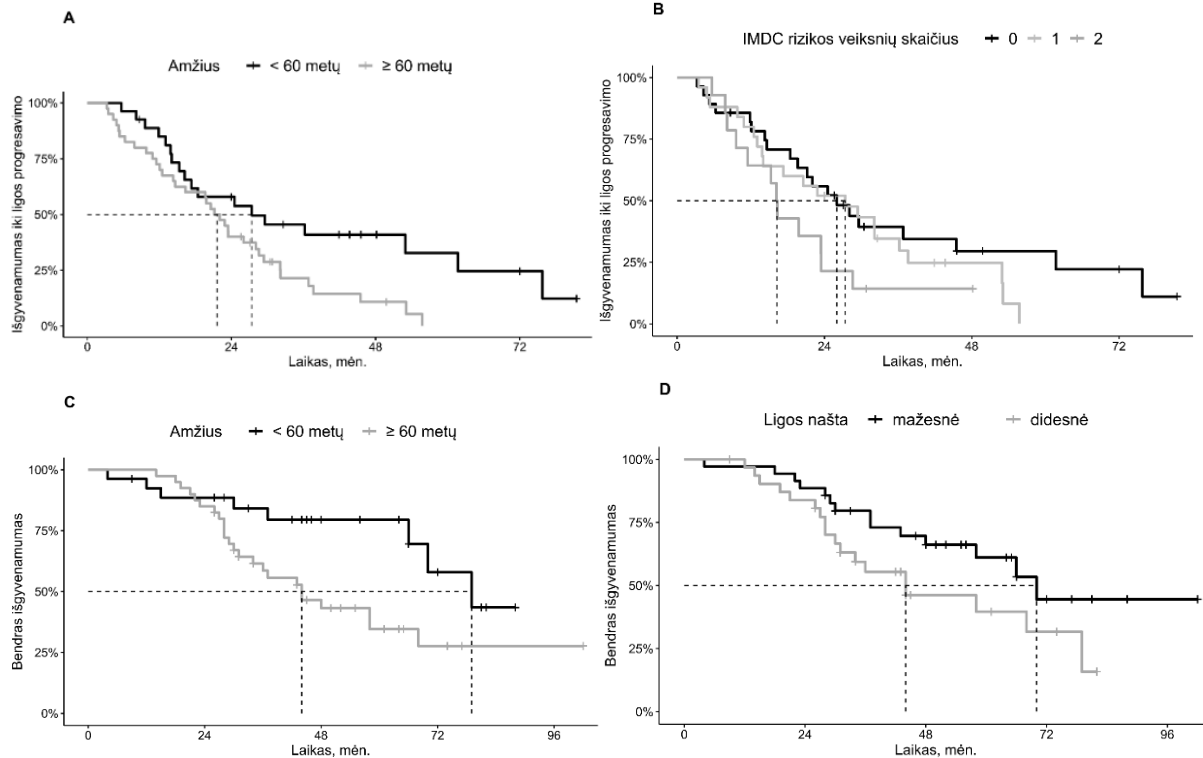
NA: netaikoma; N/N: skaičius/skaičius; HR: rizikos santykis; PI: pasikliautinis intervalas;

* Atskaitos grupė; IMDC: ang. International Metastatic RCC Database Consortium.

Išanalizavus klinikinius ir demografinius rodiklius, nustatyta, kad amžius, ligos našta, bei IMDC rizikos balai turi statistiškai reikšmingą įtaką pacientų bendram išgyvenamumui bei atsakui į gydymą (8 lentelė). Vyresniems nei 60 metų amžius pacientams buvo reikšmingas ne tik trumpesnis atsakas į gydymą (vidutiniškai 6,2 mėnesio trumpesnis išgyvenamumas iki ligos progresijos), bet net 35 mėnesiais blogesnis bendras išgyvenamumas, palyginus su jaunesniais, iki 60 metų pacientais (9 lentelė, Kaplan-Meier kreivės – 13 pav. A ir C grafikai).

IMDC rizikos veiksnių skaičius prognostinės rizikos grupėje buvo reikšmingiausi trumpesnio atsako į gydymą sunitinibu rodikliai. Pacientų, priskirtų IMDC vidutinės rizikos grupei, išgyvenamumas be ligos progresavimo buvo 5,5 mėnesio trumpesnis, o progresavimo rizika didesnė (HR = 1,6) palyginus su pacientų grupe, kuriai nebuvo IMDC rizikos veiksnių.

Kaip ir buvo tikėtasi, pacientams, kurių ligos našta buvo didesnė, t.y. turintys 3 ir daugiau metastazių, bendras išgyvenamumas buvo 28 mėnesiais trumpesnis, palyginus su pacientais, kurių ligos našta buvo mažesnė (8 lentelė, Kaplan-Meier kreivė – 13 pav. D grafikas). Vidutinės rizikos prognozės grupėje esančių pacientų (turintys du IMDC rizikos veiksnius) bendro išgyvenamumo trukmė buvo 1,7 karto mažesnė lyginant su geros rizikos prognozės pacientais. Tuo tarpu bendro išgyvenamumo trukmė vidutinės rizikos prognozės grupėje su vienu IMDC rizikos veiksnium buvo panaši kaip ir geros rizikos grupėje (8 lentelė, Kaplan-Meier kreivė – 13 pav. B grafikas).



3 pav. Pacientų, gydytų sunitinibu, išgyvenamumas be ligos progresavimo (A, C) ir bendras išgyvenamumas (B, D), statistiškai patikimai geresni palankios prognozės pacientams su mažesniu IMDC rizikos veiksnių balu (B, D) bei jaunesniems nei 60 metų amžiaus (A, C).

REZULTATŲ APTARIMAS

Mažų inkstų navikų (T1a pagal TNM) aktyvus stebėjimas yra saugi ir pagrįsta taktika, ypač vyresnio amžiaus ir/ar gretutinių ligų turintiems pacientams, kai standartinis operacinis gydymas yra rizikingas, išskyrus individualius atvejus, tokius kaip vienintelio inksto smulkus, nepatogioje vietoje esantis navikas ar pacientai, sergantys kitomis sisteminėmis ar onkologinėmis ligomis, kai gera inkstų funkcija yra reikalinga šių ligų gydymui. Deja, vis dar išlieka metastazavimo tikimybė [18], be to laikydamiesi aktyvios stebėjimo taktikos kartais prarandame svarbų laiką ir taip didiname komplikacijų riziką tokiais atvejais, kai navikas sparčiai didėja ir prireikia atidėto aktyvaus gydymo. Praktiniam taikymui klinikoje būtini prognostiniai žymenys, galintys diferencijuoti mažus piktybinius inkstų navikus, turinčius skirtingą agresyvumą ir metastazavimo potencialą diagnozės nustatymo metu, tam kad kuo anksčiau būtų galima pasirinkti ir pritaikyti tinkamiausią gydymo taktiką.

Maždaug 25 % visų mažų inkstų navikų yra gerybiniai, todėl būtinas diagnostikos ir gydymo optimizavimas, siekiant išvengti perteklinio gydymo ir su juo susijusių komplikacijų, ypač kai kalbame apie pilną inksto pašalinimą [183]. Šiame tyrime biopsijos buvo atliktos 94 % (100 iš 106) atvejų ir nustatyta 30 % (30 iš 100) gerybinių ir 70 % (70 iš 100) pitybinių navikų. Taigi biopsijos jautrumas buvo pakankamai geras, palyginus su anksčiau publikuotais tyrimais, tačiau jeigu sumuosime pacientus (35 iš 77 (6 pav.)), kuriems dėl itin mažo naviko ar nepatogios lokalizacijos neatlikta biopsija, tikslumo procentai ženkliai sumažėja ir siekia 76 % [183, 184, 185]. Minėtų 6 nedidelių biopsijų pagrindinės nepataikymo priežastys buvo arba per mažas navikas (mažiau nei 12 mm) arba nepatogi naviko lokalizacija inkste, t.y. kai navikas medialiai ir arti inksto kraujagyslių, ar jį dengia žarnynas, kepenys, blužnis. Šiuo metu geriausias būdas patvirtinti klaidingus neigiamus rezultatus yra pakartotinė biopsija [183, 185], tačiau be papildomų kaštų tai sukelia ir daug sunkumų pacientams bei gydytojams. Nors ankstesniame tyrime buvo nustatytas DNR metiliniu pagrįstas biopsijos mėginių identifikavimas [186], tačiau klinikinėje praktikoje jis netaikoma dėl didelių sąnaudų ir sudėtingo interpretavimo.

Skysčių biopsija vis sparčiau diegiama į klinikinę praktiką ir gali būti pritaikoma kaip papildoma pagalbinė priemonė gydytojams urologams mažų inkstų navikų stebėjimui. Mūsų tyrime buvo naudojami šlapimo mėginiai, surinkti iš pacientų, turinčių mažus inkstų navikus, ir kontroliniai šlapimo mėginiai, paimti iš sveikų besimptomų savanorių. Pacientų, kuriems diagnozuoti maži inkstų navikai, šlapime buvo aptiktas žymiai didesnis

ZNF677, *PCDH8*, *TFAP2B* ir *TAC1* metilinimo lygis, palyginus su kontroline grupe. Šis tyrimas puikiai papildo mūsų ankstesnius pastebėjimus apie DNR metilinimo biožymenų diagnostinį potencialą [100]. Tyrimas rodo, kad maži piktybiniai inkstų navikai reikšmingai įtakoja šlapime aptinkamos metilintos DNR kiekį, todėl DNR metilinimas gali būti naudojamas kaip mažų piktybinių navikų susidarymo inkstuose rodiklis. Didžiausia diagnostinė galia (AUC=0,69) nustatyta *PCDH8*, su 49 % jautrumo ir 88 % specifiskumo pasiekusia ar net pranokusia reikšme, kuri anksčiau buvo nustatyta esant žymiai didesniems inkstų navikams [184]. Įdomu tai, kad metilinto *TFAP2B* ir *TAC1* tyrimo jautrumas mažus inkstų navikus turinčių pacientų šlapime buvo net didesnis nei biopsijos. Tai gali būti paaiškinama inkstų navikų heterogeniškumu, nes navikinis židinytis gali likti nepastebėtas atliekant vienetinės biopsijos tyrimus [187-189]. Šiuo atveju skysčių biopsija gali atspindėti platesnį (epi)genetinių pakitimų spektrą. Be to keturių biožymenų derinys aptiko >90 % mažų piktybinių inkstų navikų, nors specifiskumas tik šiek tiek viršijo 50 %. Mūsų žiniomis, šiame tyrime pirmą kartą buvo analizuojamas DNR metilinimas mažus inkstų navikus turinčių pacientų šlapimo mėginiuose ir parodė galimybę jį pritaikyti kaip neinvazinį įrankį aptinkant itin mažus (<4 cm skersmens) piktybinius navikus.

Šiuo metu naviko augimo tempas ir histologija yra vieni naudingiausių ir žinomiausių kriterijų ne tik mažų inkstų navikų elgsenai, bet ir metastazavimo potencialui vertinti [190]. Maži inkstų navikai, turintys aukštą pataloginį mitozijų skaičių ir limfinę invaziją, dažniau linke metastazuoti [191]. Žinoma ir tai, kad lėtinis inkstų nepakankamumas yra susijęs su padidėjusia vėžio atsiradimo rizika inkstuose [192, 193].

Vyksta diskusijos dėl mažų inkstų navikų stebėjimo saugumo [194, 195]. Pagrindinė mažų inkstų navikų stebėjimo strategija yra augimo dinamikos vertinimas serijiniais radiologiniais tyrimais. Mūsų tyrime iš tirtų 63 atvejų, 28 % progresavo – jiems buvo būdingas ženkliai didesnis augimo greitis (21,1 cm³), palyginus su neprogresuojančiais (7,8 cm³), o reikšmingas progresuojančių ir neprogresuojančių navikų dydžių skirtumas buvo pastebėtas po maždaug 6 aktyvios stebėsenos mėnesių, nors diagnozės metu nebuvo akivaizdus.

Molekulinių biožymenų analizė mažų inkstų navikų pacientų šlapimo mėginiuose parodė teigiamą koreliaciją tarp metilinto *PCDH8* lygio ir naviko dydžio diagnozės metu, patvirtindama mūsų ankstesnius tyrimų rezultatus, rodančius *PCDH8* prognostinį potencialą [100]. Kai kuriuose kituose tyrimuose teigiama, kad *PCDH8* yra naviką slopinantis genas, stabdantis ląstelių proliferaciją, migraciją ir skatinantis apoptozę, todėl kai kuriose karcinomose yra dažnai inaktyvuojamas dėl promotoriaus metilinimo [122-

124]. Be to, buvo pastebėtas žymiai didesnis metilinto *TFAP2B* lygis tarp neprogresuojančių mažų inkstų navikų atvejų diagnozės metu. Mažesnis metilinto *TFAP2B* lygis tarp progresuojančių navikų gali būti iš dalies paaiškintas tuo, kad jis aktyvuoja WNT/ β -katenino signalinį kelią, skatina ląstelių proliferaciją ir inkstų ląstelių karcinomos progresavimą [120, 196, 197]. Rezultatai rodo, kad DNR metilinimo biožymenys gali numatyti mažų inkstų navikų progresavimą jau diagnozės metu, taip suskirstant pacientus į tinkamus ir netinkamus aktyviam stebėjimui, tačiau reikia tolimesnių tyrimų, kad šie prognostiniai biožymenys būtų pritaikyti klinikinėje praktikoje.

Pagrindiniai, gerai žinomi, su inkstų vėžio atsiradimu siejami rizikos veiksniai yra rūkymas, nutukimas ir hipertenzija [2, 33]. Šiame tyrime nerasta tiesioginių sąsajų tarp mažų inkstų navikų progresijos ir rūkymo ar nutukimo, tačiau nustatytas paribinis patikimumas ilgesniam arterinio kraujospūdžio stažui progresuojančių mažų inkstų navikų grupėje (17.1 ± 12.1 metai), palyginus su neprogresuojančių mažų inkstų navikų grupe (11.3 ± 9.9 metai) ($p=0.054$). Kita svarbi detalė, kad dislipidemija susijusi su naviko progresija [198]. Mūsų duomenimis, per mažas didelio tankio lipoproteino kiekis kraujyje statistiškai patikimai koreliavo su progresuojančia mažų inkstų navikų grupe ($p=0,033$). Biologiniai mechanizmai, galintys susieti žemą didelio tankio lipoproteino kiekį serume su inkstų vėžiu, nėra gerai nustatyti [199]. Manoma, kad didelio tankio lipoproteinai turi imunomoduliuojančių, antioksidacinių, antiapoptotinių ir priešuždegiminių savybių, kurios gali turėti įtakos proliferaciniams ir uždegiminiams vėžio vystymosi keliams [200]. Sumažėjęs didelio tankio lipoproteino kiekis buvo siejamas su padidėjusiu priešuždegiminių citokinų kiekiu, įskaitant naviko nekrozės faktorių alfa ir interleukiną-6 [201].

Žinoma, kad stresas gali pakeisti tam tikrų hormonų kiekį žmogaus organizme, dėl ko gali kilti didesnė rizika susirgti vėžiu [202]. Neigiamos emocijos gali įtakoti ir elgsenos pokyčius, tokius kaip persivalgymas, rūkymas ar gausus alkoholio vartojimas, o tai didina vėžio riziką. Analizuotos pacientų nerimo, depresijos, pacientų gyvenimo kokybės įtaka mažų inkstų navikų progresijai, tačiau patikimų sąsajų negauta. Mūsų turimais duomenimis, tyrimai, kuriuose vertinti klinikinių duomenų, tokių kaip: nutukimo, rūkymo, padidinto arterinio kraujospūdžio, metabolinio sindromo, dislipidemijos ar paciento psichoemocinės būsenos įtaka mažų, stebimų inkstų navikų progresijai t.y. sparčiam naviko augimui, iki šiol nebuvo atlikti.

Nepaisant sukauptų naujų duomenų apie mažų aktyviai stebimų inkstų navikų ypatumus, tyrimas turi ir svarbių trūkumų. Pirma, nedidelis pacientų skaičius neleido atlikti išsamesnės statistinės analizės. Antra, greta besimptomės kontrolės, gerybinių mažų inkstų navikų šlapimo mėginiai būtų

labai naudingi, norint įrodyti tirtų biožymenų tinkamumą neinvaziam specifiniam piktybinių mažų inkstų navikų aptikimui. Trečia, naviko augimo vertinimo paklaidai iš dalies įtakos turėjo naudojami skirtingi radiologiniai metodai (tam tikrais atvejais, kai pacientui progresavo inkstų funkcijos nepakankamumas, ar atsirado toksiškumas kontrastinei medžiagai), kurie padidino paklaidą tarp naviko matavimų ir neabejotinai įtakėjo statistinę analizę. Nepaisant to, neabejotina šio tyrimo naujovė - naudoti neinvazinius, šlapime aptinkamus DNR metilimo biožymenis, turinčius numanomą diagnostinę ir prognozinę vertę.

Nors aktyviai stebimų mažų inkstų navikų grupėje metastazavimo rizika ganėtinai maža, siekia iki 2,25 % [18], tačiau svarbu žinoti sisteminio gydymo galimybes. Nepaisant naujų gydymo galimybių, įtrauktų į naujausias ESMO ir NCCN gaires, sunitinibas kartu su pazopanibu vis dar rekomenduojamas pirmos eilės gydymo būdas metastazavusia inkstų ląstelių karcinoma sergantiems pacientams, kuriems yra gera arba vidutinė prognostinė rizika [21, 24]. Sunitinibas gali būti svarstomas gydant pacientus, sergančius išplitusiu inkstų vėžiu, kai nėra prieinami naujesni gydymo deriniai arba pacientai nėra tinkami imunoterapijai skirti dėl jų gretutinių ligų.

Mūsų retrospektyviniai duomenys įrodė sunitinibo veiksmingumą ir saugumą geros ir vidutinės rizikos grupės pagal IMDC klasifikaciją pacientams. Išgyvenamumo be ligos progresavimo mediana mūsų pacientų grupėje, kurių rizika pagal IMDC buvo gera ir vidutinė, atitinkamai 26 mėnesiai (95 % PI, 16,6–35,4 mėnesių) ir 20,5 mėnesio (95 % PI, 11,8–29,2 mėnesių). Panašūs rezultatai buvo gauti ADONIS stebėjimo tyrime, kuriame pacientų išgyvenamumo be ligos progresavimo mediana buvo 23,8 mėnesiai (95 % PI, 13,5–28,5 mėnesiai) geros rizikos grupėje ir 12,2 mėnesiai (95 % PI, 8,7–19,8 mėnesiai) vidutinės rizikos grupėje [203]. Mūsų tyrime metastazavusia inkstų ląstelių karcinoma sergančių pacientų populiacijoje vidutinis bendras išgyvenamumas geros rizikos pacientams buvo 68,0 mėnesiai (95 % PI, 29,7–106,3 mėnesiai). Bendro išgyvenamumo rezultatai ADONIS tyrime [203] buvo panašūs (67,4 mėnesiai (95 % PI, 46,3–102 mėnesiai)). Ilgas išgyvenamumas (72 mėnesiai) nurodomas ir Schwab ir kt. tyrime, tačiau minėtame tyrime pacientai buvo gydomi ne tik sunitinibu, bet ir kitais TKI, mTOR inhibitoriais [204].

Daugumai mūsų tyrime dalyvavusių pacientų (94 %) anksčiau buvo atlikta citoredukcinė nefrektomija. Yra žinoma, kad citoredukcinė nefrektomija gali pagerinti bendrą išgyvenamumą, gydant atrinktus pacientus, sergančius išplitusiu inkstų vėžiu [205, 206]. Metastazių tūris, skaičius ir vieta yra svarbūs vertinant atsaką į gydymą [207]. Mūsų duomenys rodo, kad pacientų, kuriems diagnozuotos daugiau nei 3 metastazės, bendras išgyvenamumas

buvo mažesnis, palyginus su pacientais, kurie turėjo 3 ir mažiau metastazių (44 mėnesiai, palyginti su 70 mėnesių). Reikia paminėti, kad metastazių pašalinimas yra susijęs su geresniais onkologiniais rezultatais bei gali pagerinti pacientų išgyvenamumą. Šešiuose tyrimuose nustatyta, kad po visiškos metastazektomijos buvo žymiai ilgesnis vidutinis bendras išgyvenamumas arba išgyvenamumas iki ligos progresavimo (vidutinis bendras išgyvenamumas buvo 40,75 mėnesiai), palyginus su nepilna metastazektomija arba be metastazektomijos (vidutinis bendras išgyvenamumas buvo 14,8 mėnesių) [207-213]. Trijuose tyrimuose aprašytas kompleksinis inkstų ląstelių karcinomos metastazių gydymas kepenyse [165], plaučiuose [166] ir kasoje [167]. Po metastazių pašalinimo iš plaučių, vidutinis bendras išgyvenamumas yra ženkliai didesnis, palyginus su vien tik medikamentine terapija (tiek taikinio, tiek imunoterapija) [165-167]. Panašūs rezultatai ir po kepenų bei kasos metastazių pašalinimo, kai vidutinis bendras išgyvenamumas yra žymiai ilgesni, palyginus su pacientais, kuriems metastazės nebuvo pašalintos [165-167]. Mūsų grupėje 30 % pacientų šalintos metastazės ir šis veiksnys galėjo turėti teigiamos įtakos bendram išgyvenamumui.

