

## Выявление гипоксией индуцируемого фактора в первично-множественных злокачественных новообразованиях почки и предстательной железы

А.М. Мыльников, А.Б. Бучарская, Д.А. Мудрак, Г.Н. Маслякова

ФГБОУ ВО Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского Минздрава России, Саратов, Россия

**Резюме.** *Введение.* Фактор, индуцируемый гипоксией, активирует транскрипцию генов, которые участвуют в важнейших механизмах биологии злокачественных новообразований, включая ангиогенез, выживание клеток, метаболизм глюкозы и инвазивный рост опухоли. Цель исследования – изучить уровень выраженности иммуногистохимической реакции гипоксией индуцируемого фактора 1 (HIF-1) в первично-множественных злокачественных новообразованиях почки и предстательной железы с проведением сравнительной оценки с реакцией в одиночных опухолях данных локализаций.

*Материалы и методы.* Исследование проведено с использованием архивных образцов биопсии пациентов, находившихся на стационарном лечении в НИИ фундаментальной и клинической уро-нефрологии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского в период 2012–2020 годов. Проведен анализ историй болезни пациентов с последующим поиском гистологических образцов тканей и оценкой их морфологических, морфометрических и иммуногистохимических характеристик.

*Результаты.* За период 2012–2020 годов выявлено 58 случаев первично-множественных злокачественных новообразований с поражением почки и предстательной железы. Повышение уровня маркера HIF-1 $\alpha$  в 2 раза отмечалось при сочетании светлоклеточного почечно-клеточного рака G1, G2 с ацинарной аденокарциномой предстательной железы 6–7 баллов по шкале Глисона.

В первично-множественных злокачественных новообразованиях, в состав которых входил светлоклеточный почечно-клеточный рак G3, G4, наблюдалось уменьшение выраженности реакции на HIF-1 $\alpha$  по сравнению с первично-множественными злокачественными новообразованиями, включающими высокодифференцированный почечно-клеточный рак (G1, G2), и нарастание по сравнению с одиночным почечно-клеточным раком. При этом в ацинарной аденокарциноме предстательной железы изменения в уровне HIF-1 $\alpha$  не обнаружены.

*Заключение.* Повышение уровня HIF-1 в первично-множественных злокачественных новообразованиях оказывает потенцирующее действие на прогрессирование развития рака предстательной железы при первично диагностируемых высокодифференцированных формах (G1, G2) светлоклеточного почечно-клеточного рака. Снижение уровня HIF-1 в низкодифференцированных формах (G3, G4) светлоклеточного почечно-клеточного рака сочетается со стабильной реакцией в опухолевых клетках рака предстательной железы.

**Ключевые слова:** первично-множественные злокачественные новообразования, рак почки, рак предстательной железы, гипоксией индуцируемый фактор

**Для корреспонденции:** Артем Михайлович Мыльников. E-mail: artyom-mylnikov@mail.ru

**Для цитирования:** Мыльников А.М., Бучарская А.Б., Мудрак Д.А., Маслякова Г.Н. Выявление гипоксией индуцируемого фактора в первично-множественных злокачественных новообразованиях почки и предстательной железы. Клини. экп. морфология. 2025;14(2):27–35. DOI: 10.31088/CEM2025.14.2.27-35.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского в рамках научного проекта № SSMU-2022-011.

Статья поступила 06.09.2024. Получена после рецензирования 09.10.2024. Принята в печать 02.12.2024.

## Detection of hypoxia-inducible factor in multiple primary malignant neoplasms of the kidney and prostate gland

A.M. Mylnikov, A.B. Bucharskaya, D.A. Mudrak, G.N. Maslyakova

V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russia

**Abstract.** *Introduction.* Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) activates the transcription of genes involved in crucial mechanisms of cancer biology, including angiogenesis, cell survival, glucose metabolism, and

invasive tumor growth. We aimed to investigate the immunohistochemical reaction level of HIF-1 in multiple primary malignancies of the kidney and prostate and compare it with that in single tumors of these organs.

*Materials and methods.* We studied 58 archival biopsy samples of patients who underwent inpatient treatment at the Research Institute of Fundamental and Clinical Urology and Nephrology of V.I. Razumovsky Saratov State Medical University from 2012 to 2020. We analyzed patients' medical histories and described morphological, morphometric, and immunohistochemical characteristics of biopsy samples.

*Results.* We observed a 2-fold increase in HIF-1 $\alpha$  immunohistochemical reaction level in multiple primary malignancies, i.e., Grades 1–2 clear cell renal cell carcinoma and acinar adenocarcinoma of the prostate with a Gleason score of 6–7. HIF-1 $\alpha$  reaction level decreased in multiple primary malignancies of clear cell renal cell carcinoma (Grades 3–4) compared to those of highly differentiated renal cell carcinoma (Grades 1–2) and increased compared to a single renal cell carcinoma. No changes in HIF-1 $\alpha$  reaction were found in acinar prostate adenocarcinoma.

