

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"ВСЕРОССИЙСКИЙ ЦЕНТР ЭКСТРЕННОЙ И РАДИАЦИОННОЙ
МЕДИЦИНЫ ИМЕНИ А.М. НИКИФОРОВА" МИНИСТЕРСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДЕЛАМ
ГРАЖДАНСКОЙ ОБОРОНЫ, ЧРЕЗВЫЧАЙНЫМ СИТУАЦИЯМ
И ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ СТИХИЙНЫХ БЕДСТВИЙ

На правах рукописи

СОКОЛОВ НИКОЛАЙ ЮРЬЕВИЧ

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАСТВОРИМЫХ
ФОРМ РЕЦЕПТОРА ПРОГРАММИРУЕМОЙ ГИБЕЛИ КЛЕТКИ PD-1
И ЕГО ЛИГАНДА PD-L1 В ДИАГНОСТИКЕ, ПРОГРЕССИИ
И ПРОГНОЗЕ ОПУХОЛЕЙ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научный консультант:

доктор медицинских наук профессор, академик РАН

Кушлинский Николай Евгеньевич

Санкт-Петербург – 2026

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. КЛЮЧЕВЫЕ КОНТРОЛЬНЫЕ ТОЧКИ ИММУНИТЕТА И ИХ РАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ (обзор литературы)	19
1.1. Микроокружение опухоли	21
1.2. Семейство B7	23
1.3. PD-1/PD-L1	26
1.4. Регуляция экспрессии PD-1/PD-L1	28
1.5. Функции PD-1/PD-L1	29
1.6. Растворимые формы PD-1/PD-L1	31
1.7. Иммунотерапевтические препараты, воздействующие на митогенную систему PD-1/PD-L1	32
1.8. Предикторы эффективности анти-PD-1/PD-L1 терапии	34
1.9. B7-H3	38
1.10. Функция B7-H3	39
1.11. Терапевтические стратегии, направленные на B7-H3	40
1.12. Роль растворимой формы B7-H3 (sB7-H3)	41
1.13. VISTA	42
1.14. Терапевтические стратегии, направленные на VISTA	45
1.15. Роль растворимой формы VISTA	46
1.16. NK-клетки в микроокружении опухоли	47
1.17. NKG2D	48
1.18. Терапевтическое воздействие на NK-клетки	49
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	53-
2.1. Характеристика обследованных групп онкологических больных и контроля	53
2.2. Характеристика больных опухолями толстой кишки	54
2.3. Характеристика больных опухолями костей	57
2.4. Характеристика больных опухолями почки	64
2.5. Характеристика больных опухолями яичников	68
2.6. Специальные иммуноферментные и морфологические методы исследования	72
2.7. Статистический анализ полученных данных	72
ГЛАВА 3. sPD-1 и sPD-L1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ (результаты собственных исследований)	73
3.1. Сравнение содержания sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных колоректальным раком и в контрольной группе здоровых людей	73
3.2. Содержание сывороточных показателей биомаркеров в контроле и	78

у больных колоректальным раком с учетом пола и возраста	
3.3. Связь индексов системы TNM с уровни sPD-1 и sPD-L1 при колоректальном раке	80
3.4. Связь исследуемых показателей биомаркеров при колоректальном раке с учетом морфологического варианта опухоли	84
3.5. Степень дифференцировки колоректального рака и показатели биомаркеров	85
3.6. Локализация колоректального рака и показатели биомаркеров в сыворотке крови больных	87
3.7. Показатели общей выживаемости при колоректальном раке с учетом клинических факторов и данных анамнеза	88
3.8. Уровни сывороточных биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 и выживаемость больных колоректальным раком	95
ГЛАВА 4. sPD-1 И sPD-L1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ КОСТЕЙ (результаты собственных исследований)	104
4.1. Показатели sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных новообразованиями костей и в контроле	104
4.2. Связь пола и возраста с уровнем биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 в обследованных группах	108
4.3. Сывороточные уровни sPD-1 и sPD-L1 и критерии системы TNM при опухолях костей	111
4.4. Биомаркеры и морфология сарком костей	115
4.5. Сывороточные уровни sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 и их связь с морфологическими типами ЗОК (остеосаркома, хондросаркома, хордома).	116
4.6. Степень дифференцировки новообразования костей и сывороточные показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1	117
4.7. Связь клинических факторов и данных анамнеза с показателями выживаемости больных новообразованиями костей	122
4.8. Уровни биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 и выживаемость больных саркомами костей	131
ГЛАВА 5. ПОКАЗАТЕЛИ sPD-1 И sPD-L1 У БОЛЬНЫХ С НОВООБРАЗОВАНИЕМ ПОЧКИ (результаты собственных исследований)	144
5.1. Показатели sPD-1 и sPD-L1 в контроля и у больных с новообразованием почки	144
5.2. Показатели sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови здоровых людей и при почечно-клеточном раке с учетом пола и возраста	150
5.3. Индексы TNM и сывороточные показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 при почечно-клеточном раке	151
5.4. Уровни биомаркеров с учетом морфологического варианта почечно-клеточного рака	155
5.5. Уровни sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 и степень дифференцировки почечно-клеточного рака	157

5.6. Данные анамнеза, клинические факторы и их связь с выживаемостью при почечно-клеточном раке	158
5.7. Выживаемость при почечно-клеточном раке с учетом уровней sPD-1, sPD-L1	165
5.8. Показатели sPD-1 и sPD-L1 в диагностике рака почки	170
ГЛАВА 6. sPD-1 и sPD-L1 В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЯИЧНИКОВ (результаты собственных исследований)	174
6.1. Содержание sPD-1 и sPD-L1 в контроле и у больных новообразованиями яичников (общая группа)	173
6.2. Уровни sPD-1 и sPD-L1 в контроле и у больных злокачественными опухолями яичников с учетом их возраста	177
6.3. Показатели иммунитета sPD-1 и sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом стадии заболевания по системе TNM и FIGO	179
6.4. Содержание показателей иммунитета sPD-1 и sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом морфологического варианта строения опухоли	185
6.5. Степень дифференцировки злокачественных опухолей яичников и показатели иммунитета	185
6.6. Иммунологические показатели плазмы крови у больных злокачественными опухолями яичников с учетом наличия асцита, раковых клеток в смывах из брюшной полости, максимального размера опухоли по данным УЗИ, стороны поражения	186
6.7. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с учетом клинических факторов и данных анамнеза	191
6.8. Выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с учетом уровней биомаркеров	198
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	212
ВЫВОДЫ	231
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	234
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	236
СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	237
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ	270

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

К основным направлениям специальности «Клиническая лабораторная диагностика» относится определение диагностической информативности лабораторных тестов и их колебаний, клинико-лабораторные методы исследования для определения тяжести, периода и срока болезни, прогноза, контроля за лечением и его результатами. В связи с этим большой интерес для клинической лабораторной диагностики в онкологии представляет контрольная точка иммунитета (КТИ) PD-1/PD-L1, включающая рецептор программируемой клеточной гибели 1 типа PD-1 (programmed cell death protein 1) и двух лигандов PD-L1, PD-L2 [18, 20, 21, 23, 232]. Известно, что активация системы PD-1/PD-L1 носит двойственный характер – одновременно стимулирует апоптоз антиген-специфичных Т-клеток и подавляет апоптоз регуляторных супрессорных Т-клеток, все это приводит к снижению противоопухолевой эффективности иммунокомпетентных клеток хозяина [229, 244].

Главным достижением в борьбе с онкологическими заболеваниями за последнее десятилетие, несомненно, стало внедрение Т-клеточных иммуномодуляторов, блокирующих контрольные точки иммунитета CTLA-4 и PD-1/PD-L1 [47, 55], механизм действия которых активно изучается [21, 50, 51]. Лекарственные препараты, нацеленные на Т-клетки, сегодня используют либо самостоятельно, либо вместе с химиотерапией как в 1-й, так и во 2-й линии лечения более, чем у 50 типов злокачественных новообразований [41, 149, 253]. При этом, не у каждого больного отмечен эффект от лечения.

Кроме того, экспрессия лиганда PD-L1 выявлена на клетках многих типов злокачественных опухолей, таких как почечно-клеточный рак [218, 230], немелкоклеточный рак легкого [178], опухоли головы и шеи [174], опухоли желудочно-кишечного тракта [170, 197], опухоли женской репродуктивной системы [176], опухоли костей [19], онкогематологические

заболевания [224], а у детей — на клетках лимфомы Ходжкина, глиобластомы, нейробластомы.

Однако особый интерес исследователи проявляют к растворимым формам sPD-1 и sPD-L1 в крови онкобольных [42, 46, 146, 147, 193]. Механизмы появления их в циркуляторном русле неизвестны. Полагают, что они появляются в результате альтернативного сплайсинга нативной мРНК, отщепления мембранных эктодоменов, протеолитического расщепления [7, 145].

Доказано в экспериментах, что sPD-1 подавляет активность КТИ PD-1/PD-L1, вследствие блокирования связывания лиганда, расположенного на опухолевых клетках с мембранным рецептором Т-лимфоцитов, которые инфильтрируют опухоль. Подавление лигандом sPD-L1 активности системы PD-1/PD-L1 связано с блокированием его рецептора, а возможно и активацией апоптоза Т-клеток [145].

Следует отметить, что онкологи активно изучают sPD-1 и sPD-L1, а их предварительные результаты описаны рядом авторов [91, 246, 280]. Большинство исследователей выявили повышенную продукцию лигандов программируемой гибели клеток sPD-L1 и sPD-L2 в злокачественных опухолях и среди них: гепатоцеллюлярная карцинома, рак почки, простаты, яичников, желудка, глиомы, опухоли костей, головы и шеи, лимфома Ходжкина [6, 23, 137, 163, 284].

Разработанность темы исследования

Последнее десятилетие отмечено активным изучением растворимых форм рецептора программируемой гибели клетки PD-1 и его лиганда PD-L1 у онкологических больных при различных нозологических формах злокачественных новообразований [85, 99, 118]. Это, прежде всего, было связано с неопределенностью их происхождения в циркуляторном русле здоровых людей и онкологических пациентов, непонятной их ролью в диагностике, клиническом течении, чувствительностью к лекарственной

терапии и прогнозе болезни [148]. При этом большинство исследователей изучали экспрессию PD-1 и PD-L1 в первичных опухолях больных, полагая, что наличие мишени в ткани новообразования гарантирует эффект противоопухолевой иммунотерапии ингибиторами PD-1 и PD-L1 [96]. Однако оказалось, что только «высокоиммуногенные» злокачественные опухоли (например, почечно-клеточный рак и меланома) успешно отвечали на этот вид проводимой терапии. В ряде случаев даже при отсутствии экспрессии этих мишеней в опухолевом поле исследователи отмечали положительный эффект лечения ингибиторами КТИ [8, 47]. Попытки объяснить этот факт в клинике онкологических заболеваний до настоящего времени не представляется возможным, а исследовать экспрессию PD-1 и PD-L1 в первичной опухоли можно только однократно. В этот период появляется ряд первых работ по исследованию КТИ и их основных компонентов и, в частности, sPD-1 и sPD-L1 в циркуляторном русле у онкологических больных, а также данные по содержанию этих молекул не только в клетках опухоли, в плазме и сыворотке крови, но и в иммунных клетках, инфильтрирующих опухоль (макрофаги, различные типы лимфоцитов) [8, 148]. Эти данные помимо почечно-клеточного рака и меланомы охватили различные нозологические типы злокачественных опухолей, в том числе рак легкого, молочной железы, шейки матки, слизистой полости рта гематологические заболевания, опухоли мозга [7, 10, 42].

Следует отметить, что большинство исследователей выявили повышение содержания sPD-1 и sPD-L1 в крови онкологических больных по сравнению со здоровыми людьми, но уровни биомаркеров зависели не только от типа опухоли и стадии заболевания, но и от возраста и пола пациентов [148]. Кроме того, представленные авторами предварительные данные в большинстве своем были получены с использованием различных антител при иммуноферментном определении sPD-1 и sPD-L1 и оказались противоречивыми по их клинической значимости, были выполнены на

небольшой когорте онкологических пациентов и не представляется возможным их сравнение с работами других исследователей. Все вышеуказанное требует продолжения исследований sPD-1 и sPD-L1 с одним типом антител и более подробный анализ полученных результатов с учетом клинических, морфологических и биохимических особенностей онкологического заболевания. Следовательно, актуальность настоящего исследования определяет прежде всего поиск новых биомаркеров анализа биологических особенностей опухоли, прогнозирование ее клинического течения, каковыми могут быть sPD-1 и sPD-L1, тесно связанные с метастатическим фенотипом опухоли, клиническим течением и прогнозом болезни.

Цель исследования

разработка комплексного клинико-лабораторного метода диагностики и оптимизации прогноза у больных различными типами новообразований с учетом особенностей одновременного выявления, уровней sPD-1 и его лиганда sPD-L1 с клиническими, морфологическими, биохимическими характеристиками заболевания, опухолевой прогрессией и прогнозом.

Задачи исследования

1. Определить исходные до лечения уровни sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке/плазме крови больных новообразованиями толстой кишки, костей, почек, яичников и сравнить полученные результаты с соответствующими показателями у здоровых людей контрольной группы.
2. Выявить зависимость уровней sPD-1, sPD-L1 и их соотношения sPD-1/sPD-L1 от возраста и пола пациентов, репродуктивного статуса и сопутствующих соматических заболеваний при новообразованиях толстой кишки, костей, почек, яичников.
3. Провести анализ содержания sPD-1 и sPD-L1 и их соотношения в плазме крови с учетом обнаружения асцита и раковых клеток в смывах из брюшной полости и выявить связь уровней биомаркеров с объемом выполненной циторедукции у больных раком яичников.

4. Оценить связь уровней sPD-1, sPD-L1 и их соотношения sPD-1/sPD-L1 у больных доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями толстой кишки, костей, почек, яичников и сравнить полученные данные с уровнями биомаркеров в соответствующих группах здоровых людей.

5. Сопоставить уровни биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 с основными клинико-лабораторными данными, а именно, морфологическим строением и степенью дифференцировки новообразования, распространенностью опухолевого процесса согласно критериям системы TNM, клинической стадией колоректального рака, сарком костей, почечно-клеточного рака и рака яичников.

6. Проанализировать показатели общей выживаемости больных колоректальным раком, первичными саркомами костей, почечно-клеточным раком, раком яичников с учетом основных клинических и морфологических характеристик заболевания: морфологического типа опухоли, степени дифференцировки новообразования, критериев системы TNM.

7. Выделить пороговые уровни sPD-1, sPD-L1 и их сочетания в плазме/сыворотке крови больных колоректальным раком, первичными саркомами костей, почечно-клеточным раком, раком яичников в комплексе с ключевыми клинико-морфологическими характеристиками выше указанных заболеваний при оценке прогноза общей выживаемости.

Научная новизна исследования

Представленная работа является первой в России, посвященной комплексному исследованию sPD-1 и sPD-L1, выполнена на большом клиническом материале у больных колоректальным раком, первичными саркомами костей почечно-клеточным раком и новообразованиями яичников.

На основании анализа результатов исследования, показано, что сывороточные или плазменные уровни sPD-1 и sPD-L1 зависят от локализации первичной опухоли, ее клинических особенностей и основных

морфологических характеристик, тесно связаны с распространенностью опухолевого процесса и прогнозом выживаемости.

Выявлено, что при колоректальном раке (КРР) концентрация лиганда sPD-1 в сыворотке крови больных была достоверно ниже, чем в группе контроля здоровых доноров. При этом, уровни маркера не различались между больными злокачественными и доброкачественными новообразованиями толстой кишки. Убедительно доказано, что рецептор программируемой смерти sPD-1 не связан с полом и возрастом больных КРР, критериями Т, N, М и анатомической его локализацией в толстой кишке, но уровни биомаркера достоверно снижались при снижении степени дифференцировки рака.

Обнаружены определенные ассоциации уровней sPD-L1 с некоторыми клиническими и морфологическими характеристиками КРР. Прежде всего, концентрации лиганда статистически значимо выше у больных, чем в контроле, при раке прямой кишки относительно сигмовидной. Кроме того, уровни лиганда увеличивались с повышением критериев Т, а также при G2, при этом они не были ассоциированы с критериями N и М. Отмечено статистически значимое снижение соотношения показателей sPD-1/sPD-L1 по мере увеличения критерия Т, это соотношение слабо отражало критерии N и М, но достоверно снижалось на начальных стадиях болезни, при раке прямой кишки по сравнению сигмовидной.

Уровни рецептора sPD-1 выше при почечно-клеточном раке (ПКР) по сравнению с доброкачественными новообразованиями почки и в контроле у здоровых доноров. При этом, у данной категории больных не обнаружили связи растворимой формы рецептора программируемой гибели клетки sPD-1 с клинической стадией заболевания, критериями системы TNM, полом и возрастом. Отмечена связь концентраций sPD-1 с морфологическим типом ПКР, его уровень был достоверно ниже при светлоклеточном раке почки, чем в общей группе с хромофобным и папиллярным ПКР. Вместе с тем, со

степенью дифференцировки рака почки сывороточные показатели sPD-1 не были связаны.

Свои особенности проявил лиганд sPD-L1 при ПКР, медиана его была значимо выше, чем в контроле ($p < 0,0001$), у мужчин, чем у женщин ($p = 0,022$) и не отличалась от доброкачественных новообразований почки. Оказалось, что уровни лиганда не были ассоциированы с морфологическим строением новообразования и степенью его дифференцировки, однако достоверно повышались при увеличении критериев T, N, M, снижались по мере снижения степени дифференцировки опухоли. Кроме того, у больных ПКР сывороточные концентрации рецептора sPD-1 и лиганда sPD-L1 не коррелировали между собой.

Показано, что концентрации сывороточного sPD-1 не отличались между больными первичными саркомами костей, доброкачественными, пограничными (гигантоклеточными) новообразованиями костей и здоровыми донорами. На основании анализа полученных данных не отмечено связи уровней sPD-1 с критериями системы TNM, полом больных, трубчатыми и плоскими костями, но связаны с гистогенезом новообразования: достоверно выше при опухоли Юинга и остеосаркоме, чем хондросаркоме. Обнаружено, что сывороточные уровни лиганда sPD-L1 достоверно выше при новообразованиях костей, чем в контроле и не связаны с их гистогенезом.

При саркомах костей не обнаружили связи уровней лиганда sPD-L1 с полом, возрастом, критериями T, N, M, стадией опухолевого процесса, локализацией опухоли в костях скелета, типом пораженной кости, однако статистически значимо снижались по мере снижения степени дифференцировки новообразования.

При раке яичников (РЯ) плазменные уровни sPD-1 не отличались от пациентов с доброкачественными опухолями яичников, но у последних были значимо выше, чем при пограничных новообразованиях. Во всех трех группах больных новообразованиями яичников концентрации биомаркера не отличались от контрольной группы здоровых женщин. Уровни рецептора

sPD-1 при РЯ не были связаны с основными клинико-морфологическими характеристиками новообразования, возрастом, наличием асцита и раковых клеток в смывах из брюшной полости.

У больных новообразованиями яичников (общая группа) уровни лиганда sPD-L1 достоверно ниже относительно контроля, не связаны с возрастом, морфологическим вариантом новообразования и степенью его дифференцировки, репродуктивным статусом. Однако концентрация лиганда достоверно повышалась по мере увеличения критерия Т и клинической стадии заболевания по FIGO, при двустороннем раке яичников и выявлении асцита.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Комплексный анализ с ключевыми клиническими и морфологическими характеристиками новообразований свидетельствует о достоверной роли sPD-1 и sPD-L1 в оценке отдаленных результатов лечения больных колоректальным раком, первичными саркомами костей, почечно-клеточным раком и раком яичников.

Несмотря на связь растворимых форм рецептора sPD-1 и лиганда sPD-L1 с некоторыми клиническими, морфологическими особенностями изученных новообразований и их прогрессией, анализ ROC-кривых не позволяет использовать выше указанные биомаркеры в диагностике колоректального рака, почечно-клеточного рака, первичных сарком костей и РЯ.

Данные настоящей работы свидетельствуют о прогностически неблагоприятных двух биомаркерах в сыворотке крови (sPD-1 и sPD-L1) больных саркомами костей при соответствующих их пороговых уровнях: это высокие концентрации рецептора sPD-1 (≥ 40 пг/мл) и лиганда sPD-L1 (≥ 18 пг/мл).

Многофакторный анализ убедительно доказал, что длительность жизни пациентов достоверно определяли изученные показатели иммунитета и морфологические характеристики опухоли.

Лучшие показатели 5-летней общей выживаемости отмечены у больных КРР при опухолях с критерием T1, наихудшие – при IVb-IVc стадиях. Однофакторный анализ показал, что 5-летнюю общую выживаемость достоверно отражали критерии T ($p=0,017$), N ($p<0,0001$), M ($p=0,0001$), степень дифференцировки опухоли ($p=0,007$) и ее локализация ($p=0,01$) в толстой кишке. При многофакторном анализе КРР только критерий M можно считать независимым фактором прогноза выживаемости ($p<0,0001$). Нами выделена пороговая концентрация sPD-1 при КРР (<25 пг/мл) в качестве неблагоприятного прогностического фактора 5-летней выживаемости. Определены сывороточные концентрации лиганда sPD-L1 ≥ 10 пг/мл, которые следует считать неблагоприятным фактором прогноза заболевания.

Многофакторный анализ связи общей выживаемости больных КРР без метастазов в отдаленных органах и тканях выявил, что уровни биомаркеров sPD-1, sPD-L1 оказали большее влияние на длительность жизни этих пациентов, чем критерии T и N. В общей группе больных КРР многофакторный анализ подтвердил связь с общей выживаемостью уровней sPD-1 и sPD-L1 в крови и критериев системы TNM.

Многофакторный анализ показал, что выживаемость больных злокачественными опухолями костей определяли оба показателя иммунитета sPD-1 и sPD-L1 ($p=0,0039$) и морфологический тип сарком костей ($p=0,015$). Определены пороговые сывороточные уровни sPD-1 (≥ 40 пг/мл) и sPD-L1 (≥ 18 пг/мл), которые следует считать статистически значимыми неблагоприятными факторами прогноза выживаемости при саркомах костей (соответственно $p=0,037$ и $p=0,032$).

Неблагоприятными прогностическими факторами 5-летней выживаемости при ПКР следует считать: клиническую стадию ($p<0,0001$); пол больных ($p=0,027$); все критерии системы TNM: T ($p=0,00016$), N ($p<0,0001$) и M ($p=0,0085$); клиническую стадию ($p<0,0001$), а также степень дифференцировки рака почки ($p=0,02$). Многофакторный анализ подтвердил

эти ассоциации. Неблагоприятным прогностическим фактором выживаемости при ПКР оказался сывороточный лиганд sPD-L1 в концентрации $\geq 42,6$ пг/мл.

Многофакторный анализ (Proportional hazard (Cox) regression) установил, что выживаемость больных раком яичников преимущественно определяется критерием M ($p=0,013$), достоверно худшая общая выживаемость выявлена в группе больных с превышением концентраций лиганда sPD-L1 над sPD-1 ($p=0,031$), при этом сочетание плазменных концентраций sPD-1 ≥ 45 пг/мл и sPD-L1 ≥ 41 пг/мл при раке яичников следует считать прогностически неблагоприятными ($p=0,032$).

Анализ показателей sPD-1 и sPD-L1 в крови больных колоректальным раком, первичными саркомами костей, почечно-клеточным раком, раком яичников позволили:

1. определить пороговые уровни биомаркеров sPD-1, sPD-L1 и их сочетания, связанные с метастатической активностью исследованных опухолей;
2. прогнозировать клиническое течение опухолевого процесса и оценивать общий прогноз 5-летней выживаемости при вышеуказанных заболеваниях;
3. выделить группу пациентов, которые нуждаются в более активном наблюдении после проведенного хирургического лечения;
4. выявить больных, которым после хирургического удаления опухоли показано проведение адъювантной лекарственной терапии.

Методология и методы исследования

Основу методологии диссертационного исследования составляет комплексное клинико-морфологическое и лабораторное исследование ключевых компонентов контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 растворимых форм рецептора программируемой гибели клетки sPD-1 и его лиганда sPD-L1 у здоровых лиц, больных доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями толстой кишки, почки,

костей, яичников, с использованием современных высокочувствительных методов иммуноферментного анализа, лабораторного оборудования и программ статистического анализа полученных результатов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Комплексное исследование растворимых форм контрольных точек иммунитета, формирующих механизмы иммуносупрессии при опухолевых заболеваниях (sPD-1 и sPD-L1), выполненное на большом клиническом материале, показало, что уровни sPD-1 и sPD-L1 в крови зависят от локализации опухоли, ее клинических особенностей и основных морфологических характеристик, тесно связаны с распространенностью опухолевого процесса, прогнозом выживаемости и носят разнонаправленный характер у больных колоректальным раком, почечно-клеточным раком, первичными саркомами костей и новообразованиями яичников

2. Растворимые формы рецептора sPD-1 и его лиганда sPD-L1 не следует использовать в качестве маркеров диагностики и характера выявленного новообразования. Определение уровней растворимых форм ключевых компонентов иммунитета sPD-1 и sPD-L1 и их соотношений в комплексе с клиническими и морфологическими характеристиками позволяет оценить отдаленные результаты лечения больных колоректальным раком, почечно-клеточным раком, первичными саркомами костей и раком яичников.

3. Связь исследованных иммунологических маркеров sPD-1 и sPD-L1 с ключевыми клиническими и морфологическими характеристиками онкологических заболеваний демонстрирует характерные черты присущие конкретной опухоли и разнообразие вариантов изменений изученных показателей по сравнению с контрольной группой, группами с доброкачественными и злокачественными опухолями в зависимости от степени дифференцировки опухоли, стадий патологического процесса у больных колоректальным раком, саркомами костей, почечно-клеточным раком и раком яичников.

4. Иммунологические биомаркеры sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке/плазме крови являются достоверными и независимыми факторами прогрессии опухолевого процесса и прогноза общей выживаемости больных злокачественными опухолями толстой кишки, саркомами костей скелета, раком почки и яичников. Определены пороговые значения исследованных биомаркеров в оценке прогноза выживаемости для всех исследованных групп больных.

5. Результаты анализа исследования по определению sPD-1 и sPD-L1 и выявлению связи изученных показателей с клиническими, морфологическими, биохимическими характеристиками заболевания, опухолевой прогрессией и прогнозом у больных колоректальным раком, почечно-клеточным раком, первичными саркомами костей, раком яичников сформировали основу клинико-лабораторного метода, позволяющего определить биологические маркеры и их сочетания, связанные с метастатической активностью исследованных опухолей, прогнозировать клиническое течение опухолевого процесса и оценивать общий прогноз заболевания, выделить группу пациентов, которые нуждаются в более активном наблюдении после проведенного хирургического лечения, выявить больных, которым после хирургического удаления опухоли показано проведение адъювантной лекарственной терапии.

Степень достоверности результатов

Большой объем обследованных пациентов (770 наблюдений) с доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями различных локализаций (колоректальный рак, первичные опухоли костей, почечно-клеточный рак, новообразования яичников) и 229 человек в контрольной группе здоровых доноров определяют достоверность результатов. В работе использованы современные лабораторные и статистические методы исследования больных с высокими аналитическими характеристиками и соблюдением принципов научной этики. Полученные диссертантом данные обоснованы анализом отечественных и зарубежных

исследований из 285 источников. Выводы работы полностью подтверждают поставленную цель и задачи.

Апробация работы

Материалы диссертации представлены на: VII Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 19-21 октября 2021 г.); VI Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 21-23 декабря 2021 г.); XXVII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Лабораторная медицина: вклад в борьбу с пандемией» (Москва, 4-6 апреля 2022 г.); V Всероссийской конференции «Опухолевые маркеры: молекулярно-генетические и клинические аспекты» (Республика Алтай, Майминский район, с. Майма, 26-29 июля 2023 г.); VI Всероссийской конференции «Опухолевые маркеры: молекулярно-генетические и клинические аспекты» (Республика Алтай, Майминский район, с. Майма, 29 июля – 1 августа 2024 г.); XXX Всероссийской юбилейной научно-практической конференции «Национальные традиции клинической лабораторной диагностики» (Москва, 18-20 марта 2025 г.); VII Всероссийской конференции «Опухолевые маркеры: молекулярно-генетические и клинические аспекты» (Бердск, 28-30 июля 2025 г.); X Всероссийской Конференции по молекулярной онкологии (Москва, 29-31 октября 2025 г.); XI Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 1-3 октября 2025 г.).

Внедрение результатов работы в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику лаборатории клинико-диагностической централизованного научно-клинического лабораторного отдела консультативно-диагностического центра НИИ клинической онкологии им. академика РАМН и РАН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, в практическую и научно-исследовательскую работу отдела лабораторной диагностики ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России. Материалы диссертации используются на лекционных, семинарских

занятиях с курсантами циклов повышения квалификации врачей на кафедре клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России.

Личный вклад автора

Автор диссертации непосредственно участвовал в выборе концепции и темы научного исследования, постановке цели, определении задач исследования и сборе материала. Самостоятельно провел сбор, лабораторное выполнение и обработку статистического материала, сформулировал выводы и практические рекомендации работы. Все публикации по теме диссертационной работы подготовлены с личным участием и определяющим вкладом автора.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, конкретно пунктам 1, 2, 3, 9.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 32 печатных работ, 14 из них в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований по специальностям 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки).

Структура и объем диссертации

Диссертация содержит введение, 6 глав, включающих обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования и обсуждение результатов, выводы, практические рекомендации, список сокращений и список литературы. В списке литературы использованы 285 источников, из них 49 отечественных и 236 зарубежных. Материал диссертационной работы изложен на 272 страницах, проиллюстрирован 139 рисунками и 90 таблицами.

ГЛАВА 1.

КЛЮЧЕВЫЕ КОНТРОЛЬНЫЕ ТОЧКИ ИММУНИТЕТА И ИХ РАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ (обзор литературы)

Результаты эпидемиологических исследований свидетельствуют о росте заболеваемости и смертности от онкологических заболеваний во многих странах мира, в том числе и в России [12, 36]. Так, в работе Н. Sung et al. (2021) представлена обновленная информация о 36 типах рака в 185 странах с использованием оценок заболеваемости и смертности GLOBOCAN 2020, подготовленных Международным агентством по изучению рака (МАИР) [228]. По оценкам, в 2020 году во всем мире было зарегистрировано 19,3 миллиона новых случаев рака (18,1 миллиона, исключая немеланомный рак кожи) и почти 9,9 миллионов смертей от рака (исключая немеланомный рак кожи).

Главным достижением в борьбе с онкологическими заболеваниями за последнее десятилетие, несомненно, стало внедрение Т-клеточных иммуномодуляторов. В числе первых контрольных точек иммунитета были CTLA-4 и PD-1/PD-L1, а первым ингибитором CTLA4, который стали использовать в клинике, был ипилимума. Несколько позже были предложены ингибиторы рецептора PD-1 и лиганда PD-L1, которые с успехом используются в онкологической клинике при лечении различных злокачественных опухолей. Лекарственные препараты, нацеленные на Т-клетки, сегодня используются в режиме монотерапии или в комбинации с химиотерапией в качестве первой или второй линии лечения около 50 типов злокачественных опухолей [253].

Тем не менее, десять лет назад, до начала эры ингибиторов иммунных контрольных точек (ИКТ), иммунотерапия солидных опухолей находилась в достаточно тяжелой ситуации [16, 26]. Она основывалась на использовании цитокинов, таких как интерлейкин-2 или интерферон альфа, для которых была характерна низкая эффективность и высокая токсичность. Кроме того, в

клинических испытаниях находились различные формы противоопухолевых вакцин, которые в большинстве случаев были малоэффективны [210]. Однако после первого успеха иммунотерапии на основе ИКТ и до сегодняшнего дня ситуация с иммунотерапией кардинально изменилась, и данный метод лечения стал наиболее динамично развивающейся областью в онкологии, о чем свидетельствует присуждение Нобелевской премии по медицине 2018 года двум иммунологам, стоявшим у истоков концепции иммунотерапии на основе ИКТ, Джеймсу Эллисону и Тасуку Хондзё [153].

Так что же представляют собой “контрольные точки иммунитета”. В нормальных физиологических условиях КТИ имеют решающее значение для поддержания аутоотолерантности (предотвращения аутоиммунных реакций), а также для защиты тканей от повреждения, когда иммунная система реагирует на патогенную инфекцию.

Известно, что приобретенном иммунного ответа важная роль отводится Т-лимфоцитам [72]. Однако, среди различных популяций иммунных клеток цитотоксические Т-лимфоциты часто являются основными эффекторами, которые обнаруживают и убивают опухолевые клетки. После чего происходит процесс негативной и позитивной селекции, направленный на уничтожения Т-клеток.

Стало известно о двух сигналах в активации Т-клеток: первый сигнал – это взаимодействие главного комплекса гистосовместимости (ГКГС, MHC – major histocompatibility complex)/антигена на APC (антигенпрезентирующих клетках и TCR (антигенпрезентирующий Т-клеточный рецептор); второй сигнал – взаимодействия костимулирующих молекул и их рецепторов/лигандов. К дисфункции Т-клеток приводит отсутствие костимулирующего сигнала, а именно, связывания TCR с комплексом ГКГС/антиген (рисунок 1).

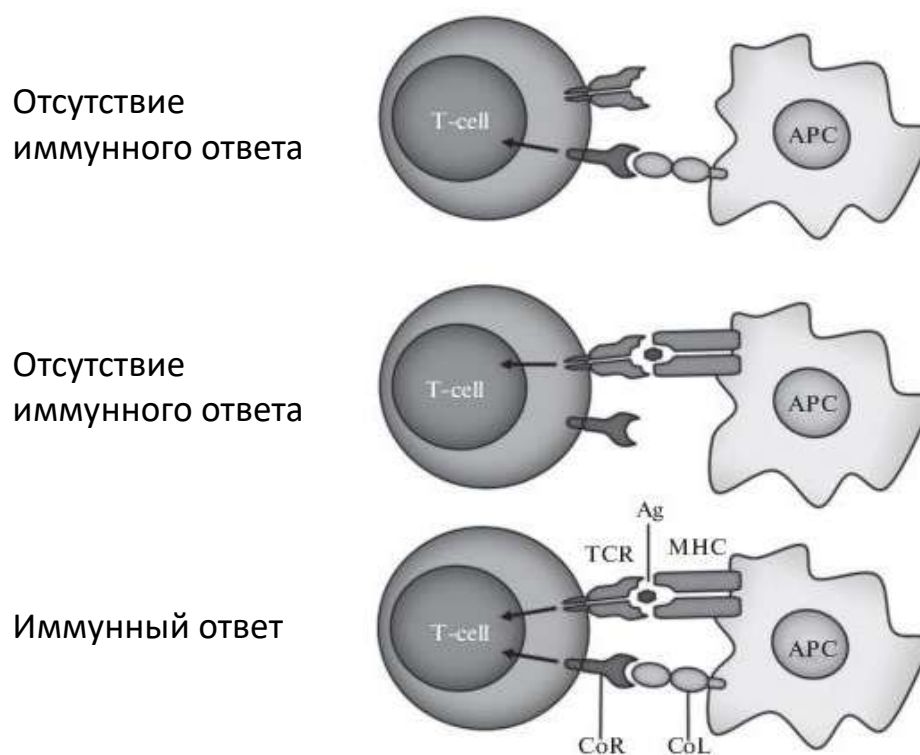


Рисунок 1. Механизмы, способствующие Т-клеточной активации [72].

При этом, стало известно, что инициацию Т-клеточного ответа могут проводить положительные или отрицательные костимулирующие сигналы, последние задействуют молекулы CD80, CD86 и их рецепторы CD28, CTLA4.

1.1. Микроокружение опухоли

Опухолевые клетки стимулируют значительные молекулярные, клеточные и физические изменения в тканях органа. Формирующееся микроокружение опухоли представляет собой сложную и постоянно развивающуюся структуру, в составе которой помимо внеклеточного матрикса входят эндотелиальные клетки, различные иммунные клетки [165]. На сегодняшний день очевидно, что микроокружение опухоли является ее неотъемлемым составляющим, в состав которого входят клетки иммунной системы, способствующие «ускользанию» опухоли из-под иммунологического надзора. Считается, что опухолевое микроокружение является активным фактором, способствующим опухолевой прогрессии. На ранних стадиях опухолевого роста между клетками опухоли и микроокружения устанавливаются динамические, способствующие

выживанию опухолевых клеток, их локальной инвазии и метастатическому распространению. Чтобы преодолеть, в частности, условия гипоксии клетки микроокружения способствуют ангиогенезу для восстановления снабжения кислородом/питательными веществами и удаления отходов метаболизма [56]. Также опухоли активно инфильтрируются разнообразными клетками адаптивного и врожденного иммунитета, которые могут оказывать как про-, так и противоопухолевое действие (рисунок 2).

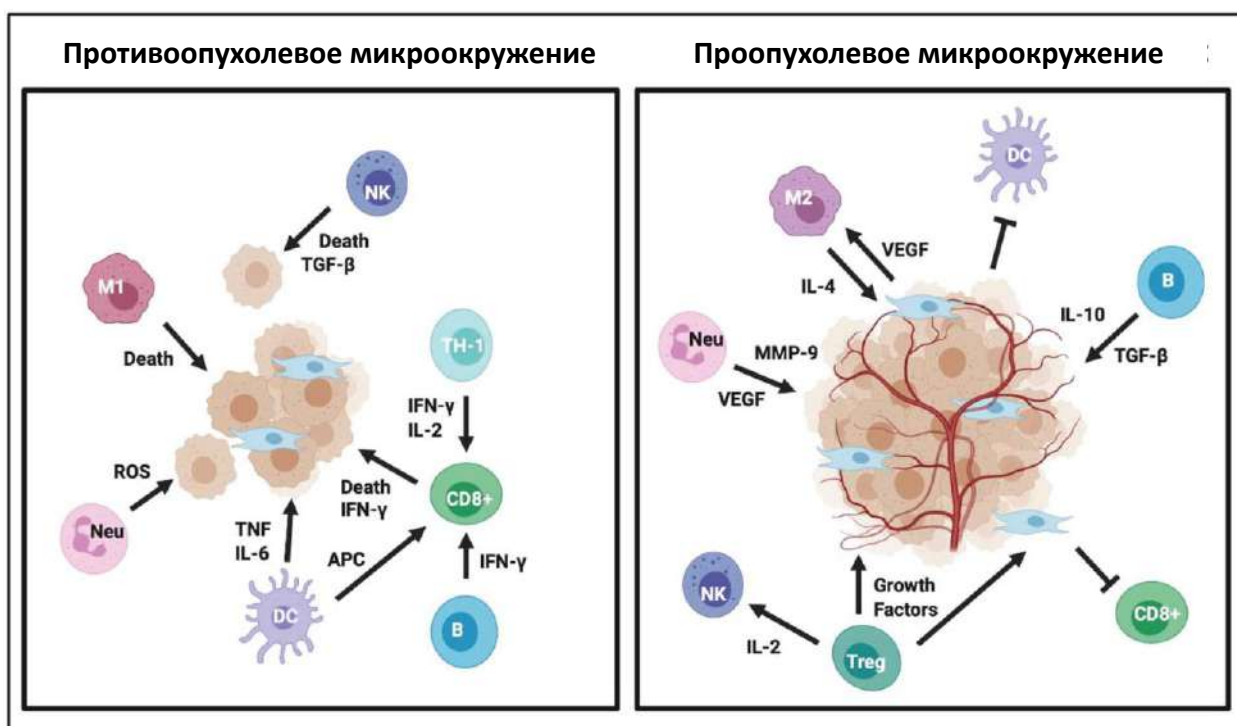


Рисунок 2. Микроокружение опухоли [56].

Процесс ухода от противоопухолевого иммунитета может достигаться различными способами. Так в опухоли присутствуют антигенпрезентирующие клетки (APC), а именно дендритные клетки и макрофаги, неспособные к правильному адекватному функционированию. С другой стороны, различные типы стромальных или опухолевых клеток обладают aberrантной экспрессией ингибирующих молекул из семейства B7 [57].

Другой механизмом ухода связан с Treg-клетками. Макрофаги, активированные последними, усиленно продуцируют IL-6 и IL-10, что приводит к гиперсекреции VTCN1, который подавляет пролиферацию T-

клеток [119]. Кроме этого, отмечена повышенная продукция CD25 и FoxP3 Treg-клетками, а последние склонны к подавлению не только эффекторных клеток, но и CD-клеток и NK-клеток [215]. Также на поверхности Treg-клеток экспрессируется CTLA-4. Показано, что с неблагоприятным прогнозом опухолей связаны высокие концентрации Treg клеток, сниженное количество CD8⁺ Т-клеток с последующим стимулированием роста опухоли [108]. Интересный факт отмечен A. Facciabene et al. (2011) которые доказали, что Treg-клетки способствуют опухолевому ангиогенезу с последующей экспрессией VEGF [99].

1.2. Семейство B7

В последние годы большой интерес иммунологии уделяется семейству молекул B7, состоящих из родственных белков, которые через свои рецепторы способны влиять на многие иммунные реакции. Это семейство в настоящее время включает 10 членов: B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), B7-H2 (CD275 или ICOSL), B7-H1 (CD274 или PD-L1), B7-DC (CD273 или PD-L2), B7-H3 (CD276), B7-H4 (B7S1, B7х или Vtn1), B7-H5 (VISTA, GI24, Dies1 или PD-1H), B7-H6 (NCR3LG1) и B7-H7 (HNLA2) [115, 118, 155, 257, 269]. Члены семейства B7 могут быть активными регуляторами роста и метастазирования клеток опухоли и их чувствительности к лекарственным препаратам независимо от иммунной системы [261]. Передача через лиганды B7 ко-ингибиторных или ко-стимулирующих митогенных сигналов может играть большую роль при разработке противоопухолевых препаратов.

Классификация белков B7 с учетом их функции в настоящее время разделяется на определенные группы, которые приведены в таблице 1.

В качестве примера следует отметить молекулы B7 класса I, которые являются лигандами рецепторов CD28, продуцируются на клетках опухоли и осуществляют взаимосвязь с клетками иммунитета.

Таблица 1.

Классификация белков семейства В7

В7 молекула	Альтернативное название	Рецептор	Функция
Класс I			
В7-1	CD-80	CD-28, CTLA-4, ICOS	Стимуляция/ингибирование
В7-2	CD-86		
В7-Н2	ICOS-L		
Класс II			
В7-Н1	PD-L1, CD274	PD-1	Ингибирование
В7-DC	PD-L2, CD273		
Класс III			
В7-Н3	CD276	Не идентифицирован CD28H	Стимуляция/ингибирование
В7-Н4	В7-х, В7-S1		
В7-Н7	НHLA2		
В7-Н5	VISTA	VSIG-3	Ингибирование
В7-Н6	NCR3LG1	NKp30	Стимуляция

Белки В7-1 и В7-2 могут служить регуляторами иммунных реакций, связываясь на Т-клетках с рецепторами CD28 или CTLA4. Последние крайне важны для активации и ингибирования нативных Т-клеток.

Так, взаимодействуя с CD28 на Т-клетках или с ингибирующим рецептором CTLA-4 молекулы В7-1 и В7-2 выступают регуляторами иммунитета. Для активации и ингибирования наивных Т-клеток необходимы сигналы CD28 или CTLA-4. Выше мы указывали, что связывание Т-клеточного рецептора с комплексом ГКГС/антиген на APC с одновременной ко-стимуляцией CD28 от В7-1 и В7-2 способно активировать Т-клетки.

При длительной активации выше указанных сигнальных путей может происходить трансформация нативных Т-клеток в эффекторные Т-клетки,

что приводит к ингибированию апоптоза цитокинами. Кроме того, Т-клетки становятся при взаимодействии с рецептором CTLA4 неактивными.

Стало известным, что B7-H2 может функционировать ко-стимулирующим белком. Последний продуцируется не только клетками опухолей, но и макрофагами, В-клетками, и который связываясь с ICOS (ко-стимулятором Т-клеток), приводит к дифференцировке Т-клеток в цитотоксические Т-лимфоциты и регрессии злокачественного новообразования [259].

Для поддержания периферической иммунотолерантности B7-H1 и B7-DC, взаимодействуя с PD-1, отрицательно регулируют TRC (Т-клеточные рецепторы) и BCR (В-клеточные рецепторы)

Молекулы B7 III класса представлены белками B7-H3, B7-H4 (B7х), B7-H7 [212]. Пока только предположение, что гомолог CD28 (CD28H), экспрессирующийся на NK клетках, может быть рецептором B7-H7 [282]. В литературе также не представлены рецепторы для B7-H3 и B7-H4 белков.

В настоящее время доказано, что B7-H3 – ингибитор Т-клеток [Pardoll, 2012], однако первые исследования полагали, что этот белок – активатор Т-клеток [71].

Несмотря на то, что повышенная продукция белка B7-H4 отмечена при некоторых злокачественных опухолях и, в частности, при РМЖ, РЯ, раке мочевого пузыря, его рецептор не известен [85, 100, 234].