Tinkama sisteminio gydymo pasirinkimo strategija prailgina paciento išgyvenamumą [214, 215]. Remiantis mūsų retrospektyviais duomenimis, antros eilės gydymas po sunitinibo daugiausia buvo aksitinibu (48 %), o kabozantinibu, nivolumabu rečiau (atitinkamai 9 % ir 10 %). Savalaikė tinkamo gydymo korekcija naujesniais sisteminiais gydymo būdais, tokiais kaip aksitinibas, kabozantinibas, nivolumabas, gali būti paaikškinimas, kodėl mūsų tyrime gauti geri išgyvenamumo rodikliai, jeigu lygintime šiuos duomenis su pagrindiniu III fazės sunitinibo tyrimu [216].

Šiais laikais imunoterapija pagrįsti vaistų deriniai, tokie kaip IO-TKI ir IO-IO, yra plačiai naudojami ir įrodė savo naudą bei reikšmingą klinikinę veiksmingumą [217]. III fazės tyrimai, tokie kaip CheckMate 214 (nivolumabo ir ipilimumabo tyrimas), CheckMate 9ER (nivolumabo ir kabozantinibo tyrimas), KEYNOTE-426 (pembrolizumabas ir aksitinibas), IMmotion151 (atezolizumabo ir bevacizumabo tyrimas) įrodė pranašumą prieš sunitinibą, kai bendras išgyvenamumas siekė iki 47 mėnesių, analizuojant vidutinės ir blogos rizikos grupės pacientus [155]. Vidutinis bendras išgyvenamumas, vartojant nivolumabą ir ipilimumabą, geros rizikos pacientams buvo 74 mėnesiai [218]. Imunoterapijos ir antiangiogenetinių vaistų deriniai pagerino pacientų rezultatus, tačiau sunitinibas vis dar yra pakankamai veiksmingas ir gali būti naudojamas šalyse, kuriose nauji vaistų deriniai nekompensuojami. Šio tyrimo trūkumai apima retrospektyvią duomenų analizę, palyginti mažą pacientų grupę, nevertintus su gydymu

susijusius nepageidaujamus reiškinius, gretutines ligas, sunitinibo dozės keitimą. Tyrimas suteikė tvirtus įrodymus, kad vaistas pakankamai efektyviai kontroliuoja metastazavusią ligą ir nurodė padidintos rizikos grupes, kurioms būtinas gydymas inovatyviais vaistų deriniais.

IŠVADOS

- Pacientų, kuriems diagnozuoti maži inkstų navikai (< 4 cm), šlapime aptinkami metilinti *ZNF677*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1* ir *FLRT2* žymenys. Geriausiu diagnostiniu potencialu pasižymi *ZNF677*, *PCDH8*, *TAC1* ir *FLRT2* žymenų derinys (jautrumas 92 %, specifiškumas 52 %), iš jų efektyviausias – *PCDH8* žymuo, kurio jautrumas ir specifiškumas 48,7 % ir 88,0 %, atitinkamai.
- Progresuojančių inkstų navikų dydžio kitimai radiologiškai pradeda ryškėti 6 mėnesį nuo aktyvaus stebėjimo pradžios. Pirminės arterinės hipertenzijos ilgesnis stažas ir dislipidemija reikšmingai vyrauja tarp greitai didėjančių mažų inkstų navikų.
- Geno *PCDH8* metilinimo lygis teigiamai koreliuoja su didžiausiu naviko skersmeniu bei tūriu, o *TFAP2B* - neigiamai koreliuoja su didžiausiu naviko skersmeniu ir tūrio augimo greičiu. Progresuojantiems navikams būdingas statistiškai patikimai mažesnis metilinto *TFAP2B* lygis diagnozės metu. Šie žymenys pasižymi prognostiniu potencialu ir gali būti įtraukti į tolimesnius testo validavimo etapus.
- Kasdienine klinikinė praktika pagrįsto tyrimo duomenys rodo, kad sunitinibo veiksmingumas yra pakankamas gydant geros ir vidutinės rizikos metastazavusius inkstų navikus. Bendras išgyvenamumas šioje rizikos grupėje siekia atitinkamai 68 ir 66 mėnesius ir yra patikimai didesnis nei blogos prognostinės grupės.

Rekomendacijos, kurios gali būti panaudotos klinikinėje praktikoje:

- Genų *ZNF677*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1* ir *FLRT2* metilinimo pokyčiai gali būti tinkami neinvaziniam ankstyvam inkstų vėžio nustatymui ir tolimesniam ligos stebėjimui, tačiau patvirtinimui reikalingi tolimesni tyrimai.
- Kai kurių biožymenų, ypač *PCDH8* ir *TFAP2B*, metilinimo pokyčiai gali papildyti vaizdinius duomenis apie mažų inkstų navikų augimą, taip pagelbėti gydytojui urologui pasirenkant tolimesnę gydymo taktiką arba laiku pakeisti taktiką aktyviai stebint pacientus dėl mažų inkstų navikų.
- Teigiamas klinikinis atsakas gali būti pasiektas gydant metastazavusį inkstų vėžį sunitinibu geros ir vidutinės prognostinės grupės pacientams.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

- 1) Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Dyba T, Randi G, Bettio M, Gavin A, Visser O, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer* 2018;103:356.
- 2) Capitanio U, Bensalah K, Bex A, Boorjian SA, Bray F, Coleman J, Gore JL, Sun M, Wood Ch, Russo P. Epidemiology of Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol* 2019;75:74.
- 3) Ljungberg B, Campbell SC, Cho HY, Jacqmin D, Lee JE, Weikert S, Kiemeny LA. The epidemiology of renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2011;60:615-21.
- 4) Hock LM, Lynch J, Balaji KC. Increasing incidence of all stages of kidney cancer in the last 2 decades in the United States: an analysis of surveillance, epidemiology and end results program data. *J Urol* 2002;167:57-60.
- 5) Gandaglia G, Ravi P, Abdollah F, Abd-El-Barr AE, Becker A, Popa I, Briganti A, Karakiewicz PI, Trinh QD, Jewett MA, Sun M. Contemporary incidence and mortality rates of kidney cancer in the United States. *Can Urol Assoc J* 2014;8:247-52.
- 6) Kane CJ, Mallin K, Ritchey J, Cooperberg MR, Carroll PR. Renal cell cancer stage migration: analysis of the National Cancer Data Base. *Cancer* 2008;113:78-83.
- 7) Siemer S, Uder M, Humke U, Lindenmeier T, Moll V, Rudenauer E, Maurer J, Ziegler M. [Value of ultrasound in early diagnosis of renal cell carcinoma]. *Urologe A* 2000;39:149-53.
- 8) Lee CT, Katz J, Shi W, Thaler HT, Reuter VE, Russo P. Surgical management of renal tumors 4 cm. or less in a contemporary cohort. *J Urol* 2000;163:730-6.
- 9) Frank I, Blute ML, Leibovich BC, Cheville JC, Lohse CM, Zincke H. Independent validation of the 2002 American Joint Committee on cancer primary tumor classification for renal cell carcinoma using a large, single institution cohort. *J Urol* 2005;173:1889-92.
- 10) Uzzo RG, Novick AC. Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes. *J Urol* 2001;166:6-18.
- 11) Stephenson AJ, Hakimi AA, Snyder ME, Russo P. Complications of radical and partial nephrectomy in a large contemporary cohort. *J Urol* 2004;171:130-4.

- 12) Lowrance WT, Yee DS, Savage C, Cronin AM, O'Brien MF, Donat SM, Vickers A, Russo P. Complications After Radical and Partial Nephrectomy as a Function of Age. *J Urol* 2010;183(5):1725–1730.
- 13) Hollingsworth JM, Miller DC, Daignault S, Hollenbeck BK. Five-year survival after surgical treatment for kidney cancer: a population-based competing risk analysis. *Cancer* 2007;109:1763
- 14) Arrontes DS, Acenero MJ, Gonzales JI, Munoz MM, Andres PP. Survival analysis of clear cell renal carcinoma according to the Charlson comorbidity index. *J Urol* 2008;179:857-61.
- 15) Kim JH, Shufeng Li, Khandwala Y, Chung KJ, Park HK, Chung BI. Association of Prevalence of Benign Pathologic Findings After Partial Nephrectomy With Preoperative Imaging Patterns in the United States From 2007 to 2014. *JAMA Surg* 2019;154(3):225–231.
- 16) Frank I, Blute ML, Chevillie JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. Solid renal tumors: an analysis of pathological features related to tumor size. *J Urol* 2003;170:2217-20.
- 17) Lane BR, Abouassaly R, Gao T, Weight ChJ, Hernandez AV, Larson BT, Kaouk JH, Gill IS, Campbell SC. Active treatment of localized renal tumors may not impact overall survival in patients aged 75 years or older. *Cancer* 2010;116:3119.
- 18) Smaldone MC, Kutikov A, Egleston BL, Canter DJ, Viterbo R, Chen DY, Jewett MA, Greenberg R, Uzzo RG. Small renal masses progressing to metastases under active surveillance: a systematic review and pooled analysis. *Cancer* 2012;118:997-1006.
- 19) Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, Oudard S, Negrier S, Szczylik C, Kim ST, Chen I, Bycott PW, Baum ChM, Figlin RA. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal cell carcinoma. *N Eng J Med* 2007;356:115-24.
- 20) Sternberg CN, Davis ID, Mardiak J, Szczylik C, Lee E, Wagstaff J, Barrios CH, Salman P, Gladkov OA, Kavina A, Zarbá JJ, Chen M, McCann L, Pandite L, Roychowdhury DF, Hawkins RE. Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2010;28:1061-1068.
- 21) Motzer RJ, Hutson ThE, Cella D, Reeves J, Hawkins R, Guo J, Nathan P, Staehler M, de Souza P, Merchan JR, Boleti E, Fife K, Jin J, Jones R, Uemura H, De Giorgi U, Harmenberg U, Wang J, Sternberg CN, Deen K, McCann L, Hackshaw MD, Crescenzo R, Pandite LN, Choueiri TK. Pazopanib versus sunitinib in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2013;369:722-731.

- 22) Bosma NA, Warkentin MT, Gan ChL, Karim S, Heng DY, Brenner DR, Lee-Ying RM. Efficacy and Safety of First-line Systemic Therapy for Metastatic Renal Cell Carcinoma: A Systematic Review and Network Meta-analysis. *European Urology Open Science* 2022;37:14-26.
- 23) Escudier B, Porta C, Schmidinger M, Rioux-Leclercq N, Bex A, Khoo V, Gruenewald V, Gillessen S, Horwich A. Renal Cell Carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2019;30:706-720.
- 24) Motzer RJ, Jonasch E, Agarwal N, Alva A, Baine M, Beckermann K, Carlo MI, Choueiri TK, Costello BA, Derweesh IH, Desai A, Ged Y, George S, Gore JL, Haas N, Hancock SL, Kapur P, Kyriakopoulos Ch, Elaine T Lam ET, Primo N Lara PN, Clayton Lau C, Bryan Lewis B, David C Madoff DC, Manley B, Michaelson MD, Mortazavi A, Nandagopal L, Plimack ER, Ponsky L, Ramalingam S, Shuch B, Smith ZL, Sosman J, Dwyer MA, Gurski LA, Motter A. Kidney Cancer, Version 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology 2022. Volume 20: Issue 1.
- 25) Delgado PO, Alves BC, Gehrke Fde S, Kuniyoshi RK, Wroclawski ML, Del Giglio A, Fonseca FL. Characterization of cell-free circulating DNA in plasma in patients with prostate cancer. *Tumour Biol* 2013;34(2):983-6.
- 26) Patel KM, Tsui DWY. The Translational Potential of Circulating Tumour DNA in Oncology. *Clin Biochem* 2015;48(15):957-961.
- 27) Qin Z, Ljubimov VA, Zhou C, Tong Y, Liang J. Cell-free circulating tumor DNA in cancer. *Chin J Cancer* 2016;35(1):36.
- 28) Newman AM, Bratman SV, To J, Wynne JF, Eclov NC, Modlin LA, Liu CL, Neal JW, Wakelee HA, Merritt RE, Shrager JB, Loo BW Jr, Alizadeh AA, Diehn M. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. *Nat Med* 2014;20(5):548-54.
- 29) Yoshino H, Yonemori M, Miyamoto K, Tatarano S, Kofuji S, Nohata N, Nakagawa M, Enokida H. microRNA-210-3p depletion by CRISPR/Cas9 promoted tumorigenesis through revival of TWIST1 in renal cell carcinoma. *Oncotarget* 2017;8(13):20881-20894
- 30) Brugarolas J. PBRM1 and BAP1 as Novel Targets for Renal Cell Carcinoma. *Cancer J* 2013;19(4):324-332.
- 31) Peña-Llopis S, Vega-Rubín-de-Celis S, Liao A, Leng N, Pavía-Jiménez A, Wang Sh, Yamasaki T, Zhrebker L, Sivanand Sh, Spence P, Kinch L, Hambuch T, Jain S, Lotan Y, Margulis V, Sagalowsky AI, Summerour PB, Kabbani W, Wong SWW, Grishin N, Laurent M, Xie

- XJ, Haudenschild ChD, Ross MT, Bentley DR, Kapur P, Brugarolas J. BAP1 loss defines a new class of renal cell carcinoma. *Nat Genet* 2012;44(7):751–9.
- 32) Daniel CR, Cross AJ, Graubard BI, Park Y, Ward MH, Rothman N, Hollenbeck AR, Chow WH, Sinha R. Large prospective investigation of meat intake, related mutagens, and risk of renal cell carcinoma. *Am J Clin Nutr* 2012;95:155.
 - 33) Tahbaz R, Schmid M, Merseburger AS. Prevention of kidney cancer incidence and recurrence: lifestyle, medication and nutrition. *Curr Opin Urol* 2018;28:62
 - 34) Al-Bayati O, Hasan A, Pruthi D, Kaushik Dh, Liss MA. Systematic review of modifiable risk factors for kidney cancer. *Urol Oncol* 2019;37:359.
 - 35) Maher ER. Hereditary renal cell carcinoma syndromes: diagnosis, surveillance and management. *World J Urol* 2018;36(12):1891–1898.
 - 36) Shuch B, Vourganti S, Ricketts ChJ, Middleton L, Peterson J, Merino MJ, Metwalli AR, Srinivasan R, Linehan WM. Defining early-onset kidney cancer: implications for germline and somatic mutation testing and clinical management. *J Clin Oncol* 2014;32:431.
 - 37) Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, Figlin R, de Kernion JB, Belldegrun A. Renal cell carcinoma: prognostic significance of incidentally detected tumors. *J Urol* 2000;163:426-30.
 - 38) Patard JJ, Rodriguez A, Rioux-Leclercq N, Guille F, Lobel B. Prognostic significance of the mode of detection in renal tumours. *BJU Int* 2002;90:358-63.
 - 39) Levi F, Ferlay J, Galeone C, Lucchini F, Negri E, Boyle P, La Vecchia C. The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe. *BJU Int* 2008;101:949.
 - 40) Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright ThM. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *Eur Urol* 2016;70:93.
 - 41) Schoots IG, Zaccari K, Hunink MG, Verhagen PCMS. Bosniak Classification for Complex Renal Cysts Reevaluated: A Systematic Review. *J Urol* 2017;198:12.
 - 42) Amin MB, Smith SC, Agaimy A, Argani P, Compérat EM, Delahunt B, Epstein J, Eble JN, Grignon DJ, Hartmann A, Hes O, Hirsch MS, Jimenez RE, Kunju LP, Martignoni G, McKenney JK, Moch H, Montironi R, Paner GP, Rao P, Srigley JR, Tickoo SK, Reuter VE.

- Collecting duct carcinoma versus renal medullary carcinoma: an appeal for nosologic and biological clarity. *Am J Surg Pathol* 2014;38:871.
- 43) Shah AY, Karam JA, Malouf GG, Rao P, Lim ZD, Jonasch E, Xiao L, Gao J, Vaishampayan UN, Heng DY, Plimack ER, Guancial EA, Fung Ch, Lowas SR, Tamboli Ph, Sircar K, Matin SF, Rathmell WK, Wood ChG, Tannir NM. Management and outcomes of patients with renal medullary carcinoma: a multicentre collaborative study. *BJU Int* 2017;120:782.
 - 44) Iacovelli R, Modica D, Palazzo A, Trenta P, Piesco G, Cortesi E. Clinical outcome and prognostic factors in renal medullary carcinoma: A pooled analysis from 18 years of medical literature. *Can Urol Assoc J* 2015;9:E172.
 - 45) Alvarez O, Rodriguez MM, Jordan L, Sarnaik SH. Renal medullary carcinoma and sickle cell trait: A systematic review. *Pediatr Blood Cancer* 2015;62:1694.
 - 46) Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittwkind Ch. TNM classification of malignant tumors, ed. U.I.U.A. Cancer. Vol. 7th edn. 2009.
 - 47) Klatte T, Ficarra V, Gratzke Ch, Kaouk J, Kutikov A, Macchi V, Mottrie A, Porpiglia F, Porter J, Rogers CG, Russo P, Thompson RH, Uzzo RG, Wood ChG, Gill IS. A Literature Review of Renal Surgical Anatomy and Surgical Strategies for Partial Nephrectomy. *Eur Urol* 2015;68:980.
 - 48) Canter D, Kutikov A, Manley B, Egleston E, Simhan J, Smaldone M, Teper E, Viterbo R, Chen DYT, Greenberg RE, Uzzo RG. Utility of the R.E.N.A.L. Nephrometry Scoring System in Objectifying Treatment Decision-making of the Enhancing Renal Mass. *Urology* 2011;78(5):1089-94.
 - 49) Okhunov Zh, Rais-Bahrami S, George AK, Waingankar N, Duty B, Montag S, Rosen L, Sunday S, Vira MA, Kavoussi LR. The Comparison of Three Renal Tumor Scoring Systems: C-Index, P.A.D.U.A., and R.E.N.A.L. Nephrometry Scores. *Journal of Endourology* 2011;25(12):1921-1924.
 - 50) Spaliviero M, Bing Ying Poon BY, Christoph A Karlo ChA, Giuliano B Guglielmetti GB, Di Paolo PL, Corradi RB, Martin-Malburet AG, Campos-Juanatey F, Escudero-Fontano E, Sjoberg DD, Russo P, Coleman JA, Akin O, Touijer KA. An Arterial Based Complexity (ABC) Scoring System to Assess the Morbidity Profile of Partial Nephrectomy. *Eur Urol* 2016;69:72.
 - 51) Hakky TS, Baumgarten S, Allen B, Lin HY, Ercole CE, Sexton WJ, Spiess PhE. Zonal NePhRO scoring system: a superior renal tumor complexity classification model. *Clin Genitourin Cancer* 2014;12:e13.

- 52) Novara G, Ficarra V, Antonelli A, Artibani A, Bertini R, Carini M, Cunico SC, Imbimbo C, Longo N, Martignoni G, Martorana G, Minervini A, Mirone V, Montorsi F, Schiavina R, Simeone C, Serni S, Simonato A, Siracusano S, Volpe A, Carmignani G. Validation of the 2009 TNM version in a large multi-institutional cohort of patients treated for renal cell carcinoma: are further improvements needed? *Eur Urol* 2010;58:588.
- 53) Jayson M, Sanders H. Increased incidence of serendipitously discovered renal cell carcinoma. *Urology* 1998;51:203.
- 54) Patard JJ, Leray E, Rodriguez A, Rioux-Leclercq N, Guillé F, Lobel B. Correlation between symptom graduation, tumor characteristics and survival in renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2003;44: 226.
- 55) Lee ChT, Katz J, Fearn PA, Russo P. Mode of presentation of renal cell carcinoma provides prognostic information. *Urol Oncol* 2002;7:135.
- 56) Kim HL, Belldegrun AS, Freitas DG, Bui MHT, Han K, Dorey FJ, Figlin RA. Paraneoplastic signs and symptoms of renal cell carcinoma: implications for prognosis. *J Urol* 2003;170:1742.
- 57) Fateh SM, Arkawazi LA, Tahir SH, Rashid RJ, Dalshad H, Rahman DH, Aghaways I, Kakamad FH, Salih AM, Bapir R, Fakhralddin SS, Fattah FH, Abdalla BA, and Mohammed ShH. Renal cell carcinoma T staging: Diagnostic accuracy of preoperative contrast-enhanced computed tomography. *Mol Clin Oncol* 2023;18(2):11.
- 58) Israel M, Bosniak MA. How I do it: evaluating renal masses. *Radiology* 2005;236:441.
- 59) Israel GM, Bosniak MA. Pitfalls in renal mass evaluation and how to avoid them. *Radiographics* 2008;28:1325.
- 60) Hallscheidt PJ, Fink Ch, Haferkamp A, Bock M, Luburic A, Zuna I, Noeldge G, Kauffmann G. Preoperative staging of renal cell carcinoma with inferior vena cava thrombus using multidetector CT and MRI: prospective study with histopathological correlation. *J Comput Assist Tomogr* 2005;29:64.
- 61) Defortescu G, Cornu JN, Béjar S, Giwerc A, Gobet F, Werquin C, Pfister CH, Nouhau FX. Diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasonography and magnetic resonance imaging for the assessment of complex renal cysts: A prospective study. *Int J Urol* 2017;24:184.
- 62) Larcher A, Dell'Oglio P, Fossati N, Nini A, Muttin F, Suardi N, De Cobelli F, Salonia A, Briganti A, Zhang X, Montorsi F, Bertini R, Capitanio U. When to perform preoperative chest computed tomography for renal cancer staging. *BJU Int* 2017;120:490.