*Conclusion.* Increased HIF-1 reaction level in multiple primary malignancies triggers prostate cancer progression in primary diagnosed highly differentiated forms of clear cell renal cell carcinoma (Grades 1–2). Decreased HIF-1 reaction level in low-differentiated forms of renal cell carcinoma (Grades 3–4) is combined with stable reaction in prostate cancer tumour cells, which may indicate the influence of secondary processes (necrosis and concentration of the tumor microenvironment) on the tumor.

**Keywords:** multiple primary malignant neoplasms, kidney cancer, prostate cancer, hypoxia-inducible factor

**Corresponding author:** Artyom M. Mylnikov. E-mail: artyom-mylnikov@mail.ru

**For citation:** Mylnikov A.M., Bucharskaya A.B., Mudrak D.A., Maslyakova G.N. Detection of hypoxia-inducible factor in multiple primary malignant neoplasms of the kidney and prostate gland. Clin. exp. morphology. 2025;14(2):27–35 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.2.27-35.

**Funding.** The study was supported by V.I. Razumovsky Saratov State Medical University within the framework of the scientific project No. SSMU-2022-011.

**Received** 06.09.2024. **Received in revised form** 09.10.2024. **Accepted** 02.12.2024.

## Введение

Гипоксией индуцируемый фактор 1 (HIF-1) активирует транскрипцию генов, которые участвуют в важнейших аспектах регуляции жизнедеятельности злокачественных клеток, включая ангиогенез, пролиферацию, метаболизм глюкозы, апоптоз и аутофагию, уклонение от эффекторного воздействия иммунной системы, развитие резистентности к химиотерапии, активацию опухолевых стволовых клеток.

Внутриопухолевая гипоксия и генетические изменения могут приводить к повышению уровня HIF-1, который коррелирует с повышенной смертностью пациентов при различных вариантах злокачественных новообразований. Гипоксия способствует апоптозу как в нормальных, так и в опухолевых клетках [1]. Однако гипоксические условия в микроокружении опухоли наряду с накоплением генетических изменений (мутаций) часто способствуют избыточной продукции HIF-1 [2].

HIF-1 состоит из регулируемой кислородом альфа-субъединицы (HIF-1 $\alpha$ ) и конститутивно экспрессируемой бета-субъединицы ARNT (HIF-1 $\beta$ ). Стабильность HIF-1 $\alpha$ , а также активность транскрипции зависят от уровня кислорода. Альфа-субъединица образует гетеродимер с бета-субъединицей [2].

Недавние достижения позволили изучить центральную роль HIF-1 $\alpha$  в развитии и прогрессировании рака предстательной железы (РПЖ). В метаанализе, проведенном М. Huang et al. (2018), исследована

связь повышения уровня HIF-1 $\alpha$  с прогрессированием рака предстательной железы. Уровень выявления белка HIF-1 $\alpha$  при РПЖ был значительно выше, чем в незлокачественных тканях предстательной железы. Авторы считают, что иммуногистохимическое выявление HIF-1 $\alpha$  является потенциально диагностическим биомаркером РПЖ и может быть применено для неинвазивного мониторинга его прогрессирования у пациентов [3].

В отличие от многих типов опухолей HIF-1 $\alpha$  оказывает противоположный эффект на морфогенез светлоклеточного почечно-клеточного рака (ПКР), действуя как опухолевый супрессор [4].

Цель исследования – провести сравнительный анализ уровня гипоксией индуцируемого фактора 1 (HIF-1) в гистологических образцах светлоклеточного почечно-клеточного рака и ацинарной аденокарциномы предстательной железы, входящих в состав первично-множественных злокачественных новообразований (ПМЗН) и одиночных злокачественных новообразований (ОЗН) данных локализаций.

## Материалы и методы

Исследование проведено с использованием архивных образцов биопсии пациентов, находившихся на стационарном лечении в НИИ фундаментальной и клинической урологии Саратова ГМУ им. В.И. Разумовского в период 2012–2020 годов. Все исследуемые биопсийные образцы были морфологи-

чески верифицированы. Пациенты разделены на три исследуемые группы.

В первую группу вошли пациенты с ПМЗН почки и предстательной железы. Основанием для включения в указанную группу послужили следующие критерии.

1. Опухоли относятся к разной гистологической группе. Исключена вероятность метастазов первичной опухоли.
2. Морфологический тип опухоли почки представлен светлоклеточным почечно-клеточным раком предстательной железы – ацинарной аденокарциномой.
3. Пациенту ранее не проводилось лечение онкологических заболеваний (для исключения лечебного патоморфоза опухолей).