Оказалось, что B7-H7 (HNLA2) может быть как ингибитором, так и ко-активатором Т-клеток с учетом обстоятельств.

В последние годы открыты новые белки семейства B7 – это B7-H5 и B7-H6.

B7-H5 (VISTA, PD-1H) – регулятор активности Т-лимфоцитов и функция VISTA зависит от типа клеток, он может одновременно выступать и как лиганд, и как рецептор.

На клетках опухоли при РМЖ и глиомах обнаружена продукция лиганда B7-H6 (NCR3LG1) [73]. Этот белок, связавшись с рецептором

NKp3044, активирующим NK клетки, может активировать их противоопухолевую активность[102].

1.3. PD-1/PD-L1

В данном разделе представлена характеристика компонентов КТИ PD-1/PD-L1: это рецептор программируемой гибели PD-1 и его два лиганда PD-L1 и PD-L2.

PD-1 – рецептор семейства белков B7/CD28, описан впервые в 1992 году [129] и продуцируется Т-лимфоцитами [138]. Ген, кодирующий PD-1 был описан в 1994 г. [219].

В норме PD-1 взаимодействует с двумя различными молекулами-лигандами: PD-L1 и PD-L2. PD-L1 связывается с PD-1 на поверхности Т-клеток и стимулирует их активацию. PD-L2 также связывается с PD-1. Каждый из этих лигандов имеет своего партнера по связыванию. B7-1 связывается с PD-1 на поверхности Т-клетки и помогает поддерживать оптимальную активность рецептора, в то время как PD-L2 связывается с RGMb [213, 251].

Изоформы PD-1, которые образуются в результате альтернативного сплайсинга, включают flPD-1, PD-1 Deltaex2, PD-1 Deltaex3, PD-1 Deltaex2,3 и PD-1 Deltaex2,3,4 [280].

flPD-1 является основной формой PD-1, образующейся путем альтернативного сплайсинга. Следует отметить, что ряд изоформ, среди которых PD-1 Deltaex2, PD-1 Deltaex2,3, PD-1 Deltaex2,3,4, с лигандами не связываются [194].

В синовиальной жидкости выявлена растворимая форма Deltaex3 и это подтверждает ее участие при аутоиммунных заболеваниях, в частности, при ревматоидном артрите [280].

Характеристика рецептора программируемой гибели клетки PD-1 представлена на рисунке 1. Как следует из данных этого рисунка, рецептор PD-1 связывается с двумя лигандами PD-L1 и PD-L2 через экстраклеточный иммуноглобулиновый домен IgV. Известно, что PD-1 имеет также

трансмембранный домен (ТМ) и внутриклеточный домен с иммунорецепторным тирозиновым ингибирующим мотивом (ITIM) и иммунорецепторным тирозиновым мотивом-переключателем (ITSM) [63].

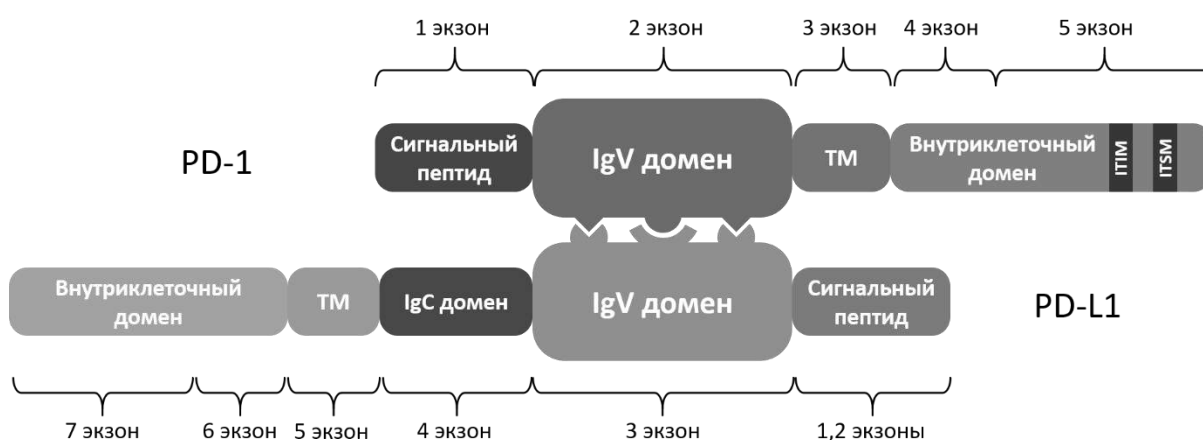


Рисунок 3. Структура рецептора PD-1 и его лиганда PD-L1 [63].

Характеристика PD-L1 представлена на рисунке 3, который является трансмембранным белком I типа, кодируется геном CD274, содержит IgC- и IgV-подобные домены, трансмембранный (ТМ) и внутриклеточный домены и служит лигандом рецептора PD-1 [94]. Оказалось, что PD-L1 активирует Т-лимфоциты, а на поверхности В-клеток, моноцитов, ДК имеет аффинность к белку CD80 [260, 280], экспрессируется клетками опухолей, Т-, В-клетками, ДК, макрофагами [131, 216], а активировать ее может IFN- γ и это приводит к прогрессированию опухолевого процесса вызывает экспрессию PD-L1 в клетках РЯ, что способствует прогрессированию заболевания.

Одной из форм данного белка является растворимая форма, не закрепленная в плазматической мембране или везикуле, а свободно находящаяся в сыворотке крови пациентов с различными патологиями, в том числе и у онкологических больных [135, 163, 200]. sPD-L1 был идентифицирован при различных заболеваниях, в том числе в плазме онкологических больных, а повышенные уровни sPD-1 и sPD-L1 имели связь с прогрессированием онкологического заболевания и неблагоприятным прогнозом [52, 139].

1.4. Регуляция экспрессии PD-1/PD-L1

В некоторых типах опухолей, таких как классическая лимфома Ходжкина и мелкоклеточный рак легкого, число копий хромосомы 9p24.1 (где находится CD274) увеличено. Хромосомная перестройка вызывает амплификацию CD274 без влияния на открытую рамку считывания [113]. Кроме того, при медиастинальной крупноклеточной В-крупноклеточной лимфоме повышенная транскрипционная экспрессия CD274 была связана с прилегающим эктопическим промотором или энхансером в результате транслокации [236].

Эпигенетические регуляции, такие как метилирование и ацетилирование гистонов, также определяют экспрессию PD-L1. Триметилирование гистона H3 по лизину 4 (H3K4me3) принято считать модификацией гистонов, способствующей транскрипции генов [122]. Так при раке поджелудочной железы белок MLL1 может связываться с промотором CD274, катализируя H3K4me3, что приводит к повышению экспрессии PD-L1 [162].

Экспрессия PD-L1 может регулироваться несколькими воспалительными цитокинами. Принято считать, что IFN- γ является основным индуктором экспрессии PD-L1 [268]. В микроокружении опухоли активированные Т-клетки и NK-клетки вырабатывают наибольшее количество IFN- γ . Затем IFN- γ связывается с рецептором интерферона II типа, активируя JAK-STAT-сигнальный путь [111]. Впоследствии происходит повышение экспрессии ряда транскрипционных факторов. IRF-1 является важнейшей мишенью STAT1 при обработке IFN- γ [188]. В гепатоцеллюлярной карциноме было установлено, IRE1/2 в 5'-фланкирующей области промотора CD274 являются сайтами связывания IRF-1, которые участвуют в регуляции транскрипции PD-L1 [258].

Помимо IFN- γ , другие стимуляторы воспаления, такие как IFN- α , IFN- β и IL-6, также могут индуцировать экспрессию PD-L1 [111].

Кроме воспалительных стимулов, отмечена роль PD-L1 в онкогенных путях таких как EGFR, MAPK, PTEN/PI3K-AKT и др. [262]. Поэтому терапия α -PD-1/PD-L1 может оказывать синергетический эффект при использовании молекул, направленных на ингибирование проонкогенных сигнальных путей.

Опухолевые миРНК являются важнейшим посттранскрипционным регулятором экспрессии PD-L1. В клетках колоректального рака с дефицитом генов репарации или высокой микросателлитной нестабильностью уровень miR-148a-3p был снижен, а PD-L1 - повышен. Исследования показали, что мРНК CD274 является прямой мишенью miR-148a-3p. Кроме того, в клетках рака молочной железы miR-873 подавлял экспрессию PD-L1 путем взаимодействия с мРНК CD274. К настоящему времени установлено, что мРНК CD274 является прямой мишенью множества онкогенных миРНК, таких как miR-34a, семейство miR-200, miR-142-5p, miR-424, miR-214, miR-497-5p, miR-140 [262].

1.5. Функции PD-1/PD-L1

В отличие от других представителей семейства белков CD28, PD-1 осуществляет передачу сигнала только при взаимодействии с В- или Т-клеточным рецептором [107, 151], что приводит к ингибированию экспрессии такого транскрипционного фактора, как GATA-3 и др. [64, 195]. Стимуляция TCR приводит к фосфорилированию остатков тирозина в мотивах ITIM и ITSM цитоплазматического хвоста PD-1, что рекрутирует SHP-1 и SHP-2 и вызывает последующее дефосфорилирование нижележащих молекул CD28/TCR сигнального пути. Таким образом, SHP-1 и SHP-2 должны играть определенную роль в подавлении активации Т-клеток. Проведенные исследования показали, что мотив ITSM является критическим для ингибирующей функции PD-1. В частности, тирозин ITSM (Y248) при связывании PD-1 с SHP-2 является обязательным для PD-1-опосредованного ингибирования активации PI3K/Akt [198]. SHP-2 может взаимодействовать с фосфорилированными остатками ITSM-Y248 на двух молекулах PD-1, вызывая димеризацию PD-1, что также способствует активации SHP-2 [203].

В другом исследовании, проведенном на конструкциях сайт-направленного мутагенеза в Т-клетках Jurkat, экспрессирующих мутагенный PD-1, установлено, что только мутированный Y248 PD-1 не взаимодействует с SHP-2, и что как Y248, так и Y223 активно участвуют в ингибирующем влиянии PD-1 на продукцию IL-2 [93]. В другом недавнем исследовании показано, что PD-1 может подавлять Т-клеточную сигнализацию с помощью механизма, не зависящего от SHP-1 и SHP-2 [256]. Эти данные позволяют предположить, что для опосредования иммунной ингибирующей функции ниже PD-1 могут существовать дублирующие механизмы, отличные от SHP-1 и SHP-2.

PD-1 также контролирует Т-клеточный цикл. p27Kip1, член семейства ингибиторов Cdk Kip/Cip, в большом количестве экспрессируется в Т-клетках и взаимодействует с белками Cdk2. Убиквитин-зависимая деградация p27Kip1 необходима для инициации клеточного цикла и последующего вхождения в S-фазу за счет активации Cdk2. В первую очередь это событие опосредуется семейством убиквитиновых лигаз Skp1-Cullin-F-box (SCF), SCFskp2 [196]. Совместная активация TCR/CD3 и CD28 регулирует транскрипционную активацию Skp2, субъединицы распознавания субстратов убиквитин-лигазы SCFskp2, и этот процесс требует одновременной активации путей PI3K/Akt и Ras/MEK/Erk [250]. Ингибирование Cdk2 и активация уровня p27Kip1 связаны прежде всего с активацией рецептора программируемой гибели клеток при стимуляции Т-клеток [138], что не позволяет последним войти S-фазу клеточного цикла.

Стало быть, лиганд PD-L1 в опухолевых клетках имеет эффект проопухолевого фактора, связываясь со своими рецепторами и активируя сигнальные пути пролиферации и выживания. Это свидетельствует о том, что PD-L1 участвует в последующей опухолевой прогрессии. Помимо этого лиганд может оказывать неиммунное пролиферативное действие на различные типы опухолевых клеток, в том числе индуцировать

эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) и фенотипы, подобные стволовым клеткам [245].

Для ухода от иммунного надзора опухолевые клетки используют различные механизмы, в частности повышение экспрессии PD-L1 [201, 202]. Следовательно, подавление активности сигнального пути PD-1/PD-L1 МА, а именно, к рецептору и лиганду, способствует активации Т-клеток, что впоследствии приводит к элиминации опухолевых клеток (рисунок 4).

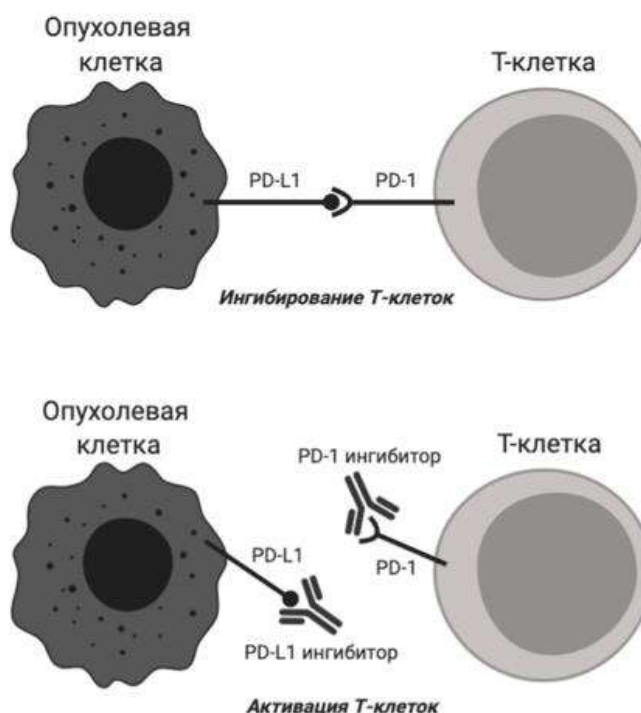


Рисунок 4. Воздействие МА на ключевые компоненты контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1.

1.6. Растворимые формы PD-1/PD-L1

Помимо внутриклеточных и мембран-связанных форм основные компоненты КТИ PD-1/PD-L1 могут быть выявлены в системной циркуляции в виде растворимых форм (sPD-1, sPD-L1), которые участвуют в развитии и прогрессии различных злокачественных опухолей [24, 27, 145, 194].

В ряде исследований продемонстрирована прогностическая значимость sPD-1 при онкологических заболеваниях. Так, например, у каждого третьего больного НМРЛ, леченных эрлотинибом, выявили высокий уровень sPD-1, и это сопровождалось длительной безпрогрессивной и безрецидивной

выживаемостью [223]. Повышенный риск гепатоцеллюлярной карциномы при гепатите В также был связан с высоким содержанием рецептора sPD-1 в крови [78].

sPD-L1 может секретироваться как опухолевыми клетками, так и активированными зрелыми ДК, в то время как незрелые ДК, макрофаги, моноциты и Т-клетки не способны секретировать sPD-L1 [109]. Для sPD-L1 также показана прогностическая значимость при онкологических заболеваниях, при этом повышенный уровень лиганда связан с неблагоприятным прогнозом при диффузной крупноклеточной В-лимфоме [211], меланоме [279], НМРЛ [199], а высокая экспрессия PD-L1 в гепатоцеллюлярной карциноме также связана с неблагоприятным прогнозом [267]. Приведенные результаты свидетельствуют о том, что высокий уровень растворимых форм данных молекул является фактором неблагоприятного прогноза [267].

Провели анализ связи уровней sPD-L1 в крови с эффектом лечения. Так, эффект лечения больных с НК/Т-клеточной лимфомой был хуже среди больных с высоким содержанием sPD-L1 крови и уровнем экспрессии лиганда в клетках опухоли [65]. Подобная закономерность отмечена у больных с множественной миеломой [124, 244]. У пациентов с плоскоклеточной карциномой полости рта повышенная экспрессия sPD-L1 также ассоциирована с плохим прогнозом [272]. Абсолютно противоположные данные о sPD-L1 отмечены при распространенном раке желудка, когда авторы выявили лучший прогноз при высоки уровне sPD-L1 [276].

1.7. Иммунотерапевтические препараты, воздействующие на митогенную систему PD-1/PD-L1

Ингибиторами PD-1 и PD-L1 активно лечат многие злокачественные опухоли.

Первые попытки терапии ингибиторами PD-1 и PD-L1 были при меланоме, НМРЛ, раке почки – как наиболее иммуногенных опухолях, а

далее при раке мочевого пузыря, плоскоклеточном раке головы и шеи. Клинические наблюдения позволили сделать вывод о том, что положительный эффект этих препаратов универсальный при различных злокачественных опухолях. При этом следует указать, что МА к PD-1 и PD-L1 не убивают клетки опухоли, а восстанавливают реактивность иммунной системы хозяина.

Иммунотерапия является перспективным методом лечения злокачественных новообразований. Ее применение позволяет достичь длительного клинического ответа после завершения лечения и значительного улучшения качества жизни пациентов, однако результаты терапии зависят от многих факторов, включая тип опухоли, ее стадию, общее состояние пациента и применяемые лекарственные препараты. Для более точной оценки эффективности иммунотерапии необходимо валидировать предиктивные маркеры и методы скрининга пациентов [62, 92, 162, 220].

В настоящее время в России одобрено 5 ингибиторов системы PD-1/PD-L1: ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, дурвалумаб, авелумаб [162]. Также в настоящее время активно исследуется возможность комбинирования иммунотерапевтических препаратов, как между собой, так и в сочетании с препаратами, относящимися к другим классам.

Хотя моноклональные антитела, блокирующие иммунную контрольную точку PD-1/PD-L1 демонстрируют хороший лечебный эффект, их недостатки обуславливают некоторые ограничения для клинического применения, а именно: низкая частота ответов пациентов, высокая стоимость антитела, длительный период полураспада, тяжелые побочные реакции, связанные с иммунитетом (плохая иммуногенность), плохое распространение препарата, внутривенное введение (отсутствие пероральной биодоступности) и т.д. Поэтому исследователи постепенно обращают внимание на разработку ингибиторов, таких как малые молекулы, пептиды или макроциклы, в надежде уменьшить число побочных реакций и получить более высокую

эффективность. Однако основной проблемой иммунотерапии является поиск предикторов ее эффективности [264].

1.8. Предикторы эффективности анти-PD-1/PD-L1 терапии

Экспрессия PD-L1 остается в центре внимания различных исследований с самого начала развития иммунотерапии, по результатам двух исследований эффективности пембролизумаба KEYNOTE-052 (II фаза) [206] и KEYNOTE-024 (III фаза) [59]. Авторы этих исследований выявили, что выживаемость выше у получавших пембролизумаб по сравнению с леченными производными платины, при условии высокой экспрессии в опухоли PD-L1.

Эффективность ингибиторов иммунной контрольной точки PD-1/PD-L1 варьирует в зависимости от типа опухоли, при этом эффекты МА к PD-1 и PD-L1 лучше при высокой опухолевой экспрессии PD-L1. Наличие экспрессии PD-L1 на инфильтрирующих опухоль иммунных клетках оказалось прогностически значимым маркером при лечении атезолизумабом в сочетании с паклитакселом у больных тройным негативным РМЖ [214]. Пациентки в группе PD-L1-позитивных (> 1%) имели более длительную медиану общей выживаемости (25 месяцев против 21,3 месяца), чем все пациентки [214].

Однако в другом исследовании среди больных НМРЛ, леченных атезолизумабом с низкой экспрессией PD-L1 также имели более длительную медиану общей выживаемости, чем пациенты, получавшие доцетаксел [208]. Этот вывод позволяет предположить, что уровень экспрессии PD-L1 не является прогностически определяющим фактором эффективности иммунотерапии.

Помимо уровня экспрессии PD-L1 на Т-клетках и опухолевых клетках, Y. Liu et al. (2020) показали, что выживаемость лучше при иммунотерапии НМРЛ с гиперэкспрессией на CD68+ макрофагах и на инфильтрирующих опухоль CD8+ Т-клетках [164]. Однако нельзя игнорировать и спорные моменты, касающиеся прогностической роли PD-L1. R.J. Motzer et al. (2015)

сообщили, что PD-L1-негативная группа ($<1\%$) продемонстрировала более длительную медиану выживаемости без прогрессирования (27,4 месяца против 21,8 месяца), чем PD-L1 ($>1\%$) группа у пациентов с распространенным светлоклеточным ПКР, получавших лечение ниволумабом [189]. По результатам CheckMate 040, исследования больных с распространенной гепатоцеллюлярной карциномой, леченных ниволумабом, прогностический эффект PD-L1 оказался не столь значительным: объективный ответ в PD-L1-положительной (порог отсечения 1%) группе составил 26% (9/34), а в PD-L1-негативной - 19% (26/140) [97]. Внутритропухолевая гетерогенность экспрессии PD-L1 наблюдалась при различных подтипах и на разных стадиях рака молочной железы [90]. M. Ilie et al. (2016) обнаружили, что экспрессия PD-L1 часто не совпадает в ткани удаленной опухоли и биоптатах (общий процент несоответствия составил 48%) [126]. L. Hong L. et al. (2020) обнаружили, что на гетерогенность экспрессии PD-L1 влияют анатомические локализации отдаленных метастазов и предшествующее лечение у больных НМРЛ [121].

Для оценки уровня экспрессии PD-L1 широко используется иммуногистохимия, в которой используют 4 основных клона антител к PD-L1: 22C3, 28-8, SP142, SP263 и результаты анализа с антителами 28-8, 22C3, SP263 высоко согласованы в оценке экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках, в то время как частота положительных результатов с использованием антитела SP142 ниже по сравнению с другими. Дискордантность экспрессии PD-L1 двумя кроличьими моноклональными антителами, E1L3N и SP142, также наблюдалась у пациентов с НМРЛ [184]. При этом не было достигнуто единого мнения относительно значения порогового уровня экспрессии PD-L1 в различных типах опухолей. Помимо ИГХ, в настоящее время изучаются новые методы оценки экспрессии PD-L1. В некоторых исследованиях показано, что экспрессия мРНК PD-L1, измеренная методом секвенирования РНК нового поколения, коррелирует с уровнем экспрессии PD-L1, оцененным с помощью ИГХ [81]. Однако до сих

пор не решены такие проблемы, как интерпретация и внедрение данных РНК-секвенирования в клиническую практику. Хотя определение уровня экспрессии PD-L1 является основным способом прогнозирования эффективности, его прогностическая ценность может быть улучшена при сочетании с другими биомаркерами [270].

Как уже сказано выше, самым очевидным фактором, и способном предсказать успех лечения является экспрессия PD-L1. Однако среди ученых и врачей до сих пор нет единого мнения, какую экспрессию PD-L1 стоит учитывать. Некоторые исследования свидетельствуют в пользу значимости экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках, в то время как другие исследователи утверждают, что оценка PD-L1 без учета клеток иммунного микроокружения не информативна. Таким образом, для каждого препарата на основе моноклональных антител к ингибиторам контрольных точек иммунитета предложена своя система оценки, что часто вызывает сложности интерпретации и назначения лечения. И даже при соблюдении всех критериев назначения определенное количество пациентов ничего от него не выигрывает.

Еще одним известным критерием успеха иммунотерапии является общая опухолевая мутационная нагрузка и микросателлитная нестабильность. Действительно, в нескольких ретроспективных исследованиях частота ответа на иммунотерапию для онкологических заболеваний с высокой мутационной нагрузкой, таких как РМРЛ, меланома, мелкоклеточный рак легкого и уротелиальный рак оказалась $>15\%$. В целом пациенты с более высокой опухолевой мутационной нагрузкой с большей вероятностью отвечают на иммунотерапию. Однако в процессе опухолевой прогрессии и ввиду гетерогенности опухоли данный ответ может быть ограниченным во времени.

Стоит отметить, что некоторые типы опухолей, у которых общая мутационная нагрузка находится не на очень высоком уровне, также способны эффективно отвечать на иммунотерапию. К таким типам опухолей

относится карцинома Меркеля и почечно-клеточный рак. Также стоит отметить, что на сегодняшний день нет стандартизированного подхода к оценке мутационной нагрузки и пороговые значения также не определены.

По аналогии с общей мутационной нагрузкой микросателлитная нестабильность также является фактором предсказания успеха иммунотерапии. И в 2017 году пембролизумаб получил ускоренное одобрение FDA для лечения неоперабельных солидных опухолей с высокой микросателлитной нестабильностью. Здесь стоит отметить, что в опухолях с высокой микросателлитной нестабильностью в половине случаев наблюдается высокая экспрессия PD-L1, что также может обуславливать данный эффект.

Помимо оценки общей мутационной нагрузки, исследователи пытаются выявить отдельные гены, анализ экспрессии которых может быть эффективен перед назначением иммунотерапии. Так, для HMPЛ активация экспрессии генов INFgamma сигналинга и наличие мутаций *TP53/KRAS* являются факторами успеха иммунотерапии, в то время как мутации в генах *EGFR* и *ALK* наоборот коррелируют с худшим ответом на лечение ингибиторами контрольных точек.

Стоит отметить, что предсказывать эффективность иммунотерапии могут и не опухолевые маркеры. В первую очередь здесь идет речь о составе клеточного микроокружения опухоли и системного кровотока. Полагают, что предиктором успеха иммунотерапии могут служить высокое содержание CD8⁺ клеток в строме опухоли в сочетании с низким содержанием регуляторных Т-клеток, ассоциированных с опухолью. С оценкой популяционного состава лимфоцитов системного кровотока ситуация немного сложнее. Работ, которые выявляют закономерности содержания определенного типа клеток с ответом на лечение, достаточно много, однако единообразия не наблюдается. Поэтому необходимо продолжать исследования в данном направлении, так как неинвазивные диагностические тесты всегда имеют преимущество в назначении.

Далее стоит отметить, что содержание различных цитокинов в крови по мнению некоторых исследований также можно использовать для оценки предполагаемой эффективности иммунотерапии. Однако здесь ситуация также не однозначна, поэтому речь о клиническом применении такой оценки пока не идет.

В конце хочется отметить, что одним из факторов отсутствия эффекта иммунотерапии является назначение антибиотиков до или после применения ингибиторов контрольных точек иммунитета. Сейчас уже известно, что такой эффект от антибиотиков связан с качественным и количественным изменением состава кишечного микробиома. Каким образом кишечный микробиом влияет на эффект иммунотерапии пока однозначно не известно. На сегодняшний день с развитием генетических технологий с помощью метагеномного секвенирования выявлены некоторые роды микроорганизмов, содержание которых может отражать успех иммунотерапии. Однако однозначного ответа, что именно влияет на иммунотерапию: бактерии определенных родов, их количество или таксономическое разнообразие в целом на данный момент не известно.

1.9. В7-Н3

Экспрессия мРНК трансмембранного белка В7-Н3 обнаружена в широком спектре нормальных тканей человека, однако белок В7-Н3 экспрессируется на низком уровне, что свидетельствует о его жесткой посттранскрипционной регуляции. Напротив, гиперэкспрессия В7-Н3 связана с неблагоприятным прогнозом, увеличением степени распространения и метастазирования опухоли, а также резистентностью к терапии при многих опухолях. Белок В7-Н3 человека существует в виде трансмембранной или растворимой изоформы. Трансмембранный В7-Н3 обнаруживается в основном на поверхности опухолевых клеток, а также в цитоплазматических везикулах и в ядре. Ядерная локализация ассоциирована с неблагоприятным исходом при КРР [128]. Высокое содержание растворимой изоформы данного белка обнаруживается в сыворотке крови онкологических больных,

что позволяет рассматривать sB7-H3 как потенциальный неинвазивный маркер злокачественных новообразований. Наконец, белок B7-H3 обнаружен также в секрете, включая экзосомы и другие внеклеточные везикулы [105].

Роль B7-H3 в иммунном ответе неоднозначна: одни считают его ко-стимулятором, другие – ингибитором [110, 172, 192, 225]. Экспрессия B7-H3 повышена в раке яичников и РМЖ, КРР, раке поджелудочной железы, легких, желудка [66, 83, 132, 169, 226, 248, 265, 266]. Так, иммуностимулирующий эффект характерен для рака желудка и поджелудочной железы, но наблюдений было недостаточно, чтобы сделать окончательный вывод [169, 248], однако многие авторы отметили отрицательную корреляционную связь между высокой экспрессией B7-H3 и результатами терапии пациентов [66, 83, 115, 212, 257, 265].

1.10. Функции B7-H3

Показано, что экспрессия B7-H3 обнаружена в 93% опухолей, ассоциировала с морфологическим типом опухоли и коррелировала с исходом РЯ, в нормальной ткани маркер не обнаружен. Кроме этого, экспрессия B7-H3 связана со стадией опухолевого процесса и чаще отмечена на поздних III-IV стадиях (78%) и при серозном РЯ была наиболее высокой, чем в светлоклеточных и эндометриоидных опухолях [266].

Следует отметить, что рецептор для лиганда B7-H3 еще не определен, поэтому неясно будет ли ингибирующий или активирующий эффекты МА на B7-H3. Вместе с тем были созданы МА, ингибирующие эффект B7-H3 в опухолях ЦНС (I фаза клинических испытаний) [254], другие авторы отметили подавление миграции и инвазии клеток опухоли при подавлении экспрессии B7-H3 [77]. Существует предположение, что механизмы метастазирования и химиорезистентности перекрещиваются, это относится, прежде всего, к таксанам.

Было установлено, что ингибирование продукции белков B7-H3 сенситизирует клеточные линии РМЖ к паклитакселу и, наоборот, повышенная продукция B7-H3 способствует резистентности к паклитакселу.

В тоже время, сигнальный путь Jak2/Stat3 активировала гиперэкспрессия В7-НЗ, что приводило В7-НЗ-опосредованной устойчивости к паклитакселу. Опухоли с нокдауном В7-НЗ в эксперименте росли медленнее, чем с его гиперэкспрессией, что подтверждает роль этого маркера в устойчивости опухоли к химиотерапии [161].

1.11. Терапевтические стратегии, направленные на В7-НЗ

Аномальная экспрессия В7-НЗ на опухолевых клетках является перспективной мишенью иммунотерапии с использованием ингибиторов иммунных контрольных точек. Последние достижения в области молекулярной биологии и биоинженерии позволили разработать методы воздействия на В7-НЗ на основе различных механизмов, например, с ингибирующими антителами и малыми молекулам.

Блокирующие мкАТ могут частично или полностью нейтрализовать ингибирующее взаимодействие лиганда с рецептором, тем самым обеспечивая выполнение эффекторных функций [205]. Так показано, что блокирование В7-НЗ с помощью моноклональных антител способствует повышению инфильтрации опухоли CD8⁺ Т-клетками и NK-клетками, снижает ее рост и увеличивает выживаемость в мышинных моделях различных типов опухолей [154, 171]. D. Loo et al. (2012) создали гуманизированное IgG1 антитело к В7-НЗ с оптимизированным Fc фрагментом (MGA271) и благоприятным профилем безопасности MGA271 в токсикологических исследованиях, которое продемонстрировало мощную противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo* [168].

Использование биспецифических искусственно созданных антител (состоят из фрагментов двух разных молекул) является еще одним вариантом реализации иммунотерапии, который начинает набирать обороты в области онкоиммунологии. Так, один фрагмент антитела может связываться с CD3-компонентом комплекса TCR на Т-клетках, а другой распознает опухолеспецифический антиген, например В7-НЗ. Таким образом, Т-клетки рекрутируются в опухолевый узел и активируются [247]. Анти-CD3

антитело, химически конъюгированное с анти-B7-H3 МА, уже получило клиническое одобрение [175].

Наряду с традиционными терапевтическими мкАТ интерес в области иммуноонкологии стали вызывать и малые молекулярные ингибиторы [53]. Малые молекулярные ингибиторы - это низкомолекулярные органические соединения (динуклеотиды и пептиды), которые связываются со специфическими биологическими мишенями, блокируя специфическое связывание антигена с антителом. Они широко используются благодаря своим преимуществам перед антителами, включая дешевизну производства, простоту доставки благодаря пероральному способу введения, отличное распределение в тканях благодаря своим размерам и короткий период полураспада. Для B7-H3 также разработан низкомолекулярный ингибитор, направленный на домен, участвующей в активации Т-клеток [238]. Иммунотерапия с помощью малых молекул может стать альтернативным методом лечения, как в режиме монотерапии, так и синергичным по отношению к мкАТ к контрольным точкам иммунитета для устранения проблемы недостаточного клинического ответа и лекарственной устойчивости.

1.12. Роль растворимой формы B7-H3 (sB7-H3)

G. Zhang et al. (2008) показали, что sB7-H3 высвобождается моноцитами, ДК, активированными Т-клетками и другими типами нормальных клеток при наличии мембранного B7-H3, но не B7-H3+ клетками опухоли [269]. Показано, что появление растворимой формы данного белка происходит с участием матриксных металлопротеаз [269]. Кроме того, W. Chen et al. (2013) обнаружили, что sB7-H3 образуется также путем альтернативного сплайсинга мРНК [75]. Кроме того, показано, что экспрессия B7-H3 и PD-L1 в спинномозговой жидкости и ткани глиобластомы были ассоциированы со степенью злокачественности [61]. В случае светлоклеточного почечно-клеточного рака сывороточный уровень sB7-H3 и sIL-2R тесно связаны со стадией болезни [180]. Неблагоприятный

прогноз отмечен при гепатоцеллюлярной карциноме с высокими уровнями sB7-H3 [274]. L. Chen et al. (2016) оценили содержание sB7-H3 в злокачественных плевральных выпотах при НМРЛ, и обнаружили, что количество sB7-H3 в случае злокачественной патологии было значительно выше, чем при неопухолевых процессах. Кроме того, уровень sB7-H3 в злокачественных плевральных выпотах коррелировал со статусом курения, размером первичной опухоли, регионарным и отдаленным метастазированием у больных НМРЛ [74].

Механизм функционирования sB7-H3 может осуществляться посредством связывания с рецептором B7-H3 (B7-H3R) на активированных Т-клетках, что свидетельствует о функциональной активности растворимой формы данного белка [269]. В экспериментальном исследовании W. Chen et al. (2013) показали, что пролиферация Т-клеток значительно подавлялась sB7-H3, который снижал уровни IL-2 и INF- γ в культурах клеток и это указывает на то, что sB7-H3 может негативно регулировать Т-клеточный ответ [75]. J. Sun et al. (2013) показали *in vitro*, что sB7-H3 влияет на функцию фагоцитоза и эндоцитоза макрофагов посредством изменения продукции макрофагального маннозного рецептора (CD206), направляя их в сторону M2 фенотипа [227]. Кроме того, у больных раком поджелудочной железы sB7-H3 посредством митогенного пути TLR4/NF- κ B активирует метастазирование опухоли [252]. Совсем недавно проведенное исследование показывает, что исследование содержания sB7-H3 может помочь в дифференциальной диагностике рака молочной железы и доброкачественных новообразований [58].

1.13. VISTA

Еще одним предметом пристального внимания исследователей стал белок VISTA, который экспрессируется преимущественно в гемопоэтических клетках [25, 157, 239, 283]. Так, в лейкоцитах наиболее высокий уровень экспрессии белка VISTA наблюдается в миелоидных клетках, в частности в микроглии и нейтрофилах, затем в макрофагах и ДК, на наивных CD4⁺ и

Foxp3⁺ регуляторных Т-клетках [87]. Не экспрессируют VISTA NK и В-клетки.

VISTA представляет собой трансмембранный белок I типа, состоящий из одного N-концевого иммуноглобулинового (Ig) V-домена, ножки из примерно 30 аминокислот, трансмембранного домена и цитоплазматического хвоста длиной и может выступать в роли как лиганда, так и рецептора в регуляции иммунных реакций [106]. Анализ IgV-домена VISTA показал, что эта область имеет наибольшую гомологию с PD-L1. В консервативном цитоплазматическом хвосте VISTA напоминает CD28 и CTLA-4, но не имеет классического мотива ITIM/ITAM, что отличает его от других ко-рецепторных молекул В7. Описана sVISTA, которая подавляет пролиферацию Т-клеток и продукцию цитокинов [243].

Белок VISTA имеет двух подтвержденных партнеров по связыванию с иммуносупрессивными функциями - PSGL-1 и VSIG3, а также менее подтвержденный рецептор - VSIG8 [134, 242]. VISTA взаимодействует с VSIG3 при физиологическом pH, но при кислом pH клетки, экспрессирующие VISTA могут связываться с PSGL-1 на Т-клетках. Оба взаимодействия приводят к ингибированию функции Т-клеток.

VSIG3 является членом суперсемейства Ig, экспрессирующимся на широком спектре негемопоэтических клеток, однако иммуносупрессивная активность VSIG3 была описана лишь недавно [242]. В активированных Т-клетках взаимодействие VSIG3-VISTA *in vitro* приводило к снижению продукции множества цитокинов, включая интерлейкины (IL-2, IL-17), интерферон γ (IFN- γ), хемокина (C-C мотив) лиганд 5 (CCL5), хемокина (C-C мотив) лиганд 3 (CCL3) и C-X-C мотив хемокина 11 (CXCL11), что подтверждает роль VSIG3 как возможной негативной иммунной контрольной точки [242].

PSGL-1 - хорошо известная молекула адгезии, которая опосредует движение лейкоцитов путем связывания с Р-селектином на активированных эндотелиальных клетках. В отличие от VSIG3, экспрессия PSGL-1

происходит преимущественно на гемопоэтических клетках [150]. PSGL-1 человека высоко экспрессируется практически на всех лейкоцитах, в меньшей степени - на В-клетках. Некоторые негемопоэтические клетки, такие как эндотелиальные клетки и эпителиальные клетки маточной трубы, также могут экспрессировать PSGL-1 человека [150].

Роль PSGL-1 как иммунной контрольной точки была показана в условиях заживления ран или в опухолях, где pH составляет 5,85-6,5. Исходя из этого разумно предположить, что PSGL-1 является партнером по связыванию VISTA при низком pH, который обычно наблюдается в опухолях. При нейтральном pH связывание PSGL-1 с VISTA практически отсутствует [263]. Однако данных, непосредственно касающихся роли PSGL-1 в противоопухолевом иммунитете, мало, и многое еще предстоит узнать. На сегодняшний день роль PSGL-1 в иммунном ответе пересматривается, и данный белок может представлять собой потенциальную терапевтическую мишень.

В последнее время экспрессия VISTA изучена в различных опухолях человека [263], а ее экспрессия, как правило, увеличивается по мере прогрессирования заболевания и свидетельствует о неблагоприятном прогнозе.

Механизмы, посредством которых функционирует VISTA в опухоли, могут быть следующими. Так, белок VISTA способен подавлять Т-клеточный ответ и может способствовать иммуносупрессии опухолевого микроокружения [120]. Во-вторых, экспрессия VISTA высоко ассоциирована с инфильтрацией миелоидными клетками опухолей [120], что коррелирует с плохим прогнозом [156]. В-третьих, экспрессия VISTA индуцируется HIF-1 α , что свидетельствует о гипоксии, которая сама по себе является независимым фактором плохого прогноза [255].

Однако, несмотря на это ряд исследователей показали благоприятную прогностическую значимость экспрессии данного белка. Исследования отметили, что высокая экспрессия VISTA в опухоли является благоприятным

прогностическим маркером при немелкоклеточном раке легкого, аденокарциноме пищевода, KPP [167, 239], в то время как для меланомы высокое содержание VISTA ассоциировано с неблагоприятным прогнозом [143]. В ранней стадии KPP гиперэкспрессии VISTA в иммунных клетках и дефицит системы MMR (mismatch repair), связаны хорошим прогнозом [283].

В настоящее время проводится большое количество клинических испытаний, направленных на такие контрольные точки иммунитета, как LAG-3, TIM-3, TIGIT, OX40, ICOS, VISTA и многие другие [179]. Взаимодействие с VISTA приводит к гибели наивных Т-клеток и снижает сигнальные пути, активируемых TCR [98]. VISTA экспрессируется на миелоидных клетках [159], поэтому анти-VISTA терапия может выйти за пределы области Т-клеток, на которых сейчас сосредоточены CTLA-4 и PD-1 терапии.

1.14. Терапевтические стратегии, направленные на VISTA

Учитывая значение VISTA в развитии онкологических заболеваний, стоит описать функциональные механизмы действия моноклональных антител, направленных на белок VISTA. В настоящее время разрабатываются три антагониста VISTA: (i) VSTB-112, (ii) P1-068767 (BMS-767) и (iii) SG7. Каждое из этих трех мкАТ, по имеющимся данным, усиливает активацию Т-клеток в различных функциональных анализах [185, 222]. Препарат VSTB112 прошел исследования I фазы у пациентов с распространенным раком (NCT02671955i) [186], но исследование было прекращено, и о клинических результатах, побочных эффектах и причинах прекращения исследования не известно. VSTB112 связывается с эпитопом, который важен для взаимодействия с VSIG3 и PSGL-1. Все три антагонистических мкАТ блокируют взаимодействие VISTA с PSGL-1 и VSIG3 человека с одинаковой эффективностью. Сравнивая характеристики данных терапевтических антител, можно отметить, что SG7 обладает в 25-50 раз более высоким сродством к белку VISTA человека, чем BMS-767 или VSTB-112. Также мкАТ BMS-767 является единственным рН-селективным блокирующим

антителом и блокирует PSGL-1 и VSIG3 только при pH 6,0 [185]. Было показано, что BMS-767 при низком pH локализуется в опухолевых узлах, тем самым потенциально снижая неопухолевую реактивность и побочные эффекты [263]. Также стоит отметить, что антитела BMS-767 и VSTB-112 имеют активный Fc-фрагмент, тогда как SG7 имеет инактивированный Fc-фрагмент, что, вероятно, делает его менее токсичным.

Снижение внеклеточного pH является отличительной чертой солидных опухолей и связано с прогрессией опухоли, метастазированием и иммуносупрессией [142]. Учитывая, что связывание VISTA с PSGL-1 и его иммуноингибирующая активность усиливаются при кислом pH опухолевого микроокружения, повышение pH может представлять собой стратегию снижения иммуноингибирующей активности VISTA. Кислое микроокружение, создаваемое секрецией молочной кислоты, может приводить к дисфункции Т-клеток за счет снижения экспрессии ядерного фактора активированных Т-клеток (NFAT), что приводит к снижению продукции IFN- γ [125]. Сочетание низкого внеклеточного pH и высокого внутриклеточного pH в опухолях достигается за счет повышенной трансмембранной экстррузии кислот [165]. Прямые регуляторы pH в микроокружении опухоли можно разделить на регуляторы клеточного метаболизма, генерирующие внутриклеточные кислые продукты, такие как лактат и H⁺, и транспортеры, перемещающие лактат и H⁺ во внеклеточное пространство [82]. Ингибиторы H⁺/HCO₃⁻-транспортеров могут стать перспективным средством для активации противоопухолевых цитотоксических лимфоцитов, ингибированных низким pH, при оптимальном сочетании с различными МА, направленными на контрольные точки иммунитета.

1.15. Роль растворимой формы VISTA

Растворимая форма sVISTA обнаружена в сыворотке крови при НМРЛ, а ее высокие концентрации указывают на благоприятный прогноз

заболевания. Концентрации sVISTA не ассоциировались с клиническими и морфологическими характеристиками сарком костей, однако высокий уровень sVISTA при хондросаркоме связан с благоприятным прогнозом заболевания [25].

1.16. NK-клетки в микроокружении опухоли

Одной из важных популяций для иммуннадзора, но менее специфичной, чем Т-клетки, являются естественные клетки-киллеры (NK) [241]. Эта популяция является частью врожденной иммунной системы и, в отличие от Т-клеток, для их активации не требуется связывание специфического антигена.

NK-клетки были идентифицированы как CD3-/CD56+ клетки и могут быть далее разделены на две основные подгруппы на основе экспрессии CD56 [54]. NK-клетки, высоко экспрессирующие CD56 — это относительно незрелые NK-клетки, составляющие примерно 5-10% NK-клеток периферической крови, которые, в основном обнаруживаются во вторичных лимфоидных органах, таких как лимфатические узлы и миндалины и, как считается, играют иммуномодулирующую роль, вырабатывая цитокины. Низко экспрессирующие CD56 NK-клетки — это полностью зрелые NK-клетки, составляющие примерно 90-95% NK-клеток периферической крови, которые уничтожают клетки-мишени непосредственно через антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC) [69]. После воздействия интерлейкинов (IL-2 и/или IL-15) NK-клетки активируются и выполняют свои эффекторные функции [209]. NK-клетки непосредственно убивают опухолевые или инфицированные клетки путем высвобождения цитолитических частиц, содержащих перфорин и гранзим В. Доказано, что апоптоз опухолевых клеток под влиянием NK-клеток связан с индукцией последними рецепторов смерти FasL и TRAIL [68]. Когда ингибирующие рецепторы на поверхности NK-клеток (KIR, LIRs/ILTs и семейство лектиновых рецепторов С-типа CD94/NKG2), распознают молекулы главного комплекса гистосовместимости класса I (MHC-I), NK-

клетки становятся инактивированными и формируют самотолерантность [67]. А когда NK-клетки распознают больше активирующих рецепторов, в первую очередь NCR, DNAM-1 и член D группы натуральных киллеров 2 (NKG2D), они запускают лизис клеток-мишеней [207]. Таким образом, в отличие от Т-клеток, NK-клетки не требуют распознавания опухоли и не ограничены ингибированием МНС. Широко распространенное противоопухолевое действие NK-клеток делает их перспективными кандидатами для иммунотерапии солидных опухолей.