- 63) Voss J, Drake T, Matthews H, Jenkins J, Tang S, Doherty J, Chan K, Dawe H, Thomas T, Kearley S, Manners J, Carter Ch, Al-Buheissi S, Klatter T. Chest computed tomography for staging renal tumours: validation and simplification of a risk prediction model from a large contemporary retrospective cohort. *BJU Int* 2020;125:561.
- 64) Warren KS, McFarlane J. The Bosniak classification of renal cystic masses. *BJU Int* 2005;5:939.
- 65) Bosniak, M.A. The use of the Bosniak classification system for renal cysts and cystic tumors. *J Urol* 1997;157:1852.
- 66) Richard PO, Jewett MAS, Bhatt JR, Kachura JR, Evans AJ, Zlotta AR, Hermanns Th, Juvet T, Finelli A. Renal Tumor Biopsy for Small Renal Masses: A Single-center 13-year Experience. *Eur Urol* 2015;68:1007.
- 67) Shannon BA, Cohen RJ, de Bruto H, Davies RJ. The value of preoperative needle core biopsy for diagnosing benign lesions among small, incidentally detected renal masses. *J Urol* 2008;180:1257.
- 68) Maturen KE, Nghiem HV, Caoili EM, Higgins EG, Wolf JS, Wood DP. Renal mass core biopsy: accuracy and impact on clinical management. *AJR Am J Roentgenol* 2007;188:563.
- 69) Volpe A, Mattar K, Finelli A, Kachura JR, Evans AJ, Geddie WR, Jewett MAS. Contemporary results of percutaneous biopsy of 100 small renal masses: a single center experience. *J Urol* 2008; 180:2333.
- 70) Veltri A, Garetto I, Tosetti I, Busso M, Volpe A, Pacchioni D, Bollito E, Papotti M. Diagnostic accuracy and clinical impact of imaging-guided needle biopsy of renal masses. Retrospective analysis on 150 cases. *Eur Radiol* 2011;21:393.
- 71) Abel EJ, Culp SH, Matin SF, Tamboli Ph, Wallace MJ, Jonasch E, Tannir NM, Wood ChG. Percutaneous biopsy of primary tumor in metastatic renal cell carcinoma to predict high risk pathological features: comparison with nephrectomy assessment. *J Urol* 2010;184:1877.
- 72) Gerlinger M, Horswell S, Larkin J, Rowan AJ, Salm MP, Varela I, Fisher R, McGranahan N, Matthews N, Santos CR, Martinez P, Phillimore B, Begum Sh, Rabinowitz A, Spencer-Dene B, Gulati S, Bates PA, Stamp G, Pickering L, Gore L, Nicol DL, Hazell S, Futreal PA, Stewart A, Swanton Ch. Genomic architecture and evolution of clear cell renal cell carcinomas defined by multiregion sequencing. *Nat Genet* 2014;46(3):225-33.
- 73) Hsieh JJ, Purdue MP, Signoretti S, Swanton Ch, Albiges L, Schmidinger M, Heng DY, Larkin J, Ficarra V. Renal cell carcinoma. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17009.

- 74) Beroukhim R, Brunet JPh, Di Napoli A, Mertz KD, Seeley A, Pires MM, Linhart D, Worrell RA, Moch H, Mark A Rubin MA, Sellers WR, Meyerson M, Linehan WM, Kaelin Jr WG, Signoretti S. Patterns of gene expression and copy-number alterations in von-hippel lindau disease-associated and sporadic clear cell carcinoma of the kidney. *CancerRes* 2009;69(11):4674-81.
- 75) Joosten SC, Deckers IA, Aarts MJ, Hoeben A, van Roermund JG, Smits KM, Melotte V, van Engeland M, Tjan-Heijnen VC. Prognostic DNA methylation markers for renal cell carcinoma: asystematic review. *Epigenomics* 2017;9(9):1243-57.
- 76) Yao M, Yoshida M, Kishida T, Nakaigawa N, Baba M, Kobayashi K, Miura T, Moriyama M, Nagashima Y, Nakatani Y, Kubota Y, Kondo KI. VHL tumor suppressor gene alterations associated with good prognosis in sporadic clear-cell renal carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(20):1569-75.
- 77) Barry RE, Krek W. The von Hippel-Lindau tumour suppressor: a multi-faceted inhibitor of tumorigenesis. *Trends Mol Med* 2004;10(9):466-72.
- 78) Banumathy G, Cairns P. Signaling pathways in renal cell carcinoma. *Cancer Biol Ther* 2010;10(7):658-64.
- 79) Xu Q, Krause M, Samoylenko A, Vainio S. Wnt Signaling in Renal Cell Carcinoma. *Cancers (Basel)* 2016;8(6):57.
- 80) Qi JH, Ebrahim Q, Moore N, Murphy G, Claesson-Welsh L, Bond M, Baker A, Anand-Apte B. A novel function for tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP3): inhibition of angiogenesis by blockage of VEGF binding to VEGF receptor-2. *Nat Med* 2003;9(4):407-15.
- 81) Thompson M. Polybromo-1: the chromatin targeting subunit of the PBAF complex. *Biochimie* 2009;91(3):309-19.
- 82) Kapur P, Peña-Llopis S, Christie A, Zhrebker L, Pavia-Jiménez A, Rathmell WK, Xie XJ, Brugarolas J. Effects on survival of BAP1 and PBRM1 mutations in sporadic clear-cell renal-cell carcinoma: a retrospective analysis with independent validation. *Lancet Oncol* 2013;14(2):159-67.
- 83) Li J, Duns G, Westers H, Sijmons R, van den Berg A, Kok K. SETD2: an epigenetic modifier with tumor suppressor functionality. *Oncotarget* 2016;7(31):50719-34.
- 84) Kanu N, Grönroos E, Martinez P, Burrell RA, Yi Goh X, Bartkova J, Maya-Mendoza A, Mistrík M, Rowan AJ, Patel H, Rabinowitz A, East P, Wilson G, Santos CR, McGranahan N, Gulati S, Gerlinger M, Birnbak NJ, Joshi T, Alexandrov LB, Stratton MR, Powles T, Matthews

- N, Bates PA, Stewart A, Szallasi Z, Larkin J, Bartek J, Swanton C. SETD2 loss-of-function promotes renal cancer branched evolution through replication stress and impaired DNA repair. *Oncogene* 2015;34(46):5699-708.
- 85) Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell* 2012;149(6):1192-205.
- 86) Zarogoulidis P, Lampaki S, Turner JF, Huang H, Kakolyris S, Syrigos K, Zarogoulidis K. mTOR pathway: A current, up-to date mini-review (Review). *Oncol Lett* 2014;8(6):2367-70.
- 87) Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011;12(1):21-35.
- 88) Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell* 2012;149(2): 274-293.
- 89) Arai E, Kanai Y. Genetic and epigenetic alterations during renal carcinogenesis. *Int J Clin Exp Pathol* 2010;4(1):58-73.
- 90) Morris MR, Latif F. The epigenetic landscape of renal cancer. *Nat. Rev. Nephrol* 2017;13(1):47-60.
- 91) Ricketts ChJ, Morris MR, Gentle D, Brown M, Wake N, Woodward ER, Clarke N, Latif F, Maher ER. Genome- wide CpG island methylation analysis implicates novel genes in the pathogenesis of renal cell carcinoma. *Epigenetics* 2012;7(3):278-90.
- 92) Ibragimova I, Slifker MJ, Maradeo ME, Banumathy G, Dulaimi E, Uzzo RG, Cairns P. Genome-wide promoter methylome of small renal masses. *PLoS One* 2013;8(10):e77309.
- 93) Kang HW, Park H, Seo SP, Byun YJ, Piao XM, Kim SM, Kim WT, Yun SJ, Jang W, Shon HS, Ryu KH, Lee SCh, Kim WJ, Kim YJ. Methylation Signature for Prediction of Progression Free Survival in Surgically Treated Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *J Korean Med Sci* 2019;34(19):e144.
- 94) Kim YJ, Jang W, Piao XM, Yoon HY, Byun YJ, Kim JS, Kim SM, Lee SK, Seo SP, Kang HW, Kim WT, Yun SJ, Shon HS, Ryu KH, Kim SW, Ha YS, Yoon GhS, Lee SCh, Kwon TG, Kim WJ. ZNF492 and GPR149 methylation patterns as prognostic markers for clear cell renal cell carcinoma: Array-based DNA methylation profiling. *Oncol Rep* 2019;42(1):453-460.
- 95) Yoo KH, Park YK, Kim HS, Jung WW, Chang SG. Epigenetic inactivation of HOXA5 and MSH2 gene in clear cell renal cell carcinoma. *Pathol Int* 2010;60(10):661-6.

- 96) Evelönn EA, Landfors M, Haider Z, Köhn L, Ljungberg B, Roos G, Degerman S. DNA Methylation Associates With Survival in NonMetastatic Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *BMC Cancer* 2019;19(1):65.
- 97) Evelönn EA, Degerman S, Köhn L, Landfors M, Ljungberg B, Roos G. DNA methylation status defines clinicopathological parameters including survival for patients with clear cell renal cell carcinoma (ccRCC). *Tumour Biol* 2016;37(8):10219-28.
- 98) Koch AK, Joosten SC, Feng Z, de Ruijter TC, Draht MX, Melotte V, Smits KM, Veeck J, Herman JG, Van Neste L, Van Criekinge W, Meyer TD, van Engeland M. Analysis of DNA methylation in cancer: location revisited. *Nat Rev Clin Oncol* 2018;15(7):459-466.
- 99) Raimondos Kubiliūtės disertacija. „Šviesių ląstelių inkstų karcinomos diagnostiniai ir prognostiniai DNR metilinimo žymenys“. Apginta 2022 metais.
- 100) Kubiliūtė R, Žukauskaitė K, Žalimas A, Ulys A, Sabaliauskaitė R, Bakavičius A, Želvys A, Jankevičius F, Jarmalaitė S. Clinical significance of novel DNA methylation biomarkers for renal clear cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2022;148:361-375.
- 101) Morris MR, Ricketts CJ, Gentle D, McRonald F, Carli N, Khalili H, Brown M, Kishida T, Yao M, Banks RE, Clarke N, Latif F, Maher ER. Genome-wide methylation analysis identifies epigenetically inactivated candidate tumour suppressor genes in renal cell carcinoma. *Oncogene* 2011;30(12):1390-401.
- 102) Lin YL, Wang YL, Fu XL, Ma JG. Aberrant methylation of PCDH8 is a potential prognostic biomarker for patients with clear cell renal cell carcinoma. *Med. Sci. Monit* 2014;20:2380-5.
- 103) Ricketts ChJ, K. Hill VK, Linehan WM. Tumorspecific hypermethylation of epigenetic biomarkers, including SFRP1, predicts for poorer survival in patients from the TCGA Kidney Renal Clear Cell Carcinoma (KIRC) project. *PLoS One* 2014;9(1):e85621.
- 104) Atschekzei F, Hennenlotter J, Jänisch S, Grohennig A, Tränkenschuh W, Waalkes S, Peters I, Dörk Th, Merseburger AS, Stenzl A, Kuczyk MA, Serth J. SFRP1 CpG island methylation locus is associated with renal cell cancer susceptibility and disease recurrence. *Epigenetics* 2012;7(5):447-57.
- 105) Heller G, Altenberger C, Schmid B, Marhold M, Tomasich E, Ziegler B, Müllauer L, Minichsdorfer Ch, Lang G, End-Pfützenreuter A, Döme B, Arns BM, KM Fong, Wright CM, Yang IA, Klepetko W, Christoph C. Zielinski ChC, and Zöchbauer-Müller S. DNA methylation

- transcriptionally regulates the putative tumor cell growth suppressor ZNF677 in non-small cell lung cancers. *Oncotarget* 2015;6(1):394-408.
- 106) Li Y, Yang Q, Guan H, Shi B, Ji M, Hou P. ZNF677 Suppresses Akt Phosphorylation and Tumorigenesis in Thyroid Cancer. *Cancer Res* 2018;78(18):5216-5228.
 - 107) Dai Y, Lv Q, Qi T, Qu J, Ni H, Liao Y, Liu P, and Qu Q. Identification of hub methylated-CpG sites and associated genes in oral squamous cell carcinoma. *Cancer Med* 2020;9(9):3174-3187.
 - 108) van Loon K, Yemelyanenko-Lyalenko J, Margadant C, Griffioen AW, Huijbers EJM. Role of fibrillin-2 in the control of TGF- β activation in tumor angiogenesis and connective tissue disorders. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2020;1873(2):188354.
 - 109) Pantuck AJ, An J, Liu H, Rettig MB. NF-kappaB-dependent plasticity of the epithelial to esenchymal transition induced by Von Hippel-Lindau inactivation in renal cell carcinomas. *Cancer Res* 2010;70(2):752-61.
 - 110) Eckert D, Buhl S, Weber S, Jäger R, Schorle H. The AP-2 family of transcription factors. *Genome Biol* 2005;6(13):246.
 - 111) Moser M, Pscherer A, Roth C, Becker J, Mücher G, Zerres K, Dixkens C, Weis J, Guay-Woodford G, Buettner R, Fässler R. Enhanced apoptotic cell death of renal epithelial cells in mice lacking transcription factor AP-2beta. *Genes Dev* 1997;11(15):1938-48.
 - 112) Wang L, Wang Ch, Wu T, Sun F. Long non-coding RNA TP73-AS1 promotes TFAP2B mediated proliferation, metastasis and invasion in retinoblastoma via decoying of miRNA-874-3p. *J Cell Commun Signal* 2020;14(2):193-205.
 - 113) Ikram F, Ackermann S, Kahlert Y, Volland R, Roels F, Engesser A, Hertwig F, Kocak H, Hero B, Dreidax D, Henrich KO, Berthold F, Nürnberg P, Westermann F, Fischer M. Transcription factor activating protein 2 beta (TFAP2B) mediates noradrenergic neuronal differentiation in neuroblastoma. *Mol Oncol* 2016;10(2):344-59.
 - 114) Yoldi G, Pellegrini P, Trinidad EM, Cordero A, Gomez-Miragaya J, Serra-Musach J, Dougall WC, Muñoz P, Pujana MA, Planelles L, González-Suárez E. RANK Signaling Blockade Reduces Breast Cancer Recurrence by Inducing Tumor Cell Differentiation. *Cancer Res* 2016;76(19):5857-5869.
 - 115) Liang Sh, Deng H. Dual role of transcription factor AP-2 in carcinogenesis. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2010;39(4):430-5.
 - 116) Oya M, Mikami Sh, Mizuno R, Miyajima A, Horiguchi Y, Nakashima J, Marumo K, Mukai M, Murai M. Differential expression of activator protein-2 isoforms in renal cell carcinoma. *Urology* 2004;64(1):162-7.

- 117) Wang Y, Hoepfner LH, Angom RS, Wang E, Dutta Sh, Doeppler HR, Wang F, Shen T, Scarisbrick IA, Guha S, Storz P, Bhattacharya R, Mukhopadhyay D. Protein kinase D up-regulates transcription of VEGF receptor-2 in endothelial cells by suppressing nuclear localization of the transcription factor AP2 β . *J Biol Chem* 2019;294(43):15759-15767.
- 118) Braga EA, Fridman MV, Loginov VI, Dmitriev AA, Morozov SG. Molecular Mechanisms in Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Role of miRNAs and Hypermethylated miRNA Genes in Crucial Oncogenic Pathways and Processes. *Front Genet* 2019;10:320.
- 119) Reuter VE, Tickoo SK. Differential diagnosis of renal tumours with clear cell histology. *Pathology* 2010;42(4):374-83.
- 120) Tun HW, Marlow LA, von Roemeling ChA, Cooper SJ, Kreinest P, Wu K, Luxon BA, Sinha M, Anastasiadis PZ, Copland JA. Pathway signature and cellular differentiation in clear cell renal cell carcinoma. *PLoS One* 2010;5(5):e10696.
- 121) Kahr I, Vandepoele K, van Roy F. Delta-protocadherins in health and disease. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2013;116:169-92.
- 122) He D, Zeng Q, Ren G, Xiang T, Qian Y, Hu Q, Zhu J, Hong S, Hu G. Protocadherin8 is a functional tumor suppressor frequently inactivated by promoter methylation in nasopharyngeal carcinoma. *Eur J Cancer Prev* 2012;21(6):569-75.
- 123) Yu JS, Koujak S, Nagase S, Li CM, Su T, Wang X, Keniry M, Memeo L, Rojzman A, Mansukhani M, Hibshoosh H, Tycko B, Parsons R. PCDH8, the human homolog of PAPC, is a candidate tumor suppressor of breast cancer. *Oncogene* 2008;27(34):4657-65.
- 124) Zhang D, Zhao W, Liao X, Bi T, Li H, Che X. Frequent silencing of protocadherin 8 by promoter methylation, a candidate tumor suppressor for human gastric cancer. *Oncol Rep* 2012;28(5):1785-91.
- 125) Li Zh, Gou J, Jia J, Zhao X. MicroRNA-429 functions as a regulator of epithelial-mesenchymal transition by targeting Pcdh8 during murine embryo implantation. *Hum Reprod* 2015;30(3):507-18.
- 126) Lin Y, Ge X, Zhang X, Wu Zh, Liu K, Lin F, Dai C, Guo W, Li J. Protocadherin-8 promotes invasion and metastasis via laminin subunit γ 2 in gastric cancer. *Cancer Sci* 2018;109(3):732-740.
- 127) Lacy SE, Bönemann CG, Buzney EA, Kunkel LM. Identification of FLRT1, FLRT2, and FLRT3: a novel family of transmembrane leucine-rich repeat proteins. *Genomics* 1999;62(3):417-26.
- 128) Bae H, Kim B, Lee H, Lee S, Kang HS, Kim SJ. Epigenetically regulated Fibronectin leucine rich transmembrane protein 2 (FLRT2) shows tumor suppressor activity in breast cancer cells. *Sci Rep* 2017;7(1):272.

- 129) Rameshwar P, Gascón P. Induction of negative hematopoietic regulators by neurokinin-A in bone marrow stroma. *Blood* 1996;88(1):98-106.
- 130) Jeschke J, Van Neste L, Glöckner SC, Dhir M, Calmon MF, Deregowski V, Van Criekinge W, Vlassenbroeck I, Koch A, Chan TA, Cope L, Hooker CM, Schuebel KE, Gabrielson E, Winterpacht A, Baylin SB, Herman JG, Ahuja N. Biomarkers for detection and prognosis of breast cancer identified by a functional hypermethylome screen. *Epigenetics* 2012;7(7):701–709.
- 131) Henriksen SD, Madsen PH, Larsen ACh, Johansen MB, Pedersen IS, Krarup H, Thorlacius-Ussing O. Promoter hypermethylation in plasma-derived cellfree DNA as a prognostic marker for pancreatic adenocarcinoma staging. *Int J Cancer* 2017;141(12):2489-2497.
- 132) Jin Zh, Oлару A, Yang J, Sato F, Cheng Y, Kan T, Mori Y, Mantzur C, Paun B, Hamilton JP, Ito T, Wang S, David S, Agarwal R, Beer DG, Abraham JM, Meltzer SJ. Hypermethylation of tachykinin-1 is a potential biomarker in human esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13(21):6293-300.
- 133) Wrangle J, Machida EO, Danilova L, Hulbert A, Franco N, Zhang W, Glöckner SC, Tessema M, Van Neste L, Easwaran H, Schuebel KE, Licchesi J, Hooker CM, Ahuja N, Amano J, Belinsky SA, Baylin SB, Herman JG, Brock MV. Functional identification of cancer-specific methylation of CDO1, HOXA9, and TAC1 for the diagnosis of lung cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(7):1856-64.
- 134) Tham Ch, Chew M, Soong R, Lim J, Ang M, Tang Ch, Zhao Y, Ong SYK, Liu Y. Postoperative serum methylation levels of TAC1 and SEPT9 are independent predictors of recurrence and survival of patients with colorectal cancer. *Cancer* 2014;120(20):3131-41.
- 135) Misawa K, Mochizuki D, Imai A, Endo Sh, Mima M, Misawa Y, Kanazawa T, Carey ThE, Mineta H. Prognostic value of aberrant promoter hypermethylation of tumor-related genes in early-stage head and neck cancer. *Oncotarget* 2016;7(18):26087-98.
- 136) Richard PO, Lavallée LT, Pouliot FP, Komisarenko M, Martin L, Lattouf JB, Finelli A. Is Routine Renal Tumor Biopsy Associated with Lower Rates of Benign Histology following Nephrectomy for Small Renal Masses? *J Urol* 2018;200:731.
- 137) Campbell SC, Novick AC, Belldegrün A, Blute ML, Chow GK, Derweesh IH, Faraday MM, Kaouk JH, Leveillee RJ, Matin SF, Russo P, Uzzo RG. Guideline for management of the clinical T1 renal mass. *J Urol* 2009;182:1271-9.