В две группы сравнения были включены пациенты с одиночными опухолями предстательной железы (вторая группа) и почки (третья группа) с соблюдением следующих условий.

1. Опухоль является первичным одиночным злокачественным новообразованием с исключенным лечебным патоморфозом в анамнезе.
2. Морфологический тип одиночных опухолей совпадает с морфологическим типом ПМЗН.

Для дифференцировки синхронности и метасинхронности развития ПМЗН применялись правила в соответствии с классификацией IACR/IARC (International Agency for Research on Cancer), которые предполагают диагностику синхронных опухолей, диагностированных в интервале менее 6 месяцев (или метасинхронных – более 6 месяцев), если они локализируются в разных анатомических областях [5].

Материал опухолей предстательной железы и почки исследовался тотально, опухоль преимущественно располагалась в периферических отделах предстательной железы и почки, для иммуногистохимического исследования выбраны участки с сохранными опухолевыми узлами, где находились жизнеспособные опухолевые клетки.

Гистологические срезы толщиной 4 мкм, окрашенные гематоксилином и эозином, исследованы при помощи светового микроскопа Leica DM1000 (Leica,

Германия) и микровизора проходящего света  $\mu$ Vizo-103 (АО «ЛОМО», Россия).

Для оценки количественных показателей опухолевой ткани проводилась цифровая фотосъемка (цифровая камера для микроскопа C-mex-10 pro, ООО «МедТехникаПоинт», Россия) гистологических препаратов. Полученные фотографии импортировались в электронный анализатор изображения – программу ImageView 2.5.2 (США), с помощью которой проводились фотофиксация всей площади среза и измерение морфометрических показателей в микрометрах. Измерения опухолевых клеток включали в себя длину и ширину ядра, длину и ширину клетки, площадь ядра, площадь клетки, площадь цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое отношение, количество клеток с вакуолизированной цитоплазмой.

Для иммуногистохимического исследования использовали антитела HIF-1 $\alpha$  (Arg575-Asn826) и ARNT Ab (DF6154) (табл. 1). Окрашивание проводили при помощи мультимерной безбиотиновой системы детекции REVEAL – Biotin-Free Polyvalent DAB (Spring Bioscience Corp., США). Для оценки специфичности иммунного окрашивания в каждом случае проводили отрицательный контроль (обработка срезов вместо первичных антител неиммунным буфером), результатом чего было отсутствие специфического иммунного окрашивания.

Оценку иммуногистохимической реакции HIF-1 $\alpha$  и ARNT проводили в соответствии со стандартной методикой для данных маркеров, описанной Kim С.М. et al. [6]. На срезах с ИГХ окрашиванием подсчитывали средний процент клеток с реакцией маркера в 30 полях зрения. Реакцию на HIF-1 $\alpha$  и ARNT оценивали полуколичественно по следующей схеме оценки: 0 – отрицательная; + (<10% клеток с реакцией) – слабая; ++ (10–50% клеток с реакцией) – умеренная; +++ (>50% клеток с реакцией) – выраженная [6].

Данное исследование было проведено с использованием иммуногистохимических методик идентификации маркеров HIF-1 $\alpha$  и ARNT. Флуоресцентная гибридизация *in situ* не проводилась.

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке в программном обеспечении SPSS 17.0

Таблица 1 | Table 1

Иммуногистохимические маркеры | Immunohistochemical markers

Антитела (клон)   Antibodies (clone)	Клональность/источник (разведение)   Clonality/source (breeding)	Производитель, страна   Manufacturer, country	Цель   Objective
HIF-1 $\alpha$ (Arg575-Asn826)	Поликлональные/кроличьи (1:100)   Polyclonal/rabbit (1:100)	Cloud-Clone Corp., Китай (China)	Опухолевые клетки   Tumor cells
ARNT Ab (DF6154)	Поликлональные/кроличьи (1:200)   Polyclonal/rabbit (1:200)	Affinity, Китай (China)	Опухолевые клетки   Tumor cells

(SPSS: An IBM Company, США). Нормальность распределения признаков в группах определяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Распределение признаков не соответствовало нормальному, поэтому для оценки наличия статистически значимых отличий использовался непараметрический критерий Манна–Уитни (U-тест). Количественные данные описывались посредством медианы, минимального и максимального значений, 1-го и 3-го квартилей. В исследовании была проведена коррекция на множественное сравнение Бонферрони. Статистически значимым считался результат, если вероятность отвергнуть нулевую гипотезу об отсутствии различий не превышала 0,833% ( $p < 0,00833$ ).

Дизайн исследования одобрен комитетом по био-медицинской этике Саратовского государственного медицинского университета имени В.И. Разумовского (протокол № 7 от 01.02.2022).