Прогностическая значимость NK-клеток у пациентов с КРР была впервые продемонстрирована S. Cossu et al. (1997) [80]. Пациенты с незначительной и умеренной инфильтрацией NK-клеток имели значительно более низкую общую и безрецидивную выживаемость, чем пациенты с высокой инфильтрацией. Кроме того, плотность инфильтрирующих опухоль NK-клеток оказалась прогностическим фактором выживаемости пациентов с плоскоклеточным раком легкого [240]. Список типов опухолей, при которых обнаружена корреляция между плотностью NK-клеток и прогнозом, неуклонно растет, что свидетельствует, что NK-клетки действительно способны не только локализоваться во внесосудистых солидных опухолях, но и функционально дополнять взаимоотношения опухоли и организма.

1.17. NKG2D

Представляет рецептор NK клеток, кодируется геном *KLRK1*, имеет две изоформы (короткую NKG2D-S и длинную NKG2D-L) [89], экспрессируется не только на NK-клетках, но и NKT-клетках, CD8⁺ Т-клетках, $\gamma\delta$ Т-клетках, в которых является коstimулятором рецептора. У человека экспрессируется только длинная изоформа рецептора, которая связывается с белком DAP10 с последующим рекрутированием и активацией PI3K и Grb2 [114, 249]. Активация Т- и NK-клеток является основной функцией NKG2D.

Некоторые исследователи изучали роль NKG2D у онкологических больных. По данным Peng Y.P. et al. (2013) у пациентов с злокачественными опухолями желудочно-кишечного тракта снижение NKG2D-позитивных NK-

клеток указывает на неблагоприятный прогноз [204]. Доказано, что связывание лиганда sNKG2DL с рецептором NKG2D имеет тесную связь с прогрессией опухолевого процесса, как и экспрессия NKG2DL на поверхности клеток опухоли [60]. И хотя иммунотерапия направлена на стимуляцию Т- и NK-клеток, а стало быть и активацию NKG2D, последний считают фактором злокачественности новообразований, что подтверждено в эксперименте: NKG2D+ клетки РЯ у бестимусных животных способны вызывать инициацию развития опухолей [70].

В клинических работах, например, при гепатоцеллюлярном раке, для лиганда NKG2DL1 показана его прогностическая значимость [144], при раке поджелудочной железы sMICA и sMICB указывает на их высокую чувствительность и специфичность наряду с маркером СА19-9 [79]. Высокий уровень sMICA указывает на плохой прогноз при ГЦК [144].

Одним из лигандов рецептора NKG2D является связывающий гликопротеин UL-16 (ULBP1), однако его функции и клиническая значимость до настоящего времени практически не изучены, а связывание этого белка с рецептором NKG2D приводит к активации сигнальных путей JAK/STAT и PI3K/AKT/ERK и, как следствие, активации цитотоксичности NK и Т-клеток. Уход опухолевых клеток от иммунного надзора может осуществляться путем инактивации NKG2DL1 [187].

Прогностическая роль NKG2DL1 неоднозначна: гиперэкспрессия ULBP1 при РЯ ассоциирована с худшей выживаемостью [183], а при КРР, наоборот, с хорошим прогнозом [182].

1.18. Терапевтическое воздействие на NK-клетки

Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность является одной из основных эффекторных функций NK-клеток, и терапевтическая эффективность ряда мКАТ, используемых в настоящее время для лечения онкологических больных, зависит от их способности индуцировать ADCC [112, 136]. Так как MICA является основным лигандом NKG2D, наиболее широко экспрессирующимся в опухолях, целесообразно рассматривать данный белок в

качестве кандидата на роль мишени для иммунотерапии. Показано, что у некоторых больных меланомой, получавших ипилимумаб (анти-CTLA4 мкАТ) происходила выработка антител к MICA, которые связывались с растворимой формой данного белка в плазме и способствовали опсонизации опухолевых клеток. Эти эффекты были связаны с восстановлением экспрессии NKG2D на NK-клетках и цитотоксических лимфоцитах, и как следствие восстановлением NKG2D-зависимых эффекторных функций NK-клеток [96]. Аналогичные эффекты были отмечены у пациентов с множественной миеломой (ММ) [133]. Учитывая результаты данных наблюдений, были предприняты попытки создания новых терапевтических препаратов. Одним из таких препаратов был химерный белок, состоящий из домена MICA, слитого с бактериальным иммуногенным белком, используемом в качестве адъюванта (*Brucella lumazine synthase*, BLS). Иммунизация данным белком приводила к значительному замедлению роста опухолей у экспериментальных животных. Данный эффект был, в частности, опосредован ADCC и изменением клеточного состава воспалительного инфильтрата стромы опухоли, а именно увеличением содержания цитотоксических макрофагов и лимфоцитов [233]. Таким образом, иммунизация BLS-MICA индуцирует продукцию терапевтических антител, которые, с одной стороны, способствуют элиминации опухоли путем ADCC, а также препятствуют уходу от иммунного надзора за счет связывания с растворимой формой sMICA.

Также были предприняты попытки использования нескольких мкАТ к M1C, которые демонстрируют эффективность в доклинических и клинических исследованиях. Так, мкАТ к sMICA (B10G5), демонстрирует терапевтический эффект как в режиме монотерапии, так и в сочетании с анти-CTLA-4 у животных с аденокарциномой предстательной железы. Механизм действия данного антитела включает ADCC, что приводит к активации цитотоксических лимфоцитов микроокружения [273]. Другие терапевтические мкАТ (7C6) ингибируют секрецию MICA и M1CB опухолевыми клетками, тем самым замедляя рост меланомы и карциномы толстой кишки на мышинной модели, а

также снижает скорость образования метастазов меланомы человека на экспериментальных животных посредством стимуляции NKG2D- и CD16-зависимых эффекторных функций NK-клеток [101]. Еще одно гуманизированное мкАТ анти-MICA/B стимулирует NK-клеточно-опосредованную цитотоксичность *in vitro* на модели гепатоцеллюлярной карциномы [177].

Таким образом, терапевтические антитела к MICA/B, должны вызывать антитело-зависимую клеточную цитотоксичность, направленную на MICA/B-экспрессирующие опухолевые клетки, стимулируя элиминации опухоли и образованию иммунных комплексов с sMICA/B, облегчая их клиренс макрофагами и препятствуя уходу от иммунологического надзора. Такие антитела, вероятно, будут проявлять терапевтическую активность у пациентов с опухолями, экспрессирующими MICA/B на своей клеточной поверхности и опухолями, секретирующими растворимую форму sMICA.

Таким образом, функции иммунных контрольных точек жестко регулируются уровнем их продукции клетками, эффективностью лиганд-рецепторного взаимодействия и трансляцией сигналов внутри клетки. Однако существует ряд направлений исследований, в которых предстоит еще сделать новые открытия. Так не до конца изученными на сегодня являются процессы посттрансляционной модификации данных белков, такие как гликозилирование, убиквитинирование и др.; процессы их рециркуляции (доставка на поверхность клетки, секреция, интернализация, рециркуляция и деградация); а также их фосфорилирование для проведения дальнейших внутриклеточных сигналов. Более того, эффекторные молекулы, рекрутируемые при фосфорилировании контрольных точек, также недостаточно хорошо охарактеризованы.

Последние данные убедительно свидетельствуют, что иммунные контрольные точки подчиняются специфическим регуляторным механизмам и проявляют различные функции в зависимости от микроокружения. Так как микроокружение опухолевого поля наполнено кроме опухолевых другими клетками, и среди них иммунные Т-клетки, В-клетки, макрофаги, ДК, NK-

клетки, фибробласты, интерес представляет анализ биологии КТИ и, в частности, системы PD-1/PD-L1. Доказано значение PD-1 в эффекторных, регуляторных и Т-клетках памяти, оно многофакторно. При этом, клинические исследования показали, что ингибирование рецептора программируемой гибели клетки PD-1 способно к активации Treg, что подавляет иммунитет и приводит к прогрессированию болезни.

Таким образом, иммунотерапия, основанная на выявлении новых биологических контрольных точек иммунитета, представляет собой будущее для лечения онкологических заболеваний. Расширение наших представлений о функционировании данных белков позволит повысить эффективность современных методов терапии, а также создать новые иммунотерапевтические подходы для эффективного внедрения их в клиническую практику.

ГЛАВА 2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика обследованных групп онкологических больных и контроля.

Обследовали 770 онкологических больных и 229 здоровых доноров группы контроля (таблицы 2 и 3).

Все пациенты и здоровые доноры обследовались и получали лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и Московском многопрофильном научно-клиническом центре им. С.П. Боткина с октября 2018 г. по ноябрь 2024 г.

Клинический диагноз новообразования подтвержден у всех пациентов на основании данных морфологического исследования удаленных хирургическим методом опухолей и ее метастазов согласно WHO Classification of Tumours of 5th Edition: Female Genital Organs Tumours 1th Editorial Board meeting: 9 May 19, IARC, Lyon France (WHO, 2019).

Проведение данного исследования одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (протокол № 9 от 25 сентября 2019 г.).

В таблицах 2 и 3 представлены данные по группам обследованных больных с учетом нозологической формы заболевания.

В группу из 770 онкологических больных включили: опухоли толстой кишки (n=318), опухоли почек (n=117), опухоли костей (n=194), опухоли яичников (n=141) (таблица 2).

Также обследовали пациентов с доброкачественными и пограничными опухолями: доброкачественные опухоли толстой кишки (n=15), доброкачественные опухоли почек (n=12), доброкачественные (n=15) и пограничные (гигантоклеточные) (n=22) опухоли костей; доброкачественные (n=22) и пограничные (n=10) опухоли яичников (таблица 2).

Таблица 2. Группы обследованных онкологических больных и контроля

Обследованные больные	Число наблюдений	Злокачественные	Доброкачественные	Пограничные	Контроль
Опухоли толстой кишки	318	303	15	-	60
Опухоли костей	194	157	15	22	67
Опухоли почек	117	105	12	-	67
Опухоли яичников	141	109	22	10	35
Всего	770	674	64	32	229

Данные о больных различными нозологическими типами опухолей с учетом пола обследованных пациентов представлены в таблице 3. Следует отметить, что среди обследованных онкологических больных во всех группах преобладали мужчины над женщинами.

Таблица 3. Распределение онкологических больных по полу

Обследованные больные	Число наблюдений	Злокачественные		Доброкачественные		Пограничные	
		муж	жен	муж	жен	Муж	Жен
Опухоли толстой кишки	318	163	140	4	11	-	
Опухоли костей	194	90	67	9	6	12	10
Опухоли почек	117	63	42	3	9	-	
Опухоли яичников	141	-	109	-	22		10
Всего	770	425	249	38	26	22	10

Далее в главах работы дана более подробная характеристика клинико-морфологических особенностей каждой группы обследованных онкологических больных.

2.2. Характеристика больных опухолями толстой кишки.

В группу новообразований толстой кишки вошли 318 больных, из них у 15 пациентов выявлен доброкачественный характер опухоли и у 303 – злокачественный характер опухоли. Диагноз устанавливали на основании данных морфологического исследования опухоли. В качестве группы контроля обследовали 60 практически здоровых доноров соответствующего возраста. В таблице 4 представлены возрастные характеристики обследованных людей и распределение групп по полу. В группе больных колоректальным раком преобладали пациенты мужского пола (53,8%).

Таблица 4. Распределение обследованных группы контроля и больных опухолями толстой кишки по полу и возрасту

Обследованные группы	N	Пол		Возраст, лет	
		Муж. Абс.; отн.	Жен. Абс.; отн.	Пределы колебания	M±m
Контроль	60	18; 30,0%	42; 70,0%	24-81	52,2±1,9
Доброкачественные опухоли толстой кишки	15	4; 26,7%	11; 73,3%	39-72	60,0±2,2
Колоректальный рак	303	163; 53,8%	140; 46,2%	27-85	62,3±0,6

Обследовали 14 (4,62%) больных КРР в возрасте до 40 лет, 25/8,25% - в возрасте от 40 до 49 лет. Самые большие группы были представлены пациентами в возрасте от 50 до 59 лет (88/29%) и в возрасте от 60 до 69 лет (103/33,9%); в возрасте от 70 до 79 лет было 60 (19,8%) больных, 13 (4,29%) пациентов были в возрасте от 80 лет и старше. Данные о распределении больных КРР приведены на рисунке 5.

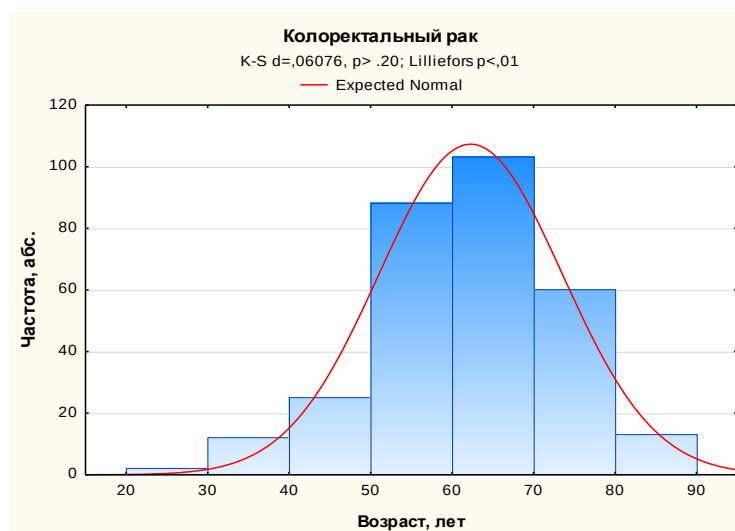


Рисунок 5. Распределение больных колоректальным раком по возрасту.

Пациенты с КРР и учетом критериев системы TNM представлены в таблице 5. Следует отметить наибольшие группы больных: с критерием T3 (55,1%), N0 (61,7%) и M0 (82,8%).

Таблица 5. Больные колоректальным раком и критерии системы TNM

Критерий Т	Частота Абс./Отн.	Критерий N	Частота Абс./Отн.	Критерий M	Частота Абс./Отн.
T1	22/7,3%	N0	187/61,7%	M0	251/82,8%
T2	57/18,8%	N1	76/25,1%	M1	52/17,2%
T3	167/55,1%	N2	40/13,2%	-	-
T4	57/18,8%	-	-	-	-

В таблице 6 представлены данные о больных КРР с учетом клинической стадии болезни и степени дифференцировки рака. Чаще выявляли больных в начальных I (23,4%) и IIa (21,5%) стадиях процесса, с критерием G2 (умеренная степень дифференцировки КРР) (58,1%). Следует отметить, что все 303 обследованных больных имели аденокарциному толстой кишки (100%).

Таблица 6. Больные колоректальным раком с учетом клинической стадии, степени дифференцировки и морфологии опухоли

Стадия	Частота Абс./Отн.	G	Частота Абс./Отн.	Морфологический вариант опухоли	Частота Абс./Отн.
I	71/23,4%	G1	72/23,8%	Аденокарцинома	303/100%
II	20/6,6%	G2	176/58,1%	Аденокарцинома	
IIa	65/21,5%	G3	20/6,6%	Аденокарцинома	
IIb	17/5,6%			Аденокарцинома	
IIc	1/0,3%			Аденокарцинома	
III	27/8,9%			Аденокарцинома	
IIIa	9/3,0%			Аденокарцинома	
IIIb	29/9,6%			Аденокарцинома	
IIIc	13/4,3%			Аденокарцинома	
IV	33/10,9%			Аденокарцинома	
IVa	12/4,0%			Аденокарцинома	
IVb	4/1,3%			Аденокарцинома	
IVc	2/0,7%			Аденокарцинома	

Преобладали пациенты с левосторонним опухолевым поражением толстой кишки (236/78,0%), правосторонним (67/22%). У большинства опухоль была локализована в прямой (108/35,6%) и сигмовидной кишке (86/28,4%). Опухоль обнаружена в восходящем отделе ободочной кишки и ректосигмоидном отделе толстой кишки соответственно 32/10,6% и 31/10,2%. В таблице 6 также представлены более редкие локализации КРР.

2.3. Характеристика больных опухолями костей.

В группу включили 194 пациента, из них у 157/80,9% выявлена злокачественная опухоль (саркома) кости (ЗОК). Следует отметить, что из 157 больных с первичными саркомами костей 33/21,0% были в возрасте до 18 лет, 124/78,9% – старше 18 лет. Диагноз новообразования кости устанавливали на основании данных морфологического и рентгенологического исследования опухоли.

Среди морфологических вариантов первичных опухолей костей преобладали костеобразующая остеосаркома (68/43,3%) и хрящеобразующая хондросаркома (56/35,7%), хордома выявлена у 14/8,9% и саркома Юинга – у 19/12,11% пациентов.

У 15 (7,7%) пациентов выявлена доброкачественное новообразование (доброкачественные опухоли костей – ДОК), у 22 (11,3%) – пограничная опухоль кости (ПОК) (гигантоклеточный вариант - ГКО) и у 157 (80,9%) – саркома кости. К этой группе пациентов подобрали контрольную группу, в которую вошли соответствующие по возрасту и полу 67 практически здоровых доноров.

В таблице 7 приведены данные об обследованных группах пациентов с доброкачественными и пограничными опухолями, саркомами костей.

Из 157 больных саркомами костей у 64 выявлена остеосаркома типичная, у 53 – хондросаркома типичная, у 19 – саркома Юинга, у 14 – хордома, у 2-х пациентов – хондросаркома вторичная, у 1 – хондросаркома периостальная, у 3-х остеосаркома паростальная, у 1 – остеосаркома периостальная.

Таблица 7. Группы обследованных больных и контроля
с учетом пола и возраста

Обследованные группы	Пол		Возраст, лет		
	Муж. Абс. (Отн.)	Жен. Абс. (Отн.)	Пределы колебания	$M \pm m$	≥ 18
Контроль (n=67)	24 (35,8%)	43 (64,2%)	6-81	$34,8 \pm 2,3$	57 (85,1%)
ДОК (n=15)	9 (60,0%)	6 (40,0%)	9-66	$28,5 \pm 3,8$	12 (80,0%)
ПОК (n=22)	12 (54,6%)	10 (45,5%)	17-70	$36,6 \pm 2,7$	21 (95,5%)
ЗОК (157)	90 (57,3%)	67 (42,7%)	5-76	$35,1 \pm 1,5$	124 (79,0%)

Все 22 пограничные опухоли кости представлены гигантоклеточной опухолью кости (ГКО).

Доброкачественные опухоли костей были представлены аневризмальной костной кистой (n=3), фиброзной дисплазией (n=2), остеобластомой (n=3), энхондромой (n=2), остеохондромой (1), хондробластомой (n=3), остеомой (n=1).

Характеристика больных новообразованиями костей представлена в таблице 8.

Как следует из данных рисунка 6, группы пациентов не различались по полу. В то же время возраст больных опухолями костей с разными морфологическими вариантами опухолей высокозначимо различался ($p < 0,0001$). Так, наименьший возраст был у больных саркомой Юинга ($19,1 \pm 2,4$ лет), а наибольший у больных хордомой ($53,2 \pm 3,9$ лет) и хондросаркомой ($47,8 \pm 2,0$ лет) кости (рисунок 7).

Таблица 8. Больные новообразованиями костей с учетом пола, возраста и морфологического варианта опухоли

Группы	Пол. Абс.(Отн.)			Возраст, лет. Абс.(Отн.)		
	Муж. Абс.(Отн.)	Жен. Абс.(Отн.)	Всего	Пределы колебания	M±m	≥18 лет
Доброкачественные опухоли костей (ДОК)						
аневризмальная костная киста	1	2	3	18-35	24,3±5,4	3 из 3
фиброзная дисплазия	-	2	2	26 и 44		2 из 2
остеобластома	3	-	3	19 - 34	26,7±4,3	3 из 3
энхондрома	-	2	2	45 и 66		2 из 2
остеохондрома	1	-	1	32		1 из 1
хондробластома	3	-	3	14-23	17,7±2,7	1 из 3
остеома	1	-	1	9		0 из 1
Пограничные опухоли костей (ПОК)						
Гигантоклеточная опухоль кости (ГКО)	12 (54,6%)	10 (45,4%)	22	17-70	36,6±2,7	21 (95,5%)
Злокачественные опухоли костей (ЗОК)						
Остеосаркома (ОС) типичная	36 (56,3%)	28 (43,7%)	64	5-64	25,1±1,8	42 (65,6%)
ОС периостальная	-	1	1	62	-	1 из 1
ОС паростальная	3	-	3	12-40	30,7±9,3	2 из 3
Хордома	8 (57,1%)	6 (42,9%)	14	31-73	53,2±3,9	14 (100%)
Саркома Юинга	12 (63,2%)	7 (36,8%)	19	6-48	19,1±2,4	9 (47,4%)
Хондросаркома (ХС) типичная	29 (54,7%)	24 (45,3%)	53	20-76	47,8±2,0	53 (100%)
ХС вторичная	1	1	2	30 и 38	-	2 из 2
ХС периостальная	1	-	1	23	-	1 из 1

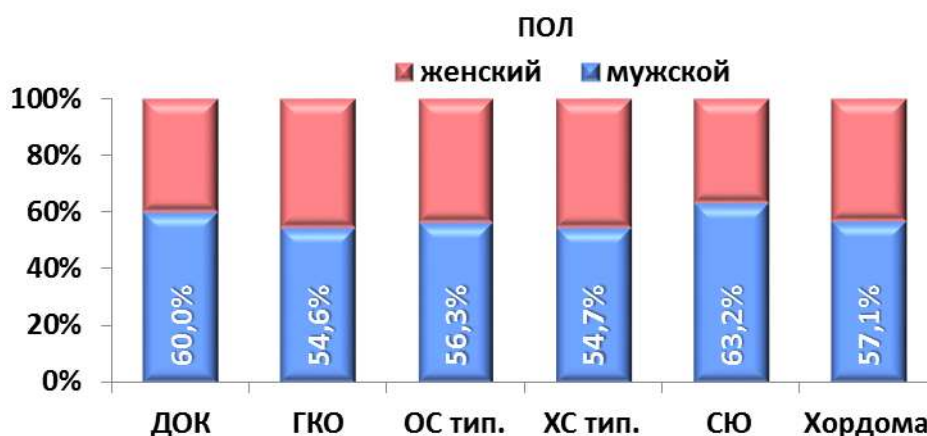


Рисунок 6. Распределение больных опухолями костей с разным морфологическим диагнозом по полу.

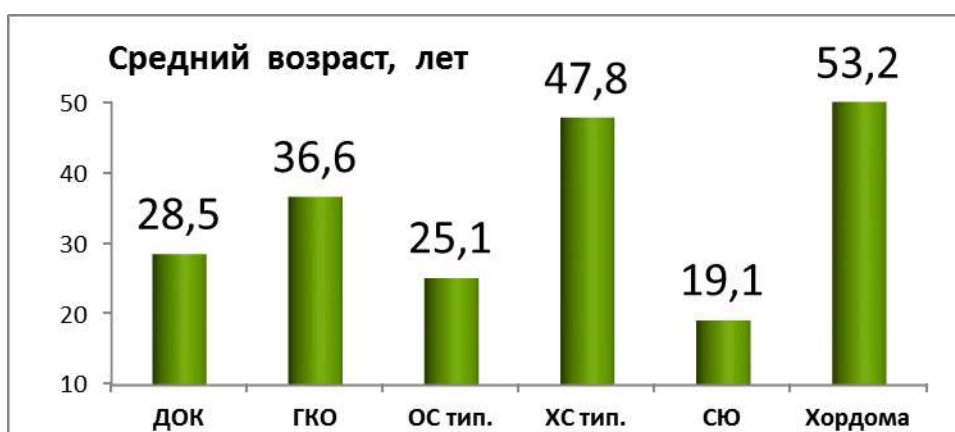


Рисунок. 7. Средний возраст больных опухолями костей разного морфологического строения.

Локализация опухолей в костях скелета представлена в таблице 9.

При ПОК у 90,9% пациентов новообразование выявлено в костях нижних конечностей.

При ДОК у 40% больных новообразование кости обнаружено в нижних конечностях, еще у трети пациентов – в костях таза.

При ЗОК выделены две группы с наибольшим числом наблюдений: саркомы костей нижних конечностей (45,2%) и саркомы тазовых костей (32,5%).

В таблице 10 и на рисунке 8 дана характеристика сарком костей с их морфологическим строением и локализацией в костях скелета.

Таблица 9. Характеристика опухолей в костях скелета

Локализация опухоли	Группа			Всего
	ДОК Абс.(Отн.)	ПОК Абс.(Отн.)	ЗОК Абс.(Отн.)	
Нижняя конечность	6 (40,0%)	20 (90,9%)	71 (45,2%)	97
Кости таза	5 (33,3%)	-	51 (32,5%)	56
Грудная клетка	2 (13,3%)	-	9 (5,7%)	11
Верхняя конечность	1 (6,7%)	2 (9,1%)	22 (14,0%)	25
Позвоночник	1 (6,7%)	-	3 (1,9%)	4
Кости черепа	-	-	1 (0,6%)	1
Всего	15	22	157	194

Таблица 10. Характеристика сарком костей с учетом их морфологического типа и локализации в костях скелета

Локализация	Группа			
	Остеосаркома типичная Абс.(Отн.)	Хордома Абс.(Отн.)	Саркома Юинга Абс.(Отн.)	Хондросаркома типичная Абс.(Отн.)
Нижняя конечность	44 (68,8%)	-	10 (52,6%)	13 (24,5%)
Кости таза	10 (15,6%)	14 (100%)	2 (10,5%)	23 (43,4%)
Грудная клетка	2 (3,1%)	-	3 (15,8%)	4 (7,6%)
Верхняя конечность	6 (9,4%)	-	4 (21,1%)	11 (20,8%)
Позвоночник	1 (1,6%)	-	-	2 (3,8%)
Кости черепа	1 (1,6%)	-	-	-
Всего	64	14	19	53

Следует указать, что типичный вариант остеосаркомы чаще (68,8%) выявляли в костях нижних конечностей.

Все 14 хордом выявлены в костях таза.

Саркома Юинга обнаружена у половины больных (52,8%) в костях нижних конечностей.

Большая часть хондросарком выявлена в костях таза (43,4%), с одинаковой частотой обнаружена локализация хондросаркомы в костях верхних (20,8%) и нижних конечностей (24,5%). В 1 наблюдении периостальная остеосаркома и в 3-х наблюдениях паростальная остеосаркома локализовались в костях нижних конечностей. У 2-х больных вторичной хондросаркомой выявлена опухоль в костях таза. У 1 больного периостальной хондросаркомой опухоль локализовалась в кости верхней конечности.

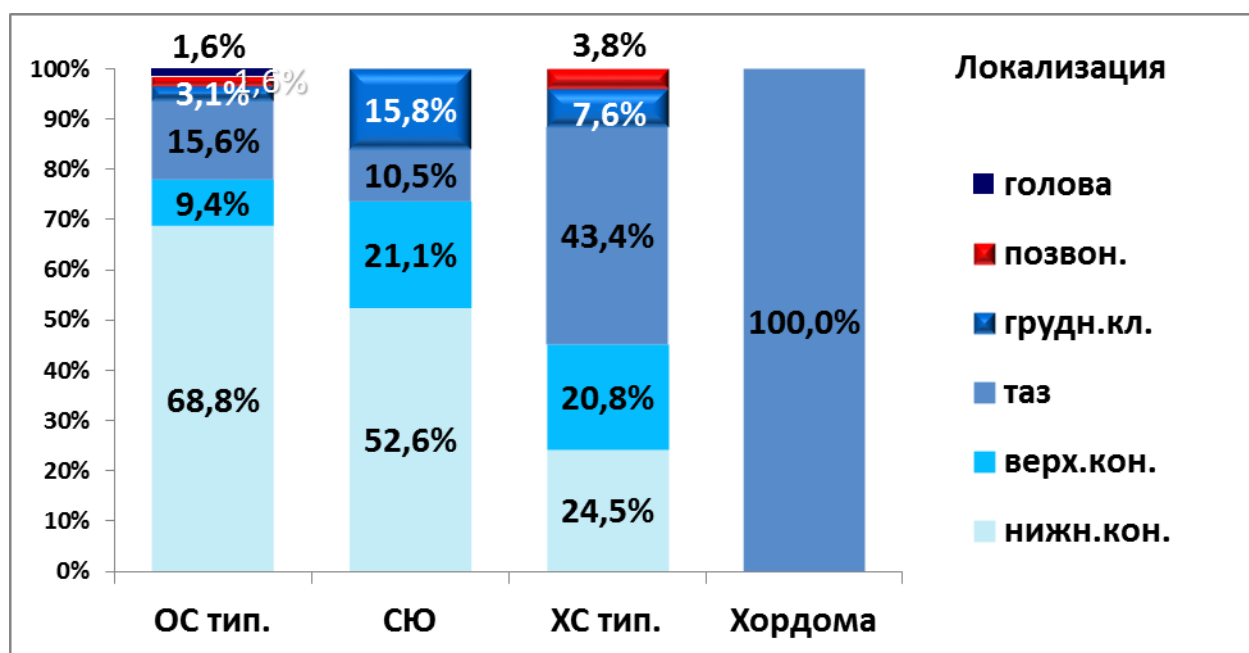


Рисунок 8. Злокачественные опухоли костей с учетом их морфологического типа и локализации в костях скелета.

Индексы системы TNM и характеристика больных саркомами костей представлены в таблице 11. Во всех группах преобладали пациенты с индексами T2, N0 и M0.

В таблице 12 и более наглядно на рисунке 9 представлено распределение больных ЗОК с учетом клинической стадии заболевания.

Таблица 11. Характеристика сарком костей с учетом критериев системы TNM

Критерии	Саркомы костей			
	Остеосаркома Абс.(Отн.) n=68	Хордома Абс.(Отн.) n=14	Саркома Юинга Абс.(Отн.) n=19	Хондросаркома Абс.(Отн.) n=56
T1	4 (6,0%)	-	5 (26,3%)	10 (17,9%)
T2	57 (83,8%)	14 (100%)	13 (68,4%)	39 (69,6%)
T3	7 (10,2%)	-	1 (5,3%)	7 (12,5%)
N0	65 (97,0%)	14 (100%)	19 (100%)	55 (98,2%)
N1	2 (3,0%)	-	-	1 (1,8%)
M0	55 (82,1%)	13 (92,9%)	18 (94,7%)	56 (100%)
M1	12 (17,9%)	1 (7,1%)	1 (5,3%)	-

Таблица 12. Клинические стадии больных с саркомами костей

Клиническая стадия	Саркомы костей			
	Остеосаркома Абс.(Отн.) n=68	Хордома Абс.(Отн.) n=14	Саркома Юинга Абс.(Отн.) n=19	Хондросаркома Абс.(Отн.) n=56
Ia	-	-	2 (10,5%)	6 (10,7%)
Ib	1 (1,5%)	-	-	9 (16,1%)
II	7 (10,5%)	-	3 (15,8%)	3 (5,4%)
IIa	4 (6,0%)	-	1 (12,5%)	7 (12,5%)
IIb	39 (56,7%)	13 (92,9%)	11 (57,9%)	24 (42,9%)
III	5 (7,5%)	-	1 (5,3%)	6 (10,7%)
IV	2 (3,0%)	-	-	-
IVa	4 (6,0%)	-	1 (5,3%)	-
IVb	6 (9,0%)	1 (7,1%)	-	1 (1,8%)

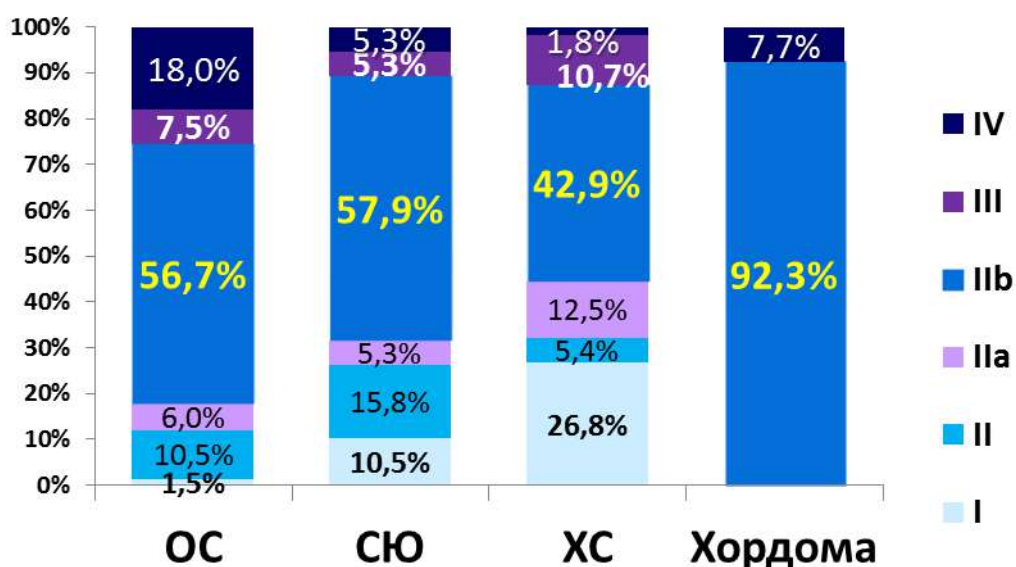


Рисунок 9. Характеристика больных саркомами костей с учетом их морфологии и клинической стадии заболевания.

Степень дифференцировки ЗОК представлена в таблице 13. Большинство остеосарком (92,5%) и хордом (100%) имели низкую степень дифференцировки. Более чем половина хондросарком (57,1%) выявлена с индексом G2.

Таблица 13. Саркомы костей и степень их дифференцировки

Степень дифференцировки	Обследованные группы			
	Остеосаркома Абс.(Отн.) n=68	Хордома Абс.(Отн.) n=14	Саркома Юинга Абс.(Отн.) n=19	Хондросаркома Абс.(Отн.) n=56
G1	3 (4,5%)	-	-	13 (24,1%)
G2	2 (3,0%)	-	-	32 (57,1%)
G3	63 (92,5%)	14 (100%)	-	11 (20,4%)

Саркомы костей характеризовались различной степенью дифференцировки: высокая степень дифференцировки G1 обнаружена у 16/11,6% опухолей, умеренная G2 – у 32/23,1%, низкая G3 – у 83/60,1%.

2.4. Характеристика больных опухолями почки.

В исследование включено 117 больных с новообразованием почки, из них 12 с доброкачественными новообразованиями и 105 с почечно-клеточным раком. В контрольной группе 67 здоровых доноров соответствующего пола и возраста.

Характеристика больных и контроля по полу и возрасту представлена в таблице 14.

Таблица 14. Распределение обследованных групп контроля и больных новообразованиями почки по полу и возрасту

Обследованные группы	N	Пол		Возраст, лет	
		Муж. Абс.(Отн.)	Жен. Абс.(Отн.)	Пределы колебания	M±m
Контроль	67	27 (40,3%)	40 (59,7%)	22-82	49,8±2,0
Доброкачественные опухоли почки	12	3 (25,0%)	9 (75,0%)	29-84	52,8±5,0
Почечно-клеточный рак	105	63 (60,0%)	42 (40,0%)	33-81	59,6±0,9

В возрасте до 50 лет обследовали 16 (9,5%) больных почечно-клеточным раком, преобладали пациенты в возрасте 50-59 лет – 39 (37,1%) и 60-69 лет – 40 (38,1%), еще 10 (9,5%) пациентов были в возрасте от 70 и более лет (рисунок 10).

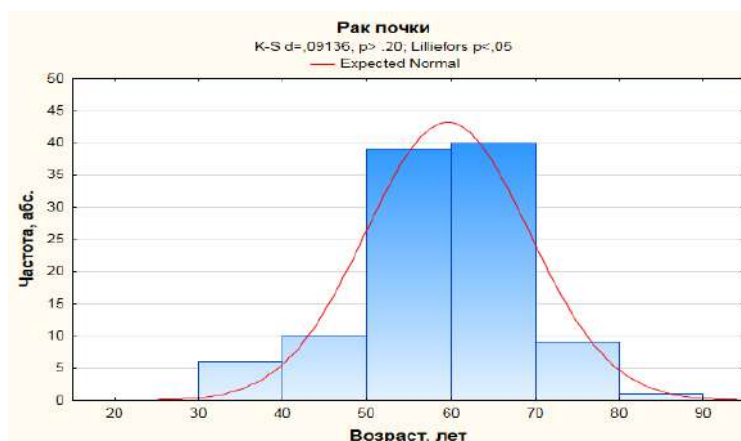


Рисунок 10. Распределение больных почечно-клеточным раком по возрасту.

В группе больных почечно-клеточным раком преобладали пациенты мужского пола – 63 (60%) (рисунок 11).



Рисунок 11. Распределение больных почечно-клеточным раком по полу.

Распределение больных почечно-клеточным раком с учетом индексов системы TNM показало (таблица 15), что в обследованной группе преобладали больные с начальными стадиями опухолевого процесса: T1 и T2 – 70,5%, N0 и M0 соответственно 85,7% и 86,6%; метастазы N1-N2 – 14,4% наблюдений, M1 – 12,4% наблюдений.

Таблица 15. Распределение больных почечно-клеточным раком по критериям системы TNM

Критерий Т	Частота Абс.(Отн.)	Критерий N	Частота Абс.(Отн.)	Критерий M	Частота Абс.(Отн.)
T1	57 (54,3%)	N0	90 (85,7%)	M0	92 (86,6%)
T2	17 (16,2%)	N1	6 (5,7%)	M1	13 (12,4%)
T3	29 (27,6%)	N2	9 (8,6%)	-	-
T4	2 (1,9%)	-	-	-	-

Данные о клинических стадиях, морфологическом типе и степени дифференцировки ПКР представлены в таблице 16.

У большинства (68,6%) выявлена I и II стадии ПКР (рисунок 12); преобладала G2 степень дифференцировки опухоли (57,1%) (рисунок 13); с морфологическим строением опухоли, соответствующим светлоклеточному почечно-клеточному раку выявлено 85,7%. Крайне резко выявляли хромофобный (5,7%) и папиллярный рак I и II типа (8,6%) (рисунок 14).

Таблица 16. Характеристика больных ПКР с учетом клинической стадии, степени дифференцировки опухоли и ее морфологического типа

Стадия	Частота Абс.(Отн.)	G	Частота Абс./Отн.	Морфологический вариант почечно- клеточного рака	Частота Абс.(Отн.)
I	17 (16,2%)	G1	7; 6,7%	Светлоклеточный рак	90 (85,7%)
II	55 (52,4%)	G2	60; 57,1%	Хромофобный рак	6 (5,7%)
III	21 (20,0%)	G3	16; 15,2%	Папиллярный тип 1 рак	6 (5,7%)
IV	12 (11,4%)	G4	12; 11,4%	Папиллярный тип 2 рак	3 (2,9%)

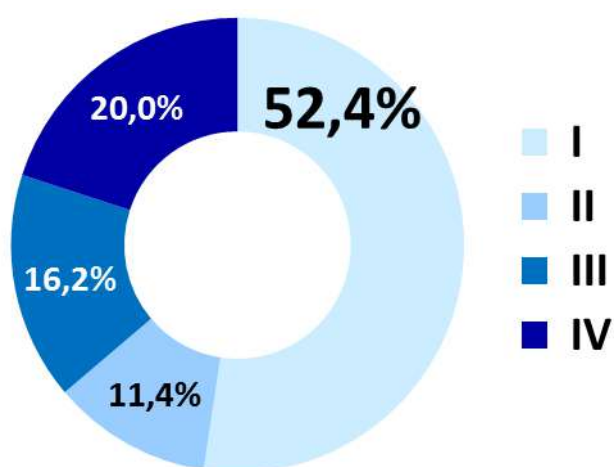


Рисунок 12. Распределение больных почечно-клеточным раком с учетом стадии заболевания.



Рисунок 13. Распределение больных почечно-клеточным раком по степени дифференцировки опухоли.

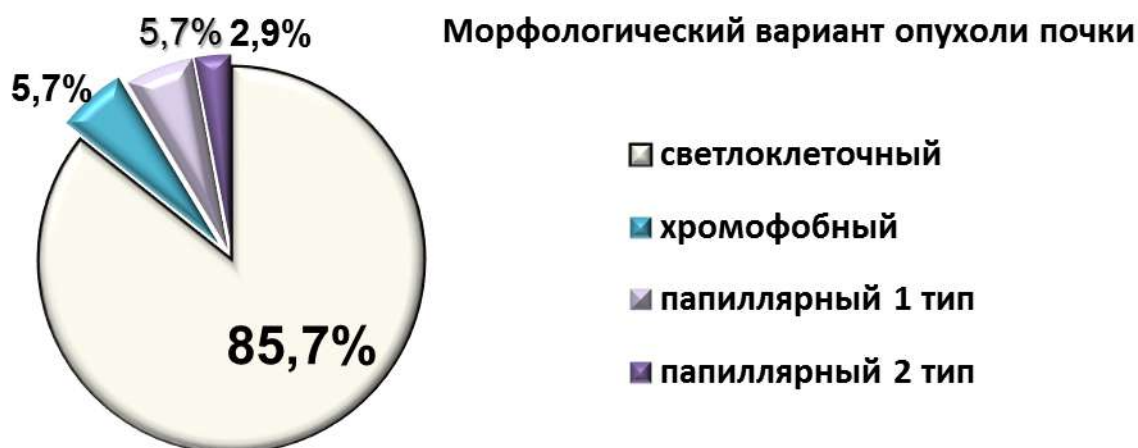


Рисунок 14. Распределение больных почечно-клеточным раком с учетом морфологического варианта строения опухоли.

2.5. Характеристика больных опухолями яичников.

Обследовали 109 больных РЯ, 22 больных доброкачественными опухолями яичников, 10 больных пограничными опухолями яичников. В исследование включены 35 практически здоровых женщин группы контроля.

Данные о репродуктивном статусе и возрасте больных НОЯ представлены в таблице 17.

Таблица 17. Распределение обследованных женщин основных групп с новообразованием яичников по возрасту и репродуктивному статусу

Группа	N	Возраст, лет		Репродуктивный статус Частота. Абс.(Отн.)			
		пределы	M±m	1	2	3	4
Контроль	35	18-68	42,5±2,3	-	-	-	-
ДОЯ	22	18-74	49,7±3,5	5 (22,7%)	15 (68,2%)	2 (9,1%)	-
ПОЯ	10	26-72	46,1±4,7	3 (30,0%)	6 (60,0%)	1 (10,0%)	-
ЗОЯ	109	19-78	55,2±1,1	30 (27,9%)	69 (63,3%)	7 (7,6%)	2 (2,1%)

Примечание: 1 - норма, 2 - менопауза, 3 - дисменорея, 4 - аменорея.

Средний возраст больных ЗОЯ составил 55,2±1,1 лет, преобладали пациентки в постменопаузе (63,3%), из них 13 (10,1%) больных были в возрасте моложе 40 лет, 25 (22,9%) - в возрасте 40-49 лет, 39 (35,8%) - в

возрасте 50-59 лет, 22 (20,2%) - в возрасте 60-69 лет и 10 (9,2%) - в возрасте от 70 лет и старше (рисунок 15).

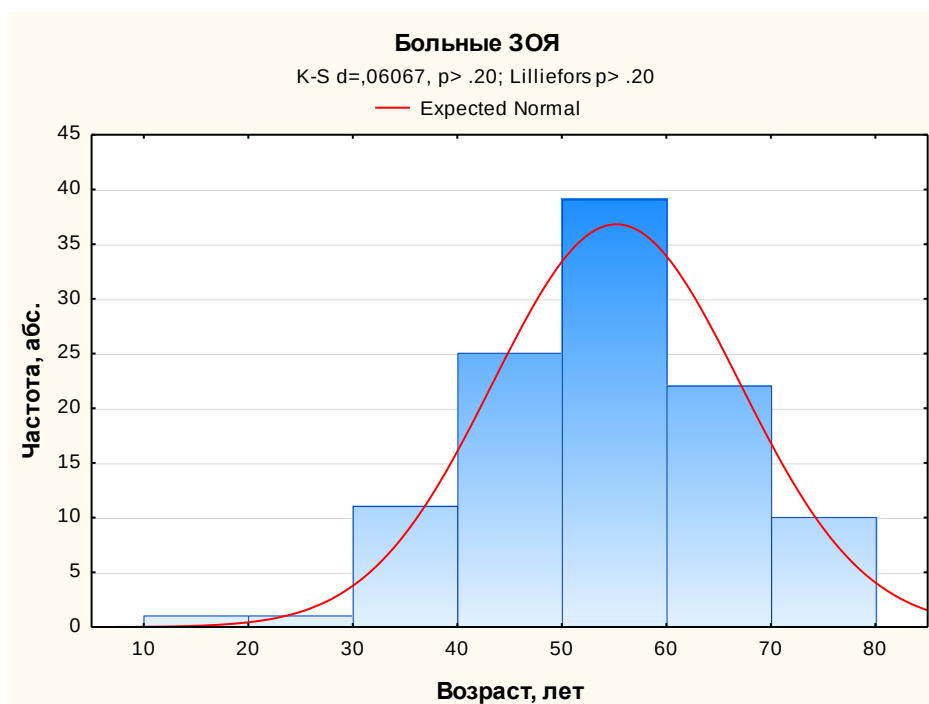


Рисунок 15. Распределение больных раком яичников по возрасту.