- 138) Kunkle DA, Chen DY, Greenberg RE, Viterbo R, Uzzo RG. Metastatic progression of enhancing renal masses under active surveillance is associated with rapid interval growth of the primary tumor. *J Urol* 2008;179(4):375.
- 139) Volpe A, Panzarella T, Rendon RA, Haider MA, Kondylis FI, Jewett MA. The natural history of incidentally detected small renal masses. *Cancer* 2004;100:738-45.
- 140) Frank I, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score. *J Urol* 2002;168:2395-400.
- 141) Walther MM, Choyke PL, Glenn G, Lyne JC, Rayford W, Venzon D, Linehan WM. Renal cancer in families with hereditary renal cancer: prospective analysis of a tumor size threshold for renal parenchymal sparing surgery. *J Urol* 1999;161:1475-9.
- 142) Bosniak MA. Observation of small incidentally detected renal masses. *Semin Urol Oncol* 1995;13:267-72.
- 143) Bosniak MA, Birnbaum BA, Krinsky GA, Waisman J. Small renal parenchymal neoplasms: further observations on growth. *Radiology* 1995;197:589-97.
- 144) Bosniak MA, Birnbaum BA, Krinsky GA, Waisman J. Small renal parenchymal neoplasms: further observations on growth. *Radiology* 1995;197(3):589-597.
- 145) MacLennan S, Imamura M, Lapitan MC, Omar MI, Lam ThBL, Hilvano-Cabungcal AM, Royle P, Stewart F, MacLennan G, MacLennan SJ, Dahm Ph, Canfield SE, McClinton S, Griffiths TRL, Ljungberg B, N'Dow J. Systematic review of perioperative and quality-of-life outcomes following surgical management of localised renal cancer. *Eur Urol* 2012;62:1097.
- 146) Steinberg AP, Finelli A, Desai MM, Abreu SC, Ramani AP, Spaliviero M, Rybicki L, Kaouk J, Novick AC, Gill IS. Laparoscopic radical nephrectomy for large (greater than 7 cm, T2) renal tumors. *J Urol* 2004;172:2172.
- 147) Hemal AK, Kumar A, Kumar R, Wadhwa P, Seth A, Gupta NP. Laparoscopic versus open radical nephrectomy for large renal tumors: a long-term prospective comparison. *J Urol* 2007;177:862.
- 148) Laird A, Choy KCC, Delaney H, Cutress ML, O'Connor KM, Tolley DA, McNeill SA, Stewart GD, Riddick ACP. Matched pair analysis of laparoscopic versus open radical nephrectomy for the treatment of T3 renal cell carcinoma. *World J Urol* 2015;33:25.

- 149) Gratzke Ch, Seitz M, Bayrle F, Schlenker B, Bastian PJ, Haseke N, Bader M, Tilki D, Roosen A, Karl A, Reich O, Khoder WY, Wyler S, Stief ChG, Staehler M, Bachmann A. Quality of life and perioperative outcomes after retroperitoneoscopic radical nephrectomy (RN), open RN and nephron-sparing surgery in patients with renal cell carcinoma. *BJU Int* 2009;104:470.
- 150) Lane BR, Gill IS. 7-year oncological outcomes after laparoscopic and open partial nephrectomy. *J Urol* 2010;183:473.
- 151) Gong EW, Orvieto MA, Zorn KC, Lucioni A, Steinberg GD, Shalhav AL. Comparison of laparoscopic and open partial nephrectomy in clinical T1a renal tumors. *J Endourol* 2008;22:953.
- 152) Marszalek M, Meixl H, Polajnar M, Rauchenwald M, Jeschke K, Madersbacher S. Laparoscopic and open partial nephrectomy: a matched-pair comparison of 200 patients. *Eur Urol* 2009;55:1171.
- 153) Choi JE, You JH, Kim DK, Rha KH, Lee SH. Comparison of perioperative outcomes between robotic and laparoscopic partial nephrectomy: a systematic review and meta-analysis. *Eur Urol* 2015;67:891.
- 154) Chang KD, Raheem AA, Kim KH, Oh ChK, Park SY, Kim YS, Ham WS, Han WK, Choi YD, Chung BH, Rha KH. Functional and oncological outcomes of open, laparoscopic and robot-assisted partial nephrectomy: a multicentre comparative matched-pair analyses with a median of 5 years' follow-up. *BJU Int* 2018;122:618.
- 155) Ljungberg B, Bensalah K, Bex A, Canfield S, Dabestani S, Hoffman F, Hora M, Kuczyk MA, Lam T, Marconi L, Merseburger AS, Mulders PFA, Staehler M, Volpe A. Guidelines on Renal Cell Carcinoma 2013.
- 156) Patard JJ, Shvarts O, Lam JS, Pantuck AJ, Kim HL, Ficarra V, Cindolo L, Han KR, De La Taille A, Tostain J, Artibani W, Abbou CC, Lobel B, Chopin DK, Figlin RA, Mulders PF, Belldegrun AS. Safety and efficacy of partial nephrectomy for all T1 tumors based on an international multicenter experience. *J Urol* 2004;171:2181-5, quiz 2435.
- 157) Lane BR, Campbell SC, Gill IS. 10-year oncologic outcomes after laparoscopic and open partial nephrectomy. *J Urol* 2013;190:44.
- 158) Thompson RH, Boorjian SA, Lohse ChM, Leibovich BC, Kwon ED, Chevillie JC, Blute ML. Radical nephrectomy for pT1a renal masses may be associated with decreased overall survival compared with partial nephrectomy. *J Urol* 2008;179:468.
- 159) Huang WC, Elkin EB, Levey AS, Jang ThL, Russo P. Partial nephrectomy versus radical nephrectomy in patients with small renal

- tumors - is there a difference in mortality and cardiovascular outcomes?
J Urol 2009;181:55.
- 160) Miller DC, Schonlau M, Litwin MS, Lai J, Saigal ChS. Renal and cardiovascular morbidity after partial or radical nephrectomy. *Cancer* 2008;112:511.
 - 161) Capitanio U, Terrone C, Antonelli A, Minervini A, Volpe A, Furlan M, Matloob R, Regis F, Fiori C, Porpiglia F, Di Trapani E, Zacchero M, Serni S, Salonia A, Carini M, Simeone C, Montorsi F, Bertini R. Nephron-sparing techniques independently decrease the risk of cardiovascular events relative to radical nephrectomy in patients with a T1a-T1b renal mass and normal preoperative renal function. *Eur Urol* 2015;67:683.
 - 162) Scosyrev E, Messing EM, Sylvester R, Campbell S, Van Poppel H. Renal function after nephron-sparing surgery versus radical nephrectomy: results from EORTC randomized trial 30904. *Eur Urol* 2014;65:372.
 - 163) Kates M, Badalato GM, Pitman M, McKiernan JM. Increased risk of overall and cardiovascular mortality after radical nephrectomy for renal cell carcinoma 2 cm or less. *J Urol* 2011;186:1247.
 - 164) Flanigan RC, Mickisch G, Sylvester R, Tangen C, Van Poppel H, Crawford ED. Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cancer: a combined analysis. *J Urol* 2004;171:1071.
 - 165) Staehler MD, Kruse J, Haseke N, Stadler Th, Roosen A, Karl A, Stief ChG, Jauch KW, Bruns ChJ. Liver resection for metastatic disease prolongs survival in renal cell carcinoma: 12-year results from a retrospective comparative analysis. *World J Urol* 2010;28:543.
 - 166) Chen F, Fujinaga T, Shoji T, Miyahara R, Bando B, Okubo K, Hirata T, Date H. Pulmonary resection for metastasis from renal cell carcinoma. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2008; 7(5):825–828.
 - 167) Zerbi A, Ortolano E, Balzano G, Borri A, Beneduce AA, Di Carlo V. Pancreatic metastasis from renal cell carcinoma: which patients benefit from surgical resection? *Ann Surg Oncol* 2008;15:1161.
 - 168) Wah TM, Irving HC, Gregory W, Cartledge J, Joyce AD, Selby PJ. Radiofrequency ablation (RFA) of renal cell carcinoma (RCC): experience in 200 tumours. *BJU Int* 2014;113(3):416-28.
 - 169) Cornelis F, Buy X, André M, Oyen R, Bouffard-Vercelli J, Blandino A, Auriol J, Correas JM, Pluvinage A, Freeman S, Solomon SB, Grenier N. De novo renal tumors arising in kidney transplants: midterm outcome after percutaneous thermal ablation. *Radiology* 2011;260:900–7.

- 170) Lubner MG, Brace CL, Hinshaw JL, Lee FT. Microwave tumor ablation: mechanism of action, clinical results, and devices. *J Vasc Interv Radiol* 2010;21:S192–S203.
- 171) Psutka SP, Feldman AS, McDougal WS, McGovern FJ, Mueller P, Gervais DA. Long-term oncologic outcomes after radiofrequency ablation for T1 renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2013;63:486.
- 172) Breen DJ, King AJ, Patel N, Lockyer R, Hayes M. Image-guided Cryoablation for Sporadic Renal Cell Carcinoma: Three- and 5-year Outcomes in 220 Patients with Biopsy-proven Renal Cell Carcinoma. *Radiology* 2018;289:554.
- 173) Maxwell NJ, Amer NS, Rogers E, Kiely D, Sweeney P, Brady AP. Renal artery embolisation in the palliative treatment of renal carcinoma. *Br J Radiol* 2007;80:96.
- 174) Lamb GWA, Bromwich EJ, Vasey P, Aitchison M. Management of renal masses in patients medically unsuitable for nephrectomy - natural history, complications, and outcome. *Urology* 2004;64:909.
- 175) Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Rutkowski P, Grob JJ, Cowey ChL, Lao ChD, Schadendorf D, Ferrucci PF, Smylie M, Dummer R, Hill AG, Haanen J, Maio M, McArthur GA, Yang A, Rollin L, Horak ChE, Larkin J, and Hodi FS. Efficacy and safety results from a phase III trial of nivolumab (NIVO) alone or combined with ipilimumab (IPI) versus IPI alone in treatment-naïve patients (pts) with advanced melanoma (MEL) (CheckMate 067). *J Clin Oncol* 2015. ASCO Annual Meeting. Abstracts 31:15_suppl.
- 176) Berman D, Korman A, Peck R, Feltquate D, Lonberg N, Canetta R. The development of immunomodulatory monoclonal antibodies as a new therapeutic modality for cancer: The Bristol-Myers Squibb experience. *Pharmacol Ther.* 2015;148:132-53.
- 177) Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, Tykodi SS, Sosman JA, Procopio G, Plimack ER, Castellano D, Choueiri TK, Gurney H, Donskov F, Bono P, Wagstaff J, Gaurer ThC, Ueda T, Tomita Y, Schutz FA, Kollmannsberger Ch, Larkin J, Ravaud A, Simon JS, Xu LA, Waxman LM, Sharma P. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2015;373:1803-1813.
- 178) Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, Frontera OA, Melichar B, Choueiri TK, Plimack ER, Barthélémy Ph, Porta C, George S, Powles Th, Donskov F, Neiman V, Kollmannsberger ChK, Salman P, Gurney H, Hawkins R, Ravaud A, Grimm MO, Bracarda S, Barrios CH, Tomita Y, Castellano D, Rini BI, Chen AC, Mekan S, McHenry MB, Wind-

- Rotolo M, Doan J, Sharma P, Hammers H, Escudier B. Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2018;378:1277-1290.
- 179) Motzer RJ, Rini BI, McDermott DF, Frontera OA, Hammers HJ, Carducci MA, Salaman P, Escudier B, Beuselinck B, Amin A, Porta C, George S, Neiman V, Bracarda S, Tykodi SS, Barthélémy Ph, Leibowitz-Amit R, Plimack E, Oosting SF, Redman B, Melichar B, Powles Th, Nathan P, Oudard S, Pook D, Choueiri TK, Donskov F, Grimm MO, Gurney H, Heng DYC, Kollmannsberger ChK, Harrison MR, Tomita Y, Duran I, Grünwald V, McHenry MB, Mekan S, Tannir NM. Nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib in first-line treatment for advanced renal cell carcinoma: extended follow-up of efficacy and safety results from a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2019;20:1370-1385.
- 180) Rini BI, Plimack ER, Stus V, Gafanov R, Hawkins R, Nosov D, Pouliot F, Alekseev B, Soulières D, Melichar B, Vynnychenko I, Kryzhanivska A, Bondarenko I, Azevedo S.J, Borchiellini D, Szczylik C, Markus M, McDermott RS, Bedke J, Tartas S, Chang YH, Tamada S, Shou Q, Perini RF, Chen M, Atkins MB, Powles T. Pembrolizumab plus axitinib versus sunitinib for advanced renal cell carcinoma. *N Engl J Med* 2019;580(12):1116-1127.
- 181) Choueiri TK, Powles T, Burotto M, Bourlon MT, Zurawski B, Oyervides Juárez VM, Hsieh JJ, Basso U, Shah AY, Suarez C, Hamzaj A, Barrios CH, Richardet M, Pook D, Tomita Y, Escudier B, Zhang J, Simsek B, Apolo AB, Motzer RJ. Nivolumab+cabozantinib vs sunitinib in first-line treatment for advanced renal cell carcinoma: first results from the randomized phase III CheckMate 9ER trial. *Ann Oncol* 2020;31(suppl4):S1142-S1215.
- 182) Daniunaite K, Jarmalaite S, Kalinauskaite N, Petroska D, Laurinavicius A, Lazutka JR, Jankevicius F. Prognostic value of RASSF1 promoter methylation in prostate cancer. *J Urol* 2014;192(6):1849-55.
- 183) Finelli A, Ismaila N, Bro B, Durack J, Eggener S, Evans A, Gill I, Graham D, Huang W, Jewett MAS, Latcha S, Lowrance W, Rosner M, Shayegan B, Thompson RH, Uzzo R, Russo P. Management of small renal masses: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *J Clin Oncol* 2017;35(6):668–680.
- 184) Leveridge MJ, Finelli A, Kachura JR, Evans A, Chung H, Shiff DA, Fernandes K, Jewett MA. Outcomes of small renal mass needle core biopsy, nondiagnostic percutaneous biopsy, and the role of repeat biopsy. *Eur Urol* 2011;60:578–584.

- 185) Park SY, Park BK, Kim CK, Kwon GY. Ultrasound-guided core biopsy of small renal masses: Diagnostic rate and limitations. *J Vasc Interv Radiol* 2013;24:90–96.
- 186) Richard PO, Jewett MA, Tanguay S, Saarela O, Liu ZA, Pouliot F, Kapoor A, Rendon R, Finelli A. Safety, reliability and accuracy of small renal tumour biopsies: Results from a multi-institution registry. *BJU Int* 2017;119:543–549.
- 187) Chopra S, Liu J, Alemozaffar M, Nichols PW, Aron M, Weisenberger DJ, Collings CK, Syan S, Hu B, Desai M, Aron M, Duddalwar V, Gill I, Liang G, Siegmund KD. Improving needle biopsy accuracy in small renal mass using tumor-specific DNA methylation markers. *Oncotarget* 2017;8(3):5439-5448.
- 188) Mitchell TJ, Turajlic S, Rowan A, Nicol D, Farmery JHR, O'Brien T, Martincorena I, Tarpey P, Angelopoulos N, Yates LR, Butler AP, Raine K, Stewart GD, Challacombe B, Fernando A, Lopez JI, Hazell S, Chandra A, Chowdhury S, Rudman S, Soultati A, Stamp G, Fotiadis N, Pickering L, Au L, Spain L, Lynch J, Stares M, Teague J, Maura F, Wedge DC, Horswell S, Chambers T, Litchfield K, Xu H, Stewart A, Elaidi R, Oudard S, McGranahan N, Csabai I, Gore M, Futreal PA, Larkin J, Lynch AG, Szallasi Z, Swanton C, Campbell PJ, TRACERx Renal Consortium. Timing the Landmark Events in the Evolution of Clear Cell Renal Cell Cancer: TRACERx Renal. *Cell* 2018;173(3):611-623.
- 189) Turajlic S, Xu H, Litchfield K, Rowan A, Chambers T, Lopez JI, Nicol D, O'Brien T, Larkin J, Horswell S, Stares M, Au L, Jamal-Hanjani M, Challacombe B, Chandra A, Hazell S, Eichler-Jonsson C, Soultati A, Chowdhury S, Rudman S, Lynch J, Fernando A, Stamp G, Nye E, Jabbar F, Spain L, Lall S, Guarch R, Falzon M, Proctor I, Pickering L, Gore M, Watkins TBK, Ward S, Stewart A, DiNatale R, Becerra MF, Reznik E, Hsieh JJ, Richmond TA, Mayhew GF, Hill SM, McNally CD, Jones C, Rosenbaum H, Stanislaw S, Burgess DL, Alexander NR, Swanton C, PEACE, TRACERx Renal Consortium. Tracking Cancer Evolution Reveals Constrained Routes to Metastases: TRACERx Renal. *Cell* 2018;173(3):581-594.
- 190) Turajlic S, Xu H, Litchfield K, Rowan A, Horswell S, Chambers T, O'Brien T, Lopez JI, Watkins TBK, Nicol D, Stares M, Challacombe B, Hazell S, Chandra A, Mitchell TJ, Au L, Eichler-Jonsson C, Jabbar F, Soultati A, Chowdhury S, Rudman S, Lynch J, Fernando A, Stamp G, Nye E, Stewart A, Xing W, Smith JC, Escudero M, Huffman A, Matthews N, Elgar G, Phillimore B, Costa M, Begum S, Ward S, Salm M, Boeing S, Fisher R, Spain L, Navas C, Grönroos E, Hobor S, Sharma

- S, Aurangzeb I, Lall S, Polson A, Varia M, Horsfield C, Fotiadis N, Pickering L, Schwarz RF, Silva B, Herrero J, Luscombe NM, Jamal-Hanjani M, Rosenthal R, Birkbak NJ, Wilson GA, Pipek O, Ribli D, Krzystanek M, Csabai I, Szallasi Z, Gore M, McGranahan N, Van Loo P, Campbell P, Larkin J, Swanton C, TRACERx Renal Consortium. Deterministic Evolutionary Trajectories Influence Primary Tumor Growth: TRACERx Renal. *Cell* 2018;173(3):595-610.
- 191) Daugherty M, Sedaghatpour D, Shapiro O, Vourganti S, Kutikov A, Bratslavsky G. The metastatic potential of renal tumors: Influence of histologic subtypes on definition of small renal masses, risk stratification, and future active surveillance protocols. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 2017;35(4):153.e15-153.e20.
- 192) Wei He, Zhuo Liu, Yu Tian, Yuxuan Li, Chuxiao Xu, Ruotao Xiao, Peng Hong, Shiyang Tang, Liyuan Ge, Xun Zhao, Guodong Zhu, Hongxian Zhang, Cheng Liu, Lulin Ma. Predictive Factors Affecting Metastasis of Small Renal Mass and Its Prognostic Analysis. *Clinical Medicine Insights: Oncology* 2022;16:1-8
- 193) S. Iff, Craig JC, Turner R, Chapman JR, Wang JJ, Mitchell P, Wong G. Reduced estimated GFR and cancer mortality. *Am J Kidney Dis* 2014;63(1):23-30.
- 194) Schiavina R, Borghesi M, Dababneh H, Bianchi L, Longhi B, Diazzi D, Monti C, Manna GL, Martorana G, Brunocilla E. Small renal masses managed with active surveillance: predictors of tumor growth rate after long-term follow-up. *Clin Genitourin Cancer* 2015;13(2):87-92.
- 195) Jewett MA, Mattar K, Basiuk J, Morash CG, Pautler SE, Siemens DR, Tanguay S, Rendon RA, Gleave ME, Drachenberg DE, Chow R, Chung H, Chin JL, Fleshner NE, Evans AJ, Gallie BL, Haider MA, Kachura JR, Kurban G, Fernandes K, Finelli A. Active surveillance of small renal masses: progression patterns of early-stage kidney cancer. *Eur Urol* 2011;60:39.
- 196) Valenta T, Hausmann G, Basler K. The many faces and functions of β -catenin. *The EMBO J* 2012;31(12):2714–2736.
- 197) Mo S, Su Z, Heng B, Chen W, Shi L, Du X, Lai C. SFRP1 Promoter Methylation and Renal Carcinoma Risk: A Systematic Review and Meta- Analysis. *J Nippon Med Sch* 2018;85(2):78-86.
- 198) Loosen SH, Kostev K, Luedde M, Luedde T, Roderburg C. Low blood levels of high-density lipoprotein (HDL) cholesterol are positively associated with cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2022;148(11): 3039–3046.