## Результаты

За период 2012–2020 годов выявлено 58 случаев ПМЗН с поражением почки и предстательной железы. Синхронное развитие отмечалось у восьми пациентов (8,6%), метакхронное – у 50 (91,4%).

Возрастное распределение пациентов с ПМЗН почки и предстательной железы на момент постановки диагноза показало, что преобладающим контингентом являются лица в возрасте от 60 до 70 лет – 27 человек (46,6%). Средний возраст составил 68 лет.

Принято, что для каждой опухоли в составе ПМЗН (в данном случае рак почки – рак предстательной железы) стадия определяется самостоятельно [7]. Таким образом, все случаи были разделены на три подгруппы. Первую подгруппу составили 23 пациента (40,8%) с локализованными стадиями по системе TNM: I–I, I–II, II–II; во вторую подгруппу вошли 25 пациентов (42,2%) с местно-распространенными стадиями по TNM I–III, II–III, III–III; третью подгруппу составили 10 пациентов (17%) с запущенным, диссеминированным опухолевым процессом – стадии по TNM I–IV, II–IV, III–IV, IV–IV.

У 43 пациентов в комбинации рак почки – рак предстательной железы первично развивался рак почки, затем рак предстательной железы. Обе опухоли при данной последовательности возникновения диагностировались преимущественно на стадиях T1–T2.

При первичном развитии рака в предстательной железе (15 пациентов) было отмечено, что новообразование диагностировалось с одинаковой частотой на разных стадиях опухолевого процесса, тогда как рак почки, выявленный впоследствии, выявлялся, как правило, на стадиях T1–T2.

При сравнении морфометрических характеристик ПМЗН предстательной железы и почки с единичными опухолями тех же локализаций было выявлено уменьшение всех исследуемых параметров опухолевых клеток. В опухолях предстательной железы при ПМЗН уменьшались следующие показатели: площадь

клетки – в 1,25 раза, ядра – в 1,2 раза, цитоплазмы – в 1,1 раза, количество клеток с вакуолизированной цитоплазмой – в 1,6 раза, количество дву- и многоядерных клеток – в 1,4 раза (табл. 2).

При оценке результатов иммуногистохимического исследования проводилось попарное сравнение уровня реакции на HIF-1 $\alpha$  и ARNT в ПМЗН с аналогичной одиночной опухолью.

Уровень цитоплазматической и ядерной реакции на HIF-1 $\alpha$  в ПМЗН преобладал над уровнем реакции на HIF-1 $\alpha$  в ОЗН почки и предстательной железы.

Повышение уровня реакции в опухолевых клетках в 2 раза наблюдалось при сочетании светлоклеточного ПКР G1, G2 с ацинарной аденокарциномой предстательной железы 6–7 баллов по шкале Глисона.

В ПМЗН, включающих светлоклеточный ПКР G3–G4, наблюдалось уменьшение реакции на HIF-1 $\alpha$  по сравнению с ПМЗН с ПКР G1–G2 и нарастание ядерной реакции по сравнению с одиночным ПКР G3–G4. При этом в ацинарной аденокарциноме предстательной железы изменения в экспрессии HIF-1 $\alpha$  не обнаружены (табл. 3, рис. 1 A–D). В группе ПМЗН данный механизм обусловлен снижением уровня реакции HIF-1 $\alpha$  в низкодифференцированных формах светлоклеточного ПКР G3–G4.

При сравнении уровня реакции ARNT в группах с ПМЗН и ОЗН выявлено полное отсутствие ядерной реакции в обеих группах, а уровень цитоплазматической реакции не отличался (табл. 4, рис. 1 E–H).

## Обсуждение

Уменьшение морфометрических показателей в опухоли предстательной железы при ПМЗН может быть обусловлено влиянием опухолевого микроокружения и увеличением количества злокачественных нейроэндокринных клеток, которые отличаются уменьшенными показателями по сравнению с типичными опухолевыми клетками РПЖ. Нейроэндокринные клетки являются андрогеннезависимыми и также способны синтезировать HIF-1 $\alpha$ , что ухудшает прогноз для пациента даже с учетом планируемой андрогенкорректирующей терапии [8, 9]. В опухолях почек существенные отличия не обнаружены [10].

Полученные данные об уровне иммуногистохимической реакции HIF-1 $\alpha$  в одиночных злокачественных новообразованиях почки согласуются с источниками литературы. Повышение уровня реакции в высоко- и умереннодифференцированных формах ПКР (G1, G2) и снижение уровня реакции в низкодифференцированных формах (G3, G4) свидетельствуют о мутациях в генах, кодирующих синтез данного фактора, который в ПКР играет роль антионкогена [11, 12].