Максимальный размер опухоли яичника по данным УЗИ и сторона поражения представлены в таблице 18 и на рисунке 16.

Таблица 18. Характеристика опухолей яичников основных групп по размеру опухоли и стороне поражения

Группа	N	Размер, см			Сторона поражения	
		Частота. Абс.(Отн.)			Частота. Абс.(Отн.)	
		<5	5-10	≥10	односторонняя	двусторонняя
ДОЯ	22	8 (36,3%)	10 (45,5%)	4 (18,1%)	21 (95,5%)	1 (4,6%)
ПОЯ	10	3 30,0%	4 40,0%	3 30,0%	10 (100%)	-
ЗОЯ	109	34 (31,2%)	67 (61,3%)	8 (7,5%)	75 (68,8%)	34 (31,2%)

Наибольшие группы составили больные РЯ с максимальным размером опухоли 5-10 см (61,3%) и односторонним опухолевым поражением яичников (68,8%) (рисунок 17).



Рисунок. 16. Распределение больных злокачественными опухолями яичников по размеру опухоли.

Рак яичников в основном был представлен серозной аденокарциномой (таблица 19).

Таблица 19. Гистологические типы рака яичников

Морфологический вариант рака яичников	Число наблюдений	
	Абс.	Отн.
Серозная аденокарцинома	86	78,9%
Эндометриоидная аденокарцинома	14	12,8%
Муцинозная аденокарцинома	9	8,3%

В таблице 20 представлено распределение больных раком яичников с учетом индексов системы TNM. Следует указать, что в исследовании преобладали пациентки с индексами T3 (59,6%), N0 (92,7%) и M0 (92,7%) критериями.

В таблице 21 представлено распределение больных злокачественными опухолями яичников с учетом стадии заболевания по FIGO. Преобладали пациентки с IIIc стадией (40,4%).

Таблица 20. Распределение больных злокачественными опухолями
яичников по критериям системы TNM

Критерий Т	Частота Абс.(Отн.)	Критерий N	Частота Абс.(Отн.)	Критерий М	Частота Абс.(Отн.)
In situ	1 (0,9%)	N0	100 (91,7%)	M0	100 (91,7%)
T1	28 (25,7%)	N1	9 (8,3%)	M1	9 (8,3%)
T2	15 (13,8%)	-	-	-	-
T3	65 (59,6%)				

Таблица 21. Распределение больных злокачественными опухолями
яичников учетом по стадии заболевания FIGO

FIGO	Частота выявления	
	Абс. Отн.	
In situ	1	0,9%
Ia	5	4,6%
Ic	24	22,1%
IIb	3	2,7%
IIC	9	8,3%
IIIa	8	7,3%
IIIb	7	6,4%
IIIc	44	40,4%
IV	8	7,3%

У всех 109 больных раком яичников определена степень дифференцировки опухоли. Преобладали больные с неблагоприятной степенью дифференцировки High grade (61,4%), у 42 (38,6%) больных выявлена Low grade.

Асцит выявлен в 47,6% наблюдений, опухолевые клетки в смывах из брюшной полости в 39,5%.

Полная циторедукция выполнена у 48 (58,5%) больных, еще у 13 (15,9%) выполнена оптимальная циторедукция и у 21 (25,6%) – не оптимальная циторедукция.

2.6. Специальные иммуноферментные методы исследования.

Определение содержания sPD-L1 и sPD-1. Биомаркеры sPD-L1 и sPD-1 определяли в сыворотке/плазме (ЭДТА) крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, иммуноферментным методом реактивами фирмы: Human PD-L1 Platinum ELISA, Human PD-1 ELISA kit (Affimetrix, eBioscience, США) в соответствии с инструкциями производителя, концентрации выражали в пикограммах (пг) или нанограммах (нг) на 1 мл сыворотки/плазмы крови. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия).

2.7. Статистический анализ полученных данных.

Результаты исследования обрабатывали, используя пакет прикладных программ «Statistica for Windows» Version 8.0 («StatSoft Inc.», США).

Распределение данных анализировали графическим и математическим (с помощью статистик Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро-Уилке методами. Концентрации биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 выражали в виде: нижнего квартиля (25% выборки) – медианы – верхнего квартиля (75% выборки). Проводили однофакторный и многофакторный анализ полученных результатов [28, 38]. Статистическую значимость показателей оценивали с помощью непараметрических критериев – медианного, Колмогорова-Смирнова, Mann-Whitney. Статистическую значимость различий частот в изучаемых признаках оценивали с помощью критерия χ^2 , для малых выборок рассчитывали непараметрический точный критерий Фишера. Меру линейной связи оценивали с помощью коэффициента корреляции Пирсона, коэффициента корреляции рангов Spearman.

Выживаемость анализировали по методу Kaplan-Meier с использованием критерия Log-rank.

ГЛАВА 3.

sPD-1 и sPD-L1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

3.1. Сравнение содержания sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных колоректальным раком и в контрольной группе здоровых людей.

Уровни биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 исследовали до лечения у 303 больных КРР и у 60 здоровых доноров, данные представлены на рисунках 17 и 18. Основными характеристиками этих биомаркеров медианы концентраций и квартили. Для сравнения показателей в группах применяли непараметрические методы.

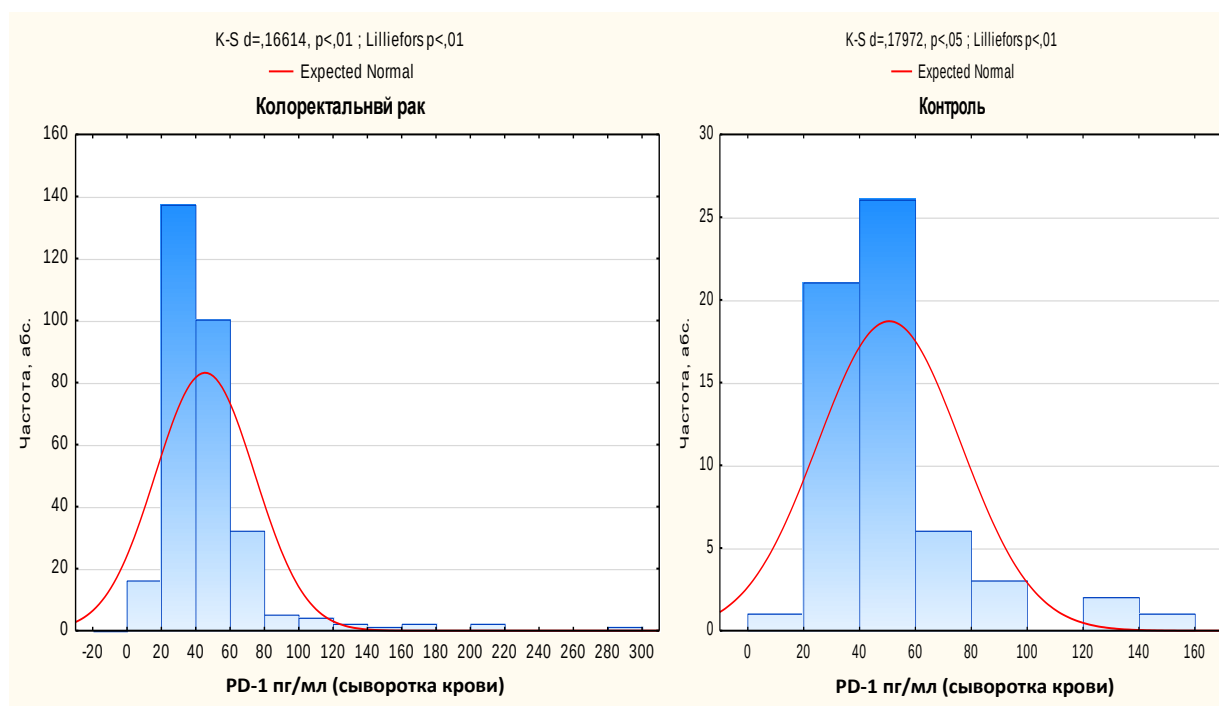


Рисунок 17. Частота обнаружения сывороточных уровней sPD-1 у больных колоректальным раком в общей группе (слева) и в контроле (справа).

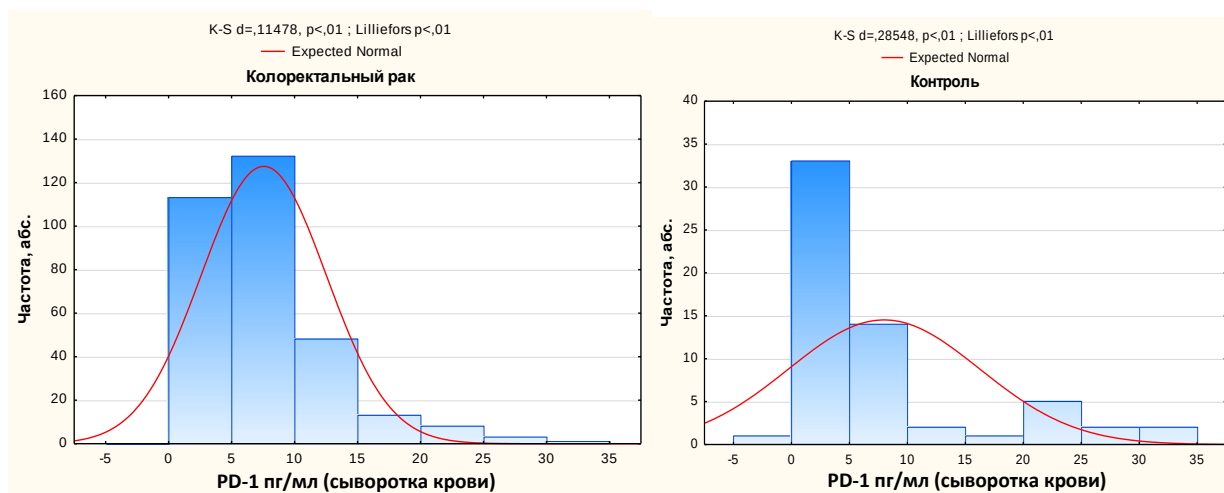


Рисунок 18. Частота выявления сывороточных уровней sPD-L1 у больных колоректальным раком в общей группе (слева) и в контроле (справа).

Результаты исследованных сывороточных уровней биомаркеров sPD-1, sPD-L1 и коэффициента их соотношения sPD-L1/sPD-1 в общей группе больных новообразованиями толстой кишки и в контроле представлены в таблице 22.

Таблица 22. Показатели сывороточных биомаркеров sPD-1, sPD-L1 и коэффициента соотношения PD-L1/sPD-1 в общей группе больных опухолями толстой кишки и в контроле

Группа	N	Статистики	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Контроль	60	Медиана	46,3	4,2	10,6
		Квартили	34,9-56,8	3,0-7,6	4,6-16,1
		Пределы	17,4-157	0-32,3	0,8-43,9
		95%ДИ	24,2-107	2,0-26,5	1,3-36,0
Опухоли толстой кишки	318	Медиана	38,4	6,4	5,6
		Квартили	29,9-51,9	4,1-9,6	4,0-10,0
		Пределы	9,5-267	0,3-32,8	1,5-197
		95%ДИ	19,5-92,4	2,1-17,4	2,2-21,8
p (Mann-Whitney U test)			0,016	0,016	0,0065

Анализ полученных нами данных обнаружил, что уровни рецептора sPD-1 статистически значимо ниже, чем в контроле (38,4 и 46,3 пг/мл

соответственно, $p=0,016$), тогда как уровни лиганда sPD-L1, наоборот, были достоверно выше у больных, по сравнению со здоровыми людьми группы контроля (6,4 и 4,2 соответственно, $p=0,016$). Наиболее различались в указанных группах коэффициенты соотношения показателей sPD-L1/sPD-1 (медианы 5,6 и 10,6 соответственно, $p=0,0065$) (таблица 22). Следует отметить, что превышение концентраций лиганда sPD-L1 над sPD-1 в сыворотке крови было выявлено только у 2-х обследованных в группе контроля. У всех больных с новообразованиями толстой кишки концентрации sPD-1 превышали концентрации sPD-L1.

Таблица 23. Показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-L1/sPD-1 в контроле, при доброкачественных опухолях и раке толстой кишки

Группа	N	Статистики	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
⁰ Контроль	60	Медиана	46,3	4,2	10,6
		Квартили	34,9-56,8	3,0-7,6	4,6-16,1
		Пределы колебания	17,4-157	0-32,3	0,8-43,9
		95%ДИ	24,2-107	2,0-26,5	1,3-36,0
¹ Доброкач. опухоли толстой кишки	15	Медиана	32,8	8,1	4,2
		Квартили	27,9-46,9	6,3-9,7	3,2-4,9
		Пределы колебания	18,9-58,3	0,3-12,0	2,3-197
		95%ДИ	18,9-58,3	0,3-12,0	2,3-197
² Колоректальный рак	303	Медиана	39,6	6,4	5,8
		Квартили	30,0-52,0	4,1-9,6	4,0-10,2
		Пределы колебания	9,5-287	0,5-32,8	1,5-132
		95%ДИ	19,8-92,4	2,1-17,4	2,2-21,5
p (Kruskal-Wallis test)			⁰ vs ¹ p=0,059; ⁰ vs ² p=0,067; ¹ vs ² p=0,55	⁰ vs ¹ p=0,04; ⁰ vs ² p=0,07; ¹ vs ² p=0,42	⁰ vs ¹ p=0,0056; ⁰ vs ² p=0,03; ¹ vs ² p=0,12

В таблице 23 представлены данные сравнительного анализа концентраций исследованных показателей биомаркеров в контроле, пациентов с доброкачественными новообразованиями и раком толстой кишки.

Следует отметить, что концентрации рецептора sPD-1 имели большой диапазон колебаний от 9,5 до 287 пг/мл (таблица 23). Выявили, что концентрации медиан sPD-1 в сыворотке крови в контроле (46,3 пг/мл), при раке (39,6 пг/мл) и доброкачественных новообразованиях толстой кишки (32,8 пг/мл) не отличались (рисунок 19).

На основании этого нами сделан вывод о том, что показатель sPD-1, исследованный в сыворотке крови больных, не обладает необходимой информативностью в диагностике колоректального рака.

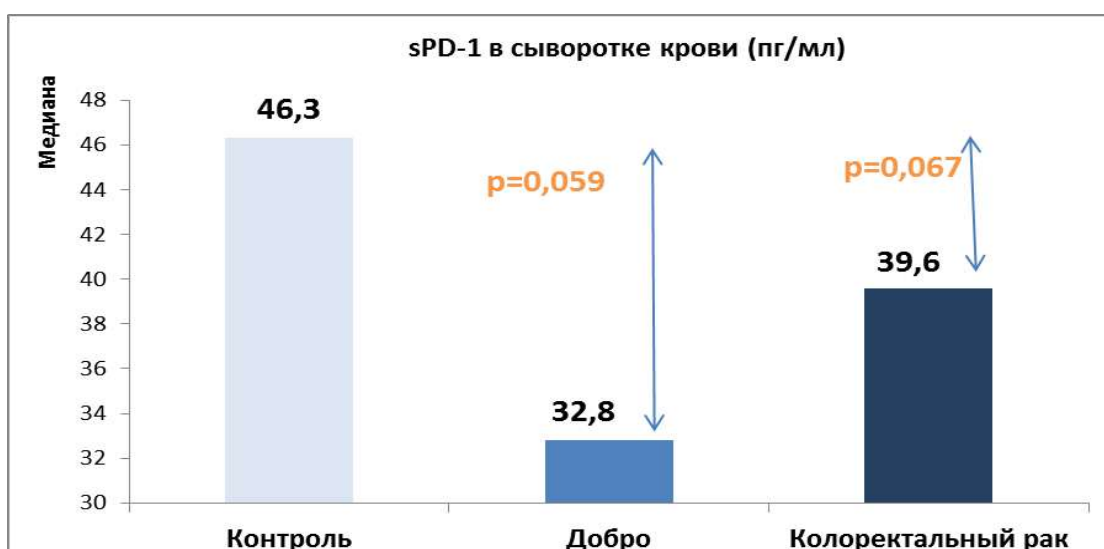


Рисунок 19. Показатели sPD-1 в контроле, у больных раком и доброкачественными опухолями толстой кишки.

Показано, что уровни sPD-L1 при KPP и доброкачественных опухолях толстой кишки достоверно выше, чем в контроле (соответственно 6,4 пг/мл и 4,2 пг/мл; 8,1 и 4,2 пг/мл; $p<0,05$). Между показателями этого сывороточного биомаркера у больных KPP и контролем различий не выявлено (соответственно 6,4 пг/мл и 4,2 пг/мл; $p=0,07$) как и с доброкачественными новообразованиями (соответственно 6,4 пг/мл и 8,1 пг/мл; $p=0,42$) (рисунок 20).

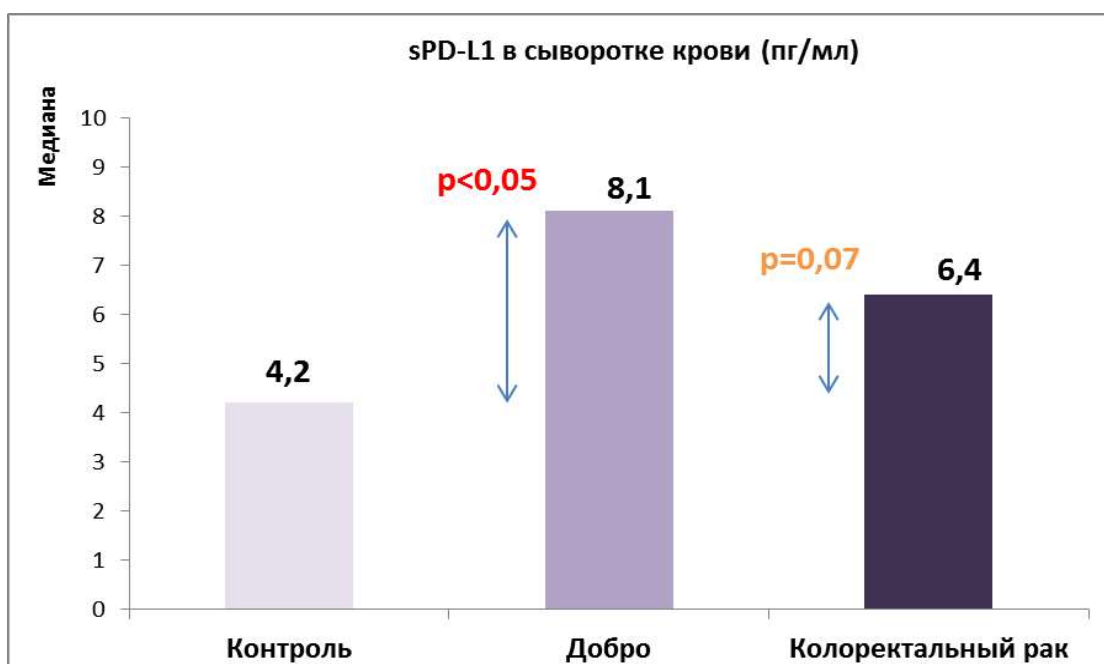


Рисунок 20. Показатели sPD-L1 в контроле, при колоректальном раке и доброкачественных опухолях толстой кишки.

Значимо различался коэффициент соотношения sPD-1/sPD-L1 как у больных колоректальным раком по сравнению с контролем (5,8 и 10,6 соответственно, $p = 0,03$), так и у больных доброкачественными опухолями по сравнению с контролем (4,2 и 10,6 соответственно, $p = 0,0056$) (рисунок 21).

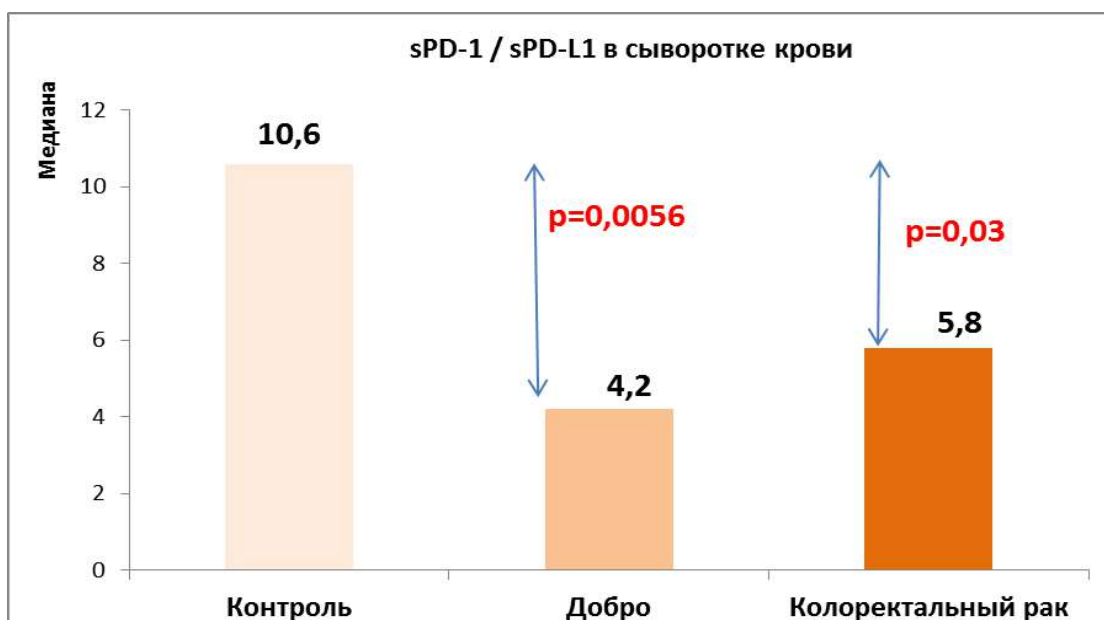


Рисунок 21. Медианы соотношения sPD-1/sPD-L1 в контроле, при колоректальном раке и доброкачественных новообразованиях толстой кишки.

Выполненный корреляционный анализ не выявил связи между уровнями рецептора sPD-1 и лиганда sPD-L1 в сыворотке крови больных КРР ($r_s=0,14$) и в контроле ($r_s=-0,13$).

3.2. Содержание сывороточных показателей биомаркеров в контроле и у больных колоректальным раком с учетом пола и возраста.

В таблице 24 приведены данные этого раздела исследования.

Таблица 24. Биомаркеры в контроле, при доброкачественных опухолях толстой кишки и колоректальном раке с учетом их пола

Группа	N	Пол	Медиана; квартили		
			sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Контроль	18	Муж.	43,1; 36,1-52,5	3,8; 3,2-6,3	11,5; 7,4-13,6
	42	Жен.	47,5; 33,7-57,4	4,6; 3,0-9,2	9,7; 3,0-18,5
p (Mann-Whitney U test)			0,5	0,02	0,8
Доброкачественные опухоли толстой кишки (ДОК)	4	Муж.	29,1; 28,4-43,8	9,3; 4,6-10,8	3,1; 2,7-10,0
	11	Жен.	33,4; 27,3-46,9	8,1; 6,3-8,6	4,3; 4,2-4,9
p (Mann-Whitney U test)			0,9	0,9	0,3
Колоректальный рак (КРР)	163	Муж.	41,3; 30,6-53,2	6,8; 4,4-10,4	5,7; 3,7-10,6
	140	Жен.	36,0; 29,1-51,9	6,1; 3,7-8,4	5,8; 4,3-10,1
p (Mann-Whitney U test)			0,22	0,1	0,9

Из представленных в таблице 24 данных следует, что только в контроле концентрации лиганда значимо выше у женщин по сравнению с мужчинами.

Более наглядно показаны колебания уровней биомаркеров на рисунках 22 и 23 с учетом декад жизни пациентов.

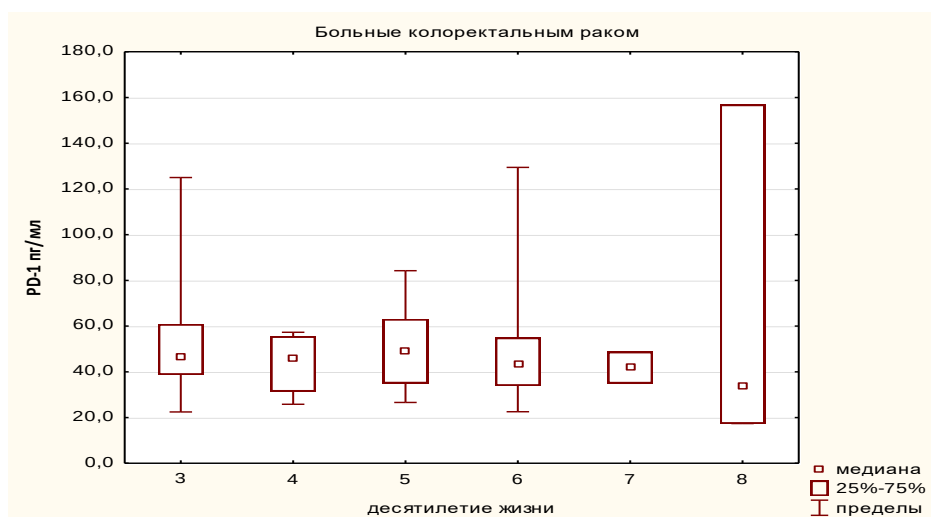


Рисунок 22. Уровни колебания sPD-1 в различных декадах жизни больных колоректальным раком.

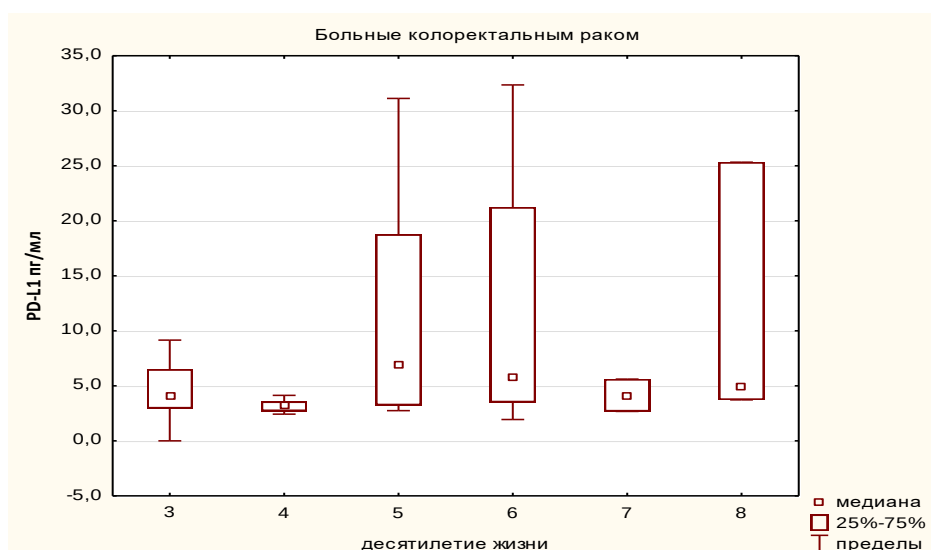


Рисунок 23. Показатели sPD-L1 в различных декадах жизни больных колоректальным раком.

В отличие от больных КРР, в контроле выявили достоверную корреляционную ассоциацию уровней лиганда sPD-L1 с возрастом ($r_s=0,3$; $p<0,05$), а многофакторный анализ подтвердил эти зависимости.

Многофакторный анализ не выявил связи показателей возраста и коэффициента sPD-1/sPD-L1 в контроле ($r_s=-0,25$) и при КРР ($r_s=-0,081$).

3.3. Связь индексов системы TNM с уровнями sPD-1 и sPD-L1 при КРР.

В таблице 25 приведены результаты этих исследований.

Таблица 25. Критерий Т системы TNM при колоректальном раке и его связь с уровнями биомаркеров

Критерий Т	N	Медиана; квартили		
		sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
T1	22	43,7; 32,1-48,2	4,5; 2,1-7,1	9,4; 6,3-17,4
T2	57	39,2; 31,0-60,5	6,1; 4,3-9,3	5,9; 4,0-13,5
T3	167	36,7; 29,5-50,5	6,1; 3,8-9,4	5,9; 4,1-10,0
T4	57	43,0; 31,1-52,4	8,7; 5,6-10,9	4,7; 3,5-7,4
P (Kruskal-Wallis test)		0,34	0,007	0,0034

Не выявлено связи уровней sPD-1 по мере увеличения критерия Т ($p>0,05$) (рисунок 24). Более наглядно эти результаты представлены на рисунке 26.

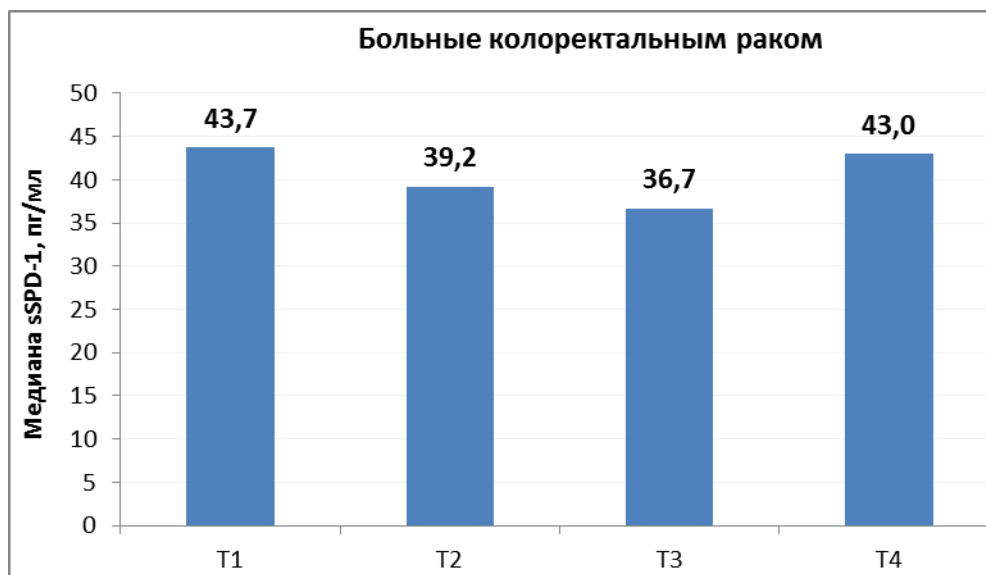


Рисунок 24. Критерий распространенности Т и показатели sPD-1 при колоректальном раке.

В отличие от рецептора, концентрации лиганда достоверно повышались при увеличении критерия Т ($p=0,007$) (рисунок 25).

Выявлено значимое снижение медиан соотношения sPD-1/sPD-L1 по мере увеличения критерия Т в 2,0 раза с 9,4 при Т1 до 4,7 при Т4 ($p=0,0034$) (рисунок 25).

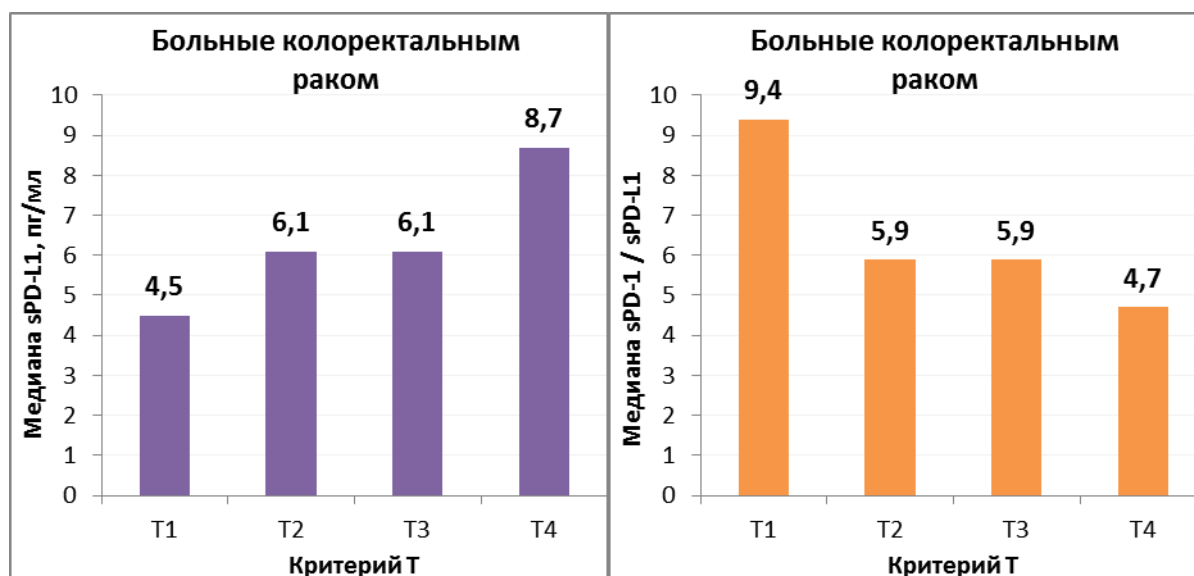


Рисунок 25. Критерий Т и уровни sPD-L1 (слева) и соотношение sPD-1/sPD-L1 (справа) у больных колоректальным раком.

Представленные данные позволяют сделать заключение, что наиболее объективно критерий Т при КРР отражают лиганд sPD-L1 и соотношение sPD-1/sPD-L1.

Оказалось, что у больных КРР биомаркеры не ассоциированы с критерием N (таблица 26).

Таблица 26. Критерий N системы TNM при колоректальном раке и его связь с уровнями биомаркеров

Критерий N	N	Медиана; квартили		
		sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
N0	187	37,9; 29,3-51,9	6,5; 4,3-10,1	5,6; 3,8-10,6
N1	76	41,5; 31,4-56,5	5,4; 3,5-9,0	7,4; 4,6-12,3
N2	40	35,5; 29,3-50,0	7,6; 4,8-10,1	5,1; 3,7-8,4
P (Kruskal-Wallis test)		0,29	0,1	0,07

Критерий М не был связан с уровнями sPD-1 и sPD-L1 (соответственно $p=0,5$ и $p=0,07$). Однако, обнаружено незначимое повышение медиан

коэффициента соотношения концентраций sPD-1/sPD-L1 с 5,6 при M0 до 7,7 при M1 ($p=0,05$) (таблица 27).

Таблица 27. Критерий M системы TNM при колоректальном раке и его связь с уровнями биомаркеров

Критерий M	N	Медиана; квартили		
		sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
M0	251	39,1; 29,9-51,9	6,7; 4,3-9,6	5,6; 4,0-10,0
M1	52	40,2; 30,4-56,1	4,9; 3,4-9,2	7,7; 4,5-12,8
P (Mann Whitney test)		0,5	0,07	0,05

Таким образом, критерий M слабо связан с уровнями биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 у пациентов с КРР.

У больных колоректальным раком провели анализ уровней исследованных биомаркеров в сыворотке крови с учетом клинической стадии опухолевого процесса, данные представлены в таблице 28.

Таблица 28. Клиническая стадия колоректального рака и уровни биомаркеров

Стадия	N	Медиана; квартили		
		sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
I	71	42,8; 31,9-58,3	5,6; 3,6-7,5	8,3; 4,7-15,0
II	20	48,6; 34,5-63,1	5,8; 3,7-12,0	6,3; 4,1-14,4
IIa	66	31,8; 26,8-42,3	6,8; 4,4-9,2	4,9; 3,6-7,0
IIb	16	37,5; 27,0-55,9	10,1; 6,8-14,0	4,1; 2,8-5,7
IIc	1	53,0	21,9	2,4
III	27	40,4; 29,5-51,3	6,7; 3,8-10,2	5,6; 4,0-9,0
IIIa	9	51,0; 31,5-56,3	6,4; 5,1-8,5	5,0; 4,2-10,0
IIIb	29	41,2; 29,9-50,1	5,3; 3,5-8,9	5,9; 4,4-12,6
IIIc	13	48,9; 34,9-53,5	9,2; 7,7-10,5	4,9; 4,2-5,8
IV	33	41,4; 29,7-56,7	5,5; 3,5-10,9	7,7; 3,6-11,8
IVa	12	35,6; 31,1-43,0	5,2; 3,6-7,3	7,2; 4,6-14,8
IVb	4	46,9; 36,7-58,5	4,1; 3,5-5,9	10,0; 6,4-17,2
IVc	2	29,2 и 35,2	0,8 и 5,0	5,9 и 46,0
P (Kruskal-Wallis test)		>0,05	>0,05 IvsIIb $p=0,013$	>0,05; IvsIIa $p=0,03$; IvsIIb $p=0,037$

При КРР сывороточные уровни рецептора не связаны со стадией заболевания ($p>0,05$) (рисунок 26).

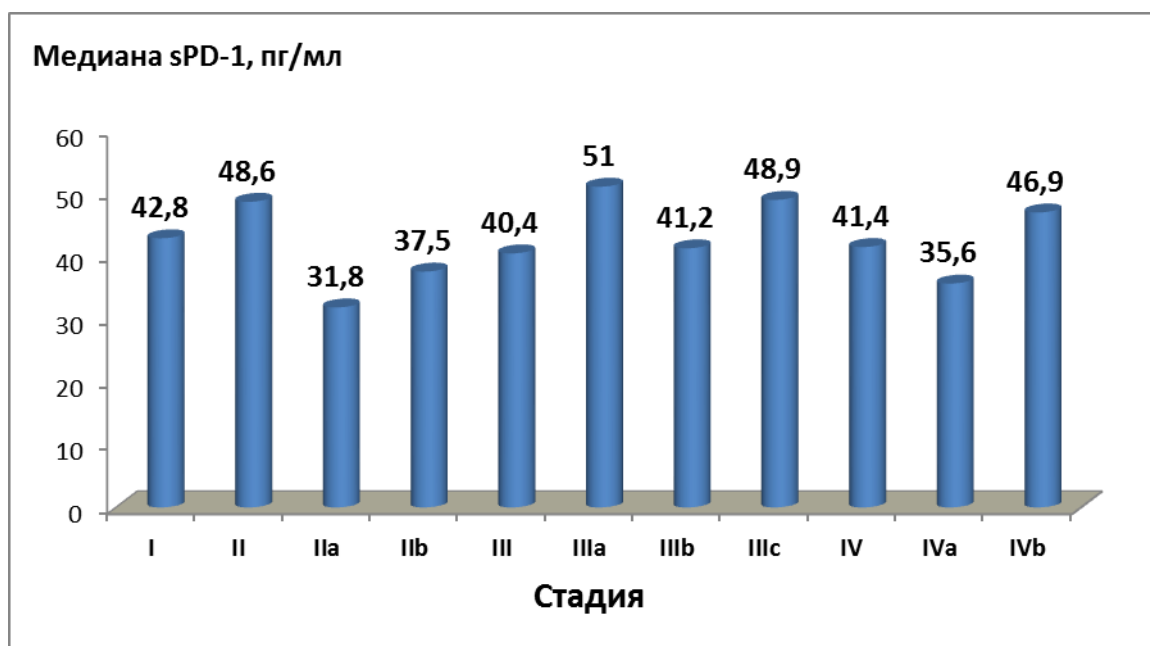


Рисунок 26. Клиническая стадия колоректального рака и уровни sPD-1.

Только при IIb стадии КРР уровни sPD-L1 были достоверно выше, чем при I стадии (10,1 и 5,6 пг/мл соответственно; $p=0,013$) (рисунок 27).

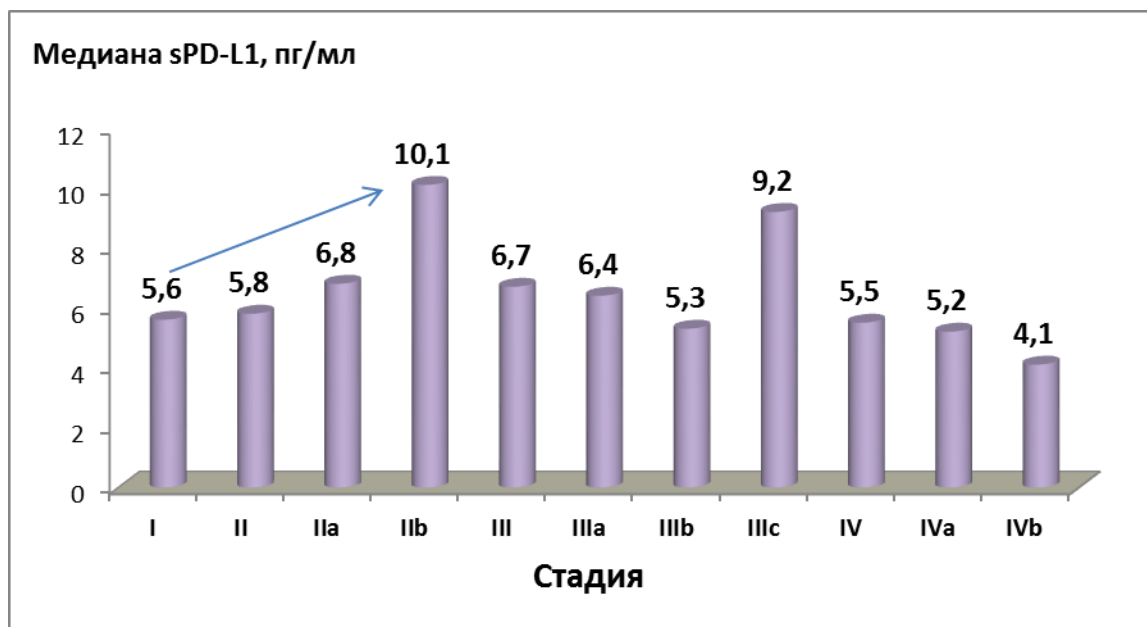


Рисунок 27. Стадия колоректального рака и уровни sPD-L1.

При КРР обнаружено достоверное снижение медиан коэффициента соотношения концентраций sPD-1/sPD-L1 по мере увеличения клинической стадии опухолевого процесса с 8,3 пг/мл при I стадии до 4,1 пг/мл при IIb

стадии ($p < 0,05$), однако при дальнейшем увеличении стадии заболевания коэффициенты соотношения белков повышались незначимо (рисунок 28).

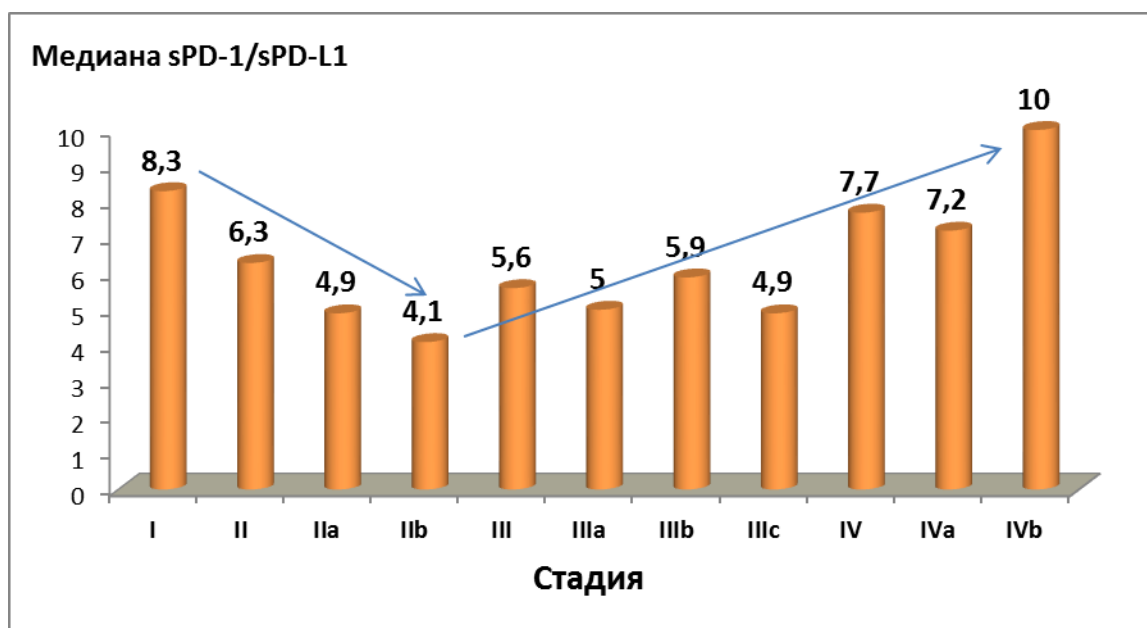


Рисунок 28. Коэффициенты соотношения биомаркеров sPD-1/sPD-L1 и стадия колоректального рака.

Таким образом, с клинической стадией КРР оказались связаны sPD-L1 и коэффициент sPD-1/sPD-L1.

3.4. Связь исследуемых показателей биомаркеров при колоректальном раке с учетом морфологического варианта опухоли.