- 199) Zhang C, Yu L, Xu T, Hao Y, Zhang X, Liu Z, Xiao Y, Wang X, Zeng Q. Association of Dyslipidemia with Renal Cell Carcinoma: A 1:2 Matched Case-Control Study. *PLoS One* 2013;8(3):e59796.
- 200) Onwuka JU, Okekunle AP, Olutola OM, Akpa OM, Feng R. Lipid profile and risk of ovarian tumours: a meta-analysis. *BMC Cancer* 2020;20:200.
- 201) Haddy N, Sass C, Droesch S, Zaiou M, Siest G, Ponthieux A, Lambert D, Visvikis S. IL-6, TNF- α and atherosclerosis risk indicators in a healthy family population: the STANISLAS cohort. *Atherosclerosis* 2003;170:277–283.
- 202) Celik S, Cini N, Atasoy O, Erbas O. Stress and Cancer. *Journal of Experimental and Basic Medical Sciences* 2021;2(1):76-79
- 203) Schmidinger M, Porta C, Oudard S, Denechere G, Brault Y, Serfass L, Costa N, Larkin J. Real-world Experience With Sunitinib Treatment in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma: Clinical Outcome According to Risk Score. *Clin Genitourin Cancer* 2020;18(5): e588-e597.
- 204) Shwab M, Hofmann R, Heers H, Hegele A. mRCC Outcome in the Treatment of Metastatic Renal Cell Carcinoma – A German Single-center Real-world Experience. *In Vivo*.2018;32(6): 1617–1622.
- 205) Klatte T, Fife K, Welsh SJ, Sachdeva M, Armitage JN, 'Aho T, Riddick AC, Matakidou A, Eisen T, Stewart GD. Prognostic effect of cytoreductive nephrectomy in synchronous metastatic renal cell carcinoma: a comparative study using inverse probability of treatment weighting. *World J Urol* 2018;36:417–425.
- 206) Heng DY, Wells JC, Rini BI, Beuselinck B, Lee JL, Knox JJ, Bjarnason GA, Pal SK, Kollmannsberger CK, Yuasa T. Cytoreductive nephrectomy in patients with synchronous metastases from renal cell carcinoma: results from the International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium. *Eur Urol* 2014;66:704–710.
- 207) Bruijn RE, Nijkamp J, Noe A, Horenblas S, Haanen JBAG, Prevo W, Bex A. Baseline tumor volumes in assessing prognosis of patients with intermediate-risk synchronous metastatic renal cell carcinoma. *Urol Oncol* 2016;34(6):258.
- 208) Alt AL, Boorjian SA, Lohse CM, Costello BA, Leibovich BC, Blute ML. Survival after complete surgical resection of multiple metastases from renal cell carcinoma. *Cancer* 2011;117:2873.
- 209) Kwak C, Park YH, Jeong CW, Lee SE, Ku JH. Metastasectomy without systemic therapy in metastatic renal cell carcinoma: comparison with conservative treatment. *Urol Int* 2007;79:145.

- 210) Verbiest A, Roussel E, Tosco L, Joniau S, Laenen A, Clement P, Wozniak A, Albersen M, Beuselinck B. Long-Term Outcomes in Clear-Cell Renal Cell Carcinoma Patients Treated with Complete Metastasectomy. *Kidney Cancer* 2020;4(4):177-183.
- 211) Staehler MD, Kruse J, Haseke N, Stadler T, Bruns CJ, Graeb C, Hatz R, Jauch KW, Stief C G. Metastasectomy significantly prolongs survival in patients with metastatic renal cell cancer. *J Urol* 2009;181:498.
- 212) Eggener SE, Yossepowitch O, Kundu S, Motzer RJ, Russo P. Risk score and metastasectomy independently impact prognosis of patients with recurrent renal cell carcinoma. *J Urol* 2008;180:873.
- 213) Lee SE, Kwak C, Byun S, Gill MC, Chang IH, Kim YJ, Hong SK. Metastatectomy prior to immunochemotherapy for metastatic renal cell carcinoma. *Urol Int* 2006;76:256.
- 214) Jain RK, Gandhi S, George S. Second-line systemic therapy in metastatic renal-cell carcinoma: a review. *Urol Oncol* 2017;35(11):640–646.
- 215) Zarrabi K, Fang C, Wu S. New treatment options for metastatic renal cell carcinoma with prior anti-angiogenesis therapy. *J Hematol Oncol* 2017;10(1):38.
- 216) Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Oudard S, Negrier S, Szczylik C, Pili R, Georg AB, Garcia-del-Muro X, Sosman JA, Solska E, Wilding G, Thompson JA, Kim ST, Chen I, Huang X, Figlin RA. Overall Survival and Updated Results for Sunitinib Compared with Interferon Alfa in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Journal of Clinical Oncology* 2009;27(22):3584-3590.
- 217) Quhal F, Mori K, Bruchbacher A, Resch I, Mostafaei H, Pradere B, Schuettfort VM, Laukhtina E, Egawa S, Fajkovic H, Remzi M, Shariat SF, Schmidinger M. First-line Immunotherapy-based Combinations for Metastatic Renal Cell Carcinoma: A Systematic Review and Network Meta-analysis. *European Urology Oncology*. 2021;4(5):755-765.
- 218) Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, Burotto M, Choueiri TK, Hammers HJ, Plimack ER, Porta CG, George S, Powles TB, Donskov F, Gurney H, Kollmannsberger CK, Grimm M-O, Tomita Y, Rini BI, McHenry MB, Lee C-W, Escudier B. Conditional survival and 5-year follow-up in CheckMate 214: First-line nivolumab + ipilimumab (N+I) versus sunitinib (S) in advanced renal cell carcinoma (aRCC). *Ann Oncol* 2021;32:S68.

PRIEDAI

1 Priedas



VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETAS

Viešoji įstaiga, Universiteto g. 3, LT-01513 Vilnius, tel. (8 5) 268 7001, faks. (8 5) 272 8646, el. p. infor@cr.vu.lt.

Duomenys kaupiami ir saugomi Juridinių asmenų registre, kodas 211950810.

Fakulteto duomenys: M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101 Vilnius, tel. (8 5) 239 8701, (8 5) 239 7800, faks. (8 5) 239 8705, el. p. mf@mf.vu.lt

VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS

M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101 Vilnius, tel. (8 5) 268 6998, el. p. rbtek@mf.vu.lt

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2017-10-03 Nr.158200-17-952-457

Tyrimo pavadinimas:

Aktyviai stebimų inkstų navikų studija

Protokolo Nr.: 1
Versija: 2
Data: 2017-09-27

Informuoto asmens sutikimo forma: 2
2017-09-27

Pagrindinis tyrėjas: **Albertas Ulys**

Įstaigos pavadinimas: Nacionalinis vėžio institutas
Adresas: Santariškių g. 1, LT-08660, Vilnius

Leidimas galioja iki: **2025-10**

Leidimas išduotas Vilniaus regioninio biomedicininį tyrimų etikos komiteto posėdžio (protokolas Nr. 158200-2017/10), vykusio 2017 m. spalio 3 d. sprendimu.

Pirmininkas

Saulius Vosylius



**LEIDIMAS
ATLIKTI BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ**

2019-02-26 Nr.2019/2-1074-586

Tyrimo pavadinimas:

Predikciniai žymenys agresyvios eigos inkstų vėžio gydymo individualizavimui taikant biologinę terapiją su citoredukicine nefrektomija ir be jos

Protokolo Nr.: 1
Versija: 4
Data: 2019-01-16
Informuoto asmens sutikimo forma: 4
2019-01-16

Pagrindinis tyrėjas: **Albertas Ulys**

Istaigos pavadinimas: Nacionalinis Vėžio Institutas
Adresas: Santariškių g.1, Vilnius

Leidimas galioja iki: **2026 11**

Leidimas išduotas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto posėdžio (protokolas Nr. 2019/2), vykusio 2019 m. vasario 26 d. sprendimu.

Pirmininkas

prof. dr. (HP) Saulius Vosylius

3 priedas: Charlson gretutinių ligų indeksas (CCI)

Klinikinės sąlygos ir balai:

1 kiekvienam: miokardo infarktas, įgimtas širdies nepakankamumas, periferinių kraujagyslių liga, demencija, galvos smegenų kraujagyslių liga, lėtinė plaučių liga, jungiamojo audinio ligos, skrandžio opaligė, lengvo laipsnio kepenų liga, cukrinis diabetas.

2 kiekvienam: hemiplegija, vidutinio sunkumo arba sunki inkstų liga, cukrinis diabetas su organų pažeidimu, navikas (be metastazių), leukemija, limfoma.

3 Kiekvienam: Vidutinio sunkumo ar sunki kepenų liga.

6 kiekvienam: metastazavęs navikas, AIDS.

Amžius:

-49: 0 taškų

50-59: 1 taškas

60-69: 2 taškai

70-79: 3 taškai

80-89: 4 taškai

90-99: 5 taškai

100+: 6 taškai

4 priedas: ECOG kriterijai

Aktyvumo kriterijai:

SKALĖ	KATEGORIJA
0	Visiškai aktyvus, gali darbus atlikti be apribojimų. (Karnofsky 90-100)
1	Ribota, fiziškai sunki veikla, bet gali atlikti sėdimo pobūdžio darbus ar darbus šviesoje, pvz, namų ruoša, biuro darbai. (Karnofsky 70-80)
2	Gali pasirūpinti savimi, bet negali atlikti darbo be pagalbos. $\leq 50\%$ nedarbingas. (Karnofsky 50-60)
3	Ribotos galimybės pasirūpinti savimi, dalinai prikaustytas prie lovos ar kėdės. $\geq 50\%$ nedarbingas. (Karnofsky 30-40)
4	Visiškai nedarbingas, negali savimi pasirūpinti. Visiškai prikaustytas prie lovos ar kėdės. (Karnofsky 10-20)

5 priedas: Radiologas

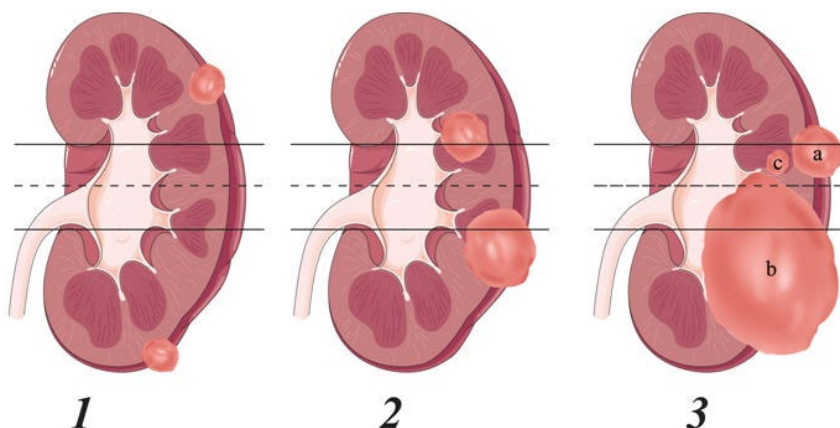
Priekinis - nugarinis diametras (X)	mm
Šoninis - šoninis diametras (Y)	mm
Išilginis diametras (Z)	mm
Maksimalus diametras	mm
Naviko tūris ($0,5326 \times X \times Y \times Z$)	mm³

6 priedas: Priešoperaciniai aspektai ir matmenys, naudojant anatomicinę (PADUA) vertinimo sistemą

Anatominės savybės *	Balas
Išilginė (poliaus) vieta	
Viršutinis/apatinis	1
Vidurinis	2
Egzofitinis lygis	
>=50%	1
<50%	2
Endofitinis	3
Inksto briauna	
Lateralinis arba šoninis	1
Medialinis arba vidinis	2
Inksto sinusas	
Neįtrauktas	1
Įtrauktas	2
Kolektorinė sistema	
Neįtraukta	1
Dislokuota/infiltruota	2
Naviko dydis (cm)	
<=4	1
4,1-7	2
>7	3
*Priekinis ar nugarinis paviršius gali būti pažymėtas „a“ ar „p“ raidėmis, kurie būtų prirašyti prie skaičių sumos.	

7 priedas: R.E.N.A.L vertinimo balų sistema

	1 balas	2 balai	3 balai
(R) adius – maksimalus naviko diametras (cm)	≤4	>4 bet <7	≥7
(E) xophytic/endophytic-egzofitinis/endofitinis navikas	≥50%	<50%	Visiškai endofitinis
(N) earness – atstumas tarp naviko ir inksto kolektorinės sistemos (mm)	≥7	>4 bet <7	≤4
(A) nterior or posterior – naviko lokalizacija inksto paviršiuose	Taškų neskiriama. Apibūdinama a,p ar x		
(L) ocation – naviko lokalizacija inksto poliuose* * <i>h</i> – jei navikas prie vartų ir spaudžia inkstų kojų veną ar arteriją	aukščiau viršutinės arba žemiau apatinės poliaus linijos	Pažeidimas kerta poliaus liniją	>50 % naviko yra visoje poliaus linijoje (a); navikas kerta ašinę inksto vidurio liniją (b); navikas yra visiškai tarp polinių linijų (c)



8 priedas: Metabolinio sindromo diagnostiniai kriterijai

JAV Nacionalinė cholesterolio mokymo programa (NCEP/ATP III) nustatė metabolinio sindromo diagnostikos kriterijus.

NCEP/ATP III rekomendacijos

Pagal NCEP/ATP III rekomendacijas, metabolinis sindromas yra diagnozuojamas, jei yra nustatomi bent 3 ar daugiau iš šių požymių:

Požymiai	Vertinimas Yra/nėra
Juosmens apimtis >102 cm vyrams ar >88 cm moterims	
Trigliceridų koncentracija serume $\geq 1,7$ mmol/l	
DTL serume <1,03 mmol/l vyrams ar <1,29 mmol/l moterims	
Kraujo spaudimas $\geq 130/85$ mmHg	
Glikemija serume $\geq 5,6$ mmol/l.	
Viso	

NCEP/ATP III rekomendacijose pilvinis nutukimo tipas yra laikomas kaip svarbesnis rizikos veiksnys nei padidėjęs KMI. Dėl to visi pacientai, kuriems yra pilvinis nutukimas, yra priskiriami padidėjusios metabolinio sindromo rizikos grupei.

9 priedas: Ligoninės nerimo ir depresijos skalė (HADS)

Visi 14 klausimų yra vertinami balais (apibraukti)

1. Jaučiuosi įsitempęs/usi arba ignoruojamas/a	<i>Daugiausi a laiko</i>	<i>Daug laiko</i>	<i>Kartais</i>	<i>Visai ne</i>
2. Mane džiugina dalykai, prie kurių aš pripratęs	<i>Tikrai taip</i>	<i>Ne visai</i>	<i>Šiek tiek</i>	<i>Vargu ar išvis</i>
3. Jaučiu nerimą, kad kažkas blogo nutiks	<i>Taip, dažnai</i>	<i>Taip, bet ne per daug</i>	<i>Šiek tiek, bet manęs tai nejaudina</i>	<i>Visai ne</i>
4. Galiu juoktis ir tam tikroje situacijoje įžvelgti linksmą pusę	<i>Kaip ir visada</i>	<i>Ne visai</i>	<i>Tikrai ne tiek daug dabar</i>	<i>Visai ne</i>
5. Nerimą keliančios mintys visada galvoje	<i>Daugiausi a laiko</i>	<i>Daug laiko</i>	<i>Ne per dažnai</i>	<i>Labai mažai</i>
6. Jaučiuosi linksmas	<i>Niekada</i>	<i>Ne dažnai</i>	<i>Kartais</i>	<i>Daugiau sia laiko</i>
7. Jaučiuosi ramus ir atsipalaidavęs	<i>Tikrai taip</i>	<i>Dažniausiai</i>	<i>Retai</i>	<i>Visai ne</i>
8. Jaučiuosi, kad mano veiksmai sulėtėję	<i>Beveik visą laiką</i>	<i>Labai dažnai</i>	<i>Kartais</i>	<i>Visai ne</i>
9. Būna staigus trumpas išgąstis	<i>Visai ne</i>	<i>Retkarčiais</i>	<i>Gana dažnai</i>	<i>Labai dažnai</i>
10. Manęs nedomina mano išvaizda	<i>Tikrai taip</i>	<i>Aš neprisižiūriu, kiek turėčiau</i>	<i>Aš negaliu prisiziūrėti, kiek man reikia</i>	<i>Aš prisiziūriu tiek, kiek ir ankščiau</i>
11. Jaučiu nerimą, kuris įtakoja mano veiklą	<i>Tikrai labia daug</i>	<i>Per daug</i>	<i>Nelabai daug</i>	<i>Visai ne</i>
12. Su malonumu laikiu dalykų	<i>Tiek, kiek ir ankščiau</i>	<i>Mažiau, negu ankščiau</i>	<i>Gerokai mažiau, negu ankščiau</i>	<i>Vargu ar išvis</i>
13. Man staiga prasideda panikos priepuoliai	<i>Labai dažnai</i>	<i>Gana dažnai</i>	<i>Nelabai</i>	<i>Visai ne</i>
14. Galiu mėgautis gera knyga, radijos ar televizijos programa	<i>Dažnai</i>	<i>Kartais</i>	<i>Ne dažnai</i>	<i>Labai retai</i>

10 priedas: EORTC QLQ-C30 klausimynas

Reikalinga informacija apie jus ir jūsų sveikatą. Prašome atsakyti į visus klausimus. Apibraukite

Jums geriausiai tinkančius. Jūsų pateikta informacija bus visiškai konfidenciali.

Jūsų gimimo data (diena, mėnuo, metai):

Šios dienos data (diena, mėnuo, metai):

1. Ar turite kokių nors problemų atliekant sunkesnę veiklą, (pvz. sunku nešti didesnę pirkinių krepšį arba lagaminą)?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
2. Ar vargina ilgesni pasivaikščiavimai?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
3. Ar vargina vaikščiojimas trumpom distancijom?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
4. Ar Jums reikia per dieną gulėti lovoje ar sėdėti kėdėje?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
5. Ar Jums reikia pagalbos pavalgyti, apsirengti, apsipausti ar naudotis tualetu?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
Per paskutinę savaitę:				
6. Jums ribotas bet kokio pobūdžio darbas?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
7. Jums riboti pomėgiai ar kita laisvalaikio veikla?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
8. Ar buvo dusulys?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
9. Ar turėjote skausmų?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
10. Ar jums reikėjo pailsėti?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
11. Ar turėjote problemų su miegu?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
12. Ar jautėte silpnumą?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
13. Ar vargino apetito stoka?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai
14. Ar jautėte šleikštulį?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai

15. Ar vėmėte?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
16. Ar jums buvo užkietėję viduriai?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
17. Ar viduriavote?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
18. Ar Jūs jaučiatės pavargusi/ęs?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
19. Ar skausmas trukdė kasdienėje veikloje?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
20. Ar buvo sunku susikaupti (pvz. skaitant laikraštį ar žiūrint televizorių?)	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
21. Ar jautėte įtampą?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
22. Ar jūs nerimavote?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
23. Ar buvote suirzusi/ęs?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
24. Ar jautėtės nusiminusi/ęs?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
25. Ar buvo sunku atsiminti?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
26. Ar jūsų fizinė būklė ar medikamentinis gydymas turėjo įtakos šeimos gyvenime?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
27. Ar jūsų fizinė būklė ar medikamentinis gydymas turėjo įtakos visuomeninei veikla?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
28. Ar jūsų fizinė būklė ar medikamentinis gydymas sukėlė jums finansinių sunkumų?	Visai ne	Trupučių	Daugiau taip	Labai		
Prašome apibraukti Jums geriausiai tinkantį skaičių						
29. Kaip Jūs vertinate savo sveikatą per pastarąją savaitę?						
1	2	3	4	5	6	7
Labai prastai					←	→
Puikiai						
30. Kaip Jūs vertinate savo bendrą gyvenimo kokybę per pastarąją savaitę?						
1	2	3	4	5	6	7
Labai prastai					←	→
Puikiai						

11 priedas. Biomarkerių metilimo lygio pokyčių tiriamų pacientų šlapimuose ir asociacijos su demografiniais ir klinikiniais rodikliais.