В злокачественных новообразованиях предстательной железы HIF-1 $\alpha$ , напротив, является активатором прогрессирования роста опухоли, и повышение реакции наблюдается при нарастании степени злокаче-

Таблица 2 | Table 2

**Попарное сравнение морфометрических характеристик ПМЗН с аналогичным одиночным злокачественным новообразованием | Pairwise comparison of morphometric characteristics of multiple primary malignancies with an identical single malignant neoplasm**

Морфометрические показатели   Morphometric indices	ПМЗН (простата + почка)   Multiple primary malignancies (prostate + kidney) Median (Q1–Q3) [min–max]		ОЗН   Single malignancy Median (Q1–Q3) [min–max]	
	опухоль предстательной железы   prostate tumor	опухоль почки   kidney tumor	опухоль предстательной железы   prostate tumor	опухоль почки   kidney tumor
Площадь клетки   Cell area	104* (70–150) [30–416] p=0,00446	168,5 (107–261,5) [30–1147] p=0,108	130 (90–180) [25–560]	93,5 (64–126,5) [24–360]
Площадь ядра   Nucleus area	32 (21–42,5) [4–252] p=0,01	31 (20–54,5) [2–192] p=0,976	40 (24,75–60) [9–176]	28 (17,5–42,75) [6–120]
Площадь цитоплазмы   Cytoplasm area	70,5 (40,75–108) [4–360] p=0,01	128 (74,75–216) [16–1110] p=0,168	85,5 (61,75–119,25) [13–490]	57 (40–84,75) [6–250]
Ядерно-цитоплазматическое отношение Nuclear-to-cytoplasmic ratio (NCR)	0,427 (0,296–0,727) [0,028–8] p=0,927	0,259 (0,165–0,435) [0,006–2,25] p=0,281	0,449 (0,292–0,702) [0,086–3,5]	0,441 (0,286–0,757) [0,053–10]
Количество клеток с вакуолизированной цитоплазмой   Number of cells with cytoplasmic vacuolization	17* (12–29) [5–39] p=0,00176	15* (11–25) [9–27] p=0,0079	28 (24–51) [19–124]	16 (9–32) [5–49]
Количество дву- и многоядерных клеток   Number of bi- and multinucleated cells	43* (27–59) [19–74] p=0,0078	25* (24–337) [11–430] p=0,0047	61 (37–77) [17–89]	51 (25–67) [22–195]

\* статистическая значимость различий между группой исследования и группами сравнения, рассчитанная при помощи критерия Манна–Уитни, при  $p < 0,00833$

\* significance of differences between the study group and comparison groups calculated using the Mann–Whitney test at  $p < 0.00833$

ственности (низкодифференцированные формы с оценкой по шкале Глисона  $\geq 8$ ) [13].

Повышение уровня реакции в опухолевых клетках ПКР G1, G2 с ацинарной аденокарциномой предстательной железы 6–7 баллов по шкале Глисона в 2 раза обусловлено системным влиянием HIF-1 $\alpha$ , продуцируемого опухолевыми клетками почки, на стимуляцию онкогенеза в железистом эпителии предстательной железы.

Снижение степени дифференцировки клеток в группе ПМЗН обусловлено нарушением синтеза биологически активных веществ, в том числе HIF-1 $\alpha$ , играющего роль антионкогена в опухолевых клетках почки, однако за счет наличия в организме аденокарциномы предстательной железы иммуногистохимическая реакция HIF-1 $\alpha$  возрастала по сравнению с таковой при одиночном почечно-клеточном раке, где происходило ее снижение.

Таблица 3 | Table 3

Сравнение степени иммуногистохимической реакции маркера HIF-1 $\alpha$  в ПМЗН с аналогичным одиночным злокачественным новообразованием | Comparison of the HIF-1 $\alpha$  reaction in multiple primary malignancies with an identical single malignant neoplasm

Степень злокачественности ПКР по ISUP   Cancer grade of renal cell carcinoma according to ISUP	Реакция HIF-1 $\alpha$   HIF-1 $\alpha$ reaction								Степень злокачественности рака предстательной железы по Gleason   Gleason grade of prostate malignancy
	ОЗН почки   kidney single malignancy (A)		ПМЗН   Multiple primary malignancies				ОЗН предстательной железы   prostate single malignancy (D)		
	ц / с	я / п	почка   kidney (B)		предстательная железа   prostate (C)		ц / с	я / п	
ц / с			я / п	ц / с	я / п				
G1	1+	0	2+	2+	2+	2+	1+	0	≤6
					1+	0	0	0	7
					1+	1+	2+	0	≥8
G2	1+	0	3+	1+	3+	1+	1+	0	≤6
					2+	1+	0	0	7
					1+	0	2+	0	≥8
G3	0	0	1+	0	1+	0	1+	0	≤6
					1+	0	0	0	7
					1+	0	2+	0	≥8
G4	0	0	1+	0	1+	0	1+	0	≤6
					1+	0	0	0	7
					2+	0	2+	0	≥8