Данные этого раздела исследования представлены в таблице 29.

Таблица 29. Биомаркеры при опухолях толстой кишки с учетом их гистологического строения

Гистологический вариант	N	Медиана; квартили		
		sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Аденокарцинома	303	39,9; 30,2-52,2	6,4; 4,1-9,6	5,7; 4,0-10,2
Тубулярная аденома	9	32,2; 29,0-46,9	8,6; 8,1-9,7	4,2; 3,0-4,3
Тубуло-ворсинчатая аденома	5	32,8; 27,9-33,4	7,7; 6,9-8,8	4,3; 4,2-4,7
Зубчатая аденома	1	58,3*	0,3*	197*
P (Kruskal-Wallis test)		>0,05	>0,05	>0,05

Примечание: * - абсолютное значение.

Колоректальный рак был представлен аденокарциномой (303 больных). Не выявлено различий в концентрациях sPD-1, sD-L1 и их соотношения sPD-1/sPD-L1 у пациентов с аденокарциномой, тубулярной и тубуло-ворсинчатой аденомами ($p>0,05$).

3.5. Степень дифференцировки колоректального рака и показатели биомаркеров.

Данные представлены в таблице 30.

Таблица 30. Уровни биомаркеров с учетом степени дифференцировки колоректального рака

Степень дифференцировки	N	Медиана; квартили		
		sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
G1	82	46,6; 31,1-60,5	5,7; 3,5-8,8	7,5; 4,9-13,3
G2	196	36,8; 29,8-50,2	7,5; 4,9-10,4	4,9; 3,6-7,7
G3	25	34,7; 28,8-40,6	5,8; 3,6-7,2	6,9; 4,4-10,2
P (Kruskal-Wallis test)		$p=0,02$	G1vsG2 $p=0,004$; G2vsG3 $p=0,05$	G1vsG2 $p=0,0001$

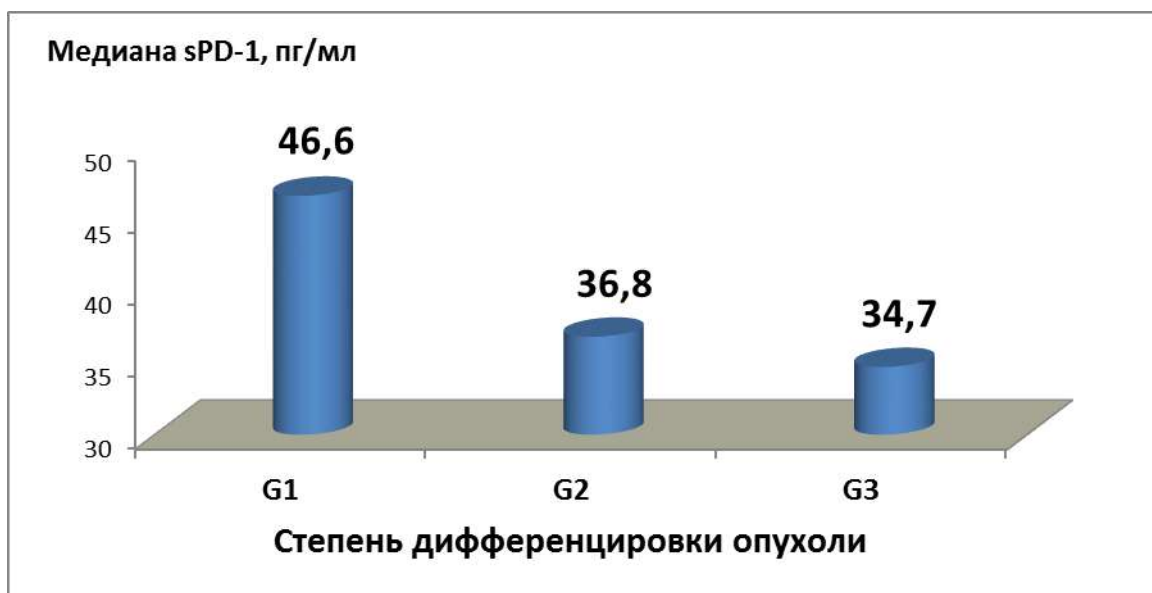


Рисунок 29. Степень дифференцировки колоректального рака и уровни sPD-1 в сыворотке крови пациентов.

Выявили при КРР достоверное снижение уровней рецептора (G1 – 46,6 пг/мл, G2 – 36,8 пг/мл, G3 – 34,7 пг/мл) при снижении степени дифференцировки опухоли (таблица 30, рисунок 29).

При КРР было характерно, наоборот, достоверное повышение содержания лиганда при снижении степени дифференцировки рака (при G1 – 5,7 пг/мл, при G2 – 7,5 пг/мл; $p=0,004$), но при G3 его уровень вновь снижался до 5,8 пг/мл (рисунок 30).

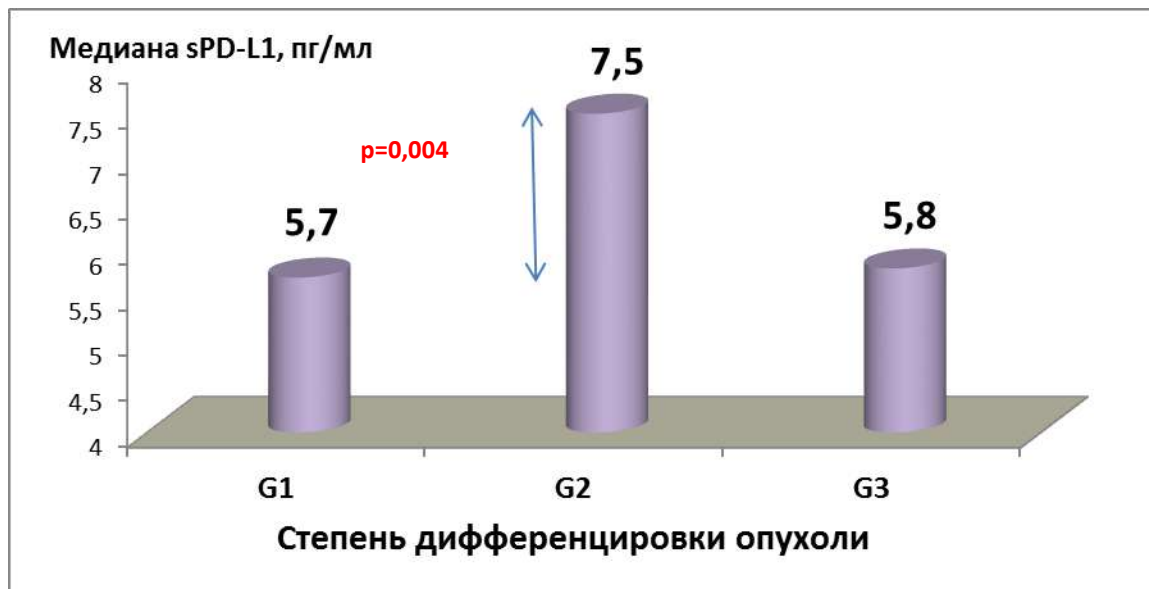


Рисунок 30. Степень дифференцировки колоректального рака и уровни sPD-L1.

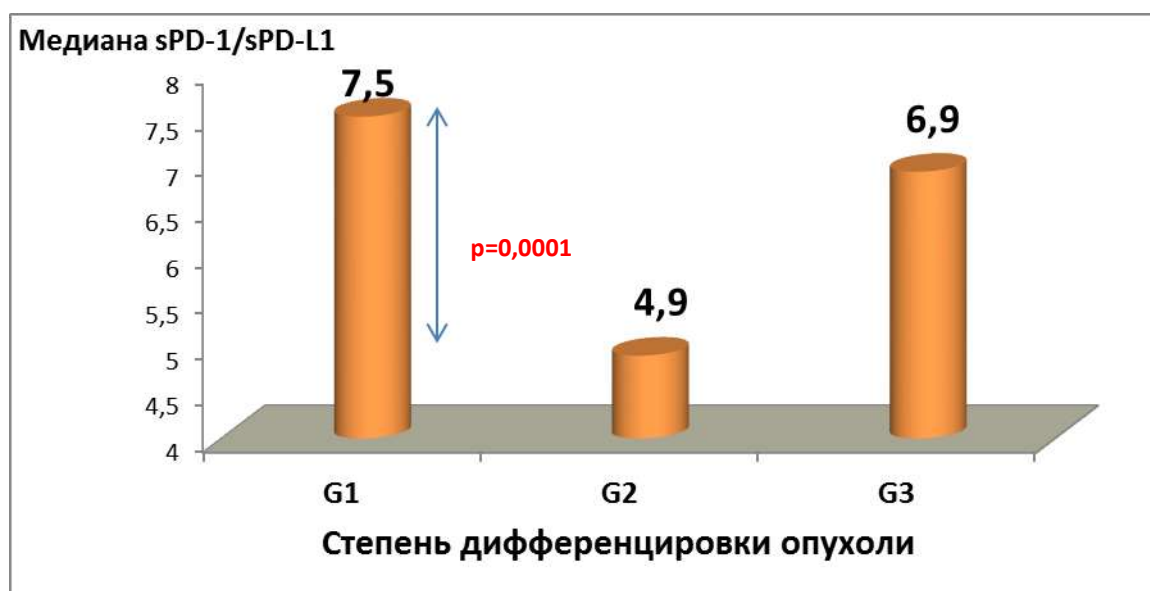


Рисунок 31. Степень дифференцировки колоректального рака и уровень sPD-1/sPD-L1.

При КРР коэффициент sPD-1/sPD-L1 достоверно снижался при G2 (4,9) по сравнению с G1 (7,5; $p<0,0001$), однако при G3 это соотношение не отличалась достоверно от такового при G1, составив 6,9 (рисунок 31).

На основании приведенных данных следует, что уровни биомаркеров (sPD-1, sPD-L1) и показатель sPD-1/sPD-L1 связаны со степенью дифференцировки КРР.

3.6. Локализация КРР и показатели биомаркеров в сыворотке крови больных.

В таблице 31 представлены результаты данного раздела исследования.

Таблица 31. Локализация колоректального рака и уровни биомаркеров

Локализация опухоли	N	Медиана; квартили		
		sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Сигмовидная кишка	86	41,3; 31,5-54,1	6,2; 3,7-9,4	6,1; 4,1-11,2
*Прямая кишка	108	36,2; 26,9-51,3	7,1; 4,5-10,6	4,9; 3,3-9,1
Восходящий отдел ободочной кишки	32	34,7; 30,2-50,3	6,5; 4,3-10,3	5,2; 3,7-10,8
*Ректосигмоидный отдел толстой кишки	32	42,3; 29,9-50,4	4,7; 3,6-7,2	7,2; 5,4-13,0
Поперечный отдел ободочной кишки	5	36,7; 30,3-58,3	4,8; 4,5-5,7	7,6; 6,8-21,9
Слепая кишка	18	40,2; 32,2-44,8	6,9; 3,8-7,9	5,5; 4,1-8,5
Селезеночный изгиб ободочной кишки	7	61,7; 44,8-70,2	5,7; 4,3-11,4	8,6; 7,8-12,6
Печеночный изгиб ободочной кишки	5	42,3; 33,8-45,1	7,6; 5,1-8,0	4,3; 4,2-15,4
Нисходящий отдел ободочной кишки	10	36,6; 30,6-55,6	5,5; 4,1-6,8	7,1; 4,8-11,9
P (Kruskal-Wallis test)		0,2	0,15; * $p=0,008$	0,01; * $p=0,003$

Не выявили связи исследованных биомаркеров в крови больных КРР с локализацией опухоли, все различия были статистически незначимыми ($p>0,05$) (таблица 31).

Только уровни лиганда sPD-L1 отличались достоверно между больными аденокарциномами прямой кишки и ректосигмоидного отдела

толстой кишки (таблица 31), у последних она была значимо снижена (7,1 и 4,7 пг/мл соответственно, $p=0,008$) (рисунок 32).

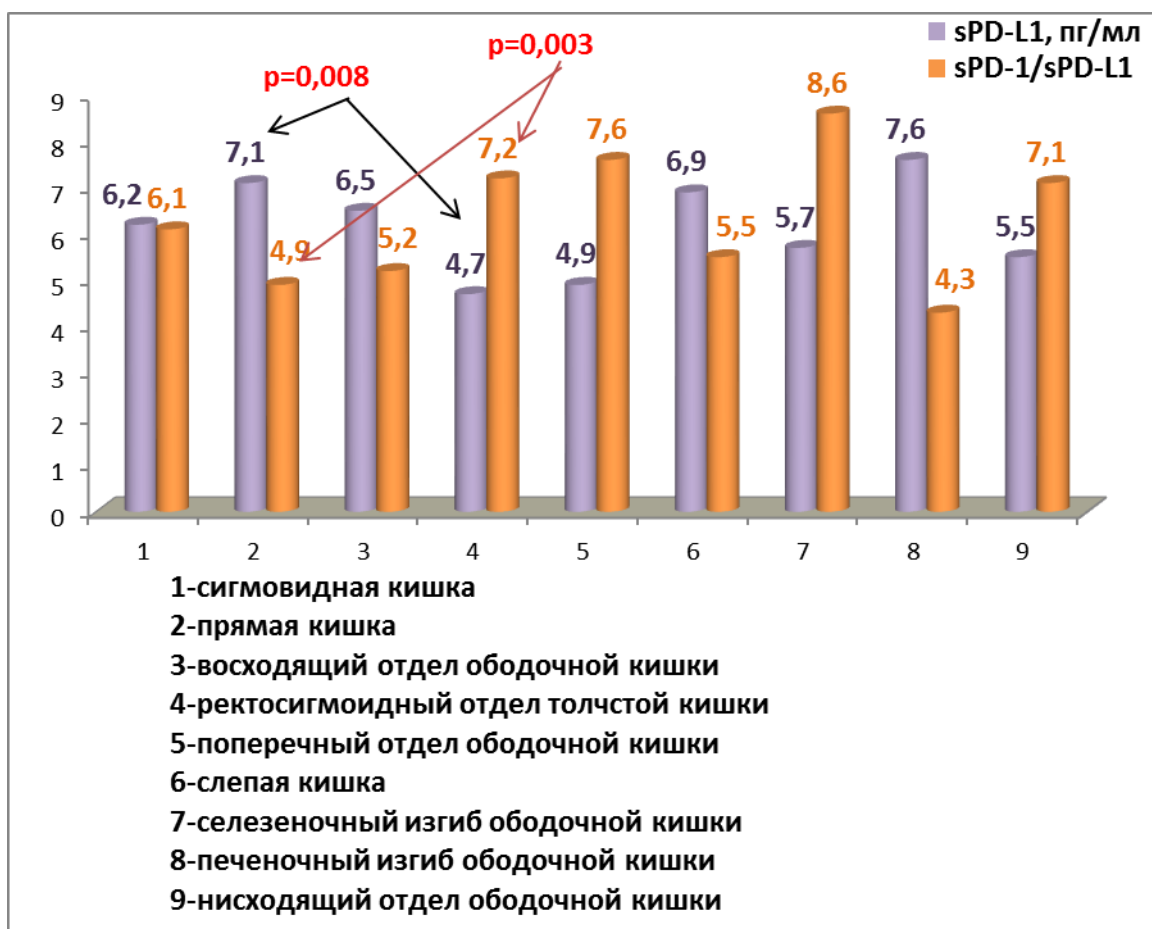


Рисунок 32. Сывороточные биомаркеры и локализация колоректального рака.

Уровни рецептора и лиганд при КРР не связаны с максимальным размером новообразования ($r_s=0,03$ и $r_s=0,01$ соответственно).

Уровни биомаркеров не связаны со стороной (правой и левой половины) поражения толстой кишки ($p>0,05$) и эти данные не приводим.

3.7. Показатели общей выживаемости при колоректальном раке с учетом клинических факторов и данных анамнеза.

Провели анализ показателей общей выживаемости у 211 больных колоректальным раком. При этом, 1-летняя общая выживаемость равнялась $92,2\pm1,9\%$, 2-летняя $87,3\pm2,5\%$, 3- и 4-летняя $80,1\pm3,4\%$, 5-летняя $77,8\pm4,0\%$, 6- и 7-летняя общая выживаемость составила $72,5\pm6,3\%$.

Подробная характеристика больных КРР приведена в таблице 32.

Таблица 32. Выживаемость при колоректальном раке в группах с учетом данных анамнеза и основных клинических признаков

Признак	Градация	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость, %, $\pm$ SE			p
				1-летняя	3-летняя	5-летняя	
Пол	Муж.	115	Не дост.	90,3 $\pm$ 2,9	75,9 $\pm$ 5,1	73,9 $\pm$ 5,4	0,06
	Жен.	96	Не дост.	94,4 $\pm$ 2,5	88,3 $\pm$ 3,7	81,6 $\pm$ 6,1	
Возраст	До 40	10	Не дост.	100	87,5 $\pm$ 11,7	58,3 $\pm$ 18,7	0,37
	40-49	16	Не дост.	100	100	100	
	50-59	56	Не дост.	93,6 $\pm$ 3,7	87,3 $\pm$ 5,5	87,3 $\pm$ 5,5	
	60-69	77	Не дост.	87,6 $\pm$ 3,9	77,5 $\pm$ 5,5	77,5 $\pm$ 5,5	
	70-79	38	64,7	97,4 $\pm$ 2,7	75,4 $\pm$ 9,0	62,9 $\pm$ 13,7	
	$\geq$ 80	14	Не дост.	84,4 $\pm$ 10,2	84,4 $\pm$ 10,2	84,4 $\pm$ 10,2	
TNM	T1	14	Не дост.	100	100	100	0,017
	T2	39	Не дост.	97,4 $\pm$ 2,5	97,4 $\pm$ 2,5	97,4 $\pm$ 2,5	
	T3	113	Не дост.	92,4 $\pm$ 2,6	77,1 $\pm$ 5,0	77,1 $\pm$ 5,0	
	T4	45	Не дост.	84,6 $\pm$ 5,8	68,7 $\pm$ 8,7	53,2 $\pm$ 12,4	
	N0	133	Не дост.	96,9 $\pm$ 1,5	93,0 $\pm$ 2,7	88,5 $\pm$ 4,1	0,0001
	N1	44	Не дост.	84,5 $\pm$ 5,9	70,9 $\pm$ 8,9	70,9 $\pm$ 8,9	
	N2	34	30,9	83,5 $\pm$ 6,8	46,3 $\pm$ 10,8	46,3 $\pm$ 10,8	
	M0	174	Не дост.	95,6 $\pm$ 1,6	88,3 $\pm$ 2,9	84,6 $\pm$ 3,9	<0,0001
	M1	37	26,1	74,5 $\pm$ 7,9	35,1 $\pm$ 12,2	-	
Стадия	I	46	Не дост.	97,8 $\pm$ 2,2	97,8 $\pm$ 2,2	97,8 $\pm$ 2,2	<0,0001
	IIa	47	Не дост.	100	96,9 $\pm$ 3,1	96,9 $\pm$ 3,1	
	IIb-IIc	15	56,6	87,1 $\pm$ 8,6	77,4 $\pm$ 11,9	49,7 $\pm$ 18,0	
	II	14	Не дост.	100	75,0 $\pm$ 21,7	-	
	IIIa	9	Не дост.	100	100	-	
	IIIb	17	Не дост.	92,9 $\pm$ 6,9	92,9 $\pm$ 6,9	92,9 $\pm$ 6,9	
	IIIc	12	Не дост.	100	59,3 $\pm$ 18,5	59,3 $\pm$ 18,5	
	III	15	32,0	76,9 $\pm$ 11,7	46,2 $\pm$ 20,7	-	
	IV	21	25,3	84,4 $\pm$ 8,3	24,6 $\pm$ 19,2	-	
	IVa	10	Не дост.	87,5 $\pm$ 11,7	70,0 $\pm$ 18,2	-	
	IVb-IVc	5	3,2	20,0 $\pm$ 17,9	0	-	
G	G1	9	Не дост.	80,0 $\pm$ 17,9	53,3 $\pm$ 24,8	53,3 $\pm$ 24,8	0,007
	G2	18	Не дост.	85,7 $\pm$ 9,4	63,5 $\pm$ 13,1	54,4 $\pm$ 14,0	
	G3	51	Не дост.	82,0 $\pm$ 5,8	51,4 $\pm$ 7,7	44,1 $\pm$ 8,2	
Локали- зация	сигмовидная кишка	52	Не дост.	98,0 $\pm$ 2,0	98,0 $\pm$ 2,0	89,1 $\pm$ 8,7	0,01
	прямая кишка	87	Не дост.	91,2 $\pm$ 3,2	76,2 $\pm$ 5,3	74,2 $\pm$ 5,6	
	восходящий отдел ободочной кишки	19	Не дост.	94,4 $\pm$ 5,4	84,0 $\pm$ 11,0	84,0 $\pm$ 11,0	

	ректосигмоидный отдел толстой кишки	20	Не дост.	100	68,6±18,6	68,6±18,6	
	поперечный отдел ободочной кишки	4	1 умер на сроке 2,2 месяца				
	слепая кишка	12	Не дост.	90,0±9,5	78,8±13,4	78,8±13,4	
	селезеночный изгиб ободочной кишки	6	28,3	60,0±21,9	30,0±23,9	30,0±23,9	
	печеночный изгиб ободочной кишки	3	Живы на сроке 19,9, 21,7 и 33,2 мес.				
	нисходящий отдел ободочной кишки	9	Не дост.	74,1±16,1	74,1±16,1	-	
Сторона поражения	Правая	38	Не дост.	91,1±4,9	82,4±7,3	82,4±7,3	0,32
	Левая	173	Не дост.	92,5±2,1	82,1±3,5	76,7±4,7	

Самые высокие показатели 5-летней выживаемости отмечены при T1 стадии KPP (таблица 32). Все пациенты, кроме 1-го, умерли с IVb-IVc стадиями заболевания.

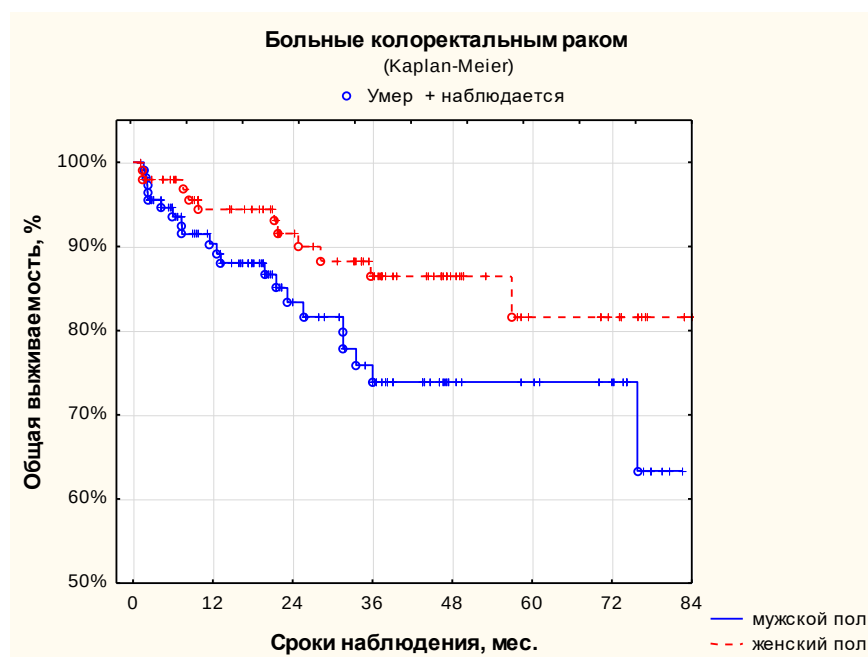


Рисунок 33. Пол больных колоректальным раком и общая выживаемость.

Пол пациентов не влиял на показатели 5-летней выживаемости больных колоректальным раком ($p=0,06$) (рисунок 33).

Возраст при КРР не влиял на общую выживаемость пациентов ($p=0,37$) (таблица 32).

С критерием T отмечена статистически значимая связь выживаемости больных КРР ($p=0,017$). Так в группе из 14 пациентов с индексом T1 5-летняя выживаемость была очень высокой и составила 100%, тогда как при индексе T4 всего $53,2 \pm 12,4\%$ (рисунок 34).

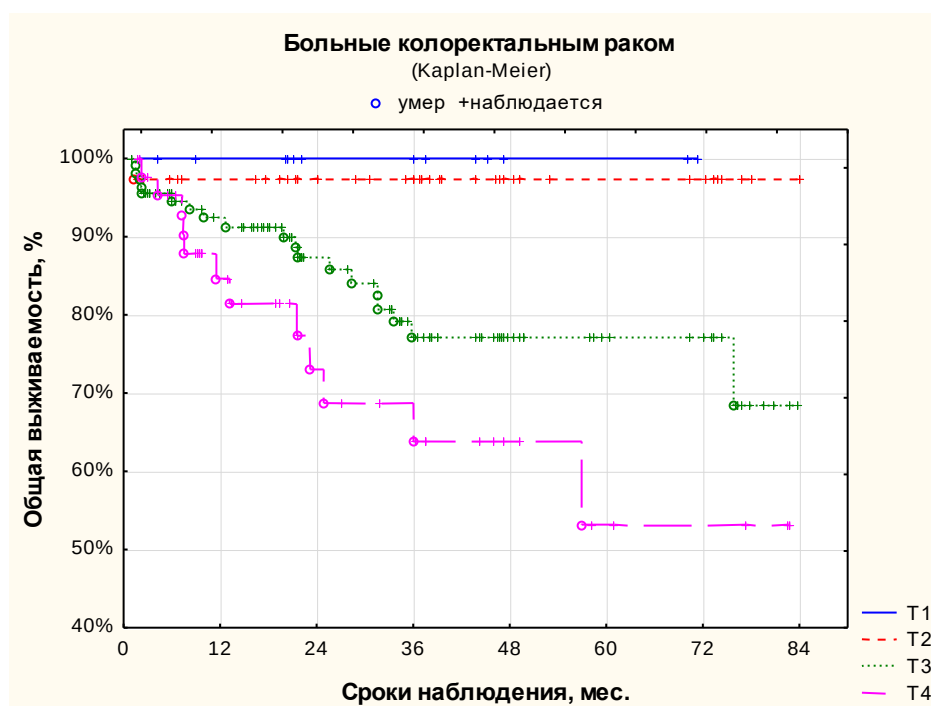


Рисунок 34. Выживаемость больных колоректальным раком и критерий T.

Провели анализ связи выживаемости больных КРР с критерием N системы TNM ($p=0,0001$). Так, в группе из 133 пациентов с N0 5-летняя выживаемость была очень высокой и составила $88,5 \pm 4,1\%$, тогда как при критерии N2 всего $46,3 \pm 10,8\%$ с медианой срока жизни составила 30,9 месяцев (рисунок 35).

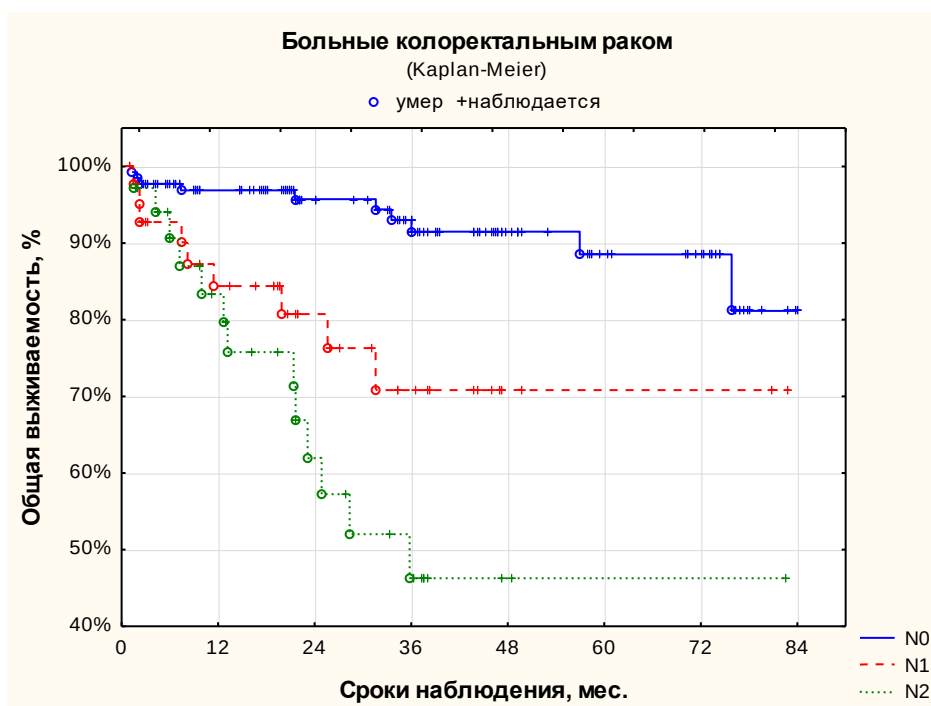


Рисунок 35. Критерий N и выживаемость больных колоректальным раком.

Результаты терапии при КРР достоверно связаны с наличием метастазов в отдаленных органах и тканях ($p < 0,0001$) (рисунок 36). Так, при M0 5-летняя общая выживаемость равнялась $84,6 \pm 3,9\%$, тогда как при M1 половина таких пациентов умирала в первые 2 года после проведенного лечения.

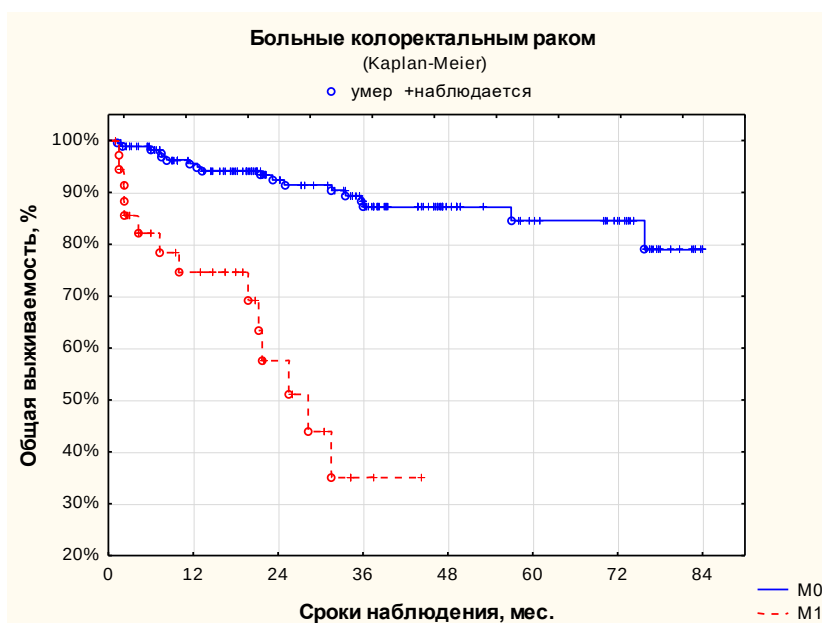


Рисунок 36. Выживаемость больных колоректальным раком и критерий M.

Провели многофакторный анализ связи критериев TNM с общей выживаемостью больных колоректальным раком. Оказалось, что высокосignимым критерием, который связан с длительностью жизни больных KPP, является только критерий M ($p < 0,0001$). Также следует указать, что критерии T и N связаны с длительностью жизни больных KPP ($p = 0,023$ и $p = 0,014$ соответственно).

По данным проведенного исследования убедительно доказано, что клиническая стадия опухолевого процесса высокосignимо отражала общую выживаемость больных KPP ($p < 0,0001$) (рисунок 37).

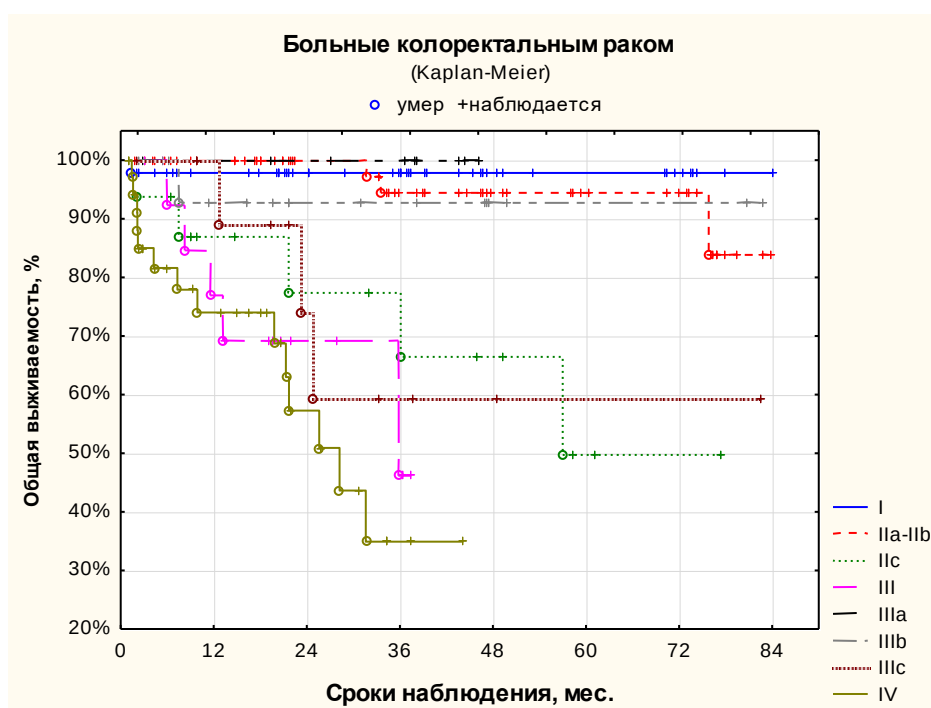


Рисунок 37. Клиническая стадия и выживаемость больных колоректальным раком.

Низкая степень дифференцировки аденокарциномы неблагоприятно влияла на показатели выживаемости при KPP (рисунок 38).

При исследовании связи степени дифференцировки опухоли с общей выживаемостью больных колоректальным раком заметно худшая 5-летняя выживаемость обнаружена в группе пациентов с неблагоприятной низкой степенью дифференцировки новообразования ($44,1 \pm 8,2\%$, $p = 0,007$) (рисунок 38).

Не исследовали связь выживаемости с гистологическим вариантом строения опухоли, поскольку в группе больных колоректальным раком преобладала аденокарцинома.

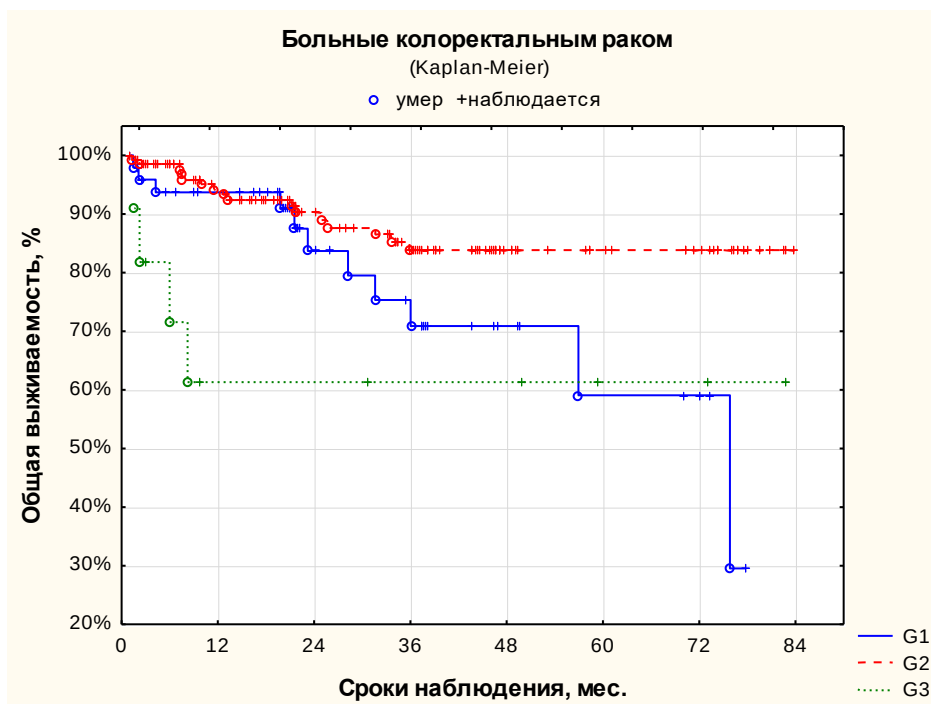


Рисунок 38. Связь степени дифференцировки опухоли с выживаемостью больных колоректальным раком.

Анализ полученных данных выявил связь показателей общей выживаемости с локализацией КРР в толстой кишке.

Самые низкие значения 5-летней выживаемости обнаружены среди пациентов с локализацией КРР в селезеночном изгибе ободочной кишки ($30,0 \pm 26,0\%$), а наиболее высокие при локализации опухоли в сигмовидной кишке ($89,1 \pm 8,7\%$) и в восходящем отделе ободочной кишки ($84,0 \pm 11,0\%$) ($p=0,01$) (рисунок 39).

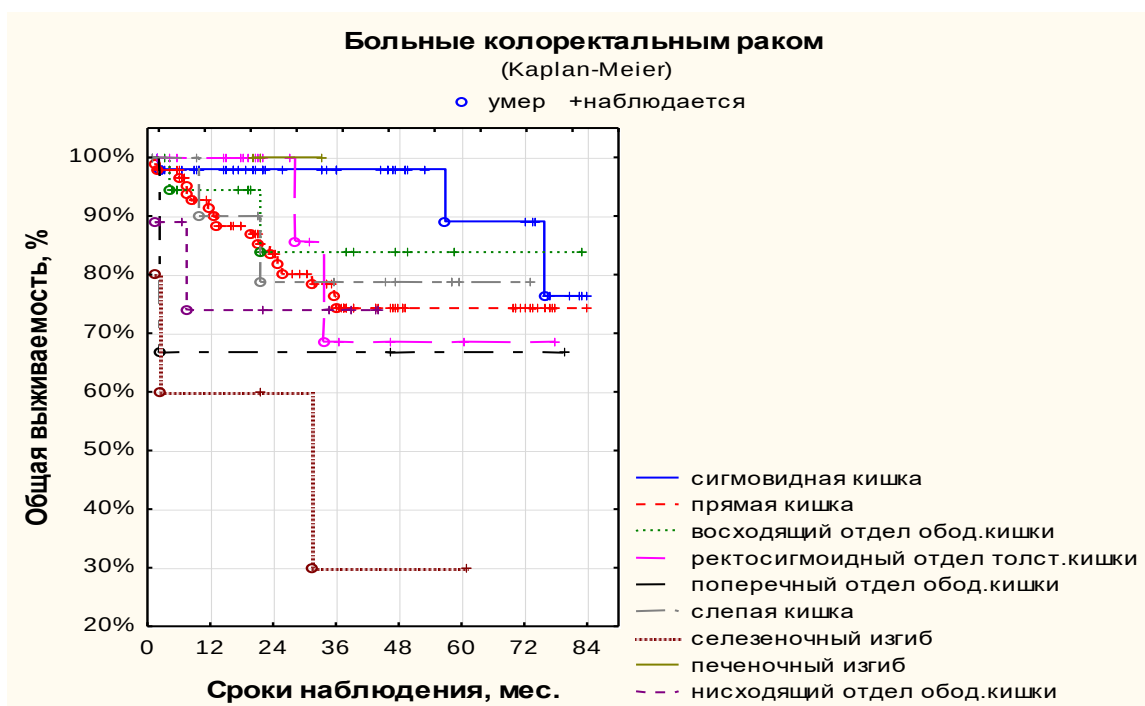


Рисунок 39. Локализации колоректального рака в толстой кишке и выживаемость больных.

3.8. Уровни сывороточных биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 и выживаемость больных колоректальным раком.

Так так, отдаленные метастазы КРР (критерий M) значимо влияют на выживаемость, анализ влияния исследуемых уровней биомаркеров на отдаленные результаты лечения пациентов рассчитывали только у пациентов с критерием M0 (n=174), разделив их на 4 группы, ориентируясь на квартили и медиану биомаркеров крови, данные представлены в таблице 33.

Таблица 33. Связь уровней sPD-1 в сыворотке крови с выживаемостью больных колоректальным раком

sPD-1, пг/мл	Число наблюдени й	Общая выживаемость, %, $\pm$ SE				
		1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<30,0	49	88,5 $\pm$ 4,9	88,5 $\pm$ 4,9	85,1 $\pm$ 5,7	81,5 $\pm$ 6,5	75,2 $\pm$ 8,5
30-39	44	97,7 $\pm$ 2,2	97,7 $\pm$ 2,2	97,7 $\pm$ 2,2	97,7 $\pm$ 2,2	97,7 $\pm$ 2,2
40-51,9	43	97,2 $\pm$ 2,7	94,4 $\pm$ 3,8	85,6 $\pm$ 6,9	85,6 $\pm$ 6,9	85,6 $\pm$ 6,9
$\geq$ 52,0	38	100	88,5 $\pm$ 6,3	83,6 $\pm$ 7,6	83,6 $\pm$ 7,6	83,6 $\pm$ 7,6
p	0,26					

Низкая 5-летняя выживаемость отмечена в группе больных КРР с низкими концентрациями sPD-1 менее 30,0 пг/мл и составила $75,2 \pm 8,5\%$ (таблица 34). Cox's F-test выявил значимые различия в общей выживаемости между группами пациентов при пороге sPD-1 25 пг/мл ($p=0,048$) (таблица 34). При этом, различия были наиболее проявлены на 5-летнем сроке наблюдения.

Таблица 34. Пороговые уровни sPD-1 в сыворотке крови и их связь с выживаемостью больных колоректальным раком

sPD-1, пг/мл	Число наблюдений	Общая выживаемость, %, $\pm$ SE				
		1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<25	30	$89,2 \pm 5,9$	$89,2 \pm 5,9$	$84,0 \pm 7,5$	$78,4 \pm 8,9$	$68,6 \pm 12,0$
≥ 25	144	$96,9 \pm 1,5$	$92,9 \pm 2,5$	$89,1 \pm 3,2$	$89,1 \pm 3,2$	$89,1 \pm 3,2$
p	0,048 Cox's F-test					

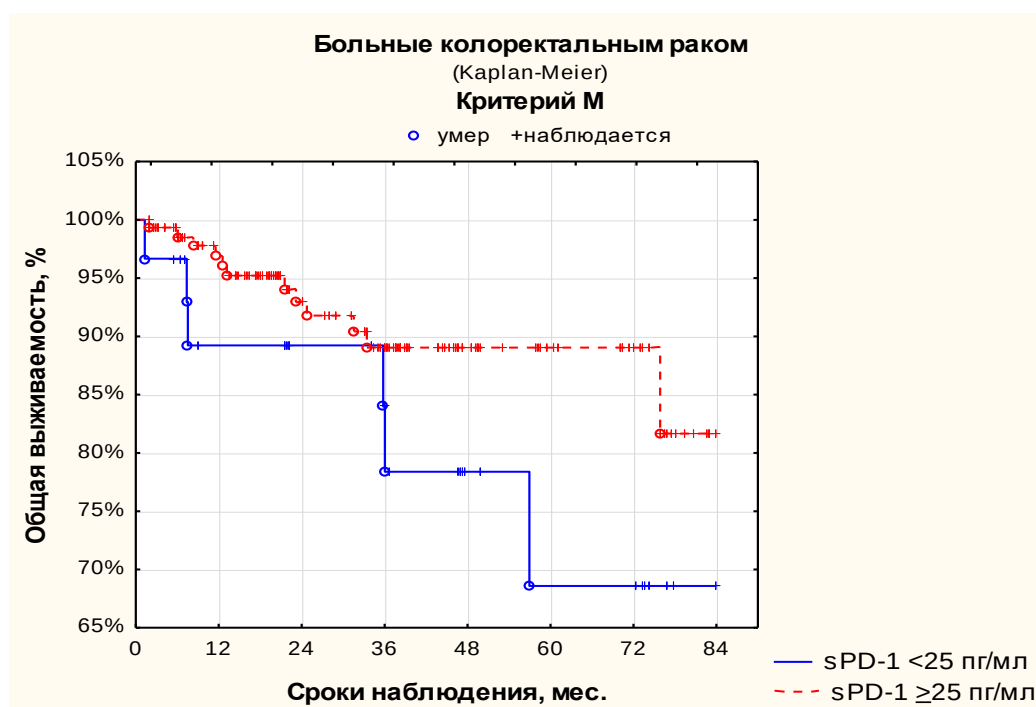


Рисунок 40. Пороговый уровень sPD-1 и выживаемость больных колоректальным раком.

Анализ выживаемости больных КРР с учетом пороговых уровней сывороточного sPD-1 показал, что общая 5-летняя выживаемость у больных

колоректальным раком с низкими уровнями sPD-1 (<25 пг/мл) составила $68,6 \pm 12,0\%$ и была на 20% ниже, чем у пациентов с более высокими значениями маркера ($89,1 \pm 3,2\%$), данные представлены на рисунке 40.