Klinikiniai, demografiniai rodikliai	ZNF677	FBN2	PCDH8	TFAP2B	TAC1	FLRT2
Lytis (Vyrai vs. Moteris)	Zad = -2,52; P = 0,092	Zad = -0,50; P = 0,769	Zad = -2,64; P = 0,009	Zad = -2,04; P = 0,042	Zad = -0,96; P = 0,347	Zad = -1,17; P = 0,392
Amžius diagnozės metu (metai)	Rs = 0,22; P = 0,185	Rs = 0,11; P = 0,488	Rs < 0,01; P = 0,991	Rs = 0,24; P = 0,144	Rs = 0,23; P = 0,156	Rs = 0,06; P = 0,717
Kūno masės indeksas	Rs = -0,13; P = 0,429	Rs = 0,16; P = 0,352	Rs = 0,02; P = 0,887	Rs = -0,14; P = 0,404	Rs = 0,12; P = 0,520	Rs = -0,13; P = 0,449
Nutukimas (Taip vs. Ne)	Zad = 0,21; P = 0,897	Zad = 1,11; P = 0,496	Zad = 0,75; P = 0,478	Zad = -0,41; P = 0,696	Zad = 0,79; P = 0,443	Zad = 0,25; P = 0,874
PAH (Taip vs. ne)	Zad = 0,83; P = 0,599	Zad = 0,76; P = 0,672	Zad = 0,11; P = 0,941	Zad = 1,27; P = 0,228	Zad = 1,59; P = 0,126	Zad = -0,71; P = 0,635
PAH trukmė (metai)	Rs = 0,08; P = 0,640	Rs = 0,12; P = 0,539	Rs = 0,23; P = 0,184	Rs = 0,07; P = 0,705	Rs = 0,14; P = 0,408	Rs = -0,07; P = 0,672
Cukrinis diabetas (Taip vs. Ne)	Zad = -0,93; P = 0,548	Zad = -1,64; P = 0,316	Zad = 0,47; P = 0,656	Zad = -0,31; P = 0,770	Zad = -0,17; P = 0,866	Zad = -1,44; P = 0,301
ECOG	H = 3,27; P = 0,514	H = 1,77; P = 0,779	H = 5,38; P = 0,251	H = 1,61; P = 0,806	H = 2,45; P = 0,654	H = 4,55; P = 0,336
Metabolinis sindromas (Taip vs. Ne)	Zad = -1,66; P = 0,287	Zad = -0,80; P = 0,613	Zad = -0,86; P = 0,405	Zad = -0,33; P = 0,757	Zad = 0,73; P = 0,482	Zad = -1,62; P = 0,245
Kita onkologinė liga (Taip vs. Ne)	Zad = -0,16; P = 0,929	Zad = -0,23; P = 0,900	Zad = 1,06; P = 0,322	Zad = 0,73; P = 0,484	Zad = 0,37; P = 0,734	Zad = -0,74; P = 0,603
Charlsono gretutinių ligų indeksas	Rs = -0,02; P = 0,907	Rs = -0,06; P = 0,700	Rs = 0,05; P = 0,745	Rs = 0,09; P = 0,578	Rs = 0,10; P = 0,545	Rs = -0,28; P = 0,092
Glomerulų filtracijos greitis	Rs = -0,07; P = 0,695	Rs = 0,04; P = 0,836	Rs = 0,05; P = 0,757	Rs = -0,29; P = 0,091	Rs = -0,32; P = 0,062	Rs = 0,07; P = 0,695
Kreatininas	Rs = -0,33; P = 0,048	Rs = 0,01; P = 0,970	Rs = -0,36; P = 0,028	Rs = -0,16; P = 0,332	Rs = 0,01; P = 0,943	Rs = -0,14; P = 0,406
Histologija (šviesių ląstelių vs. kt. subtipai)	Zad = 0,12; P = 0,939	Zad = -0,25; P = 0,890	Zad = 0,34; P = 0,747	Zad = -0,56; P = 0,590	Zad = -1,13; P = 0,272	Zad = -0,95; P = 0,488
Piktybiškumas pagal ISUP (2 vs. 1)	Zad = 0,46; P = 0,774	Zad = 0,15; P = 0,947	Zad = -0,23; P = 0,842	Zad = -0,72; P = 0,492	Zad = -0,53; P = 0,611	Zad = -0,39; P = 0,808
Naviko tūris (mm ³)						
Pirmas skenavimas, N=39	Rs = 0,14; P = 0,392	Rs = -0,28; P = 0,086	Rs = 0,32; P = 0,051	Rs = 0,15; P = 0,353	Rs = 0,15; P = 0,365	Rs = 0,11; P = 0,488
Antras skenavimas, N=37	Rs < -0,01; P = 0,990	Rs = 0,08; P = 0,659	Rs = 0,28; P = 0,100	Rs = -0,10; P = 0,581	Rs = 0,04; P = 0,803	Rs = -0,22; P = 0,195

<i>Trečias skenavimas, N=35</i>	Rs = 0,06; P = 0,710	Rs = 0,18; P = 0,306	Rs = 0,13; P = 0,442	Rs = -0,20; P = 0,256	Rs = 0,09; P = 0,588	Rs = -0,09; P = 0,607
<i>Ketvirtas skenavimas, N=26</i>	Rs = 0,06; P = 0,791	Rs = 0,07; P = 0,754	Rs = -0,09; P = 0,668	Rs = -0,07; P = 0,760	Rs = -0,20; P = 0,347	Rs = -0,29; P = 0,167
Naviko maksimalus diametras (mm)						
<i>Pirmas skenavimas, N=39</i>	Rs = 0,20; P = 0,222	Rs = -0,28; P = 0,088	Rs = 0,35; P = 0,028	Rs = 0,26; P = 0,107	Rs = -0,12; P = 0,475	Rs = 0,19; P = 0,255
<i>Antras skenavimas, N=37</i>	Rs = 0,03; P = 0,879	Rs = 0,13; P = 0,461	Rs = 0,28; P = 0,098	Rs = -0,10; P = 0,566	Rs = 0,04; P = 0,839	Rs = -0,21; P = 0,224
<i>Trečias skenavimas, N=35</i>	Rs = 0,08; P = 0,666	Rs = 0,16; P = 0,368	Rs = 0,13; P = 0,458	Rs = -0,17; P = 0,319	Rs = 0,11; P = 0,534	Rs = -0,04; P = 0,814
<i>Ketvirtas skenavimas, N=26</i>	Rs = 0,04; P = 0,867	Rs = -0,09; P = 0,694	Rs = -0,05; P = 0,814	Rs = -0,09; P = 0,682	Rs = -0,18; P = 0,403	Rs = -0,27; P = 0,198
Naviko dydžio pokytis stebėjimo metu						
<i>Tūris</i>	Rs = 0,03; P = 0,847	Rs = -0,14; P = 0,399	Rs = 0,01; P = 0,933	Rs = -0,33; P = 0,048	Rs = -0,19; P = 0,262	Rs = -0,41; P = 0,012
<i>Diametras</i>	Rs = -0,09; P = 0,593	Rs = -0,15; P = 0,384	Rs = -0,06; P = 0,722	Rs = -0,47; P = 0,004	Rs = -0,22; P = 0,201	Rs = -0,50; P = 0,002
Naviko progresija (Taip vs. Ne)	Zad = -0,11; P = 0,958	Zad = -1,61; P = 0,334	Zad = -0,70; P = 0,517	Zad = -2,38; P = 0,016	Zad = -1,18; P = 0,252	Zad = -1,96; P = 0,174

Rs - Spirmano koreliacijos koeficientas; Zad – Mann-Whitney Z pakoreguotas parametras; H – Kruskal-Wallis's H parametras; PAH – Pirminė arterinė hipertenzija; ISUP – ang. International Society of Urological Pathology grade.

SANTRAUKA

INTRODUCTION

Renal cell carcinoma is one of the most aggressive types of cancer in urology and accounts for 2-3 % of all adult cancers [1-3]. Over the past few decades, there has been a noticeable and steady increase in the number of kidney tumors diagnosed worldwide [4]. This upward trend can be attributed, in part, to advancements in diagnostic tests, leading to more accurate and timely identification of renal cell carcinoma cases [5, 6]. Currently, the incidence is high in Europe, North America and Australia. In Europe, most kidney tumors are diagnosed in the Czech Republic, Lithuania is in second place (13.2 cases per 100,000 inhabitants), Latvia and Estonia are next to each other [2]. Unfortunately, Lithuania leads the world in kidney cancer mortality - 4.9 cases per 100,000 inhabitants [2].

An increasing number of kidney tumors being detected in various age groups and at early stages is notable [5, 7]. In the early stages, renal cell carcinoma may not cause noticeable symptoms. This lack of symptoms can lead to delayed detection if routine screenings or diagnostic tests are not performed. Despite advancements in the detection of renal cell carcinoma, it's noteworthy that up to 30 % of patients are diagnosed with metastatic disease. Metastatic renal cell carcinoma is generally associated with a poorer prognosis compared to cases that are localized to the kidney. The spread of cancer cells to distant organs can limit treatment options and make management more challenging. Patients with advanced renal cancer have a historically poor prognosis, with a 5-year survival rate of less than 10 % [3].

The mainstay of treatment for small localized renal tumors is nephron-sparing surgery [8]. The five-year cancer-free survival rates for surgically treated localized renal tumors are very promising, typically around 97 % [9]. As the surgical technique improves, the risk of early and late complications decreases, but remains quite high, about 11-40 % [8, 10-12]. Mortality from comorbidities in patients with small renal tumors is known to increase with age, and surgical treatment may worsen overall survival. After 5 years, one third of elderly patients (70 years and older) will die of other causes [13]. Large studies [13, 14] suggest that small, incidentally detected renal tumors progress slowly, and mortality is significantly correlated with age and comorbidities. It has been noted that about 30 % of resected small renal tumors are benign, and as many as 87 % of confirmed cases of renal cell carcinoma are of low grade, and this becomes apparent only after surgery [15, 16].

Active surveillance can be therefore considered a reasonable strategy for elderly patients or patients with significant comorbidities who are not good surgical candidates [13, 17]. The concept of active surveillance implies a period of initial observation with a possible delayed active treatment reserved for those tumors that exhibit fast growth during follow-up. Especially since many scientific publications on active surveillance have clearly shown that incidentally detected small renal tumors have a slow growth rate and an asymptomatic clinic and the risk of metastasis is unlikely, reaching up to 2.25 % [18]. In the event of progression to metastasis, this group of patients would likely fall into the good and intermediate risk prognostic groups.

In case of metastatic disease, systemic treatment is applied. First-line drugs are multi-targeted tyrosine kinase inhibitors (TKIs) such as sunitinib [19] and pazopanib [20, 21]. They can be used alone or in combination with immunotherapy. In the past 4 years, six new immunotherapy (IM) drug combinations, such as IM-TKI and IM-IM regimens, have demonstrated significant clinical efficacy compared to the standard vascular endothelial growth factor (VEGF)-TKI sunitinib monotherapy [22]. Sunitinib is an inhibitor of platelet-derived growth factor (PDGF) receptors alpha and beta, VEGF 1-3 and other tyrosine kinases that stimulate angiogenesis. This drug has been successfully used worldwide for the treatment of metastatic renal cell carcinoma for more than 14 years [19]. Currently, according to the data of the European Society of Medical Oncology (ESMO) and the guidelines of the National Comprehensive Cancer Network (NCCN), sunitinib can be prescribed as a first-line treatment for patients with metastatic renal cell carcinoma in good and intermediate risk groups [23, 24].

RELEVANCE OF THE STUDY

Currently, the conducted studies of actively monitored small renal masses have some drawbacks, one of which is the lack of molecular and genetic data. It is necessary to identify reliable molecular markers of blood, urine and tissues, which would help the specialist in anticipating the rate of tumor growth, aggressiveness and risk of metastasis, thereby helping to choose the right treatment tactics and prevent metastatic disease.

An increased level of free circulating non-cellular DNA (cirDNA) is detected in the blood of cancer patients, which enters the blood during apoptosis, necrosis or autophagy of tumor cells [25]. During the above processes, tumor DNA can enter the body fluids and circulate them for some time in the form of cirDNA [26]. In kidney cancer, the most likely localization of cirDNA accumulation is urine. Genetic and epigenetic alterations specific

to tumor tissue can be detected in cirDNA [27]. There is a relationship between the amount of cirDNA in the blood plasma and the patient's response to treatment, i.e. increasing cirDNA levels are associated with poorer prognosis of the disease course, so cirDNA can be an informative diagnostic and prognostic marker [28].

Globally circulating DNA and miRNA studies are also widely performed in kidney cancer [29]. Predictive markers for kidney cancer diagnosis and metastasis are being studied, but reliable and specific markers have not yet been identified [30, 31]. The relationship between the molecular profile and tumor growth rate has not been studied.

In the search for informative kidney cancer-specific markers, it is very important to evaluate the effect of all possible etiological and risk factors on the molecular profile of kidney cancer.

Based on the fact that Lithuania has one of the highest rates of incidence and mortality of kidney cancer in Europe, it is necessary to evaluate the effectiveness of systemic treatment in patients with advanced kidney cancer.

AIM OF THE STUDY

To identify the most reliable molecular biomarkers of kidney tumor progression and to evaluate the effectiveness of advanced kidney cancer treatment in individual risk groups.

TASKS OF THE STUDY

- To assess the diagnostic and prognostic value of selected non-invasive biomarkers in the urine of patients diagnosed with small kidney tumors.
- To evaluate the clinical and pathological prognostic factors of rapid tumor growth and progression of small kidney tumors.
- To determine the prognostic value of non-invasive markers and possible correlations with clinical data in patients diagnosed with small kidney tumors.
- To analyze the effectiveness and survival rate of systemic treatment in patients with metastatic renal cell carcinoma in different risk groups.

NOVELTY AND SIGNIFICANCE OF THE STUDY

Kidney cancer is one of the most aggressive oncological diseases in urology. Lithuania has the highest death rate from kidney cancer in the world.

Approximately one-third of kidney cancer cases are still diagnosed at an advanced stage with evidence of metastasis. The presence of metastatic disease significantly impacts the treatment approach and prognosis. Many scientific publications prove that active, operative treatment for elderly patients with many comorbidities is not the most appropriate treatment option and increases mortality. Both short- and medium-term oncological results are increasingly convincing that active monitoring is an appropriate initial treatment strategy for small kidney tumors in selected patients (elderly and/or comorbidities), as most of them have a slow growth rate and an asymptomatic clinic, and the risk of metastasis is unlikely. Only later, if the tumor grows rapidly, is it actively treated.

Safe monitoring of kidney cancer requires non-invasive, molecular diagnostic tests to help distinguish aggressive forms of cancer. The next generation of diagnostic markers could become genetic and epigenetic alterations characteristic of kidney cancer. The study provides scientifically based information about the oncological safety of active monitoring of small kidney tumors, and identifies the prognostic factors of aggressive kidney cancer, which can help the urologist to choose the right treatment tactics.

Taking into account the high mortality rate in Lithuania, it is important to find out the causes of neglected kidney cancer, and management methods, and to evaluate the effectiveness of treatment of the widespread disease.

MATERIALS AND METHODS

Selection of patients and biosamples under active surveillance

Patients with small kidney tumors inclusion criteria encompass: (1) over 18 years; (2) incidental diagnosis at imaging (ultrasonography, CT, MRI) of a solid renal mass <4 cm in maximum diameter (pT1aN0M0); (3) histologically confirmed RCC by percutaneous needle biopsy at diagnosis, all RCC subtypes are eligible for the study; (4) patients inappropriate for active treatment due to advanced age, or co-morbidity, or choosing to avoid active treatment and signed informed consent. Patients exclusion criteria: (1) an estimated patient life expectancy of <1 year; (2) simultaneous systemic therapy for malignancy; (3) hereditary renal cancer syndrome, and/or had a nondiagnostic (noninformative) or benign biopsy.

The patients were included between March 2018 and October 2023 and monitored at the National Cancer Institute (Vilnius, Lithuania). A percutaneous biopsy of the renal mass was performed to histologically confirm the diagnosis of renal cell carcinoma. The histopathologic evaluation

of the cores was performed with hematoxylin and eosin (H&E) staining and specific histochemical and immunohistochemical stains when needed to identify specific subtypes of renal cell carcinoma. Approval from the Lithuanian Bioethics Committee was obtained, and all patients gave informed consent for participation.

Serial imaging with CT, MRI, or US has been performed approximately at 3, 6, and 12 months over 5 years. Tumor size was measured by maximal axial diameter. Tumor volume was calculated using the formula for ellipsoid volume calculation: $0.5236 \times X \times Y \times Z$. Tumor growth was reported in mm³/year (volume growth rate), mm/year referring to the largest 2 diameters at 90 degrees to each other (linear growth rate). Tumor progression was considered in the case of: (1) large size (tumor maximum diameter exceeds 4 cm in at least two measurements within 15 month), and/or (2) rapid growth (tumor volume doubling over any one-year period).

Serial urine samples were collected from the 39 patients diagnosed with small renal tumors at different active surveillance time points (165 samples in total): at the beginning of surveillance, and during follow-up. A voided urine sample from 92 asymptomatic volunteers from the previous study [22] was used as an asymptomatic control.

Urine samples (up to 100 mL) were centrifuged at 2000× g for 15 min at 4 °C. The supernatant was removed, and urine sediments were washed twice with phosphate-buffered saline. DNA from urine sediments (~2 mL) was released by treating samples for 18 h at 55 °C with 10 µL of proteinase K (Thermo Scientific™, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) in 500 µL of lysis buffer, consisting of 175 mM EDTA, 750 mM NaCl, 100 mM Tris-HCl (pH = 8.0), and 1% sodium dodecyl sulfate (all from Carl Roth, Karlsruhe, Germany). DNA was purified following the standard phenol-chloroform protocol as previously reported [32].

Selection of patients with advanced kidney cancer

The retrospective study population comprised patients aged 18 years and over with morphologically confirmed diagnoses of metastatic renal cell carcinoma (mainly clear cell carcinoma) having at least one measurable target according to Response Evaluation Criteria in Solid Tumours (RECIST) v1.1. According to IMDC, the patients were divided into favorable and intermediate-risk groups. The intermediate risk group was formed according to the number of risk factors (1 or 2), while the favorable risk group had no IMDC risk factors. According to metastasis number, the patients were divided into two groups: high disease burden (≥ 3 metastases) and low disease burden (<3 metastases).

Sunitinib in the first-line treatment was administered at a dose of 50 mg daily in cycles of 14 days on and 7 days off or 28 days on and 14 days off every 6 weeks. Second-line treatment with axitinib, cabozantinib, or nivolumab was administered in case of progression upon first-line treatment. Overall survival was defined as the time from treatment with sunitinib initiation until death or loss on follow-up. Progression-free survival was defined as the time from treatment with sunitinib beginning until disease progression or the start date of second-line treatment.

Between January 1, 2019, and December 31, 2020, 94 patients with metastatic renal cell carcinoma were treated at the National Cancer Institute (NCI), Vilnius, Lithuania. A retrospective study was performed on 67 patients with metastatic disease treated in the first-line with sunitinib. Twenty-seven patients were excluded from the study due to other treatment modalities mainly pazopanib, lack of data related to IMDC, missing blood tests, or lost patient monitoring. Approval from the Lithuanian Bioethics Committee was obtained.

STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analysis was performed using MedCalc® v14.0 software (MedCalc Software, Ostend, Belgium), STATISTICA™ v8.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA), and GraphPad Prism v8.0.1 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). For quantitative variables, considering the non-normal (skewed) distribution, a nonparametric Mann–Whitney U test was applied for the comparison between the two groups. To test the associations between two continuous variables, Spearman’s (RS) rank correlation coefficients were calculated. To evaluate the diagnostic value of the biomarkers to distinguish SRMs and ASC, receiver operating characteristic (ROC) curve analysis and estimation of the area under the curve (AUC) were performed. The diagnostic test’s performance parameters specificity and sensitivity were obtained based on the Youden index. Logistic regression analysis was applied for various combinations of biomarkers. Differences and associations were assumed statistically significant at $p < 0.050$.

The treatment efficacy measures, including progression-free survival and OS, were determined. Survival outcomes were described using median time for progression-free survival and OS with 95% confidence interval (CI). The statistical difference between the survival outcomes was determined using Cox regression analysis and 95%CI was applied for hazard ratio (HR) calculations. Also, Kaplan–Meier curves were used for the visualization of data, and trends or statistically significant changes in outcomes are

represented as graphs. Differences were considered statistically significant when the p-value was <0.05 . The data were analyzed using software: IBM® SPSS® Statistics 21 (IBM, Armonk, NY, USA), R version 4.0.3 (R Foundation, Vienna, Austria), and RStudio 2022.07.1 (Posit, Boston, MA, USA).

RESULTS

Patients under active surveillance

The prospective trial included 183 patients with small renal tumors, of whom 106 were biopsied. Among 63 patients with proven small renal cell carcinoma, the majority (73 %) were biopsy-proven clear cell renal cell carcinoma. Twenty-two (34.9 %) tumors had ISUP grade 1, 34 (54 %) grade 2, and for the remaining 7 (11.1 %) cases, the ISUP grade was undetermined. The median patient age at the diagnosis was 74 years. The median follow-up time was 33 months. Of the patients, 73 % were followed for at least 1 year, 41 % for at least 2 years, 21 % for at least 3 years, and 5 % for at least 4 years.

Among these 63 cases, 18 (28,6 %) progressed. Out of them, 6 had progressed according to the large tumor size on follow-up (>4 cm in maximal diameter) and 12 according to the rapid tumor growth (doubling in volume). Five patients were treated by partial or radical nephrectomy, 7 by ablation, while for the remaining 6 the active surveillance was continued due to the contraindications for active treatment (age and comorbidities). During follow-up, no cases developed metastatic disease; however, one tumor progressed to T3a clinical stage.

The median maximal tumor diameter at the diagnosis was 2.3 cm, while at the last scan, it was 2.8 cm. Similarly, the median tumor volume at diagnosis was 7.1 cm^3 , while at the last scan, it was 11.7 cm^3 . During the active surveillance period, the average growth rate in maximal tumor diameter of all tumors was 18.4 % (0.4 cm), while the volume growth rate was 98.2 % (4.4 cm^3). Of importance, during active surveillance, the average growth rate in maximal tumor diameter of non-progressing tumors was 4.3 % (0,05 cm), while the same measure of progressing tumors was larger and reached 48,2 % (1,1 cm). Similarly, the volume growth rate of non-progressing tumors was 33 % ($0,8 \text{ cm}^3$), while of progressing tumors it was 228,8 % ($12,1 \text{ cm}^3$). These differences were highly statistically significant ($p < 0,001$).

A comparison of clinical and demographic variables during active surveillance revealed several significant differences between progressive and non-progressive small renal tumors. It was observed that dyslipidemia and a

longer history of primary arterial hypertension significantly prevail among progressive kidney tumors. A significantly larger size of progressing tumors compared to the non-progressing ones was observed from the third scan, i.e., after 6 months of active surveillance ($p = 0,001$). While comparing emotional state and life satisfaction (according to HADS and EORTC QLQ-C30 questionnaires) during active surveillance period, no significant differences between progressing and non-progressing tumors were observed.