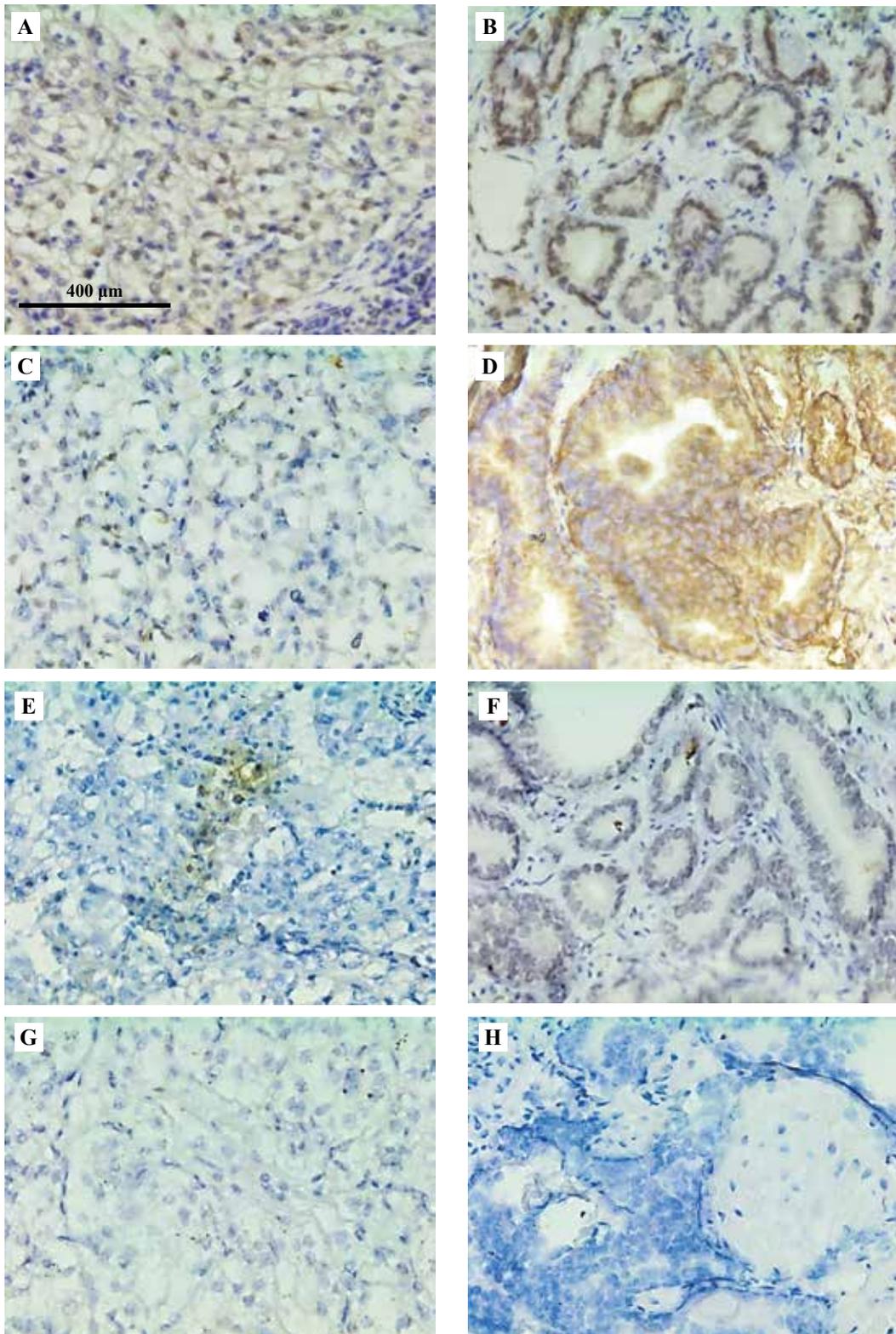
\*A, B, C, D – исследуемые группы, иллюстрируемые на рис. 1 | \*A, B, C, D are the study groups in fig. 1;  
ц / с – цитоплазматическая реакция | cytoplasmic reaction | я / п – ядерная реакция | nuclear reaction

Таблица 4 | Table 4

Сравнение степени иммуногистохимической реакции маркера ARNT в ПМЗН с аналогичным одиночным злокачественным новообразованием | Comparison of ARNT reaction in multiple primary malignancies with an identical single malignant neoplasm