На основании полученных данных можно сделать заключение, что уровень sPD-1 у больных колоректальным раком позволяет уточнить прогноз заболевания.

Для анализа связи sPD-L1 с выживаемостью 174 больных KPP без отдаленных метастазов больных колоректальным раком разделили по сывороточному порогу лиганда 10 пг/мл и Log-Rank Test показал значимые различия между 2 группами в выживаемости ($p=0,0007$) (таблица 35). Так, общая 5-летняя выживаемость у больных KPP с концентрациями sPD-L1 ≥ 10 пг/мл составила всего $57,5 \pm 14,3\%$, а пациентов с концентрациями биомаркера < 10 пг/мл 5-летняя выживаемость была на 36,1% выше и составил $93,6 \pm 2,6\%$ (рисунок 41). Следовательно, концентрация лиганда при KPP может служить дополнительным прогностическим фактором, но только у пациентов без отдаленных метастазов.

Таблица 35. Выживаемость больных колоректальным раком
при пороге sPD-L1 10 пг/мл

sPD-L1, пг/мл	Число наблюдений	Общая выживаемость, %, $\pm$ SE				
		1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<10	127	$96,6 \pm 1,7$	$95,2 \pm 2,1$	$93,6 \pm 2,6$	$93,6 \pm 2,6$	$93,6 \pm 2,6$
≥ 10	47	$93,2 \pm 3,8$	$82,4 \pm 6,1$	$71,9 \pm 7,8$	$71,9 \pm 7,8$	$57,5 \pm 14,3$
p	0,0007 Log-Rank Test					

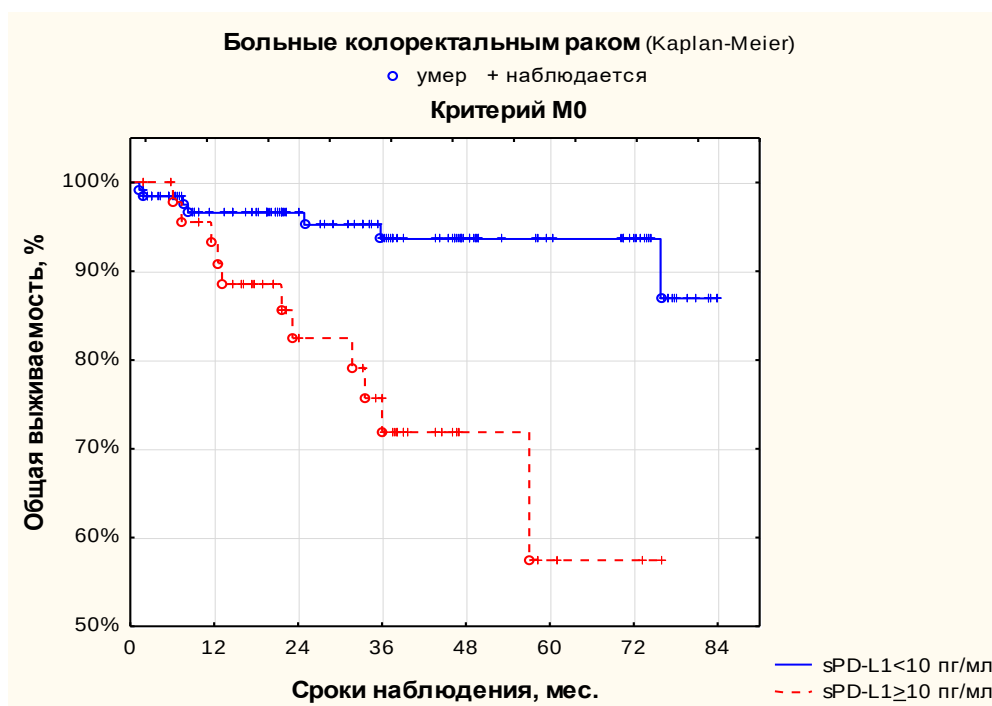


Рисунок 41. Связь пороговых уровней sPD-L1 (менее и более 10 пг/мл) с выживаемостью больных колоректальным раком без отдаленных метастазов.

Провели анализ общей выживаемости у больных КРР при различных сочетаниях маркеров (таблица 36). Наилучшая 5-летняя общая выживаемость отмечена в группе из 101 больного с одновременно прогностически высокими концентрациями sPD-1 ≥ 25 пг/мл и низкими концентрациями sPD-L1 < 10 пг/мл, составившая $96,0 \pm 2,3\%$. В то же время в группе из 4 больных с одновременно неблагоприятными концентрациями белков 3 пациентов умерли в сроки до 3-х лет.

Таблица 36. Пороговые уровни биомаркеров и общая выживаемость при колоректальном раке

sPD-1 пг/мл	sPD-L1 пг/мл	Число наблюдений	Общая выживаемость, %, $\pm$ SE		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
<25	<10	26	$91,8 \pm 5,6$	$85,2 \pm 8,2$	$85,2 \pm 8,2$
<25	≥ 10	4	$75,0 \pm 21,7$	$50,0 \pm 25,0$	$25,0 \pm 21,7$
≥ 25	<10	101	$97,8 \pm 1,5$	$96,1 \pm 2,3$	$96,1 \pm 2,3$
≥ 25	≥ 10	43	$95,0 \pm 3,4$	$75,2 \pm 7,0$	$75,2 \pm 7,0$
p		0,003			

Таким образом, определение обоих показателей иммунитета sPD-1, sPD-L1 у больных колоректальным раком без метастазов в отдаленных органах и тканях позволяет дополнительно выделить 2 прогностические группы (таблица 40).

Основная 1-я группа, которая включала 101 пациента с колоректальным раком и убедительно высоким 5-летним прогнозом длительности жизни имела одновременно благоприятные концентрации обоих показателей (таблица 37).

2-я группа, в которой было 73 пациента с наличием неблагоприятного значения хотя бы одного из исследованных иммунологических показателей отличалась худшим 5-летним прогнозом (выживаемость была на 26,5% ниже) (рисунок 42).

Таблица 37. Связь разных пороговых уровней биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 с выживаемостью больных колоректальным раком

sPD-1 пг/мл	sPD-L1 пг/мл	Число наблюдений	Общая выживаемость, %±SE		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
≥25	<10	101	97,8±1,5	96,1±2,3	96,1±2,3
Прочие сочетания		73	92,7±3,1	79,0±5,5	69,6±8,5
p		0,0018			



Рисунок 42. Общая выживаемость больных колоректальным раком без метастазов в отдаленных органах и тканях в группах с одновременно благоприятными концентрациями показателей иммунитета и при прочих их сочетаниях.

Дополнительно в группе больных колоректальным раком без наличия метастазов в отдаленных органах и тканях выполнили многофакторный анализ связи общей выживаемости с такими факторами как прогноз по показателям иммунитета (sPD-1+sPD-L1), критерию Т и критерию N. Показатели иммунитета показали несколько бóльшее влияние на длительность жизни пациентов без метастазов в отдаленных органах и тканях ($p=0,0021$), чем критерий Т ($p=0,018$) и чем критерий N ($p=0,039$) (таблица 38).

Таблица 38. Многофакторный анализ общей выживаемости
при колоректальном раке

Факторы	Beta	St.Error	t-value	Wald Statistic	p
Критерий Т	0,934	0,396	2,36	5,57	0,018
Критерий N	0,620	0,301	2,06	4,24	0,039
Прогноз sPD-1+sPD-L1	1,797	0,584	3,08	9,47	0,0021

В общей группе больных колоректальном раком многофакторный анализ (Proportional hazard (Cox) regression) связи общей выживаемости с такими факторами как прогноз по иммунологическим показателям и критериям системы TNM показал, что биомаркеры sPD-1, sPD-L1 можно считать независимыми факторами прогноза наряду с определяющим длительность жизни больных критерием М (таблица 39).

Таблица 39. Результаты многофакторного анализа общей
выживаемости при колоректальном раке

Факторы	Beta	St.Error	t-value	Wald Statistic	p
Критерий Т	0,670	0,314	2,14	4,56	0,033
Критерий N	0,654	0,246	2,65	7,04	0,008
Критерий М	1,687	0,398	4,24	18,0	<0,0001
Прогноз sPD-1+sPD-L1	0,903	0,363	2,49	6,19	0,013

Анализ результатов данной главы позволил сделать следующие короткие заключения:

- В контроле и при доброкачественных опухолях толстой кишки уровни sPD-1 (32,8 пг/мл) не отличались, но у первых были выше, чем при КРР (46,3 пг/мл и 38,4 пг/мл соответственно; $p=0,016$).
- Показатели sPD-1 при КРР не связаны с такими факторами как пол, возраст, критерии Т, N, М, клиническая стадия и локализация опухоли в толстой кишке.
- Концентрация sPD-1 значимо снижалась со степенью дифференцировки КРР (46,6 пг/мл – при G1, 34,7 пг/мл – при G3; $p=0,02$).
- Уровни sPD-L1 в контроле и при ДОК не отличались, но у первых достоверно ниже, чем при КРР (4,2 пг/мл и 6,4 пг/мл соответственно; $p=0,02$), не связаны с полом и возрастом больных КРР.
- Уровни лиганда достоверно связаны только с критерием Т (при Т4 8,7 пг/мл, при Т1 4,5 пг/мл; $p=0,007$) и повышены при I (5,6 пг/мл) и IIb (10,1 пг/мл) стадиях ($p=0,013$), однако при увеличении стадии заболевания медиана лиганда снижалась.
- sPD-L1 достоверное выше при умеренной степени дифференцировки опухоли по сравнению с высокой (7,5 и 5,7 пг/мл соответственно; $p=0,004$), однако при G3 медиана составила 5,8 пг/мл.
- При раке ректосигмоидного отдела толстой кишки уровни sPD-L1 ниже, чем при раке прямой кишки (4,7 и 7,1 пг/мл соответственно; $p=0,008$).
- Коэффициент sPD-1/sPD-L1 достоверно снижался по мере увеличения критерия Т (с 9,4 при Т1 до 4,7 при Т4; $p=0,0034$), в начальных стадиях КРР (с 8,3 при I стадии до пг/мл при IIb стадии; $p=0,03$) и слабо отражал критерии N и M.
- При КРР коэффициент sPD-1/sPD-L1 значимо выше при высокой степени дифференцировки опухоли G1 по сравнению с умеренной G2 (7,5 и 4,9 соответственно, $p=0,0001$) и при локализации новообразования

в прямой кишке, чем в ректосигмовидном отделе толстой кишки (4,9 и 7,2 соответственно, $p=0,0029$).

- Общая 5-летняя выживаемость больных колоректальным раком ($n=211$) составила $77,8 \pm 4,0\%$.
- При однофакторном анализе общую выживаемость больных колоректальным раком достоверно отражали такие клинические признаки как критерий M ($p<0,0001$), стадия ($p<0,0001$), критерий T ($p=0,017$), критерий N ($p=0,0001$), степень дифференцировки опухоли ($p=0,007$), локализация опухоли в кишке ($p=0,01$).
- При многофакторном анализе только критерий M следует считать независимым прогностическим фактором ($p<0,0001$) и достоверное различие уже выявляли на 3-летнем сроке наблюдения ($88,3 \pm 2,9\%$ при M0 и $35,1 \pm 12,2\%$ при M1; $p<0,0001$). В связи с этим, анализ связи показателей иммунитета sPD-1 и sPD-L1 проводили только в группе из 174 больных колоректальным раком без метастазов в отдаленных органах и тканях.
- Низкие значения sPD-1 <25 пг/мл в сыворотке крови 174 больных раком толстой кишки без отдаленных метастазов являются прогностически неблагоприятными, различия 5-летней выживаемости достигали 20% ($89,1 \pm 3,2\%$ при sPD-1 ≥ 25 против $68,6 \pm 12,0\%$ при sPD-1 <25 пг/мл; $p=0,048$).
- Отмечена значимо худшая 5-летняя общая выживаемость ($57,5 \pm 14,3\%$) при уровне sPD-L1 ≥ 10 пг/мл, чем при уровне маркера <10 пг/мл ($93,6 \pm 2,6\%$) ($p=0,0007$).
- Наиболее высокая 5-летняя выживаемость при KPP составила $96,1 \pm 2,3\%$ при сочетании в крови уровней sPD-1 ≥ 25 пг/мл и sPD-L1 <10 пг/мл ($n=101$).
- Иные сочетания уровней биомаркеров показали низкую общую 5-летнюю выживаемость ($69,6 \pm 8,5\%$; $n=73$) (различия составили 26,5%,

$p=0,0018$). В группе больных колоректальным раком с прогностически неблагоприятными концентрациями обоих показателей иммунитета 5-летняя выживаемость была очень низкой ($25,0 \pm 21,7\%$), однако такое сочетание выявлено только у 6-ти из 303 (2,0%) пациентов общей группы.

- Многофакторный анализ связи общей выживаемости 174 больных колоректальным раком без метастазов в отдаленных органах и тканях таких факторов как прогноз по показателям иммунитета (sPD-1, sPD-L1), критерию Т и критерию N показал, что показатели иммунитета оказали несколько бóльшее влияние на длительность жизни этих пациентов ($p=0,0021$), чем критерий Т ($p=0,018$) и критерий N ($p=0,039$), а многофакторный анализ подтвердил эти данные.

ГЛАВА 4.

sPD-1 И sPD-L1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ КОСТЕЙ

4.1. Показатели sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных новообразованиями костей и в контроле.

Биомаркеры sPD-1, sPD-L1 исследовали до терапии у 194 больных опухолями костей (злокачественные опухоли костей (ЗОК) – $n=157$, пограничные опухоли костей (ПОК) – $n=22$, доброкачественные опухоли костей (ДОК) – $n=15$) и у 67 доноров в контроле.

Концентрации биомаркеров оценивали в виде медиан, а в качестве разброса уровней биомаркеров применяли верхний и нижний квартили. Для сравнения показателей в обследованных группах пациентов и контроля использовали непараметрические методы.

На графиках 43 и 44 представлено распределение биомаркеров в обследованных группах.

Медианы сывороточных уровней sPD-1 у больных (54,7 пг/мл) и в контроле (49,2 пг/мл; $p=0,24$) были одинаковыми (рисунок 45), но концентрации sPD-L1 в контроле были достоверно ниже, чем у обследованных пациентов (9,2 и 22,9 соответственно; $p<0,0001$) (рисунок 46).

Следует отметить, что коэффициенты соотношения сывороточных биомаркеров sPD-1/sPD-L1 высокосignificantly различались между выше указанными группами, медианы коэффициентов составили соответственно контроль – 2,1 и опухоли костей – 4,6 ($p<0,0001$).

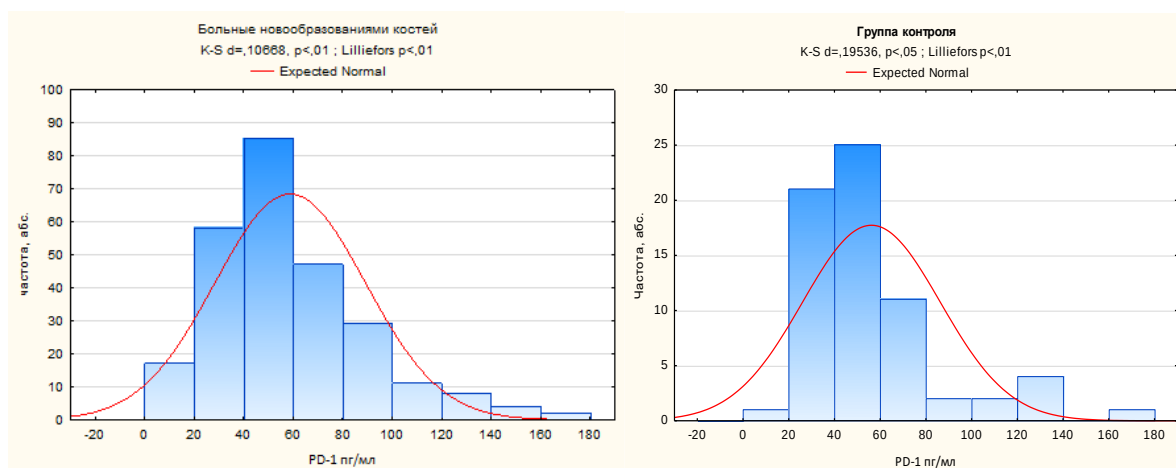


Рисунок 43. Распределение sPD-1 в сыворотке крови больных опухолями костей в общей группе (слева) и в контроле (справа).

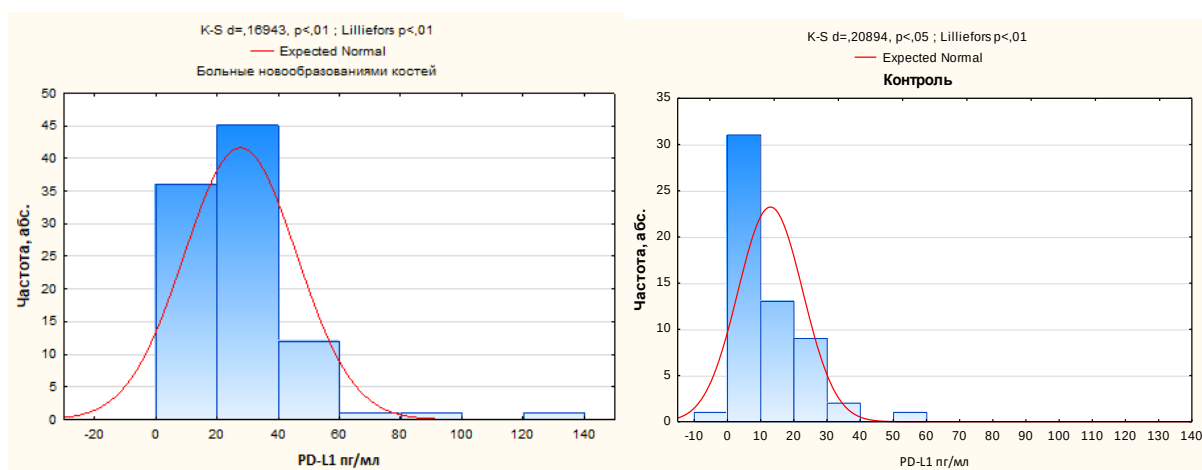


Рисунок 44. Частота выявления sPD-L1 в сыворотке крови больных опухолями костей в общей группе (слева) и в контроле (справа).

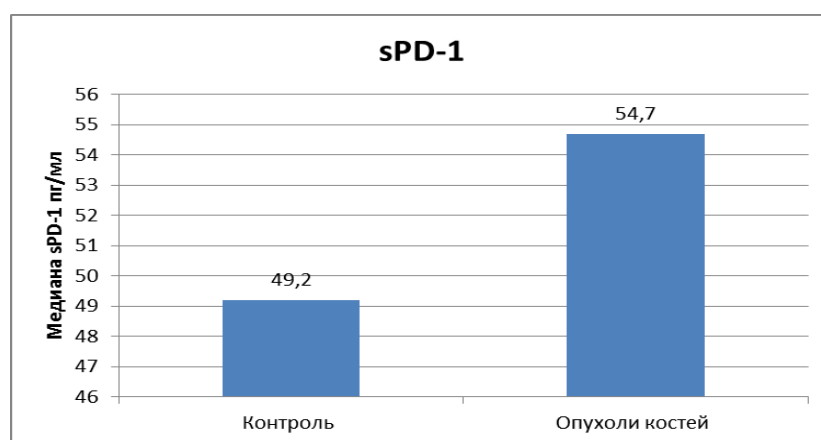


Рисунок 45. Концентрации sPD-1 в контроле и у больных опухолями костей.

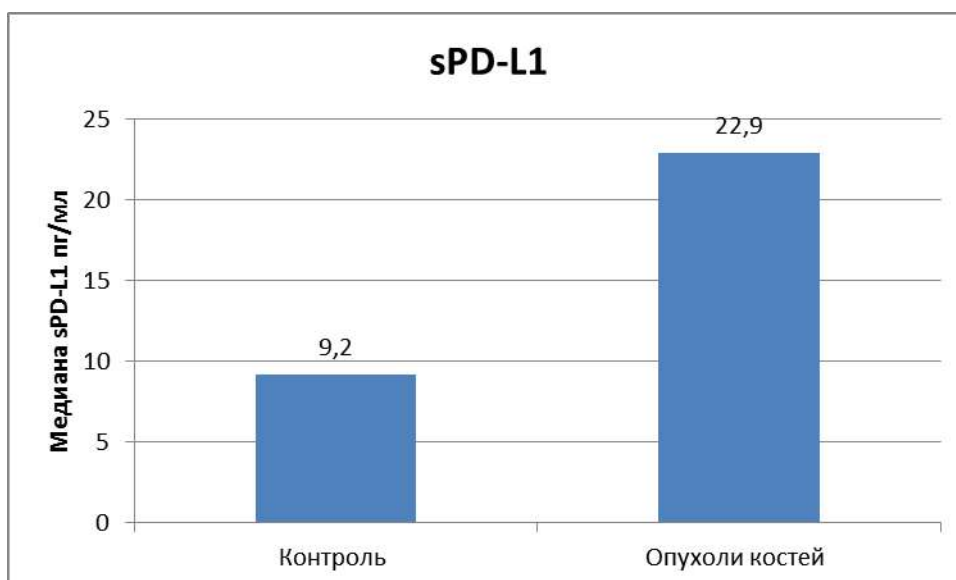


Рисунок 46. Концентрации sPD-L1 в контроле и у больных опухолями костей.

Провели сравнительный анализ биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 в контроле при ДОК, ПОК и ЗОК (рисунки 47, 48, 49).

Несмотря на то, что уровни sPD-1 при саркомах костей колебались в широких пределах (10,9-171 пг/мл), медиана концентрации sPD-1 при ЗОК составила 54,2 пг/мл, не отличалась от контроля (49,2 пг/мл), а при пограничных гигантоклеточных опухолях кости и ДОК (соответственно 48,2 и 67,8 пг/мл) (рисунок 47).

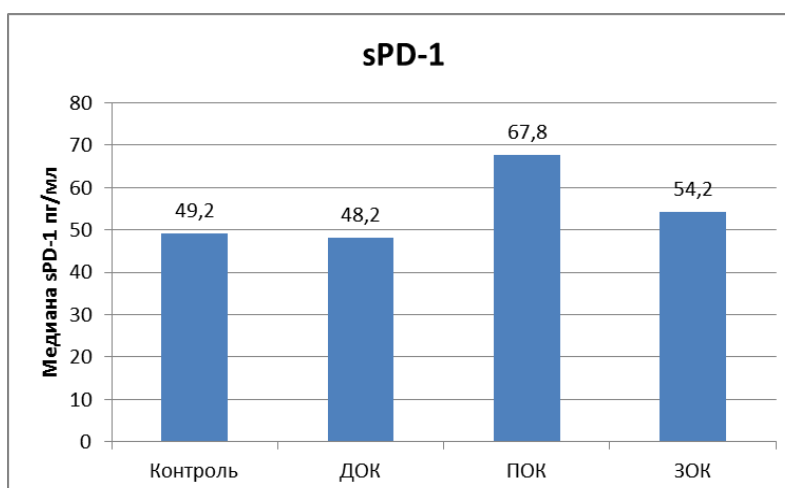


Рисунок 47. Сывороточные концентрации sPD-1 в контроле, при доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях костей (ДОК, ПОК и ЗОК).

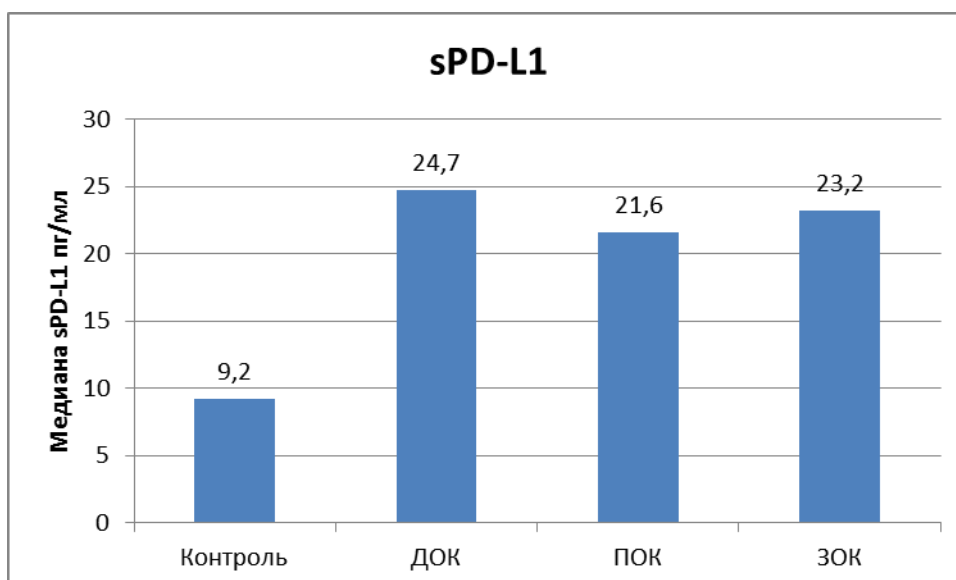


Рисунок 48. Сывороточные концентрации sPD-L1 в контроле, при доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях костей (ДОК, ПОК и ЗОК).

Сывороточные концентрации лиганда sPD-L1 в общей группе больных колебались в пределах от 16,7 до 32,0 пг/мл (медиана 23,2 пг/мл), статистически значимо ($p < 0,0001$) отличаясь от такового показателя в контроле (9,2 пг/мл). При этом, медианы концентрации sPD-L1 были одинаковыми у пациентов с доброкачественными (24,7 пг/мл) и пограничными (21,6 пг/мл) опухолями костей (рисунок 48).

Показатель sPD-1/sPD-L1 незначимо снижался при ЗОК (1,9), ПОК (2,8), ДОК (1,7) относительно контроля (4,6) ($p > 0,05$) (рисунок 49).

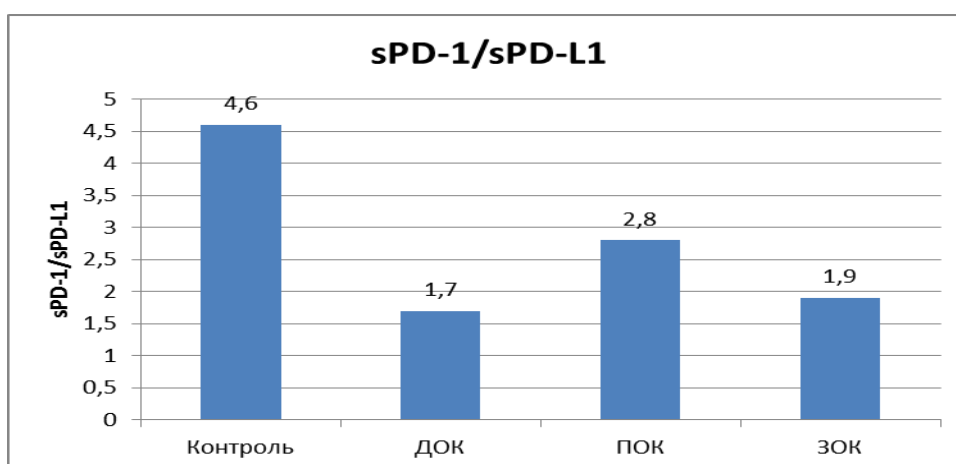


Рисунок 49. Показатель sPD-1/sPD-L1 в контроле, доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях костей (ДОК, ПОК и ЗОК).

Не обнаружили корреляционной связи между уровнями рецептора и лигана (в контроле – $r_s=0,02$; в общей группе больных НОК – $r_s=-0,14$).

4.2. Связь пола и возраста с уровнем биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 в обследованных группах.

В таблице 40 приведены данные этого раздела исследования.

Таблица 40. Медианы и квартили концентраций sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 в обследованных группах с учетом пола

Группа	Пол	N	Медиана; квартили		
			sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Контроль	Муж.	24	51,9; 43,0-72,5	10,0; 6,3-15,8	5,0; 3,4-7,5
	Жен.	43	48,71; 33,7-63,0	8,9; 7,0-20,9	4,2; 1,9-7,3
p (Mann-Whitney U test)			0,16	0,9	0,47
ДОК	Муж.	9	51,1; 44,8-84,1	19,8; 11,7-29,5	2,2; 1,0-10,3
	Жен.	6	35,7; 29,0-48,2	29,9; 24,7-38,7	1,1; 0,7-2,6
p (Mann-Whitney U test)			0,32	0,13	0,35
ПОК	Муж.	12	68,8; 52,2-76,1	23,6; 17,4-27,6	2,8; 2,3-3,7
	Жен.	10	64,6; 53,2-72,3	21,2; 11,7-26,7	2,9; 2,3-5,8
p (Mann-Whitney U test)			0,8	0,56	0,79
ЗОК	Муж.	90	57,7; 40,0-79,3	24,0; 15,0-36,3	2,2; 1,1-3,8
	Жен.	67	50,4; 25,0-78,9	22,0; 18,3-30,5	1,2; 0,7-2,8
p (Mann-Whitney U test)			0,067	0,98	0,023

Не выявили связи исследованных биомаркеров в крови больных и здоровых с полом обследованных (таблица 40).

Исключение составила группа ЗОК, у которой отмечены достоверные отличия между коэффициентом соотношения биомаркеров между мужчинами и женщинами (соответственно 2,2 и 1,2; $p=0,023$) (таблица 40). Следует отметить, что частота превышения sPD-1 над его лигандом была значимо выше в группе больных ЗОК мужчин (83,1%) по сравнению с

таковой у пациентов женского пола (62,2%) ($p=0,021$). У больных саркомами костей и в контроле обнаружена статистически значимая отрицательная корреляционная связь возраста и уровней рецептора (в контроле $r_s=-0,48$; при саркомах костей $r_s=-0,37$).

Концентрации sPD-L1 не были связаны с возрастом пациентов с саркомами костей ($r_s=0,2$). Выполнили анализ концентраций исследованных показателей иммунитета в сыворотке крови обследованных больных и контроля в возрасте моложе и старше 18 лет (группы детей и взрослых), данные представлены в таблице 47. С возрастом установлено статистически значимое снижение концентраций рецептора в сыворотке крови у детей (< 18 лет) по сравнению с взрослыми (≥ 18 лет) в контроле ($p=0,0001$) и у больных ЗОК ($p=0,00015$) (таблица 41). Более наглядно эти данные подтверждают результаты, представленные на рисунке 50.

Таблица 41. Медианы и квартили концентрации sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 в обследованных группах с учетом возраста

Группа	Возраст	N	Медиана; квартили		
			sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Контроль	<18	10	96,4; 38,3-162,7	26,8; 18,4-35,4	1,1; 0,9-4,3
	≥ 18	57	48,7; 35,5-53,8	9,2; 6,9-16,1	4,6; 2,4-7,5
p (Mann-Whitney U test)			0,0001	-	-
ДОК	<18	3	89,0; 19,4-121	24,8; 11,7-37,9	5,4; 0,5-10,3
	≥ 18	12	46,5; 30,1-53,0	24,7; 16,7-33,1	1,7; 1,0-3,1
p (Mann-Whitney U test)			-	-	-
ПОК	<18	1	87,7	16,7	5,2
	≥ 18	21	67,0; 52,4-72,3		2,7; 2,1-4,4
p (Mann-Whitney U test)			-	-	-
ЗОК	<18	30	82,5; 48,2-110	26,8; 18,4-35,4	1,1; 0,9-4,3
	≥ 18	127	50,1; 35,5-67,7	22,9; 17,6-32,4	2,0; 1,1-3,2
p (Mann-Whitney U test)			0,0001	0,7	0,49

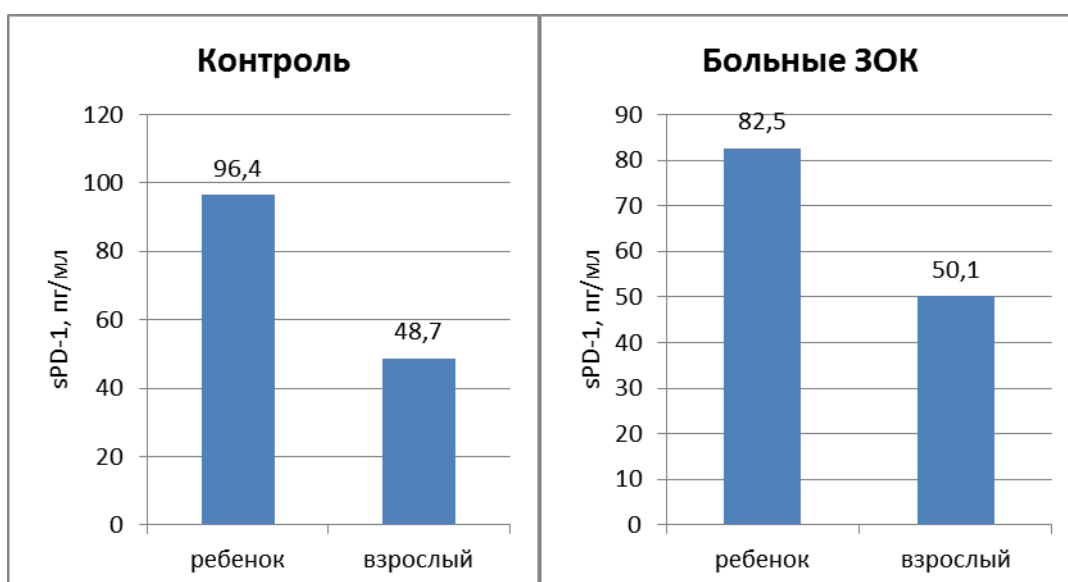


Рисунок 50. Особенности сывороточных концентраций рецептора sPD-1 в контроле и у больных саркомами костей в возрасте моложе и старше 18 лет.

Дисперсионный анализ концентраций рецептора sPD-1 в контроле и больных ЗОК также показал его снижение с увеличением возраста по декадам жизни (таблица 42): в контрольной группе до 50 лет, у больных ЗОК до 60 лет.

В контроле и при ЗОК показатели лиганда и коэффициента sPD-1/sPD-L1 не связаны с возрастом взрослых.

Таблица 42. Медианы и квартили биомаркеров в контроле и при злокачественных опухолях костей с учетом декады возраста

Группа	Возраст, лет	N	Медиана; квартили		
			sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Контроль	<18	10	96,4; 38,3-162,7	26,8; 18,4-35,4	3,6; 0,9-4,3
	18-29	26	53,0; 38,0-62,1	9,0; 6,7-11,6	5,3; 3,9-8,0
	30-39	11	43,0; 37,7-50,1	8,4; 6,7-15,6	4,6; 3,0-6,3
	40-49	1	25,8*	3,5*	7,4*
	50-59	9	49,0; 36,8-53,8	10,2; 7,1-23,7	4,2; 1,9-8,3
	≥60	10	36,3; 30,7-46,7	21,2; 9,2-25,3	2,0; 1,3-5,5
p (Mann-Whitney U test)			0,06	0,09	0,1

Больные ЗОК	<18	30	82,5; 48,2-110	26,8; 18,4-35,4	1,1; 0,9-4,3
	18-29	43	60,2; 46,4-83,3	26,2; 21,3-30,1	2,0; 1,3-3,3
	30-39	22	52,0; 38,8-62,4	17,6; 13,3-36,0	2,9; 1,7-3,9
	40-49	19	41,5; 21,7-64,8	17,6; 13,6-23,6	2,1; 1,0-2,9
	50-59	19	37,0; 20,3-54,6	20,4; 18,9-35,2	1,2; 0,6-1,5
	≥60	24	47,7; 37,7-69,8	25,5; 18,7-35,2	2,0; 1,2-2,8
p (Mann-Whitney U test)			0,01	0,3	0,09

Примечание: * - абсолютное значение.

В контроле и у больных ЗОК наибольшие концентрации sPD-1 выявлены до 30 лет (74,0 и 60,2 пг/мл соответственно), а наименьшие – старше 59-60 лет (36,3 и 37,0 пг/мл соответственно) (рисунок 51).

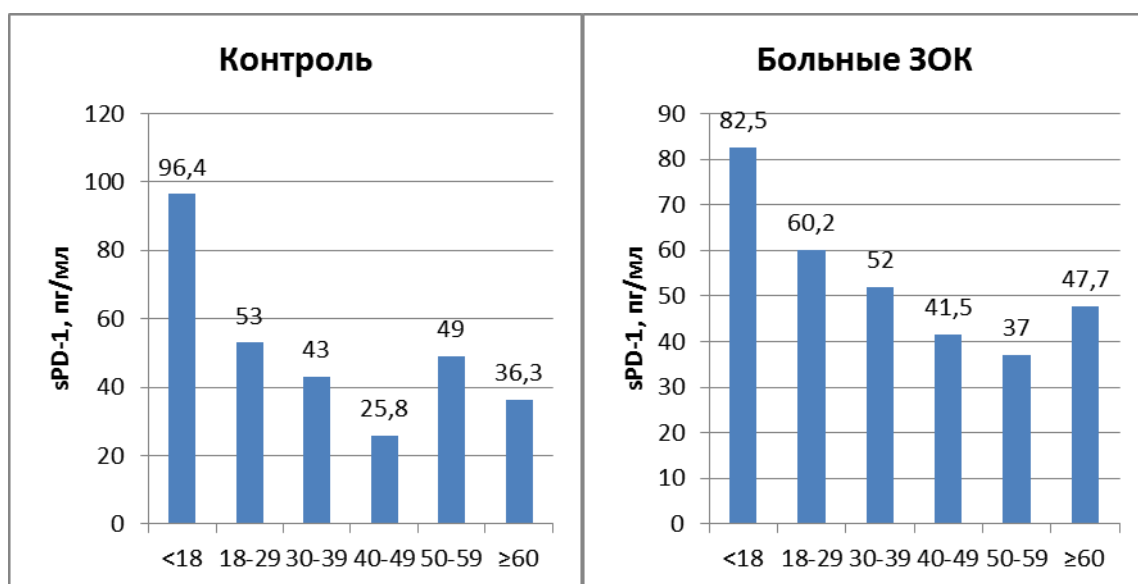


Рисунок 51. Сывороточные концентрации рецептора в контроле и у больных злокачественными опухолями костей с учетом их возраста.

4.3. Сывороточные уровни sPD-1 и sPD-L1 и критерии системы TNM.

На рисунке 52 представлены результаты уровней биомаркеров при ЗОК и критерия Т.

И хотя при ЗОК критерий Т не связан с уровнями биомаркеров, наименьшая концентрация для рецептора отмечена при индексе Т3 (40,2

пг/мл) (рисунок 52), а наибольшая для лиганда при индексе Т3 (25,6 пг/мл) (рисунок 53).

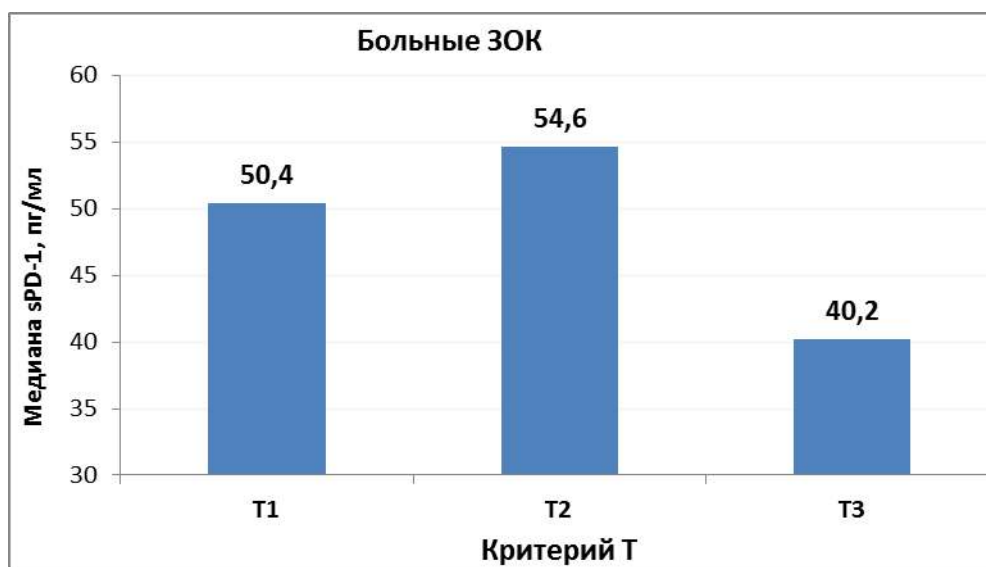


Рисунок 52. Критерий Т и уровни sPD-1 в сыворотке крови общей группы больных злокачественными опухолями костей.

Не выявили связи медиан коэффициента соотношения концентраций sPD-1/sPD-L1 по мере увеличения критерия Т ($p=0,43$) (рисунок 53).

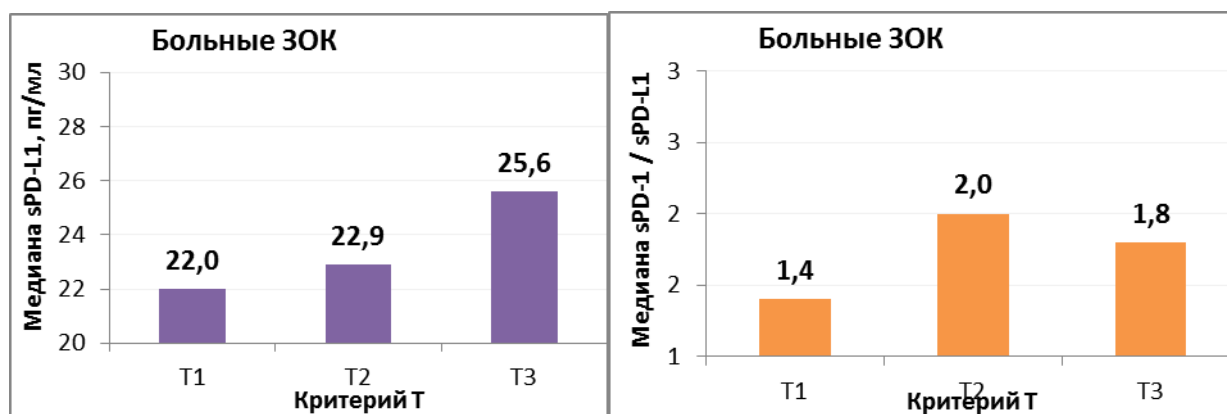


Рисунок 53. Критерий Т и его связь с уровнями sPD-L1 и sPD-1/sPD-L1 в сыворотке крови.

Таким образом, критерий Т не связан с уровнями исследованных показателей иммунитета в сыворотке крови больных первичными саркомами костей.

С максимальным размером сарком костей были связаны обратной корреляционной зависимостью концентрации sPD-1 ($r_s=-0,48$; $p<0,05$) (рисунок 54), в отличие от лиганда ($r_s=0,3$; $p>0,05$).

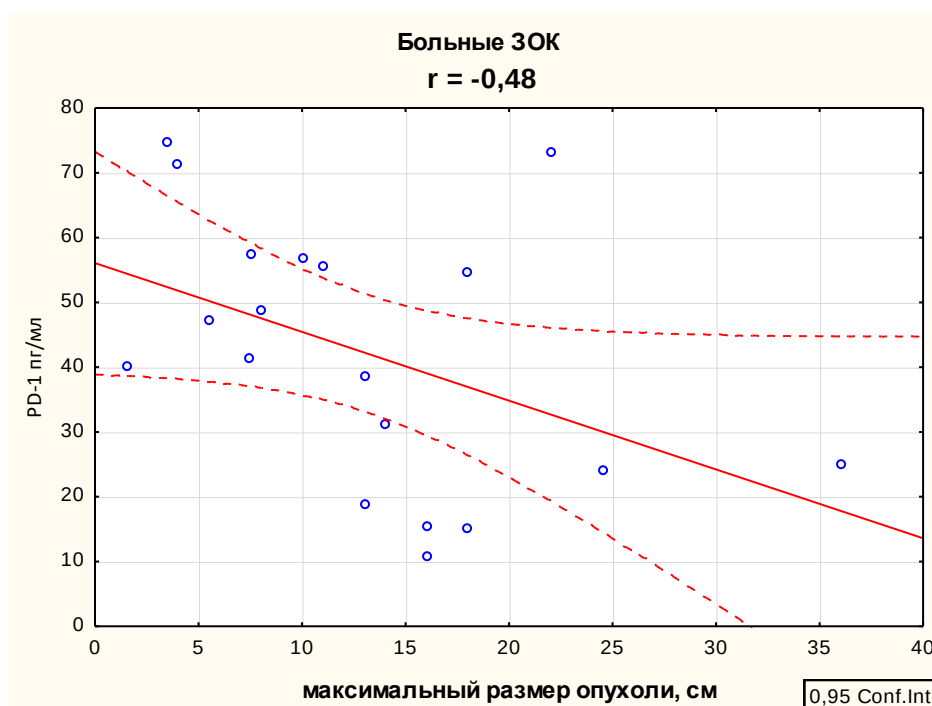


Рисунок 54. Корреляционная связь между наибольшим размером опухоли и уровнем sPD-1 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей.