Among 63 patients with proven small renal cell carcinoma, 39 underwent biomarker studies. Methylated DNA levels and/or frequencies of *TFAP2B*, *TAC1*, *PCDH8*, *ZNF677*, and *FLRT2* were higher among the patients diagnosed with small renal tumors compared to asymptomatic control group (Fig. 1). Assessing the diagnostic potential of each of the genes separately, *PCDH8* (AUC = 0.69; $p < 0.001$) had the highest diagnostic values, with sensitivity and specificity equal to 48.7 % and 88.0 %, respectively. The analysis of potential biomarkers in all possible combinations was performed, and the four biomarkers panel, particularly, *ZNF677*, *PCDH8*, *TAC1*, and *FLRT2* was characterized with the best diagnostic potential (AUC = 0.74) reaching 92 % sensitivity and 52 % specificity. A significant association of methylated *PCDH8* level to tumor maximal diameter at diagnosis ($R_s = 0.35$; $p = 0.028$) as well as borderline significance to tumor volume ($R_s = 0.32$; $p = 0.051$) at diagnosis was identified. Meanwhile, *TFAP2B* methylation level was negatively associated with the changes in tumor maximal diameter and volume growth rate. A significantly higher methylation level of *PCDH8* and *TFAP2B* was observed in females, compared to males ($p = 0.009$ and $p = 0.042$, respectively). Moreover, a comparison of the progressing tumors with non-progressing small renal tumors revealed a lower level of methylated *TFAP2B* at small renal tumors diagnosis ($p = 0.016$), although no significant changes between different time points during follow-up were detected.

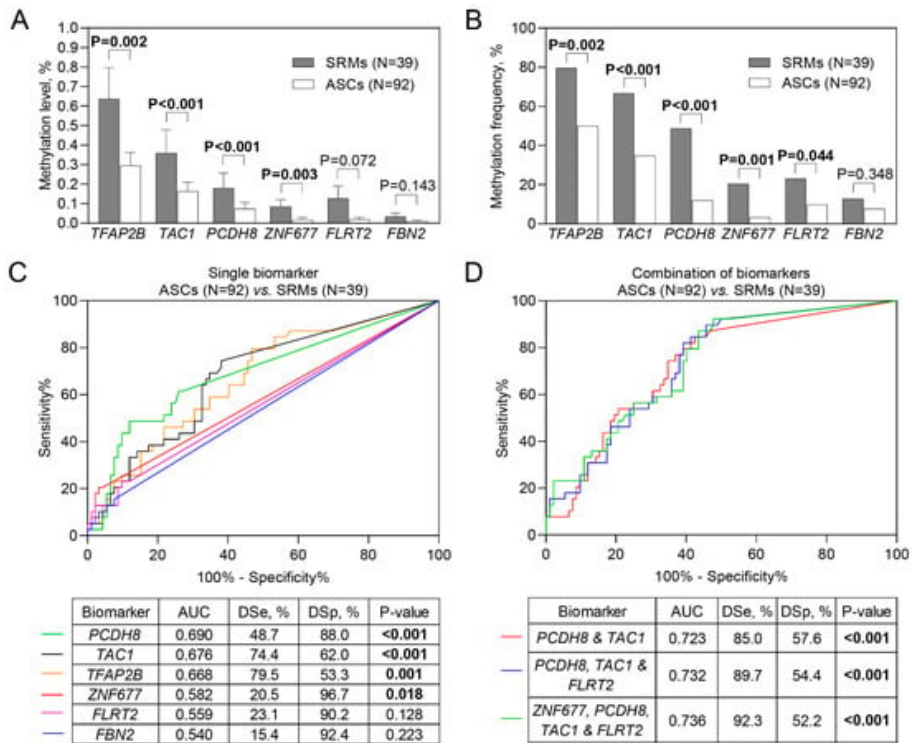


Figure 1. Diagnostic characteristics of the investigated biomarkers. (A) Methylation levels of TFAP2B, TAC1, PCDH8, ZNF677, FLRT2, and FBN2 in the urine samples from patients diagnosed with small renal masses (SRMs; pT1a; ≤ 4 cm) and asymptomatic controls (ASC). (B) Frequencies of methylated TFAP2B, TAC1, PCDH8, ZNF677, FLRT2, and FBN2 among the patients diagnosed with SRMs and ASCs. (C) ROC curve analysis for single biomarkers. (D) The combination of biomarkers in distinguishing patients with SRMs and ASC. The bars represent the average DNA methylation levels with a standard error of the mean. ROC—receiver operating characteristic; AUC—area under the curve; DSe—diagnostic sensitivity; DSsp—diagnostic specificity. Significant p values are in bold.

Evaluation of treatment response in advanced kidney cancer

In this retrospective study, 67 patients with metastatic renal cell carcinoma on first-line sunitinib therapy were analyzed. The median age of patients with metastatic renal cell carcinoma was 62 years. The majority of patients had clear cell renal carcinoma (94 %) with prior nephrectomy (94 %). Regarding

disease volume, 48 % of patients had more than 3 metastatic sites. The main metastatic sites were lungs (70 %) /and lymph nodes (27 %) or/and bones (31 %). Metastasectomy was performed in one-third of the patients.

Overall, the median response time to sunitinib therapy was 23.4 months and the median overall survival was 66 months. The age of over 60 years and the number of IMDC risk factors in the prognostic risk group were the main predictors for significantly shorter response to therapy with sunitinib. In agreement, patients classified in the IMDC intermediate-risk group had shorter progression-free survival and HR=1,6 in comparison with the patient group lacking IMDC risk factors. The age over 60 years was a significant predictor not only for the shorter response to therapy but also for the worse overall survival. As was expected, patients with a high disease burden had a trend for shorter overall survival relative to patients with a low disease burden. It should be noted that the patients with two IMDC risk factors in the intermediate risk prognostic group had 1.7 times higher HR for overall survival in comparison with the patients lacking these negative factors in the favorable-risk prognostic group. However, the length of overall survival in the intermediate risk prognostic group with one IMDC risk factor was comparable to that of the favorable risk prognostic group (Fig. 2).

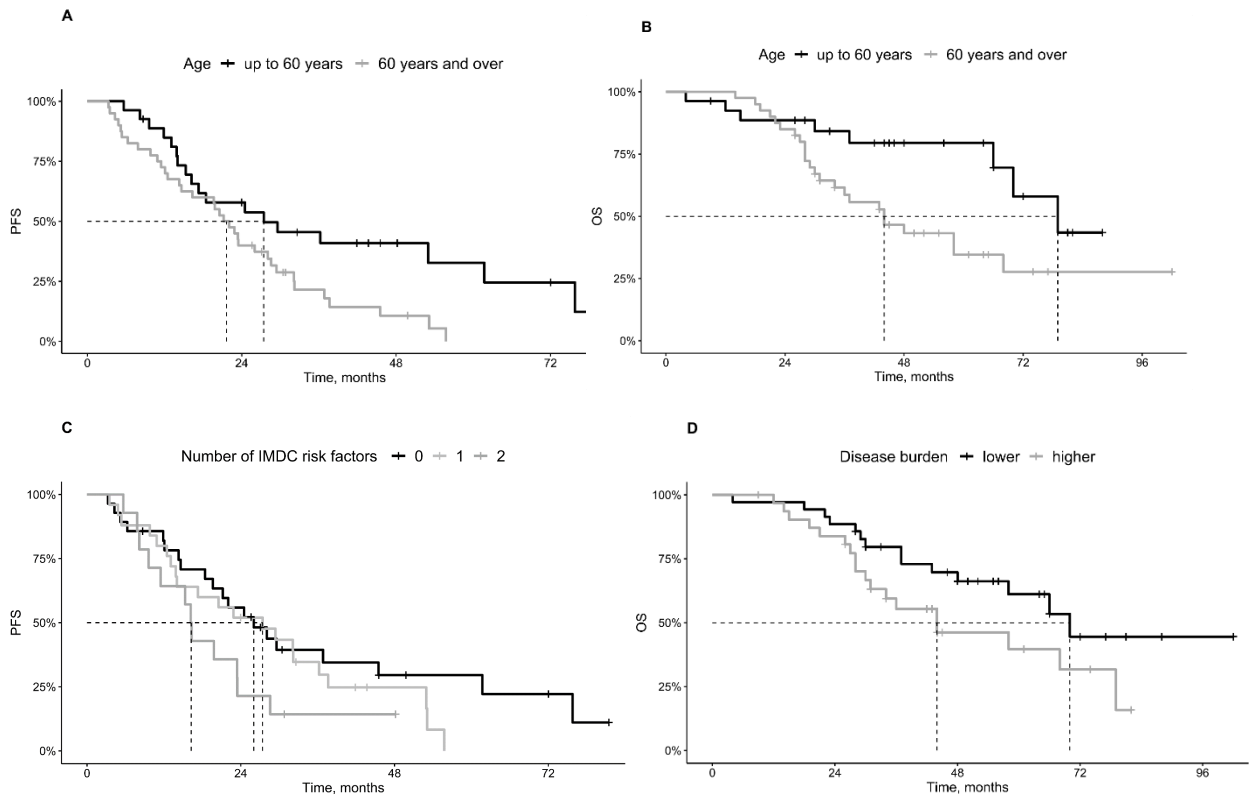


Figure 2. Progression-free survival and overall survival for sunitinib therapy in patients with mRCC. Graphs are supplied to disclose significant changes in progression-free survival and overall survival by age (A, B) and by IMDC risk factors (C, D).

DISCUSSION

Active surveillance is a sufficiently safe and reasonable management strategy for the elderly and comorbid patients with suspicions of clinical T1a renal cell carcinoma. Unfortunately, with or without surgical treatment, there is still a potential for metastatic progression [18]. Optimal management of small renal tumors should balance the need for treatment, as approximately 25 % of all small renal tumors are benign masses, to preserve renal functions as long as possible and to avoid the unnecessary risk of treatment complications [33]. Moreover, following active surveillance tactics, sometimes we lose important time and thus increase the risk of complications in cases where the tumor grows rapidly and delayed active treatment is necessary.

In the present study, core biopsies were conclusive in 94 % of cases, identifying 30 % benign masses and 70 % renal cell carcinoma. Thus, the sensitivity of needle biopsy was slightly lower than previously reported [34-36]. Thus, the sensitivity of the biopsy was quite good compared to previously published studies, but if we sum up the patients for which a biopsy was not performed due to an extremely small tumor or inconvenient localization, the accuracy percentage drops significantly and reaches 76 %. The best way to overcome false negative results is by repeated biopsy [34, 36]. However, in addition to the high price, it also provides many difficulties for patients and radiologists.

Currently, simple liquid biopsy-based methods are coming to the clinics as an additional tool for radiological follow-up of small renal tumors. In our study, in urine samples from the patients with small renal tumors, out of five small renal tumors-specific biomarkers, the highest diagnostic power (AUC = 0.69), with 49 % sensitivity and 88 % specificity, was established for PCDH8. Interestingly, the sensitivities of methylated *TFAP2B* and *TAC1* for small renal tumors were even higher than that of needle biopsy, which possibly is the result of renal cell carcinoma heterogeneity that is highly overlooked in single biopsy studies [37-39]. Moreover, our four biomarkers panel was able to detect >90 % of small renal tumors, although the specificity only slightly exceeded 50 %.

Until now, tumor growth rate and histology are among the most useful and well-known criteria not only for the behavior of small kidney tumors, but also for evaluating the metastatic potential [40]. In this study, among the investigated 63 cases, 28 % have progressed demonstrating a considerably higher growth rate (21,1 cm³) as compared to non-progressing ones (7.8 cm³). However, a significant difference in tumor size among progressing and non-progressing tumors was observed only after about 6 months of active

surveillance, but such a tendency was not evident at diagnosis. The molecular biomarker analysis in the urine samples of small renal tumors patients at diagnosis demonstrated the positive correlation between methylated *PCDH8* level and tumor size at diagnosis, confirming our previous report and its prognostic potential [22]. Lower methylated *TFAP2B* levels among progressive tumors may be partially explained by its contribution to the activation of the WNT/ β -catenin signaling pathway, promoting cell proliferation and renal cell carcinoma progression [41–43]. The results suggest the potential of DNA methylation biomarkers to predict small renal tumor progression at disease diagnosis, thus stratifying patients into eligible and ineligible for active surveillance.

A comparison of clinical and demographic variables during active surveillance revealed that dyslipidemia and a longer history of primary arterial hypertension significantly prevail among progressive kidney tumors. This only reinforces the importance of knowing the medical history. Moreover, it is necessary to take into account the fact that the knowledge of the lipidogram can help to predict the kinetics of the tumor at the start of active surveillance. While comparing emotional state and life satisfaction during active surveillance period, no significant differences between progressing and non-progressing tumors were observed.

Although the risk of metastasis in the group of actively monitored small renal tumors is relatively low, it is important to know the possibilities of systemic treatment. Despite new treatment possibilities included in the latest ESMO and NCCN guidelines, sunitinib along with the TKI pazopanib is recommended as first-line treatment modality for patients with metastatic renal cell carcinoma with favorable or intermediate risk prognostic factors [24, 44]. Sunitinib demonstrated sufficient efficacy and safety in patients with metastatic renal cell carcinoma and although it is not the newest treatment modality for metastatic renal cell carcinoma patients, it still can be considered for patients with metastatic renal cell carcinoma if newer treatment combinations are not accessible, or patients are not good candidates for immuno-oncology treatment due to their comorbidities.

Our retrospective data proved the efficacy and safety of sunitinib in favorable and intermediate-risk groups of patients with metastatic renal cell carcinoma according to IMDC classification. The median progression-free survival in our patient population with IMDC favorable and intermediate risk was 26.0 months and 20.5 months, respectively. Similar results were shown in the ADONIS observational trial with the median progression-free survival for patients with favorable and intermediate risk were 23.8 months and 12.2 months, respectively [45].

Nowadays, immunotherapy-based drug combinations, such as IO-TKI and IO-IO regimens, are widely used and have proven their benefit and significant clinical efficacy [46]. The phase III trials such as CheckMate 214 (nivolumab plus ipilimumab), CheckMate 9ER (Nivolumab plus cabozantinib), KEYNOTE-426 (Pembrolizumab plus axitinib), IMmotion151 (Atezolizumab plus bevacizumab) showed superiority over sunitinib with overall survival up to 47 months for the IMDC intermediate- and poor-risk populations (47). The median overall survival with nivolumab plus ipilimumab was 74 months for favorable-risk patients [48]. Combinations of immunotherapies and antiangiogenetic agents have improved patient outcomes, but sunitinib still shows sufficient efficacy and can be used especially in countries where novel combinations are not reimbursed yet.

CONCLUSIONS

- Methylated biomarkers *ZNF677*, *PCDH8*, *TFAP2B*, *TAC1* and *FLRT2* are detectable in the urine of patients diagnosed with small kidney tumors (< 4 cm). Combination of the *ZNF677*, *PCDH8*, *TAC1* and *FLRT2* biomarkers has the best diagnostic potential reaching 92 % sensitivity and 52 % specificity. *PCDH8* has the highest diagnostic value as a single biomarker, with a sensitivity and specificity of 48.7 % and 88.0 %, respectively.
- Changes in the size of progressive tumors are visible radiologically at 6 months after the start of active monitoring. Dyslipidemia and a longer history of primary arterial hypertension significantly prevail among progressive kidney tumors.
- Methylated *PCDH8* level is significantly associated with tumor maximal diameter at diagnosis. *TFAP2B* methylation level is negatively associated with the changes in tumor maximal diameter and volume growth rate. Methylated levels of *TFAP2B* and *TAC1* tend to correlate with glomerular filtration rate, while *ZNF677* and *PCDH8* - with the blood creatinine level. These markers have prognostic potential and can be selected for further phases of prognostic test validation.
- Everyday clinical practice-based data shows sufficient efficacy of sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma with favorable and intermediate risk according to IMDC. Overall survival in these risk groups is 68 and 66 months, respectively.

REFERENCES

- 1) Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Dyba T, Randi G, Bettio M, Gavin A, Visser O, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer* 2018;103:356.
- 2) Capitanio U, Bensalah K, Bex A, Boorjian SA, Bray F, Coleman J, Gore JL, Sun M, Wood Ch, Russo P. Epidemiology of Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol* 2019;75:74.
- 3) Ljungberg B, Campbell SC, Cho HY, Jacqmin D, Lee JE, Weikert S, Kiemeny L.A. The epidemiology of renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2011;60:615-21.
- 4) Hock LM, Lynch J, Balaji KC. Increasing incidence of all stages of kidney cancer in the last 2 decades in the United States: an analysis of surveillance, epidemiology and end results program data. *J Urol* 2002;167:57-60.
- 5) Gandaglia G, Ravi P, Abdollah F, Abd-El-Barr AE, Becker A, Popa I, Briganti A, Karakiewicz PI, Trinh QD, Jewett MA, Sun M. Contemporary incidence and mortality rates of kidney cancer in the United States. *Can Urol Assoc J* 2014;8:247-52.
- 6) Kane CJ, Mallin K, Ritchey J, Cooperberg MR, Carroll PR. Renal cell cancer stage migration: analysis of the National Cancer Data Base. *Cancer* 2008;113:78-83.
- 7) Siemer S, Uder M, Humke U, Lindenmeier T, Moll V, Rudenauer E, Maurer J, Ziegler M. [Value of ultrasound in early diagnosis of renal cell carcinoma]. *Urologe A* 2000;39:149-53.
- 8) Lee CT, Katz J, Shi W, Thaler HT, Reuter VE, Russo P. Surgical management of renal tumors 4 cm. or less in a contemporary cohort. *J Urol* 2000;163:730-6.
- 9) Frank I, Blute ML, Leibovich BC, Chevillet JC, Lohse CM, Zincke H. Independent validation of the 2002 American Joint Committee on cancer primary tumor classification for renal cell carcinoma using a large, single institution cohort. *J Urol* 2005;173:1889-92.
- 10) Uzzo RG, Novick AC. Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes. *J Urol* 2001;166:6-18.
- 11) Stephenson AJ, Hakimi AA, Snyder ME, Russo P. Complications of radical and partial nephrectomy in a large contemporary cohort. *J Urol* 2004;171:130-4.

- 12) Lowrance WT, Yee DS, Savage C, Cronin AM, O'Brien MF, Donat SM, Vickers A, Russo P. Complications After Radical and Partial Nephrectomy as a Function of Age. *J Urol* 2010; 183(5):1725–1730.
- 13) Hollingsworth JM, Miller DC, Daignault S, Hollenbeck BK. Five-year survival after surgical treatment for kidney cancer: a population-based competing risk analysis. *Cancer* 2007;109:1763
- 14) Arrontes DS, Acenero MJ, Gonzales JI, Munoz MM, Andres PP. Survival analysis of clear cell renal carcinoma according to the Charlson comorbidity index. *J Urol* 2008;179:857-61.
- 15) Kim JH, Shufeng Li, Khandwala Y, Chung KJ, Park HK, Chung BI. Association of Prevalence of Benign Pathologic Findings After Partial Nephrectomy With Preoperative Imaging Patterns in the United States From 2007 to 2014. *JAMA Surg* 2019;154(3):225–231.
- 16) Frank I, Blute ML, Chevillie JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. Solid renal tumors: an analysis of pathological features related to tumor size. *J Urol* 2003;170:2217-20.
- 17) Lane BR, Abouassaly R, Gao T, Weight ChJ, Hernandez AV, Larson BT, Kaouk JH, Gill IS, Campbell SC. Active treatment of localized renal tumors may not impact overall survival in patients aged 75 years or older. *Cancer* 2010;116:3119.
- 18) Smaldone MC, Kutikov A, Egleston BL, Canter DJ, Viterbo R, Chen DY, Jewett MA, Greenberg R, Uzzo RG. Small renal masses progressing to metastases under active surveillance: a systematic review and pooled analysis. *Cancer* 2012;118:997-1006.
- 19) Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, Oudard S, Negrier S, Szczylik C, Kim ST, Chen I, Bycott PW, Baum ChM, Figlin RA. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal cell carcinoma. *N Eng J Med* 2007;356:115-24.
- 20) Sternberg CN, Davis ID, Mardiak J, Szczylik C, Lee E, Wagstaff J, Barrios CH, Salman P, Gladkov OA, Kavina A, Zarbá JJ, Chen M, McCann L, Pandite L, Roychowdhury DF, Hawkins RE. Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2010;28:1061-1068.
- 21) Motzer RJ, Hutson ThE, Cella D, Reeves J, Hawkins R, Guo J, Nathan P, Staehler M, de Souza P, Merchan JR, Boleti E, Fife K, Jin J, Jones R, Uemura H, De Giorgi U, Harmenberg U, Wang J, Sternberg CN, Deen K, McCann L, Hackshaw MD, Crescenzo R, Pandite LN, Choueiri TK. Pazopanib versus sunitinib in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2013;369:722-731.