Степень злокачественности ПКР по ISUP   Cancer grade of renal cell carcinoma according to ISUP	Реакция ARNT / ARNT reaction								Степень злокачественности рака предстательной железы по Gleason   Gleason grade of prostate cancer malignancy
	ОЗН почки   kidney single malignancy (E)		ПМЗН / Multiple primary malignancies				ОЗН предстательной железы   prostate single malignancy (H)		
	ц / с	я / п	почка   kidney (F)		предстательная железа   prostate (G)		ц / с	я / п	
ц / с			я / п	ц / с	я / п				
G1	1+	0	2+	2+	2+	0	1+	0	≤6
					2+	0	1+	0	7
					1+	0	2+	0	≥8
G2	0	0	2+	1+	2+	0	1+	0	≤6
					1+	0	1+	0	7
					0	0	2+	0	≥8
G3	0	0	1+	0	1+	0	1+	0	≤6
					0	0	1+	0	7
					0	0	2+	0	≥8
G4	0	0	0	0	1+	0	1+	0	≤6
					0	0	1+	0	7
					0	0	2+	0	≥8

\*E, F, G, H – исследуемые группы, иллюстрируемые на рис. 1 | \*E, F, G, H are the study groups illustrated in fig. 1;  
ц / с – цитоплазматическая реакция | cytoplasmic reaction | я / п – ядерная реакция | nuclear reaction



*Рис. 1.* Иммуногистохимическая картина в ПМЗН почки, предстательной железы и одиночных опухолях данных локализаций. А, В – реакция HIF-1 $\alpha$  в ПМЗН почки и предстательной железы; С, D – реакция HIF-1 $\alpha$  в ОЗН почки и предстательной железы; Е, F – реакция ARNT в ПМЗН почки и предстательной железы; G, H – реакция ARNT в ОЗН почки и предстательной железы.  $\times 200$

*Fig. 1.* Immunohistochemical pattern in multiple primary and single malignancies in the kidney and prostate.

A, B – HIF-1 $\alpha$  reaction in multiple primary malignancies of the kidney and prostate; C, D – HIF-1 $\alpha$  reaction in a single malignancy of the kidney and prostate; E, F – ARNT reaction in multiple primary malignancies of the kidney and prostate; G, H – ARNT reaction in a single malignancy of the kidney and prostate.  $\times 200$

ARNT является конститутивным синтезируемым веществом, связывающим HIF-1 $\alpha$ . Этот комплекс импортируется в ядро и активирует транскрипцию широкого спектра генов, направленных на устранение гипоксических условий в ткани. В опухолевых клетках отсутствие ядерной иммуногистохимической реакции данного маркера, но наличие цитоплазматической позволяет судить о присутствии свободного ARNT в цитоплазме опухолевых клеток, при связывании с HIF-1 $\alpha$  он перестает выявляться иммуногистохимически, так как образует комплексное соединение с HIF-1 $\alpha$  [14, 15].

### Заключение

Уровень цитоплазматической и ядерной реакции HIF-1 $\alpha$  в первично-множественных злокачественных новообразованиях преобладал над уровнем HIF-1 $\alpha$  в одиночных злокачественных новообразованиях почки и предстательной железы. Повышение уровня иммуногистохимической реакции в опухолевых клетках в 2 раза наблюдалось при сочетании светлоклеточного почечно-клеточного рака G1, G2 с ацинарной аденокарциномой предстательной железы 6–7 баллов по шкале Глисона.

В первично-множественных злокачественных новообразованиях, включающих светлоклеточный почечно-клеточный рак G3–G4, наблюдались уменьшение HIF-1 $\alpha$  по сравнению с первично-множественными злокачественными новообразованиями с почечно-клеточным раком G1–G2 и нарастание ядерной экспрессии по сравнению с одиночным почечно-клеточным раком G3–G4. При этом в ацинарной аденокарциноме предстательной железы изменения в реакции HIF-1 $\alpha$  не обнаружены.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.М. Мыльников, А.Б. Бучарская, Г.Н. Маслякова.  
Сбор и обработка материала – А.М. Мыльников, Д.А. Мудрак.  
Написание текста – А.М. Мыльников.  
Редактирование – А.Б. Бучарская, Г.Н. Маслякова.

### Author contribution

Conceived the study and designed the experiment – А.М. Mylnikov, А.В. Bucharskaya, G.N. Maslyakova.  
Collected the data and performed the analysis – А.М. Mylnikov, Д.А. Mudrak.  
Wrote the paper – А.М. Mylnikov.  
Edited the manuscript – А.В. Bucharskaya, G.N. Maslyakova.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Disclosure.** The authors declare that there is no conflict of interest.