Не представлялось возможным проведение анализа связи изученных биомаркеров, а также их коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1 у больных ЗОК с учетом критерия N, из-за малочисленности наблюдений больных с метастазами (таблица 43).

Таблица 43. Критерий N и показатели биомаркеров у больных злокачественными опухолями костей

Критерий N	Медиана; квантили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
N0	154	53,7; 36,0-78,9	21,2; 17,6-32,0	5,6; 3,8-10,6
N1	3	98,7; 56,8-98,7	18,7 и 41,1*	2,1 и 5,3*

Примечание: * - абсолютные значения.

При ЗОК провели анализ возможной ассоциации уровней sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 с критерием M, но никакой связи не обнаружили (таблица 44).

Таблица 44. Критерий М и показатели биомаркеров у больных злокачественными опухолями костей

Критерий М	Медиана; квантили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
M0	143	53,9; 36,3-78,9	23,2; 17,6-33,2	1,9; 1,0-3,1
M1	14	55,5; 35,4-91,8	24,7; 18,7-30,1	1,7; 1,0-3,8
P (Mann Whitney test)		0,8	0,9	0,9

Проанализировали связь концентраций биомаркеров с учетом клинической стадии опухолевого процесса у больных ЗОК (рисунки 58-60).

Уровни исследованных биомаркеров не связаны с клинической стадией ЗОК ($p > 0,05$) (рисунки 55, 56).

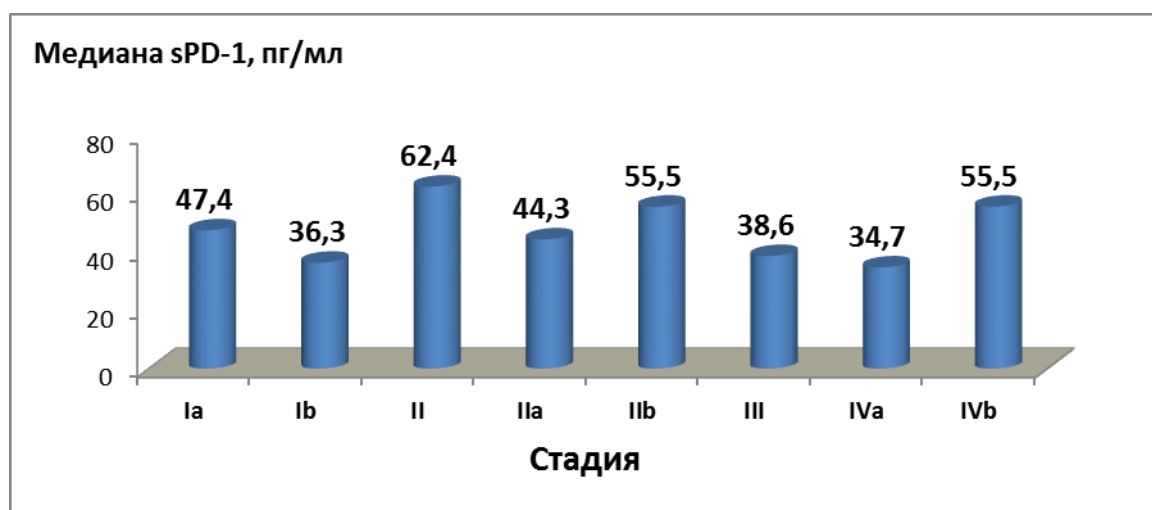


Рисунок 55. Стадия заболевания и уровни sPD-1 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей.



Рисунок 56. Стадия заболевания и уровни sPD-L1 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей.

При саркомах костей с клинической стадией болезни не связан коэффициент sPD-1/sPD-L1 (рисунок 57).

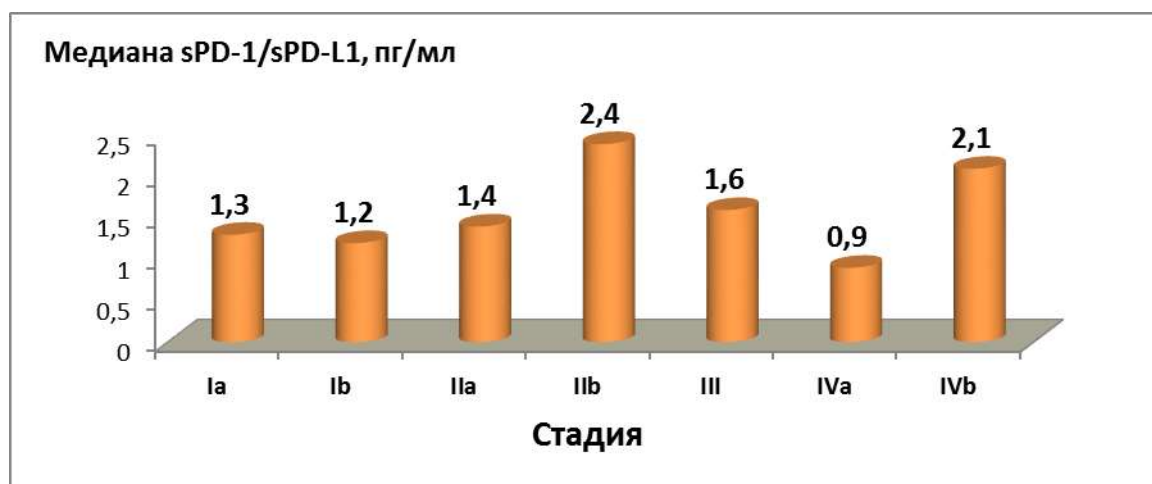


Рисунок 57. Коэффициент sPD-1/sPD-L1 и стадии злокачественных опухолей костей.

4.4. Биомаркеры и морфология сарком костей.

В таблице 45 приведены данные о морфологических вариантах сарком костей, которые были нами ранее опубликованы в журнале «Технологии живых систем». 2026. Том 22, № 2. С. 17-28 [44].

Таблица 45. Медианы и квартили концентраций sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 в сыворотке крови больных различными гистологическими типами первичных сарком костей

Морфологический тип опухоли	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
¹ Остеосаркома	68	64,2; 46,8-87,1	22,0; 15,0-27,0	2,9; 1,3-5,3
² Хордома	14	50,9; 39,2-55,8	18,7; 12,7-24,5	2,9; 2,0-4,6
³ Саркома Юинга	19	70,3; 52,1-96,6	26,6; 17,6-38,7	3,1; 1,1-3,3
⁴ Хондросаркома	56	36,3; 25,0-55,0	26,2; 19,4-38,7	1,2; 0,8-2,1
P (Kruskal-Wallis test)		¹ vs ⁴ <0,0001; ³ vs ⁴ =0,0007; ² vs ³ =0,095; ¹ vs ² =0,1	0,6	¹ vs ⁴ =0,0019; ² vs ⁴ =0,1; ³ vs ⁴ =0,18

Обнаружена достоверная связь уровней рецептора с морфологическим строением саркомы кости ($p < 0,0001$). При хрящеобразующей опухоли (хондросаркома) уровни sPD-1 были наиболее низкими (36,3 пг/мл), а при саркоме Юинга (мезенхимальная опухоль) самыми высокими (70,3 пг/мл). Возможно, эти отличия связаны с возрастом пациентов, что подтвердил многофакторный анализ. Возраст больных ЗОК связан с уровнем рецептора ($p = 0,015$), хотя и гистологический тип опухоли тоже привязан к показателям sPD-1 ($p = 0,049$) в крови.

Показано, что морфологический тип ЗОК не определяет содержание sPD-L1 в сыворотке крови, однако показатель sPD-1/sPD-L1 значимо связан с морфологией саркомы кости ($p = 0,0013$).

4.5. Сывороточные уровни sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 и их связь с морфологическими типами ЗОК (остеосаркома, хондросаркома, хордома).

Данные этого раздела исследования представлены в таблице 46. Поскольку некоторые опухоли были представлены небольшим числом наблюдений, поэтому сравнительный анализ провели только в больших группах.

Наибольший интерес представляли 2 группы пациентов с типичными вариантами саркомы – это костеобразующая остеосаркома ($n = 54$) и хрящеобразующая хондросаркома ($n = 52$). При сравнении типичных вариантов костеобразующей остеосаркомы и хрящеобразующей хондросаркомы выявлено достоверно высокие показатели рецептора в первой группе (67,4 пг/мл), по сравнению со второй (36,0 пг/мл) ($p < 0,05$) (таблица 46).

Следует также отметить самую высокую медиану концентрации sPD-1 у 5 пациентов с остеобластической остеосаркомой (120 пг/мл), а самую низкую – при хондробластической остеосаркоме ($n = 5$) (35,6 пг/мл).

Таблица 46. Медианы и квартили концентраций sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 у больных различными типами ОС, хордомы, саркомы Юинга, ХС

Гистологический вариант	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Остеосаркома типичная	54	67,4; 52,3-84,9	20,3; 14,4-25,9	2,9; 1,9-5,4
ОС остеобластная	5	120; 44,2-130	-	
ОС хондробластная	5	35,6; 34,7-46,3	30,1; 30,0-32,0	4,2; 3,0-4,3
ОС паростальная	3	61,4; 48,2-71,3	46,3*	4,3; 4,2-4,7
ОС периостальная	1	58,3*	18,7*	1,4*
Хордома	13	51,9; 47,5-55,8	18,7; 12,7-24,5	2,9; 2,0-4,6
Хордома Дедифференцированная	1	39,2*	-	-
Саркома Юинга	19	70,3; 52,1-96,6	26,6; 17,6-38,7	3,1; 1,1-3,3
Хондросаркома типичная	52	36,0; 24,9-52,0	26,2; 19,4-37,1	1,2; 0,8-2,0
ХС вторичная	2	16,3 и 26,1*	47,1 и 53,6*	0,3 и 0,5*
ХС периостальная	1	39,9*	28,5*	1,4*
ХС Дедифференцированная	1	39,2*	41,1*	2,1*

Примечание: * - абсолютное значение.

4.6. Степень дифференцировки саркомы кости и сывороточные показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1.

На рисунках 58-60 представлены данные этого раздела исследования.

Оказалось, что концентрации sPD-1 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей были значимо меньше при G2 (медиана 38,8 пг/мл) (рисунок 58).

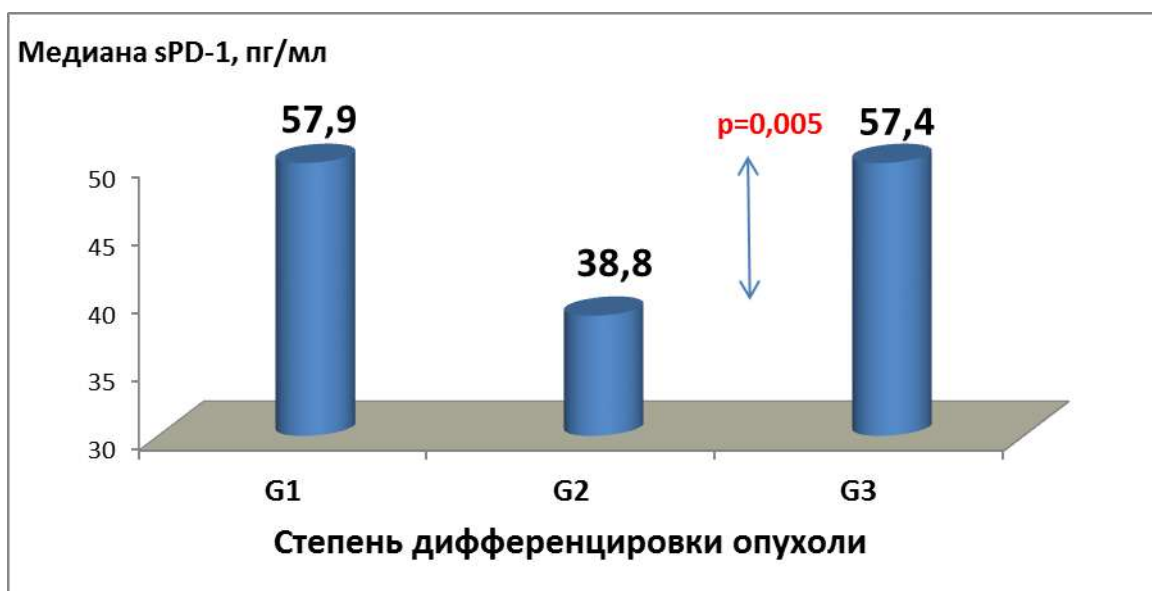


Рисунок 58. Степень дифференцировки злокачественных опухолей костей и показатели sPD-1 в сыворотке крови пациентов.

Следует также отметить достоверное снижение концентрации лиганда по мере снижения степени дифференцировки сарком костей ($p=0,019$) (рисунок 59).

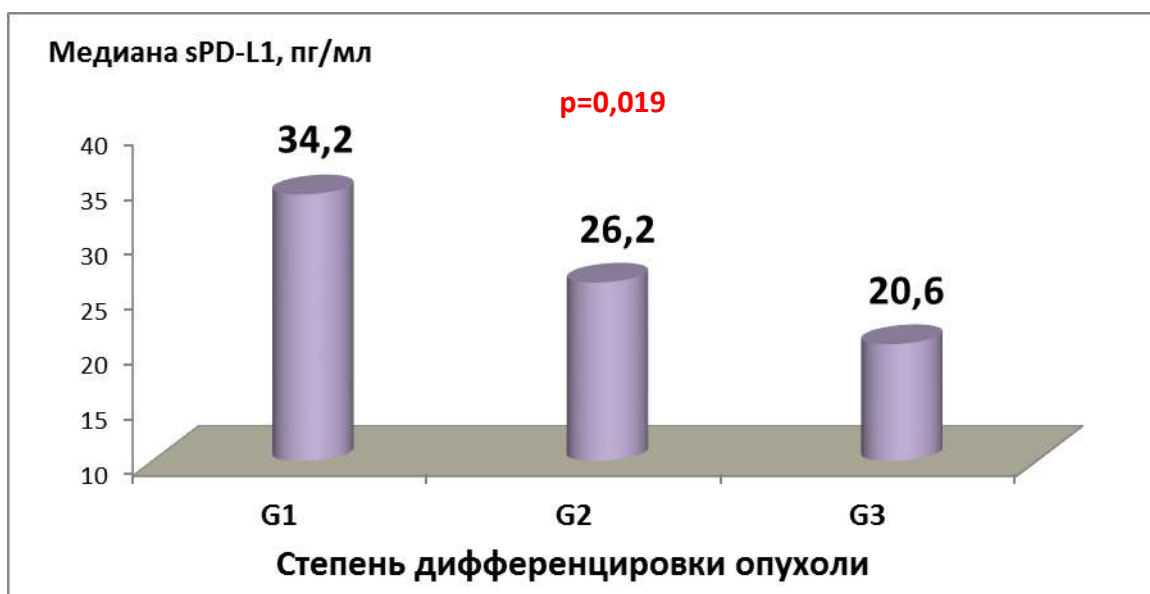


Рисунок 59. Степень дифференцировки злокачественных опухолей костей и концентрации sPD-L1 в сыворотке крови пациентов.

Обнаружено достоверное повышение медиан коэффициента соотношения биомаркеров при саркомах костей при снижении степени их дифференцировки ($p=0,0038$) (рисунок 60).

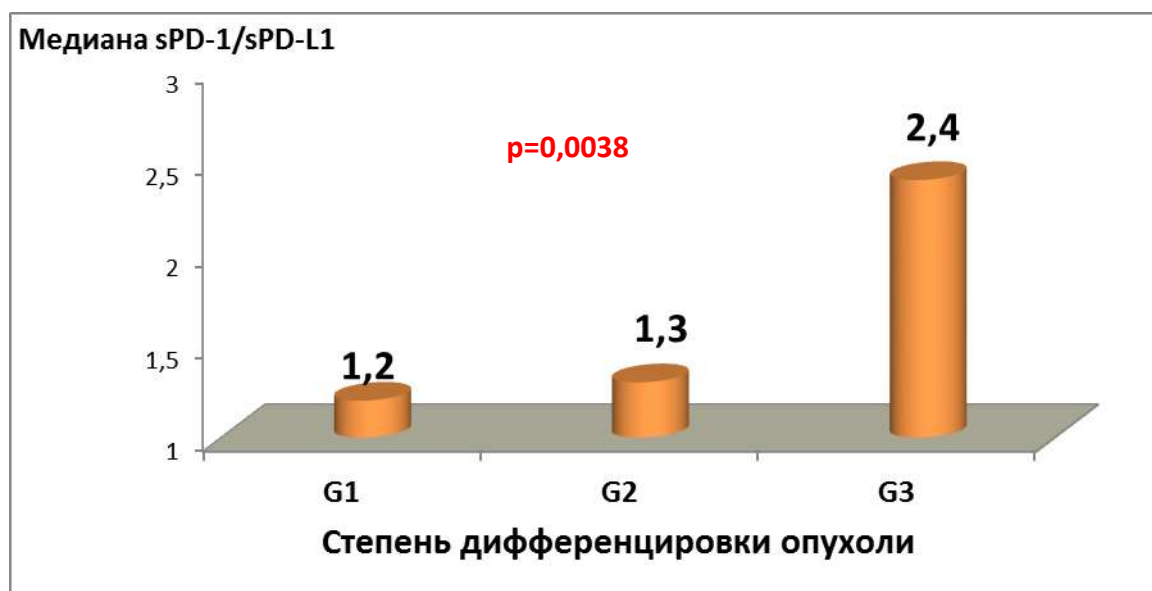


Рисунок 60. Показатель sPD-1/sPD-L1 и степень дифференцировки злокачественных опухолей костей.

При высокой G3 отмечено снижение уровня лиганда (рисунок 59) и повышение показателя sPD-1/sPD-L1, который приближался в таковому у здоровых доноров (рисунок 60). При этом, частота превышения sPD-1 над лигандом была наименьшей в группе больных с G1 (58,3%, 7 из 12), но повышалась до 66,7% (14 из 21) при G2 и до 81,1% (43 из 53) при G3 ($p=0,0026$) (рисунок 61).

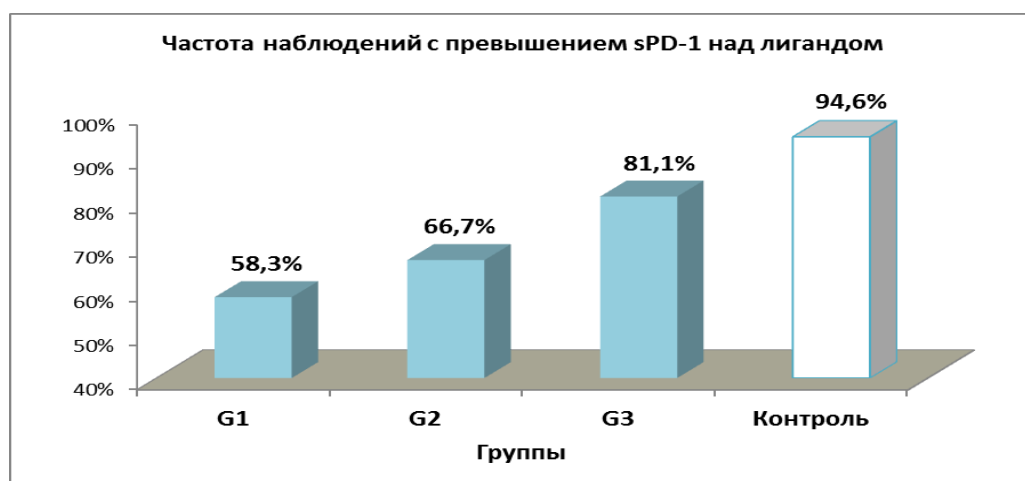


Рисунок 61. Превышение концентрации рецептора над лигандом у больных злокачественными опухолями костей при снижении степени их дифференцировки.

Далее в таблице 47 было показано, что биомаркеры при саркомах костей не связаны с локализацией опухоли в костях скелета ($p>0,05$).

Таблица 47. Концентрации биомаркеров у больных злокачественными опухолями костей и локализации опухолей в костях скелета

Локализация опухоли	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Нижняя конечность	71	60,1; 40,8-84,9	25,6; 17,6-32,0	2,3; 1,0-3,0
Кости таза	51	49,9; 37,0-67,0	23,4; 17,6-39,1	2,0; 1,0-3,4
Грудная клетка	9	48,9; 19,4-64,8	12,0; 10,6-13,5	2,8; 1,5-6,4
Верхняя конечность	22	46,0; 34,7-74,8	25,0; 18,7-28,9	1,2; 0,8-2,9
Позвоночник	3	106; 31,2-129	24,7*	1,3*
Кости черепа	1	53,9*	-	-
P (Kruskal-Wallis test)		0,59	0,7	0,7

Примечание: * - абсолютное значение.

Анализ данных показал, что уровни исследованных биомаркеров sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 в сыворотке крови не различались ($p>0,05$) у больных трубчатыми, губчатыми и смешанными типами сарком костей (таблица 48). Полученные нами данные опубликованы ранее в работе Соколова Н.Ю. и соавт. в журнале «Технологии живых систем». 2025. Т. 22. № 2. С. 17-28.

Таблица 48. Медианы и квартили биомаркеров при злокачественных опухолях костей с учетом типа пораженной кости

Тип кости	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Трубчатая	90	59,2; 36,6-83,4	24,6; 18,2-30,1	1,5; 1,0-2,9
Плоская	45	45,8; 29,9-70,3	22,4; 16,1-32,8	1,8; 1,0-3,1
Смешанная	22	55,0; 47,5-68,8	24,2; 15,2-52,7	2,3; 1,1-3,6
P (Kruskal-Wallis test)		0,06	0,77	0,51

Представлены данные анализа концентраций сывороточных биомаркеров с учетом вида пораженной кости (таблица 49) (Соколов Н.Б. и соавт., 2015).

Таблица 49. Медианы и квартили биомаркеров при злокачественных опухолях костей с учетом вида пораженной кости

Вид кости	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
¹ Большеберцовая	26	48,5; 35,4-82,5	22,0; 17,6-36,3	1,5; 0,8-3,3
² Крестец	18	53,4; 47,5-59,0	22,0; 14,2-58,2	2,4; 1,1-3,8
³ Бедренная	45	61,9; 46,3-88,5	25,6; 17,6-30,1	2,3; 1,1-3,0
⁴ Плечевая	22	46,0; 29,8-67,0	25,0; 19,1-28,7	1,3; 0,8-3,4
⁵ Подвздошная	26	47,5; 37,0-70,3	22,7; 18,1-29,5	2,0; 1,2-3,5
⁶ Реберная	9	44,8; 19,1-70,6	12,0; 10,6-13,5	2,8; 1,5-6,4
⁷ Лонная	7	21,2; 15,3-29,9	39,1; 21,7-47,1	0,5; 0,3-0,7
p (Kruskal-Wallis test)		¹⁻⁷ 0,096; ³⁻⁷ 0,0029; ⁵⁻⁷ 0,11	0,26	0,15

И хотя полученные данные оказались для большинства локализаций не достоверными, уровень рецептора был самым низким при саркоме лонной кости (21,2 пг/мл) и самым высоким при саркоме бедренной кости (61,9 пг/мл; $p=0,0029$), что наглядно представлено на рисунке 62.

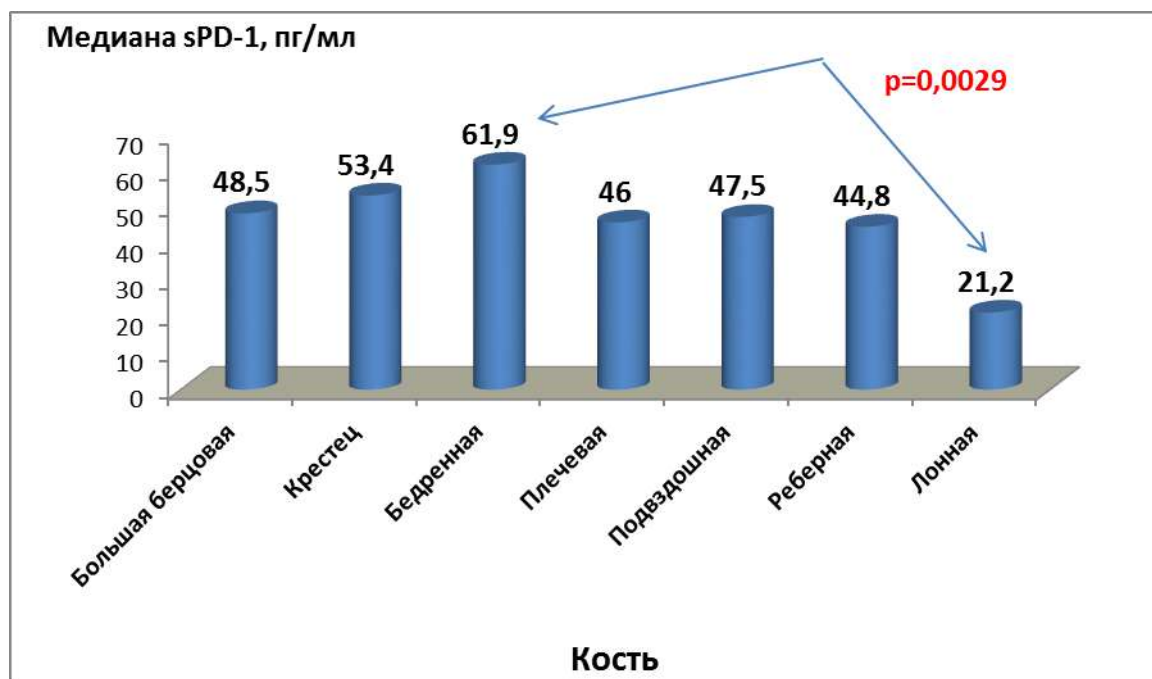


Рисунок 62. Вид пораженной опухолью кости и уровни sPD-1 у больных злокачественными опухолями костей.

При поражении опухолью лонной кости отмечены высокие значения лиганда (39,1 пг/мл) (таблица 49).

4.7. Связь клинических факторов и данных анамнеза с выживаемостью больных опухолями костей.

Следует указать, что выживаемость больных ЗОК зависела от морфологического варианта опухоли ($p=0,009$ Log-Rank Test) (таблица 50).

В нашем исследовании отмечена значимая связь морфологических типов ЗОК с выживаемостью по Log-Rank Test ($p=0,009$) (таблица 50, рисунок 65). Самые низкие показатели общей 8-летней кумулятивной выживаемости отмечены у больных остеосаркомой ($41,4\pm 8,2\%$), хордомой ($20,6\pm 13,8\%$) и саркомой Юинга ($17,7\pm 16,2\%$) (рисунок 63). Однако медиана выживаемости достигнута у больных остеосаркомой и хордомой и не достигнута при саркоме Юинга. Наиболее высокие уровни общей 8-летней кумулятивной выживаемости отмечены у больных хондросаркомой ($51,1\pm 8,7\%$), однако медиана срока жизни пациентов в этой группе не достигнута.

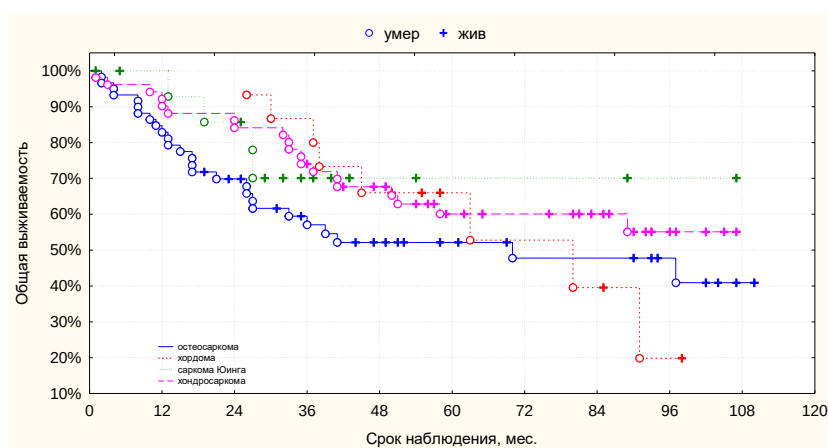


Рисунок 63. Выживаемость больных злокачественными опухолями костей с учетом их морфологии.

Из 18 пациентов с диагнозом ПОК (гигантоклеточная) живы 13 в сроки наблюдения до 75,5 месяцев, однако медиана выживаемости не достигнута.

Отдаленные результаты анализировали у 148 больных ЗОК, данные представлены в таблице 51. Прослеженность составила 94,2%.

Таблица 50. Связь морфологического типа НОК с выживаемостью пациентов

Морфология опухоли	N	Медиана срока жизни	Общая кумулятивная выживаемость, %, SE*							
			1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя	6-летняя	7-летняя	8-летняя
Остеосаркома	68	70 мес	84,9±4,6	69,8±6,2	59,0±6,8	51,3±7,2	49,7±7,4	45,9±7,7	43,8±7,9	41,4±8,2
Хордома	14	80 мес	96,7±4,6	93,4±6,3	81,0±9,9	61,5±12,3	57,2±12,9	45,7±14,5	34,3±14,7	20,6±13,8
Гигантоклеточная опухоль кости	22	Не достигнута	96,9±4,3	93,4±6,4	90,1±7,7	86,7±8,7	83,3±9,7	79,7±10,5	75,9±11,3	72,1±11,9
Саркома Юинга	19	Не достигнута	96,9±4,3	83,0±9,9	66,4±13,1	59,0±15,2	47,2±19,3	35,4±20,5	26,6±18,8	17,7±16,2
Хондросаркома	56	Не достигнута	94,3±3,2	88,3±4,5	74,1±6,2	67,6±6,7	60,1±7,2	58,6±7,4	56,7±7,6	51,1±8,7
p	0,009 (Log-Rank Test)									

*SE – стандартная ошибка среднего.

Таблица 51. Основные клинико-морфологические характеристики злокачественных опухолей костей
и показатели общей выживаемости

Признак	Градация	N	Общая кумулятивная выживаемость, %, SE								p
			1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя	6-летняя	7-летняя	8-летняя	
TNM	T1	19	82,9±9,0	76,5±10,3	69,8±11,4	66,3±11,8	63,0±12,1	59,5±12,4	54,6±12,2	43,7±17,4	0,99
	T2	115	92,7±2,5	82,0±3,7	71,6±4,5	60,7±5,1	55,8±5,4	51,5±5,8	49,3±5,9	43,8±6,4	
	T3	14	92,3±7,4	83,5±10,7	55,7±14,9	50,6±15,2	45,6±15,3	40,5±15,2	35,4±14,9	28,3±14,9	
	Mts нет	134	91,4±2,5	82,1±3,5	71,4±4,2	62,5±4,6	58,8±4,8	55,8±5,0	54,0±5,1	51,6±5,5	0,5
	N1 либо M1	14	92,3±7,4	74,7±12,7	53,4±15,6	42,7±18,4	21,4±23,3	10,7±15,8	5,3±9,5	-	
Стадия	I	18	94,1±5,7	87,8±8,1	81,1±9,9	66,3±12,4	57,5±13,6	51,1±14,8	42,6±16,5	28,4±19,7	0,85
	II	112	91,0±2,8	81,5±4,0	71,3±4,7	62,4±5,2	59,2±5,4	55,2±5,7	53,0±5,9	50,0±6,3	
	III	12	90,0±9,5	78,8±13,4	56,3±16,5	50,6±16,7	45,6±16,5	40,5±16,1	35,4±15,6	28,4±15,4	
	IV	15	92,3±7,4	74,7±12,7	54,4±15,6	42,7±18,4	21,4±23,4	10,7±15,8	5,3±9,5	-	
G	G1	16	93,1±6,7	89,2±8,3	85,3±9,6	77,6±11,4	68,5±13,5	62,2±14,7	55,3±16,0	46,1±17,9	0,2
	G2	31	96,7±3,3	82,9±7,0	69,0±8,6	65,4±8,9	61,2±9,2	58,6±9,5	55,7±9,9	50,6±11,3	
	G3	82	88,5±3,6	78,9±4,7	68,3±55,1	56,4±6,1	54,2±6,3	48,8±6,7	45,8±6,9	38,8±7,4	
Локали- зация опухоли	1	69	95,2±2,7	82,7±5,0	76,7±5,7	72,0±6,2	66,1±7,0	62,5±7,5	60,4±7,8	54,6±8,9	0,029
	2	48	85,7±5,0	83,6±5,3	59,7±7,2	47,8±7,5	44,7±7,6	40,8±7,9	36,7±8,1	31,1±8,6	
	3	9	87,5±11,7	37,5±17,1	30,0±15,7	-	-	-	-	-	
	4	22	95,1±4,8	89,7±6,9	78,1±97,3	65,1±11,7	61,3±12,2	57,2±12,7	52,4±13,3	46,6±14,1	
Тип кости	Трубч.	85	95,0±2,4	82,6±4,4	76,5±5,0	69,4±5,7	65,1±6,1	62,4±6,4	60,8±6,5	56,5±7,4	0,003
	Плоск.	41	83,1±5,8	73,1±7,0	47,0±8,0	43,8±8,0	41,7±8,2	39,1±8,5	36,3±8,7	32,7±9,2	
	Смеш.	22	95,2±4,6	92,7±5,7	83,0±8,3	62,9±108	56,6±11,4	48,5±12,3	40,4±12,6	30,3±12,9	

Примечание: 1 – кости нижних конечностей, 2 – кости таза, 3 – кости грудной клетки, 4 – кости верхних конечностей.

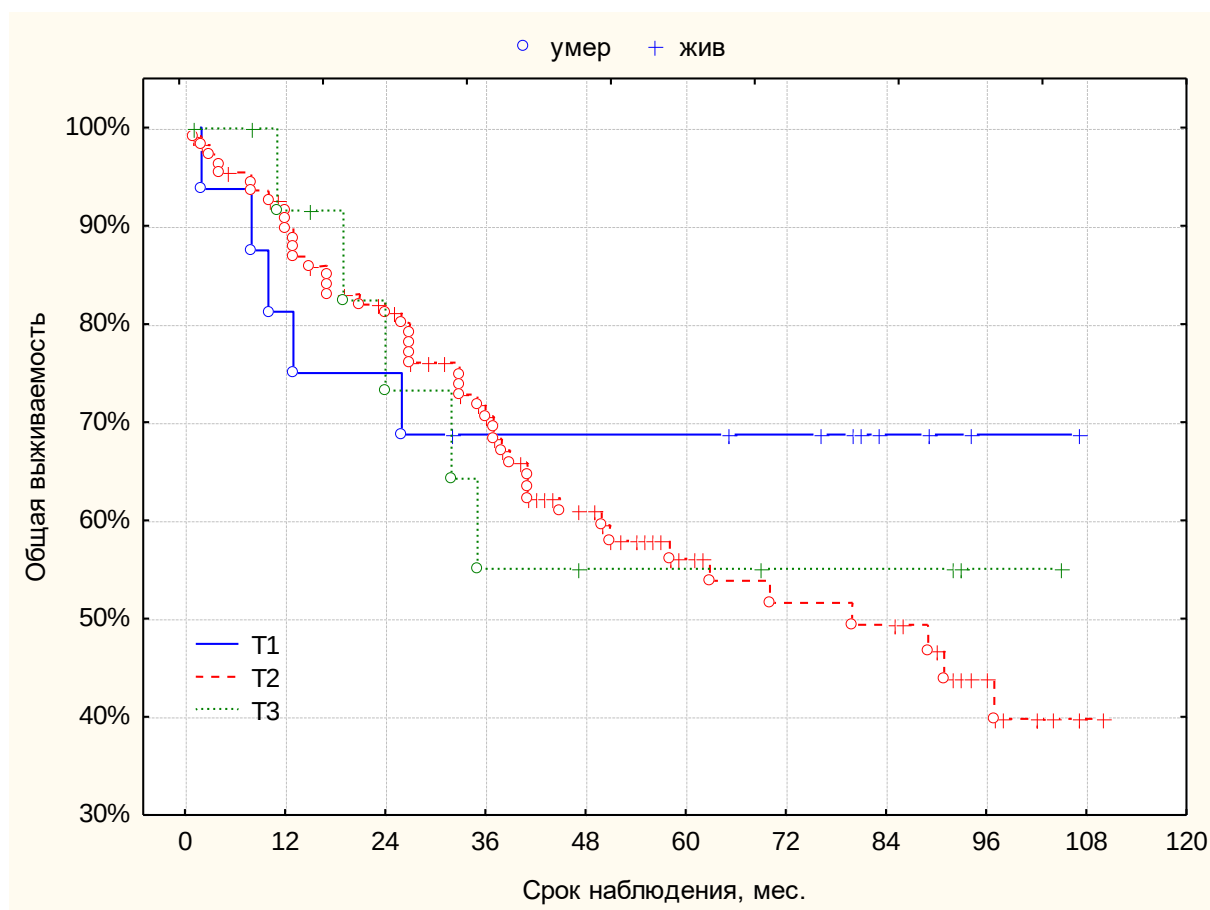


Рисунок 63. Выживаемость больных злокачественными опухолями костей с учетом критерия Т.

Данные, представленные в таблице 51 и на рисунке 63, не выявили достоверной связи общей выживаемости больных злокачественными опухолями костей в группах с различным критерием Т (0,99) и объясняется это тем фактором, что преобладали пациенты с критерием распространенности Т2 ($n=115$), с критерием Т1 и Т3 в группах было 19 и 14 больных соответственно.

Особо следует обратить внимание на показатели 5- и 8-летней общей кумулятивной выживаемости у пациентов с критерием Т3, у которых они были наиболее низкими и составили (соответственно $45,6 \pm 15,3$ и $28,3 \pm 14,9\%$).

Самые высокие показатели 5-летней и 8-летней выживаемости отмечены при критерии Т1 ($63,0 \pm 12,1\%$ и $43,7 \pm 17,4\%$ соответственно) и Т2 ($55,8 \pm 5,4\%$ и $43,8 \pm 6,4\%$ соответственно) (рисунок 63).

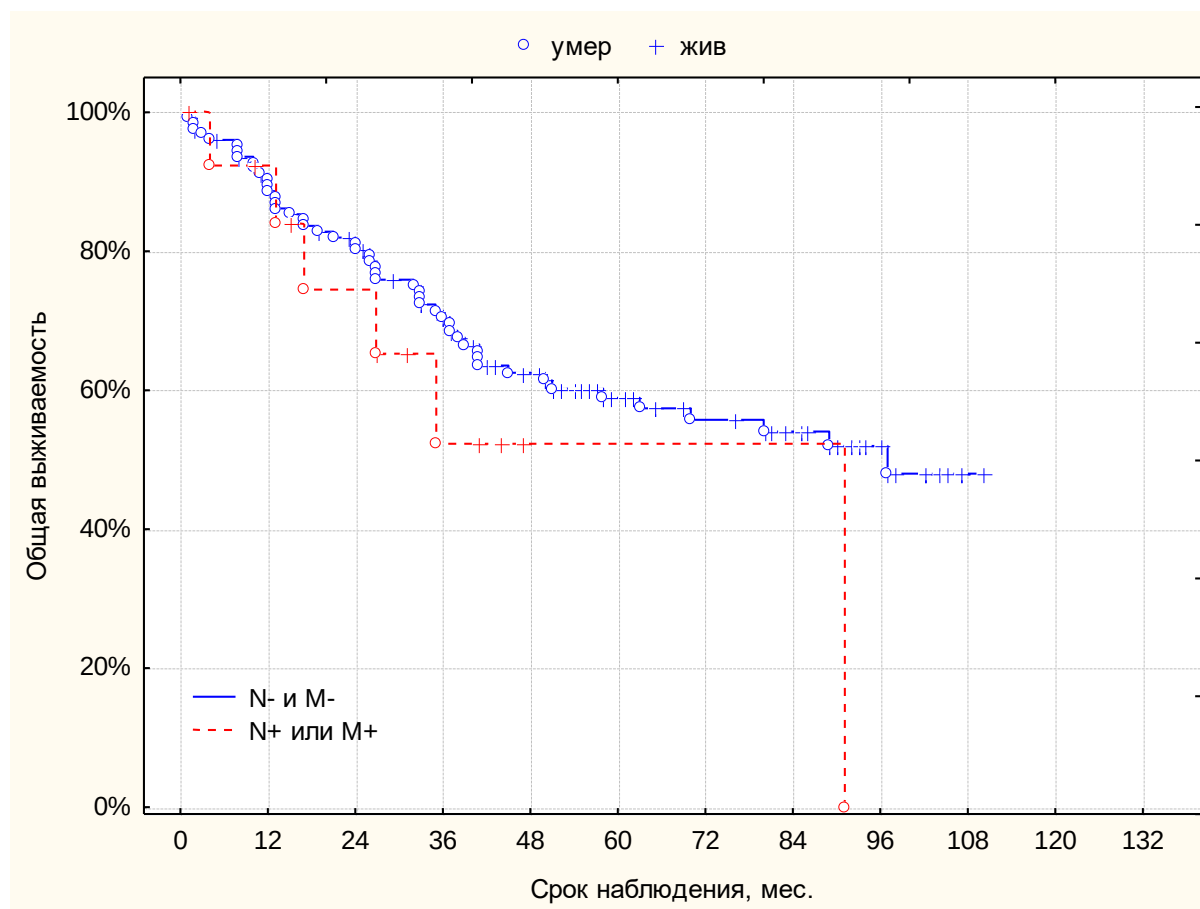


Рисунок 64. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями костей с учетом наличия регионарных (индекс N+) и отдаленных (индекс M+) метастазов.

Учитывая небольшое число наблюдений с индексами N1 и M1 ($n=14$) этих больных объединили и сравнили с группой пациентов без регионарных и отдаленных метастазов ($n=134$), при этом общая кумулятивная 5-летняя выживаемость у них составила $21,4 \pm 23,3\%$, а в группе N0M0 ($n=134$) – $58,8 \pm 4,8\%$, однако эти различия незначимы ($p=0,5$) (рисунок 64). Кроме того, все больные не дожили до 8 лет в группе N1M1. Общая кумулятивная 8-летняя выживаемости в группе N0M0 составила $51,6 \pm 5,5\%$ (таблица 51).

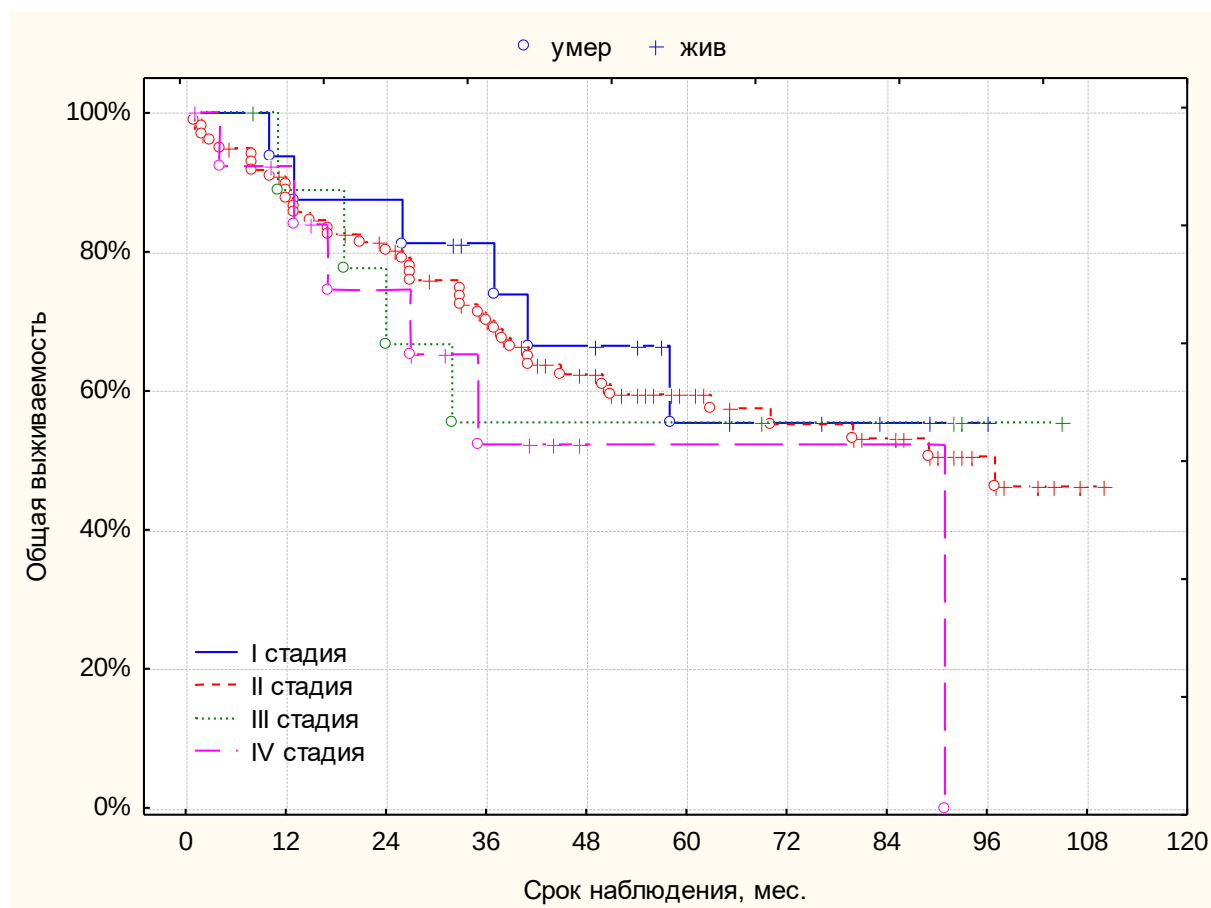


Рисунок 65. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями костей в зависимости от клинической стадии заболевания.