- 22) Bosma NA, Warkentin MT, Gan ChL, Karim S, Heng DY, Brenner DR, Lee-Ying RM. Efficacy and Safety of First-line Systemic Therapy for Metastatic Renal Cell Carcinoma: A Systematic Review and Network Meta-analysis. *European Urology Open Science* 2022;37:14-26.
- 23) Escudier B, Porta C, Schmidinger M, Rioux-Leclercq N, Bex A, Khoo V, Gruenewald V, Gillessen S, Horwich A. Renal Cell Carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2019;30:706-720.
- 24) Motzer RJ, Jonasch E, Agarwal N, Alva A, Baine M, Beckermann K, Carlo MI, Choueiri TK, Costello BA, Derweesh IH, Desai A, Ged Y, George S, Gore JL, Haas N, Hancock SL, Kapur P, Kyriakopoulos Ch, Elaine T Lam ET, Primo N Lara PN, Clayton Lau C, Bryan Lewis B, David C Madoff DC, Manley B, Michaelson MD, Mortazavi A, Nandagopal L, Plimack ER, Ponsky L, Ramalingam S, Shuch B, Smith ZL, Sosman J, Dwyer MA, Gurski LA, Motter A. Kidney Cancer, Version 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology 2022. Volume 20: Issue 1.
- 25) Delgado PO, Alves BC, Gehrke Fde S, Kuniyoshi RK, Wroclawski ML, Del Giglio A, Fonseca FL. Characterization of cell-free circulating DNA in plasma in patients with prostate cancer. *Tumour Biol* 2013;34(2):983-6.
- 26) Patel KM, Tsui DWY. The Translational Potential of Circulating Tumour DNA in Oncology. *Clin Biochem* 2015;48(15):957-961.
- 27) Qin Z, Ljubimov VA, Zhou C, Tong Y, Liang J. Cell-free circulating tumor DNA in cancer. *Chin J Cancer* 2016;35(1):36.
- 28) Newman AM, Bratman SV, To J, Wynne JF, Eclow NC3, Modlin LA, Liu CL, Neal JW, Wakelee HA, Merritt RE, Shrager JB, Loo BW Jr, Alizadeh AA, Diehn M. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. *Nat Med* 2014;20(5):548-54.
- 29) Yoshino H, Yonemori M, Miyamoto K, Tatarano S, Kofuji S, Nohata N, Nakagawa M, Enokida H. microRNA-210-3p depletion by CRISPR/Cas9 promoted tumorigenesis through revival of TWIST1 in renal cell carcinoma. *Oncotarget* 2017;8(13):20881-20894
- 30) Brugarolas J. PBRM1 and BAP1 as Novel Targets for Renal Cell Carcinoma. *Cancer J* 2013;19(4):324-332.
- 31) Peña-Llopis S, Vega-Rubín-de-Celis S, Liao A, Leng N, Pavía-Jiménez A, Wang Sh, Yamasaki T, Zhrebker L, Sivanand Sh, Spence P, Kinch L, Hambuch T, Jain S, Lotan Y, Margulis V, Sagalowsky AI, Summerour PB, Kabbani W, Wong SWW, Grishin N, Laurent M, Xie

- XJ, Haudenschild ChD, Ross MT, Bentley DR, Kapur P, Brugarolas J. BAP1 loss defines a new class of renal cell carcinoma. *Nat Genet* 2012;44(7):751–9.
- 32) Daniunaite K, Jarmalaite S, Kalinauskaite N, Petroska D, Laurinavicius A, Lazutka JR, Jankevicius F. Prognostic value of RASSF1 promoter methylation in prostate cancer. *J Urol* 2014;192(6):1849–55.
 - 33) Finelli A, Cheung DC, Al-Matar A, Evans AJ, Morash ChG, Pautler SE, Siemens DR, Tanguay S, Rendon RA, Gleave ME, Drachenberg DE, Chin JL, Fleshner NE, Haider MA, Kachura JR, Sykes J, Jewett M. Small Renal Mass Surveillance: Histology-specific Growth Rates in a Biopsy-characterized Cohort. *Eur Urol* 2020;78:460–467.
 - 34) Leveridge MJ, Finelli A, Kachura JR, Evans A, Chung H, Shiff DA, Fernandes K, Jewett MA. Outcomes of small renal mass needle core biopsy, nondiagnostic percutaneous biopsy, and the role of repeat biopsy. *Eur Urol* 2011;60:578–584.
 - 35) Park SY, Park BK, Kim CK, Kwon GY. Ultrasound-guided core biopsy of small renal masses: Diagnostic rate and limitations. *J Vasc Interv Radiol* 2013;24:90–96.
 - 36) Richard PO, Jewett MA, Tanguay S, Saarela O, Liu ZA, Pouliot F, Kapoor A, Rendon R, Finelli A. Safety, reliability and accuracy of small renal tumour biopsies: Results from a multi-institution registry. *BJU Int* 2017;119:543–549.
 - 37) Mitchell TJ, Turajlic S, Rowan A, Nicol D, Farmery JHR, O'Brien T, Martincorena I, Tarpey P, Angelopoulos N, Yates LR, Butler AP, Raine K, Stewart GD, Challacombe B, Fernando A, Lopez JI, Hazell S, Chandra A, Chowdhury S, Rudman S, Soultati A, Stamp G, Fotiadis N, Pickering L, Au L, Spain L, Lynch J, Stares M, Teague J, Maura F, Wedge DC, Horswell S, Chambers T, Litchfield K, Xu H, Stewart A, Elaidi R, Oudard S, McGranahan N, Csabai I, Gore M, Futreal PA, Larkin J, Lynch AG, Szallasi Z, Swanton C, Campbell PJ, TRACERx Renal Consortium. Timing the Landmark Events in the Evolution of Clear Cell Renal Cell Cancer: TRACERx Renal. *Cell* 2018;173(3):611–623.e17.
 - 38) Turajlic S, Xu H, Litchfield K, Rowan A, Chambers T, Lopez JI, Nicol D, O'Brien T, Larkin J, Horswell S, Stares M, Au L, Jamal-Hanjani M, Challacombe B, Chandra A, Hazell S, Eichler-Jonsson C, Soultati A, Chowdhury S, Rudman S, Lynch J, Fernando A, Stamp G, Nye E, Jabbar F, Spain L, Lall S, Guarch R, Falzon M, Proctor I, Pickering L, Gore M, Watkins TBK, Ward S, Stewart A, DiNatale R, Becerra MF, Reznik E, Hsieh JJ, Richmond TA, Mayhew GF, Hill SM, McNally CD, Jones C,

- Rosenbaum H, Stanislaw S, Burgess DL, Alexander NR, Swanton C; PEACE, TRACERx Renal Consortium. Tracking Cancer Evolution Reveals Constrained Routes to Metastases: TRACERx Renal. *Cell* 2018;173(3):581-594.e12.
- 39) Turajlic S, Xu H, Litchfield K, Rowan A, Horswell S, Chambers T, O'Brien T, Lopez JI, Watkins TBK, Nicol D, Stares M, Challacombe B, Hazell S, Chandra A, Mitchell TJ, Au L, Eichler-Jonsson C, Jabbar F, Soultati A, Chowdhury S, Rudman S, Lynch J, Fernando A, Stamp G, Nye E, Stewart A, Xing W, Smith JC, Escudero M, Huffman A, Matthews N, Elgar G, Phillimore B, Costa M, Begum S, Ward S, Salm M, Boeing S, Fisher R, Spain L, Navas C, Grönroos E, Hobor S, Sharma S, Aurangzeb I, Lall S, Polson A, Varia M, Horsfield C, Fotiadis N, Pickering L, Schwarz RF, Silva B, Herrero J, Luscombe NM, Jamal-Hanjani M, Rosenthal R, Birkbak NJ, Wilson GA, Pipek O, Ribli D, Krzystanek M, Csabai I, Szallasi Z, Gore M, McGranahan N, Van Loo P, Campbell P, Larkin J, Swanton C, TRACERx Renal Consortium. Deterministic Evolutionary Trajectories Influence Primary Tumor Growth: TRACERx Renal. *Cell* 2018;173(3):595-610.e11.
- 40) Daugherty M, Sedaghatpour D, Shapiro O, Vourganti S, Kutikov A, Bratslavsky G. The metastatic potential of renal tumors: Influence of histologic subtypes on definition of small renal masses, risk stratification, and future active surveillance protocols. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 2017;35(4):153.e15-153.e20.
- 41) Wang L, Wang Ch, Wu T, Sun F. Long non-coding RNA TP73-AS1 promotes TFAP2B mediated proliferation, metastasis and invasion in retinoblastoma via decoying of miRNA-874-3p. *J Cell Commun Signal* 2020;14(2):193-205.
- 42) Valenta T, Hausmann G, Basler K. The many faces and functions of β -catenin. *The EMBO J* 2012;31(12):2714–2736.
- 43) Mo S, Su Z, Heng B, Chen W, Shi L, Du X, Lai C. SFRP1 Promoter Methylation and Renal Carcinoma Risk: A Systematic Review and Meta- Analysis. *J Nippon Med Sch* 2018;85(2):78-86.
- 44) Rohrmann K, Staehler M, Haseke N, Bachmann A, Stief CG, Siebels M: Immunotherapy in metastatic renal cell carcinoma. *World J Urol* 2005; 23(3): 196-201.
- 45) Schmidinger M, Porta C, Oudard S, Denechere G, Brault Y, Serfass L, Costa N, Larkin J. Real-world Experience With Sunitinib Treatment in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma: Clinical Outcome

According to Risk Score. *Clin Genitourin Cancer* 2020;18(5): e588-e597.

- 46) Quhal F, Mori K, Bruchbacher A, Resch I, Mostafaei H, Pradere B, Schuettfort VM, Laukhtina E, Egawa S, Fajkovic H, Remzi M, Shariat SF, Schmidinger M. First-line Immunotherapy-based Combinations for Metastatic Renal Cell Carcinoma: A Systematic Review and Network Meta-analysis. *European Urology Oncology* 2021;4(5):755-765.
- 47) Ljungberg B, Albiges L, Abu-Ghanem Y, Bedke J, Capitanio U, Dabestani S, Fernández-Pello S, Giles RH, Hofmann F, Hora M, Klatte T, Kuusk T, Lam TB, Marconi L, Powles T, Tahbaz R, Volpe A, Bex A: European Association of Urology Guidelines on Renal Cell Carcinoma: the 2022 update. *Eur Urol* 2022; 82(4): 399- 410.
- 48) Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, Burotto M, Choueiri TK, Hammers HJ, Plimack ER, Porta CG, George S, Powles TB, Donskov F, Gurney H, Kollmannsberger CK, Grimm MO, Tomita Y, Rini BI, McHenry MB, Lee CW, Escudier B. Conditional survival and 5-year follow-up in CheckMate 214: First-line nivolumab + ipilimumab (N+I) versus sunitinib (S) in advanced renal cell carcinoma (aRCC). *Ann Oncol* 2021; 32: 68.

APIE AUTORIŲ

ALGIRDAS ŽALIMAS (g. 1985)

Išsilavinimas ir kvalifikacija:

- 2004-2010 m. Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, medicinos gydytojo kvalifikacija.
- 2010-2015 m. Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, pirminė rezidentūra, gydytojo urologo kvalifikacija.
- 2015-2022 m. Respublikinė Vilniaus Universitetinė ligoninė, gydytojas urologas.
- Nuo 2015 m. Nacionalinis vėžio institutas, gydytojas echoskopuotojas.
- Nuo 2021 m. Nacionalinis vėžio institutas, gydytojas urologas.
- Nuo 2017 m. Nacionalinis vėžio institutas, Genetinės laboratorijos diagnostika ir Klinikinės onkologijos laboratorija - jaunesnysis mokslo darbuotojas.
- 2022-2023 m. UAB ThermoPharma Baltic, mokslo darbuotojas.

Dalyvavimas biomediciniuose tyimuose:

- Mokslininkų grupių projektai Nr. P-MIP-17-189, Šiuolaikinės technologijos naviko kompleksiško tyrimams, LMT, 2,6 m., prof. Sonata Jarmalaitė, nuo 2017-10-01 iki 2020-06-30
- Trišalė sutartis PI –Ristoko universitetas - Santaros klinikos Nr. 16-C-896.Tuberozinės sklerozės kompleksu sergančių vaikų ir suaugusiųjų genetinės įvairovės ir genotipo-fenotipo koreliacijos epidemiologinis tyrimas TuScCom, Tai nefinansuojamas mokslinis biomedicininis tyrimas, finansavimas nenumatytas, 4 m., prof. Rimantė Čerkauskienė, nuo 2016-08-26 iki 2020 m. liepos mėn.
- Trišalė sutartis Europos urologų asociacijos mokslinių tyrimų fondas – Nacionalinis vėžio institutas “EASE Registry Agreement, VI.2 8th May 2017” Aktyviai stebimų inkstų navikų studija (angl. E.A.S.E study). Tai nefinansuojamas mokslinis biomedicininis tyrimas, finansavimas nenumatytas, 8 m., dr. Albertas Ulys, nuo 2017-10-01 iki 2025 m. spalio mėn.
- Trišalė sutartis: The International Agency for Research on Cancer (IARC) of the World Health Organization (WHO), Lionas, Prancūzija– Nacionalinis vėžio institutas “Mutographs of cancer: Discovering the causes of cancer through mutational signatures”, nr.: MTA/2017/IMP/GEP/0381, prof. Feliksas Jankevičius ir prof. Sonata Jarmalaitė, nuo 2018-10-01 iki 2024-04-30.

PADĖKA

Noriu padėkoti mokslinei vadovei prof. Sonatai Jarmalaitei už atrastą įkvėpimą mokslui, disertacijos idėją, vertingus patarimus, pagalbą, išmintį ir palaikymą.

Ačiū dr. Raimondai Kubiliūtei už nuoširdžias diskusijas, konsultacijas ir patarimus ruošiant pranešimus, publikacijas, disertaciją, taip pat už didelį darbą laboratorijoje, atliekant genetinius tyrimus.

Dėkoju Nacionalinio vėžio instituto gydytojams radiologams už radiologinių vaizdų vertinimą ir interpretavimą, intervenciniams radiologams už pagalbą atliekant inkstų biopsijas. Taip pat dėkoju visam Nacionalinio vėžio instituto Onkourologijos skyriaus kolektyvui už pagalbą, išskirtinis ačiū slaugytojai Audronei Pociūnienei už mėginių paėmimą ir kantrybę.

Noriu išreikšti padėką gydytojui urologui Deimantui Šukiui už išmokus laparoskopinės chirurgijos įgūdžius, kurie ne tik padėjo man gydant inkstų vėžiu sergančius pacientus, bet ir suteikė pasitikėjimo savimi operacinėje itin sudėtingais momentais.

Dėkoju artimiausiems draugams, broliui už domėjimąsi ir skatinimą visų doktorantūros studijų metu, mamai ir tėčiui už auklėjimą ir įdiegtą suvokimą apie svarbą mokslui. Ir, be abejo, didelis ačiū žmonai Sandrai už kantrybę, supratimą ir betarpišką palaikymą sunkiais momentais. Dėkoju mano stebuklui dukrai Paulinai už suteiktą papildomą motyvaciją ir džiaugsmą.

PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

1. Algirdas Žalimas, Raimonda Kubiliūtė, Kristina Žukauskaitė, Rasa Sabaliauskaitė, Mantas Trakymas, Simona Letautienė, Edita Mišeikienė Kaubrienė, Jurgita Ušinskienė, Albertas Ulys, Sonata Jarmalaitė. Urine Molecular Biomarkers for Detection and Follow-Up of Small Renal Masses. *Int. J. Mol. Sci* 2022;23(24):16110. doi:10.3390/ijms232416110.
2. Algirdas Zalimas, Vincas Urbonas, Daiva Dabkeviciene, Jonas Purvaneckas, Albertas Ulys, Sonata Jarmalaite. Efficacy of Sunitinib in Patients with Favorable and Intermediate Risk Metastatic Renal Cell Carcinoma - Lithuanian National Cancer Institute Experience. *Anticancer Res* 2024;44(1):213-219. doi:10.21873/anticancerres.16804.

Kitos publikacijos:

1. Ruta Maleckaite, Algirdas Zalimas, Arnas Bakavicius Feliksas, Jankevicius, Sonata Jarmalaite, Kristina Daniunaite. DNA methylation of metallothionein genes is associated with the clinical features of renal cell carcinoma. *Oncol Rep* 2019;41(6):3535-3544
2. Arnas Bakavičius, Marija Barisienė, Marius Snicorius, Dileta Valančienė, Darius Dasevičius, Algirdas Žalimas, Robertas Kvaščiūnas, Henrikas Ramonas, Vitalijus Sokolovas, and Feliksas Jankevičius. Malignant mixed epithelial and stromal tumour of the kidney: a case report and a literature review. *Acta Med Litu* 2018;25(1):31–37.
3. Aurelija Liulyte, Algirdas Zalimas, Raimundas Meskauskas, Jurgita Usinskiene, Feliksas Jankevicius. Partial nephrectomy can be a successful treatment option for renal epithelioid angiomyolipoma: a case report and literature review. *Acta Med Litu* 2020;27(1):33–38.
4. Daiva Dabkeviciene, Ieva Vincerzevskiene, Vincas Urbonas, Jonas Venius, Audrius Dulskas, Birute Brasiuniene, Ernestas Janulionis, Arvydas Burneckis, Asta Zileviciene, Sigitas Tiskevicius, Rasa Vanseviciute-Petkeviciene, Jurgita Usinskiene, Ruta Briediene, Giedre Bulotiene, Eugenijus Stratilatovas, Valerijus Ostapenko, Jolita Gibaviciene, Ignas Karnas, Saule Kekstaite, Jurgita Navickiene, Albertas Ulys, Algirdas Zalimas, Algimantas Sruogis, Zygimantas Kardelis, Sigitas Zaremba, Renatas Askinis, Saulius Cicenys, Renatas Tikuisis, Ruta Ciurliene and Sonata Jarmalaite. The Impact of the COVID-19 Pandemic on Cancer Patient's Management—Lithuanian Cancer Center Experience. *Healthcare* 2021;9(11):1522.

5. Raimonda Kubiliute, Algirdas Zalimas, Arnas Bakavicius, Albertas Ulys, Feliksas Jankevicius and Sonata Jarmalaite. Clinical Significance of ADAMTS19, BMP7, SIM1, and SFRP1 Promoter Methylation in Renal Clear Cell Carcinoma. *Onco Targets Ther* 2021;14:4979–4990.
6. Raimonda Kubiliūtė, Kristina Žukauskaitė, Algirdas Žalimas, Albertas Ulys, Rasa Sabaliauskaitė, Arnas Bakavičius, Arūnas Želvys, Feliksas Jankevičius & Sonata Jarmalaitė. Clinical significance of novel DNA methylation biomarkers for renal clear cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2022;148(2):361-375.

KONFERENCIJŲ SĄRAŠAS

Pranešimai tarptautiniuose renginiuose

1. 6th Baltic Meeting in conjunction with the EAU, 25-26 May 2019, Tallinn, Estonia. Novel DNA methylation biomarkers of clear cell renal carcinoma. A. Žalimas, R. Kubiliūtė, A. Bakavičius, A. Ulys, F. Jankevičius, S. Jarmalaitė.
2. EAU Section of Urological Research (ESUR19), 10-12 October 2019, Porto, Portugalija. DNA methylation biomarkers of clear cell renal carcinoma. S. Jarmalaitė, R. Kubiliūtė, J. Nainys, A. Žalimas, A. Bakavičius, A. Ulys, F. Jankevičius, L. Mazutis.
3. 12th European Multidisciplinary Congress on Urological Cancers EMUC20 VIRTUAL 2020 11 12 -13. Sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma of intermediate and high-risk groups – Lithuanian National Cancer Institute retrospective analysis. A. Žalimas, V. Urbonas, D. Dabkevičienė, F. Jankevičius, S. Jarmalaitė.
4. Molecular Analysis for Precision Oncology Congress (ESMO MAP 2022), 14-16 October 2022, Amsterdamas, Nyderlandai. Urinary biomarkers for prognosis of histologically confirmed small renal tumors. A. Žalimas, R. Kubiliūtė, M. Trakymas, S. Letautienė, K. Žukauskaitė, A. Ulys, S. Jarmalaitė.

Pranešimai nacionaliniuose renginiuose

1. Radiologinis piktybinės ligos stebėjimas. Ultragarsinė ir radiologinė diagnostika. A. Žalimas. 2017.05.12-13 dienomis. Klaipėda.
2. Inkstų navikų ultragarsinis tyrimas. Indikacijos mikroinvaziniams gydymo metodams ir stebėjimui. Ultragarsinės diagnostikos vasaros mokykla: teorija ir praktika A. Žalimas. 2017.07.28-30 dienomis. Dubingiai.
3. Lietuvos urologų draugijoje skaitytas pranešimas tema “Aktyviai stebimų inkstų navikų studija: indikacijos, saugus algoritmas, prognostiniai faktoriai”. A. Žalimas. 2020.09.11 Panevėžys.
4. Inkstų solidiniai dariniai. UG vieta. Ultragarsinės diagnostikos vasaros mokykla: teorija ir praktika. A. Žalimas. 2021. Dubingiai.

Vilniaus universiteto leidykla
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius
El. p. info@leidykla.vu.lt, www.leidykla.vu.lt
bookshop.vu.lt, journals.vu.lt
Tiražas 15 egz.