### Литература/References

1. *Vaupel P, Mayer A.* Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome. *Cancer Metastasis Rev.* 2007;26(2):225–39. DOI: 10.1007/s10555-007-9055-1.
2. *Harris AL.* Hypoxia – a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(1):38–47. DOI: 10.1038/nrc704.
3. *Huang M, Du H, Zhang L, Che H, Liang C.* The association of HIF-1 $\alpha$  expression with clinicopathological significance in prostate cancer: a meta-analysis. *Cancer Manag Res.* 2018;10:2809–16. DOI: 10.2147/CMAR.S161762.
4. *Schödel J, Grampp S, Maher ER, Moch H, Ratcliffe PJ, Russo P et al.* Hypoxia, hypoxia-inducible transcription factors, and renal cancer. *Eur Urol.* 2016;69(4):646–57. DOI: 10.1016/j.euro.2015.08.007.
5. *Isaacs JS, Jung YJ, Mole DR, Lee S, Torres-Cabala C, Chung YL et al.* HIF overexpression correlates with biallelic loss of fumarate hydratase in renal cancer: novel role of fumarate in regulation of HIF stability. *Cancer Cell.* 2005;8(2):143–53. DOI: 10.1016/j.ccr.2005.06.017.
6. *Kim CM, Vocke C, Torres-Cabala C, Yang Y, Schmidt L, Walther M et al.* Expression of hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  and 2 $\alpha$  in genetically distinct early renal cortical tumors. *J Urol.* 2006;175(5):1908–14. DOI: 10.1016/S0022-5347(05)00890-6.
7. *Selak MA, Armour SM, MacKenzie ED, Boulahbel H, Watson DG, Mansfield KD et al.* Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF- $\alpha$  prolyl hydroxylase. *Cancer Cell.* 2005;7(1):77–85. DOI: 10.1016/j.ccr.2004.11.022.
8. *Monsef N, Soller M, Panagopoulos I, Abrahamsson PA.* HIF1 $\alpha$  isoforms in benign and malignant prostate tissue and their correlation to neuroendocrine differentiation. *BMC Cancer.* 2010;10:385. DOI: 10.1186/1471-2407-10-385.
9. *Chen Z, Han F, Du Y, Shi H, Zhou W.* Hypoxic microenvironment in cancer: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduct Target Ther.* 2023;8(1):70. DOI: 10.1038/s41392-023-01332-8.
10. *Мыльников А.М., Маслякова Г.Н.* Эпидемиологический обзор первично-множественных злокачественных новообразований предстательной железы, почки и мочевого пузыря. *Онкоурология.* 2023;19(1):160–168. DOI: 10.17650/1726-9776-2023-19-1-160-168.  
*Mylnikov AM, Maslyakova GN.* Epidemiological review of multiple primary malignant neoplasms of the prostate, kidney, and bladder. *Onkourologiya = Cancer Urology.* 2023;19(1):160–168 (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2023-19-1-160-168.
11. *Raval RR, Lau KW, Tran MG, Sowter HM, Mandriota SJ, Li JL et al.* Contrasting properties of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and HIF-2 in von Hippel-Lindau-associated renal cell carcinoma. *Mol Cell Biol.* 2005;25(13):5675–86. DOI: 10.1128/MCB.25.13.5675-5686.2005.
12. *Shen C, Beroukhi R, Schumacher SE, Zhou J, Chang M, Signoretti S et al.* Genetic and functional studies implicate HIF1 $\alpha$  as a 14q kidney cancer suppressor gene. *Cancer Discov.* 2011;1(3):222–35. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-11-0098.
13. *Keith B, Johnson RS, Simon MC.* HIF1 $\alpha$  and HIF2 $\alpha$ : sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. *Nat Rev Cancer.* 2011;12(1):9–22. DOI: 10.1038/nrc3183.
14. *Wenger RH, Stiehl DP, Camenisch G.* Integration of oxygen signaling at the consensus HRE. *Sci STKE.* 2005;2005(306):re12. DOI: 10.1126/stke.3062005re12.
15. *Schödel J, Oikonomopoulos S, Ragoussis J, Pugh CW, Ratcliffe PJ, Mole DR.* High-resolution genome-wide mapping of HIF-binding sites by ChIP-seq. *Blood.* 2011;117(23):e207–17. DOI: 10.1182/blood-2010-10-314427.

**Информация об авторах**

Артем Михайлович Мыльников – ассистент кафедры патологической анатомии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского.

Алла Борисовна Бучарская – доктор биологических наук, руководитель центра коллективного пользования экспериментальной онкологии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского.

Дмитрий Андреевич Мудрак – ассистент кафедры патологической анатомии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского.

Галина Никифоровна Маслякова – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского.

**Author information**

Artyom M. Mylnikov – Assistant, Anatomic Pathology Department, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-2433-8228>

Alla B. Bucharskaya – Dr. Sci. (Biol.), Head of the Experimental Oncology Center, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-0503-6486>

Dmitry A. Mudrak – Assistant, Anatomic Pathology Department, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0001-7399-9204>

Galina N. Maslyakova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Anatomic Pathology Department, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0001-8834-1536>