Общая выживаемость больных ЗОК не связана с клинической стадией ($p=0,85$), за исключением IV стадии (рисунок 65).

Показатели общей 8-летней выживаемости в группах составили: при I стадии ($n=18$) $28,4 \pm 19,7\%$, при II стадии ($n=105$) $50,0 \pm 6,3\%$, при III стадии ($n=11$) $28,4 \pm 15,4\%$ соответственно (таблица 51).

Следует отметить, что все 14 пациентов с IV клинической стадией заболевания не пережили 8-летний срок наблюдения. Показатель 7-летней кумулятивной выживаемости пациентов в этой группе составил всего $5,3 \pm 9,5\%$ (таблица 51).

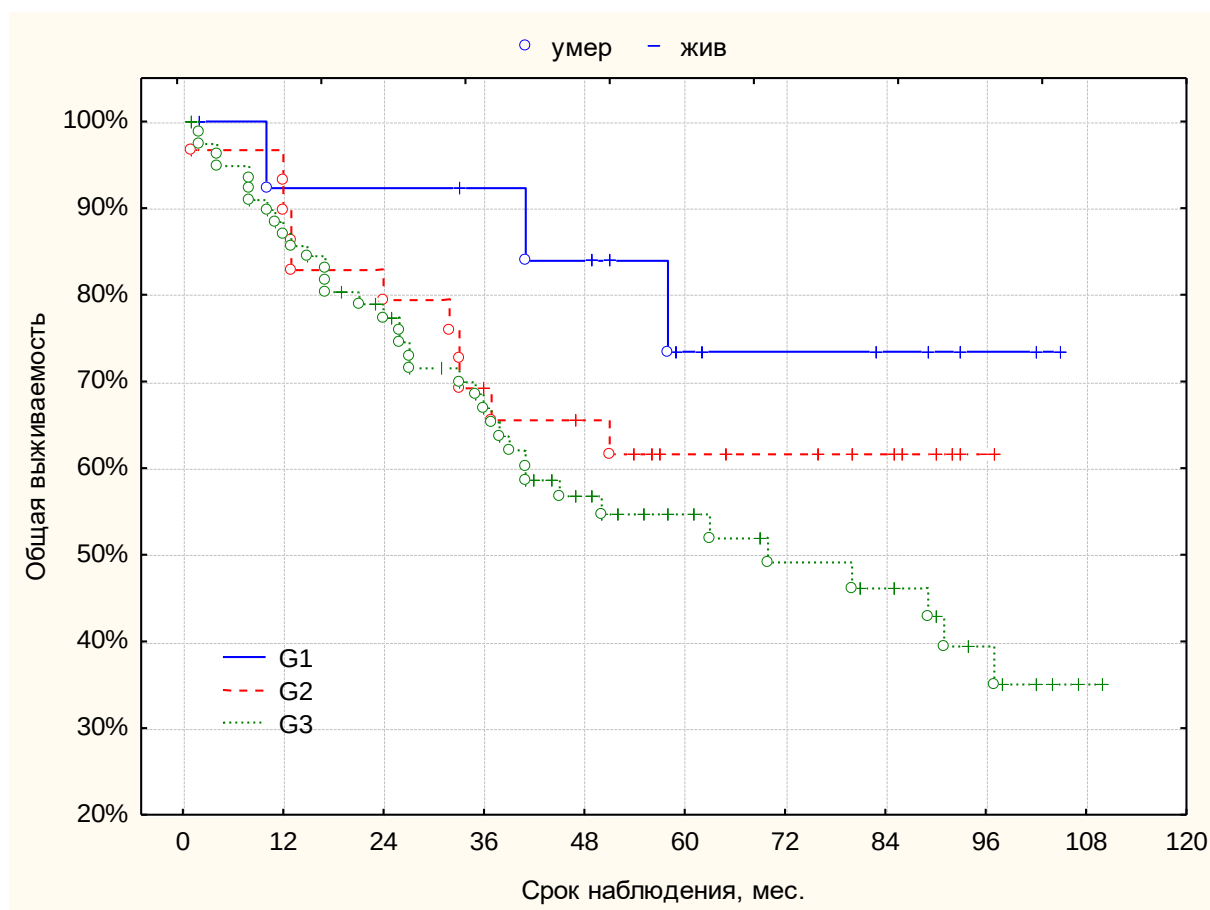


Рисунок 66. Степень дифференцировки злокачественных опухолей костей и выживаемость пациентов.

Следует отметить, что половина и более обследованных больных ЗОК при G1-G2 степени дифференцировки опухоли переживали 5-летний срок наблюдения (рисунок 66).

В тоже время показатели общей 8-летней кумулятивной выживаемости резко снижались при снижении степени дифференцировки сарком костей и составили: при G1 $46,1 \pm 17,9\%$ ($n=16$), при G2 $50,6 \pm 11,3\%$ ($n=31$), при G3 $38,8 \pm 7,4\%$ ($n=82$) (рисунок 66). Представленные нами данные свидетельствуют о том, что низкая степень дифференцировки опухоли является неблагоприятным морфологическим фактором у этой категории пациентов и это подтверждают исследования многих авторов, занимающихся онкоостеологией, и которые анализировали этот показатель на большей когорте больных.

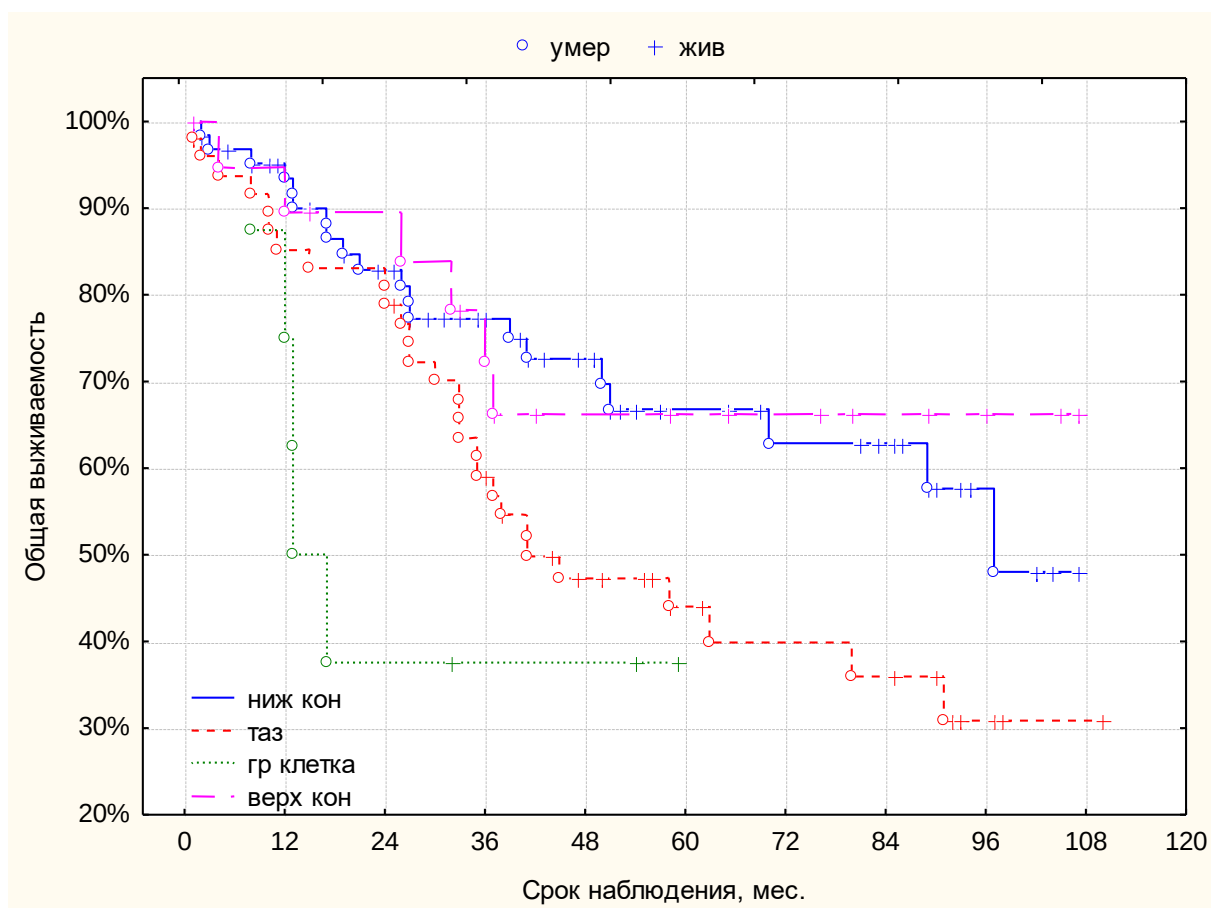


Рисунок 67. Локализация саркомы в костях скелета и общая выживаемость.

Локализация саркомы в костях скелета (рисунок 67) и тип пораженной опухолью кости (рисунок 68), не принимая во внимание другие факторы, достоверно связаны с общей выживаемостью больных первичными злокачественными новообразованиями костей (соответственно $p=0,029$ и $p=0,003$) (см. таблица 51).

Самым низким был показатель 3-летней выживаемости при саркомах костей грудной клетки ($30,0 \pm 15,7\%$; $n=9$) в сравнении другими группами пациентов (таблица 51 и рисунок 67).

Не обнаружили различий в показателях 5-летней общей выживаемости больных злокачественными опухолями верхних и нижних конечностей: верхние конечности – $61,3 \pm 12,2\%$ и нижние конечности – $66,1 \pm 7,0\%$ (таблица 51 и рисунок 67). У больных саркомами костей таза 8-летняя выживаемость была низкой ($30,0 \pm 15,7\%$) (таблица 51 и рисунок 67).

Также отмечено снижение 8-летней выживаемости при саркомах конечностей относительно показателей их 5-летней выживаемости (таблица 51).

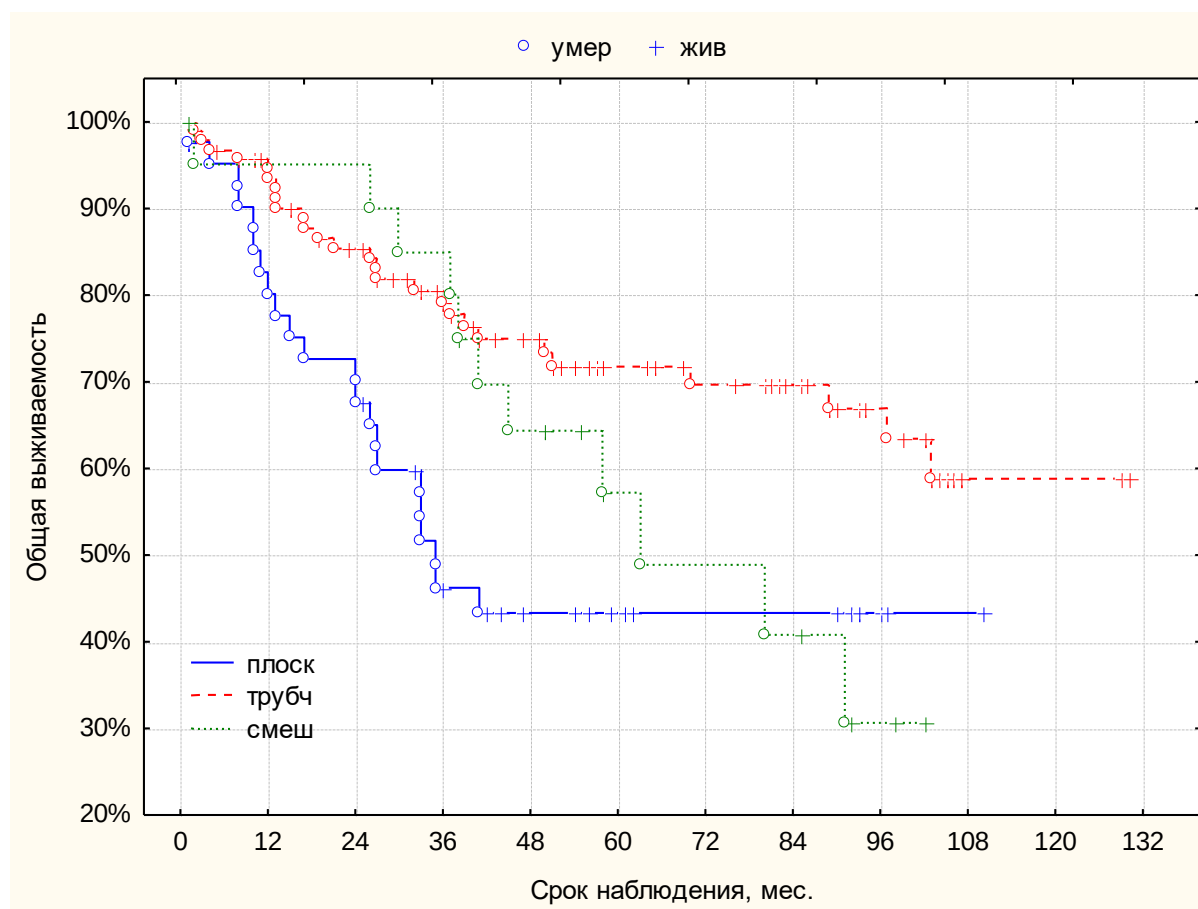


Рисунок 68. Выживаемость при злокачественных опухолях костей с учетом типа пораженной опухолью кости.

Тип пораженной кости значимо связан с выживаемостью (рисунок 68).

Следует указать, что недостоверно низкие показатели общей 5-летней выживаемости отмечены среди больных саркомами плоских костей скелета и составили для этой группы пациентов $41,7 \pm 8,2\%$. Общая 5-летняя выживаемость не различалась между группами пациентов с саркомами трубчатых костей ($65,1 \pm 6,1\%$) и смешанных типов кости ($56,6 \pm 11,4\%$). Показатели общей 8-летней выживаемости оставались практически на уровне 5-летней общей выживаемости в группе больных с саркомами трубчатых костей ($56,5 \pm 7,4\%$) и резко снижались у пациентов с поражением плоских и

смешанных костей (соответственно $32,7 \pm 9,2\%$ и $30,3 \pm 12,9\%$) по сравнению с показателями 5-летней выживаемости.

Многофакторный анализ показал, что морфологический диагноз наибольшим образом определял общую выживаемость больных злокачественными новообразованиями костей ($p=0,04$).

Многофакторный анализ не подтвердил связи общей кумулятивной выживаемости с локализацией опухоли в костях скелета.

4.8. Уровни биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 и выживаемости больных саркомами костей.

Выживаемость анализировали в 4-х группах больных ЗОК: 1) группа – sPD-1 < 36,2 пг/мл; 2) группа – sPD-1 от 36,2 пг/мл до 54,2 пг/мл; 3) группа – sPD-1 от 54,2 пг/мл до 79,0 пг/мл и 4) группа – от 79,0 пг/мл, результаты представлены в таблице 52.

Анализ полученных нами данных выявил, что показатель общей 8-летней выживаемости был самым высоким в 1) группе больных ($n=41$) с концентрацией рецептора в сыворотке крови < 36,3 пг/мл и составил $55,0 \pm 12,6\%$. В остальных группах пациентов показатели 8-летней общей выживаемости практически не отличались друг от друга, но были недостоверно ($p=0,057$) снижены: 2) группа 36,3-54,1 пг/мл – $34,6 \pm 11,3\%$ ($n=33$); 3) группа 54,2-78,0 пг/мл – $37,9 \pm 9,1\%$ ($n=42$); 4) группа $\geq 79,0$ пг/мл – $35,5 \pm 12,0\%$ ($n=41$) (таблица 52, рисунок 70).

Пороговый уровень sPD-1 (40 пг/мл) достоверно разделил больных ЗОК на группы с благоприятным и неблагоприятным прогнозом (таблица 53 и рисунок 69). Можно сделать заключение, что пороговый уровень sPD-1 в сыворотке крови, который составил 40 пг/мл и достоверно (0,0043 Log-Rank Test) разделил больных ЗОК ($t=157$) на группы с благоприятным ($n=47$) и неблагоприятным прогнозом ($n=110$), данные представлены в таблице 53 и на рисунке 71.

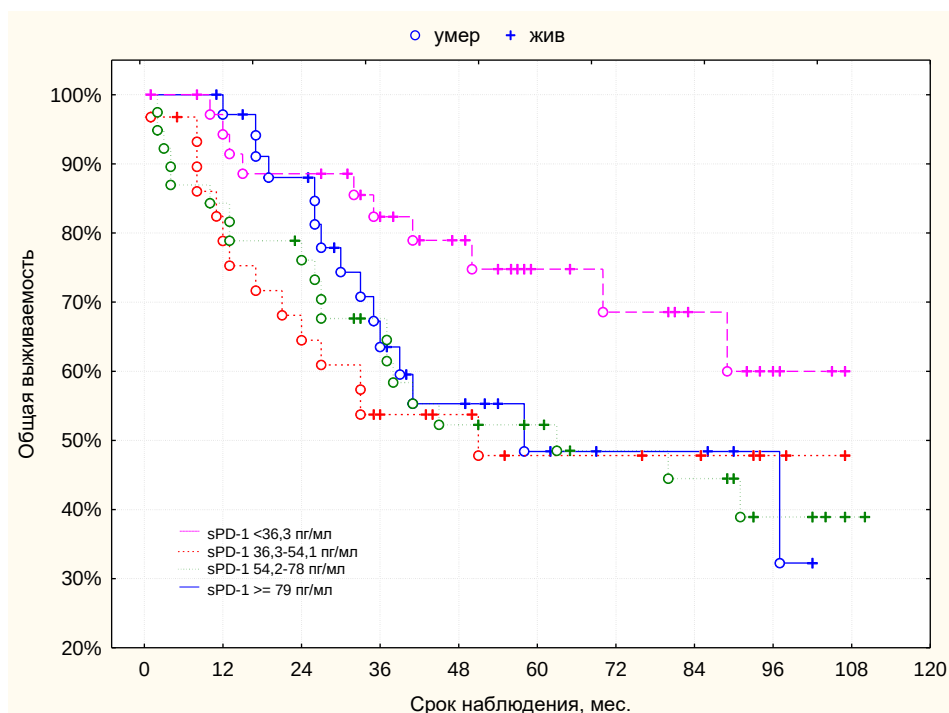


Рисунок 70. Концентрации сывороточного sPD-1 и выживаемость больных злокачественными опухолями костей.

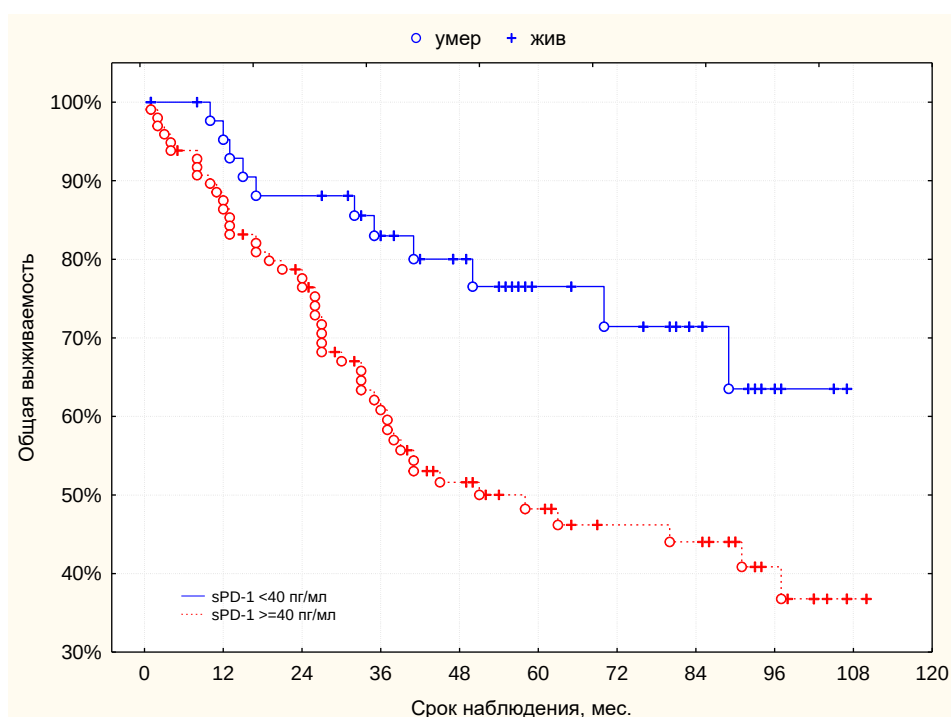


Рисунок 71. Выживаемость больных злокачественными опухолями костей с учетом порогового уровня sPD-1.

При пороговом уровне sPD-1 ≥ 40 пг/мл отмечено снижение общей 5-летней и 8-летней выживаемости. Необходимо отметить, что показатели

кумулятивной общей выживаемости продолжали снижаться в выше указанных двух группах больных саркомами костей и составили при анализе 8-летней выживаемости с учетом исходного до лечения порогового уровня sPD-1: при <40 пг/мл – $59,3 \pm 11,4\%$; при ≥ 40 пг/мл – $41,2 \pm 6,1\%$, различие статистически достоверно ($p=0,0043$ LogRank) (таблица 53).

Таким образом, исходные до лечения концентрации рецептора sPD-1 в сыворотке крови общей группы больных ЗОК позволяют уточнить прогноз.

Многофакторный анализ показал, что выделенный нами порог sPD-1 в сыворотке крови пациентов 40 пг/мл убедительно определял отдаленные результаты лечения больных ЗОК наряду с морфологическим типом опухоли ($p<0,05$).

В качестве примера, можно привести анализ прогностического влияния исходной до лечения концентрации рецептора sPD-1 для больных остеосаркомой кости. Так, в группе из 15 больных с низкими концентрациями белка (< 40 пг/мл) общая 5-летняя выживаемость составила $66,7 \pm 15,7\%$, а у 53 пациентов с высокими уровнями маркера (≥ 40 пг/мл) составила $48,4 \pm 10,1\%$ ($p=0,05$ Cox'test), медиана срока жизни 31,8 месяцев.

При хондросаркоме сывороточный sPD-1 также может служить прогностическим фактором. Так, в группе из 29 больных с низкими концентрациями белка (< 40 пг/мл) 5-летняя выживаемость составила $75,1 \pm 9,0\%$, тогда как в группе пациентов ($n=27$) с высокими (≥ 40 пг/мл) 5-летняя выживаемость составила $50,3 \pm 11,9\%$ ($p=0,049$ Cox'test).

Таким образом, связь сывороточных уровней рецептора sPD-1 с прогнозом болезни, была характерна для большинства больных ЗОК независимо от морфологического типа опухоли.

Провели анализ общей выживаемости в общей группе больных ЗОК с учетом разных уровней sPD-L1 в группах (таблица 54).

На протяжении 8-летнего наблюдения независимо от исходных сывороточных уровней биомаркеров отмечено ежегодное снижение показателей общей кумулятивной выживаемости, которые не отличались между группами ($p=0,1$). Следует отметить, что наиболее высокие показатели 5-летней общей выживаемости обнаружены при концентрациях биомаркера sPD-L1: $\leq 17,5$ пг/мл и в группе больных с уровнями биомаркера 23,2 – 32,3 пг/мл, которые составили соответственно $68,3 \pm 9,7\%$ и $66,6 \pm 11,0\%$ (таблица 54).

В сравнении с этими 2-я группами более низкие показатели 5-летней общей выживаемости обнаружены в 2-х других группах с учетом концентраций биомаркера sPD-L1: 2) группа 17,6 – 23,1 пг/мл – $41,4 \pm 11,9\%$ и 4) группа $\geq 32,4$ пг/мл – $32,2 \pm 11,5\%$ (таблица 54).

Следует отметить, что 8-летнюю общую выживаемость можно было проанализировать только в первых 2-х группах и с учетом уровня sPD-L1 она составила: при концентрациях sPD-L1: $\leq 17,5$ пг/мл – $46,7 \pm 12,4\%$; при уровне sPD-L1 23,2 – 32,3 пг/мл – $48,7 \pm 14,2\%$. В остальных 2-х группах с концентрациями sPD-L1 (17,6 – 23,1 пг/мл и $\geq 32,4$ пг/мл) пациенты умерли в более ранние сроки менее 8 лет (таблица 54).

На основании полученных выше данных, мы разделили больных саркомами костей по пороговому уровню лиганда 18 пг/мл. Одна группа пациентов с неблагоприятным (< 18 пг/мл), другая группа с благоприятным (≥ 18 пг/мл) прогнозом, при этом Log-Rank Test не выявил различий между группами ($p=0,15$) (таблица 55). Общая 8-летняя выживаемость в группах составила соответственно $46,7 \pm 12,4\%$ и $37,4 \pm 8,1\%$.

Многофакторный анализ показал, что только морфологический диагноз достоверно определял отдаленные результаты лечения больных злокачественными опухолями костей ($p=0,01$). На показатели выживаемости пациентов пороговый уровень sPD-L1 равный 18 пг/мл в сыворотке крови не оказывал влияния ($p=0,066$).

Вышеуказанная закономерность была характерна для пациентов с достаточным для анализа количеством наблюдений – это остеосаркома кости ($p=0,056$ Cox'test, сильная тенденция к различию), для больных хондросаркомой таковой зависимости не выявлено ($p=0,099$).

Таким образом, у больных ЗОК независимыми факторами прогноза следует считать гистологический тип опухоли ($p=0,031$) и исходную до лечения концентрации sPD-1 в сыворотке крови ($p=0,0043$).

Интерес представлял анализ общей выживаемости больных ЗОК при сочетании различных концентраций sPD-L1 и sPD-1 в крови.

На следующем этапе работы провели анализ данных о сочетании различных концентраций sPD-L1 и sPD-1 с прогнозом больных ЗОК (таблица 56).

Наиболее высокие уровни общей 5-летней выживаемости отмечены в группе больных саркомами костей с низкими концентрациями биомаркеров ($n=7$): при уровнях sPD-1 < 40 пг/мл и sPD-L1 < 18 пг/мл – $68,2 \pm 16,6\%$ (таблица 65), а самые низкие $39,7 \pm 8,7\%$ ($n=38$) при sPD-1 ≥ 40 пг/мл и sPD-L1 ≥ 18 пг/мл (медиана длительности жизни 63 месяца). При этом, все больные этой группы не пережили 8-летний срок.

В 4-х выше указанных группах больных с различными сочетаниями биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 выживаемость была статистически значима ($p=0,008$), однако в первых 3-х группах медиана длительности жизни не достигнута.

При разнонаправленных сочетаниях уровней биомаркеров (sPD-1 < 40 пг/мл + sPD-L1 ≥ 18 пг/мл и sPD-1 ≥ 40 пг/мл + sPD-L1 < 18 пг/мл) 8-летняя общая выживаемость в 2-х группах была сопоставима и составила соответственно $45,9 \pm 15,6\%$ и $36,0 \pm 13,7\%$ (таблица 56).

На основании выше указанных данных по определению исходных до лечения сывороточных уровней биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 у больных ЗОК выделены 2 прогностические группы пациентов, данные о которых представлены в таблице 57:

1) неблагоприятный прогноз ($n=63$) с уровнями $sPD-1 \geq 40$ пг/мл + $sPD-L1 \geq 18$ пг/мл;

2) благоприятный прогноз ($n=94$) с уровнями $sPD-1 < 40$ пг/мл + $sPD-L1 < 18$ пг/мл ($n=11$); $sPD-1 < 40$ пг/мл + $sPD-L1 \geq 18$ пг/мл ($n=53$); $sPD-1 \geq 40$ пг/мл + $sPD-L1 < 18$ пг/мл ($n=30$), данные о которых представлены в таблице 57.

Как следует из представленных в таблице 57 данных, выявлены достоверные различия ($p=0,003$) в показателях 5-летней общей выживаемости между выше указанными 2-я группами соответственно 1) группа – $35,9 \pm 8,6\%$ и 2) группа – $69,5 \pm 6,7\%$). При этом в неблагоприятной 1) группе ни один пациент не пережил сроки 8-летнего наблюдения, тогда как во 2) группе более половины пациентов ($52,5 \pm 9,7\%$) были живы.

Многофакторный анализ показал, что показатели общей выживаемости больных ЗОК в бóльшей степени зависели уровня сывороточных биомаркеров ($p=0,0039$) и морфологического типа опухоли ($p=0,015$) (таблица 58).

Обнаруженный нами факт подтверждает мнение большинства исследователей в том, что для оценки прогноза заболевания у онкологических больных следует использовать не один, а одновременно несколько маркеров.

Общая выживаемость больных остеосаркомой в прогностических подгруппах с применением установленных нами пороговых уровней показателей биомаркеров значимо различалась ($p=0,032$). При хондросаркоме кости одновременно высокие сывороточные концентрации рецептора и лиганда незначимо влияли на прогноз болезни ($p=0,14$).

Таблица 58. Многофакторный анализ общей выживаемости у больных злокачественными опухолями костей

Факторы	Beta	St.Error	t-value	Wald Statistic	p
Морфологический тип опухоли	-0,3667	0,151	-2,43	5,91	0,015
Уровни sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови	1,0365	0,370	2,88	8,31	0,0039

Общая выживаемость больных остеосаркомой в прогностических подгруппах с применением установленных нами пороговых уровней показателей биомаркеров значимо различалась ($p=0,032$).

При хондросаркоме кости одновременно высокие сывороточные концентрации рецептора и лиганда незначимо влияние на прогноз болезни ($p=0,14$). В группе больных саркомой Юинга при одновременно высоких уровнях рецептора и лиганда все пациенты умерли в сроки 19-27 месяцев, а при прочих сочетаниях все 3 живы в сроки 25-53 месяца.

При хордоме выше указанные зависимости не проявили своей значимости.

Подводя итоги анализа концентраций sPD-1 и sPD-L1 у больных ЗОК нами выявлены следующие особенности:

- Не выявили различий в показателях sPD-1 между больными ЗОК и здоровыми донорами группы контроля (54,7 и 49,2 пг/мл соответственно, $p=0,24$). Уровни sPD-1 в сыворотке крови больных ДОК (48,2 пг/мл), ПОК (67,8 пг/мл), ЗОК (54,2 пг/мл) не различались между собой и от контроля.
- Уровни PD-1 не связаны с полом пациентов, критериями TNM, стадией заболевания, локализацией опухоли в костях скелета и типом пораженной кости.
- Достоверная обратная корреляционная связь отмечена между уровнями sPD-1 и наибольшим размером ЗОК ($r_s=-0,48$; $p<0,05$).

- Концентрации sPD-1 были достоверно ниже в контроле у взрослых по сравнению с таковыми у детей (48,7 и 96,4 пг/мл соответственно), эта закономерность отмечена и при ЗОК (50,1 и 82,5 пг/мл соответственно) ($p=0,0001$).
- Уровни sPD-1 связаны с морфологическим типом ЗОК: рецептор достоверно выше у пациентов с опухолью Юинга (70,3 пг/мл) и остеосаркомой (64,2 пг/мл) по сравнению с хондросаркомой (36,3 пг/мл) ($p=0,001$).
- При умеренно дифференцированных опухолях костей содержание sPD-1 в сыворотке крови было наименьшим (38,8 пг/мл, $p=0,05$).
- В общей группе НОК концентрации лиганда sPD-L1 значимо выше контроля (22,9 и 9,2 пг/мл соответственно; $p<0,0001$). При этом его медианы у больных ДОК (24,7 пг/мл), ПОК (21,6 пг/мл) и ЗОК (23,2 пг/мл) не различались, но были значимо выше, чем в контроле.
- Уровни лиганда sPD-L1 при ЗОК не связаны с полом, возрастом, критериями TNM, стадией заболевания, диагнозом, локализацией опухоли, типом пораженной кости.
- Уровни sPD-L1 достоверно снижались при снижении степени дифференцировки ЗОК ($p=0,019$).
- Не выявили корреляционной ассоциации между концентрациями рецептора и лиганда в контроле и у больных ЗОК ($r_s=0,02$ и $r_s=-0,14$ соответственно).
- Коэффициент sPD-1/sPD-L1 значимо ниже у больных ЗОК, чем у здоровых (2,1 и 4,6 соответственно; $p<0,0001$). Медианы соотношения sPD-L1/sPD-1 в сыворотке крови больных ДОК (1,7), ПОК (2,8) и ЗОК (1,9) не различались, но были достоверно ниже, чем в контроле.
- Коэффициент соотношения sPD-1/sPD-L1 не связан с полом и возрастом больных ЗОК, критериями TNM, стадией заболевания, локализацией опухоли и типом пораженной кости.

- При снижении степени дифференцировки ЗОК отмечено достоверное повышение показателя sPD-1/sPD-L1 ($p=0,0038$).
- 5-летняя общая выживаемость достоверно выше у больных типичной хрящобразующей хондросаркомой, чем типичной костеобразующей остеосаркомой ($64,2\pm 7,8\%$ и $52,8\pm 8,8\%$ соответственно; $p=0,02$).
- Не отмечено достоверной связи между общей выживаемостью больных ЗОК с полом, возрастом, критериями TNM, стадией, локализацией опухоли, типом пораженной кости. Выявлено незначимое снижение выживаемости пациентов по мере увеличения степени злокачественности опухоли с $80,8\pm 12,2\%$ при G1 до $58,8\pm 7,4\%$ при G2 ($p=0,4$). В тоже время показатели общей 8-летней кумулятивной выживаемости резко снижались при снижении степени дифференцировки сарком костей и составили: при G1 $46,1\pm 17,9\%$ ($n=16$), при G2 $50,6\pm 11,3\%$ ($n=31$), при G3 $38,8\pm 7,4\%$ ($n=82$) (рисунок 66).
- Высокие уровни sPD-1 ≥ 40 пг/мл в сыворотке крови больных ЗОК ($n=127$) следует считать прогностически неблагоприятными, различия 5-летней выживаемости достигали 33% ($41,5\pm 10,7\%$ при sPD-1 ≥ 40 против $74,4\pm 7,7\%$ при sPD-1 < 40 пг/мл; $p=0,037$).
- Высокие значения sPD-L1 ≥ 18 пг/мл в сыворотке крови 86 больных злокачественными опухолями костей показали на 51,3% значимо худшую 5-летнюю общую выживаемость ($p=0,032$).
- У больных ЗОК самые высокие уровни 5-летней выживаемости отмечены при одновременно «низких» значениях рецептора и лиганда, а самые низкие – при одновременно «высоких» уровнях биомаркеров в крови.
- ЗОК можно достоверно разделить на 2 группы: с неблагоприятным (sPD-1 ≥ 40 пг/мл и sPD-L1 ≥ 18 пг/мл) и благоприятным (прочие сочетания биомаркеров) прогнозом ($p=0,018$).

- Многофакторный анализ показал, что длительность жизни пациентов в бóльшей степени определяли оба показателя иммунитета ($p=0,0039$) и гистологический тип ЗОК ($p=0,015$).

ГЛАВА 5.

ПОКАЗАТЕЛИ sPD-1 и sPD-L1 У БОЛЬНЫХ С НОВООБРАЗОВАНИЕМ ПОЧКИ

(результаты собственных исследований)

5.1. Показатели sPD-1 и sPD-L1 в контроле и у больных с новообразованием почки.

Распределение уровней биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 у больных ПКР представлено на рисунках 72 и 73. В качестве центральной меры применяли медиану. Для сравнения показателей в группах использовали непараметрические методы.

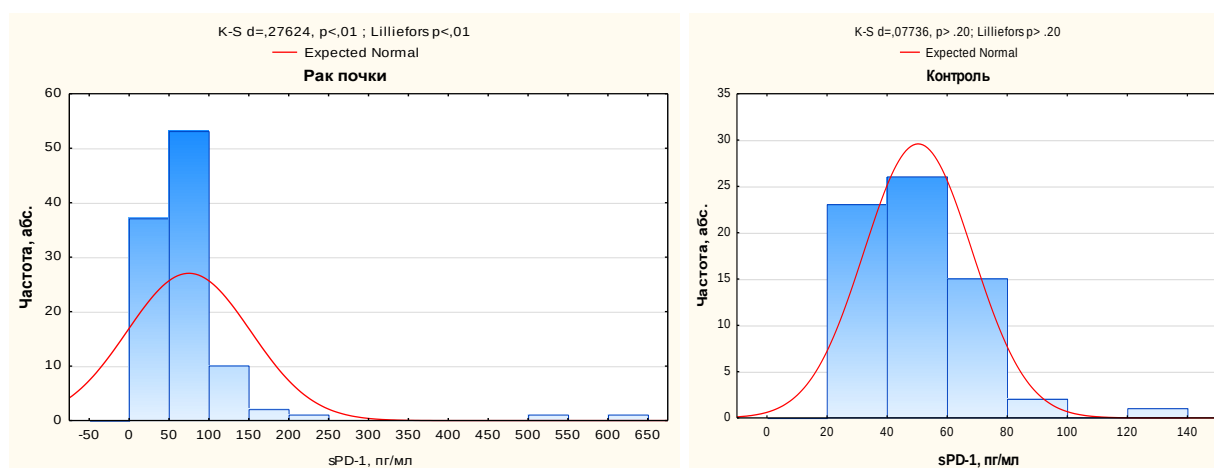


Рисунок 72. sPD-1 у больных почечно-клеточным раком (слева) и в контроле (справа).

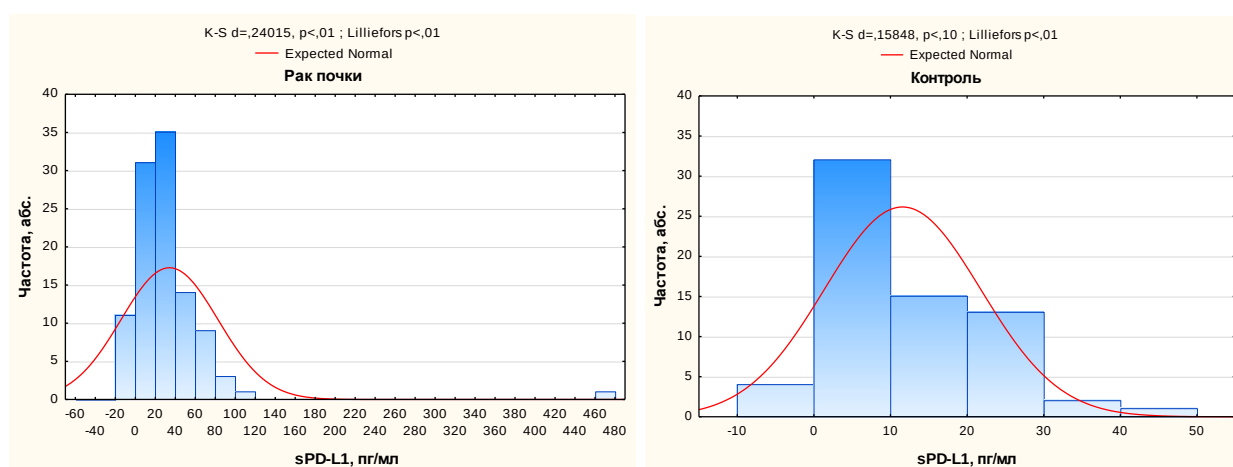


Рисунок 73. sPD-L1 у больных почечно-клеточным раком (слева) и в контроле (справа)

В таблице 59. представлены данные этого раздела исследований, которые были опубликованы Н.Ю. Соколовым и соавт. ранее в журнале «Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии». 2025. Том 28. № 4. С. 56-65 [43].

Таблица 59. Показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 в контроле и общей группе больных новообразованиями почек

Группа	N	Показатели	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Контроль	67	Медиана	48,8	7,6	4,6
		Квартили	36,5-62,3	1,8-19,6	2,3-29,4
		Пределы колебания	22,5-125	0-41,8	0,8-11240
		95% ДИ	25,8-76,3	0-27,7	1,3-170
Опухоли почки	117	Медиана	56,7	27,0	2,2
		Квартили	43,8-74,5	12,2-42,2	1,2-4,1
		Пределы колебания	11,6-620	0-464	0,3-214
		95% ДИ	28,6-164	0-79,3	0,6-11,6
p (Mann-Whitney U test)			<0,004	<0,0001	<0,0001

На основании анализа полученных результатов выявлено, что медианы рецептора sPD-1 в крови общей группы больных новообразованиями почки значительно отличались от здоровых людей (56,7 и 48,8 пг/мл соответственно; $p=0,004$), как и уровни sPD-L1 (27,0 и 7,6 пг/мл соответственно; $p<0,0001$) (таблица 59; рисунок 74).

У 169 обследованных больных и здоровых доноров обеих групп с ненулевыми концентрациями лиганда в плазме крови рассчитали соотношения sPD-1/sPD-L1, которое оказалось значимо выше в контроле, чем в и общей группе пациентов с новообразованиями почки (4,6 и 2,2 соответственно; $p<0,0001$) (таблица 59).

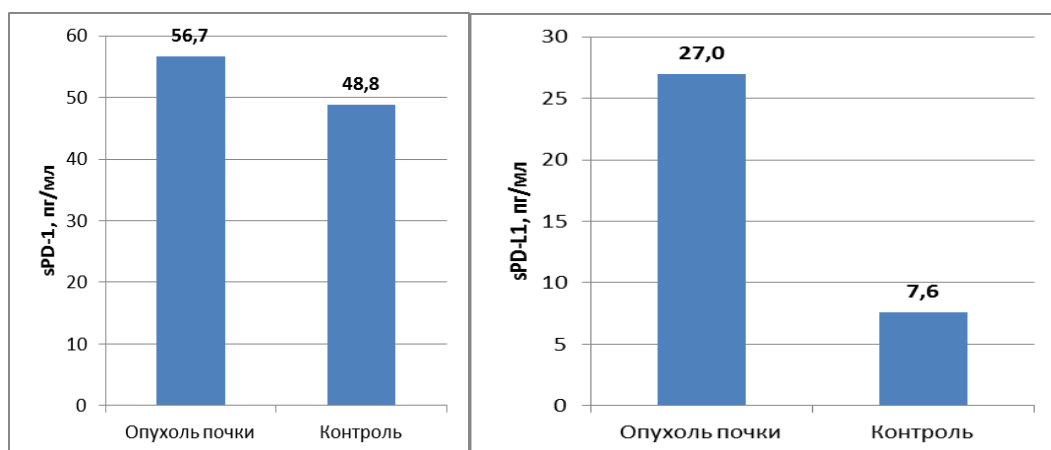


Рисунок 74. Медианы концентраций sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных опухолью почки и в контроле.

Таблица 60. Медианы и квартили сывороточных концентраций биомаркеров в контроле, у больных с доброкачественной опухолью почки и почечно-клеточным раком

Группа	N	Показатели	sPD-1, пг/мл		sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
⁰ Контроль	67	Медиана	48,8		7,6	4,6
		Квартили	36,5-62,3		1,8-19,6	2,3-29,4
		Пределы колебания	22,5-125		0-41,8	0,8-11240
		95% ДИ	25,8-76,3		0-27,7	1,3-170
¹ ДОП	12	Медиана	47,3		18,6	3,0
		Квартили	37,2-52,8		14,8-38,7	1,4-3,5
		Пределы колебания	27,9-154		0,5-67,3	0,7-92,2
		95% ДИ	27,9-154		90,5-67,3	0,7-92,2
² ПКР	105	Медиана	58,8		28,2	2,1
		Квартили	44,3-76,0		12,2-42,6	1,2-4,5
		Пределы колебания	11,6-620		0-463	0,3-214
		95% ДИ	29,9-139		0-79,3	0,6-11,6
p (Kruskal-Wallis test)			=0,0023; _{0vs2} =0,0042; _{1vs2} =0,13		<0,0001 _{0vs1} =0,055; _{0vs2} <0,0001	<0,0001 _{0vs1} =0,1; _{0vs2} <0,0001

При этом, частота превышения концентраций sPD-1 в сыворотке крови над его лигандом составила 96,8% в группе контроля и была значимо ниже в группе больных новообразованиями почки (84,9%) ($p=0,015$).

Провели сравнительный анализ уровней биологических маркеров в контроле, при ДОП и ПКР (таблица 60).

Анализ результатов показал, что сывороточные уровни sPD-1 у больных ПКР колебались в очень широких пределах от 11,6 до 620 пг/мл (медиана 58,8 пг/мл) и были достоверно выше, чем в контроле (медиана 48,8 пг/мл; $p=0,0042$) (таблица 60) и не различались между группами ДОП и ПКР, ДОП и контролем (рисунок 75).

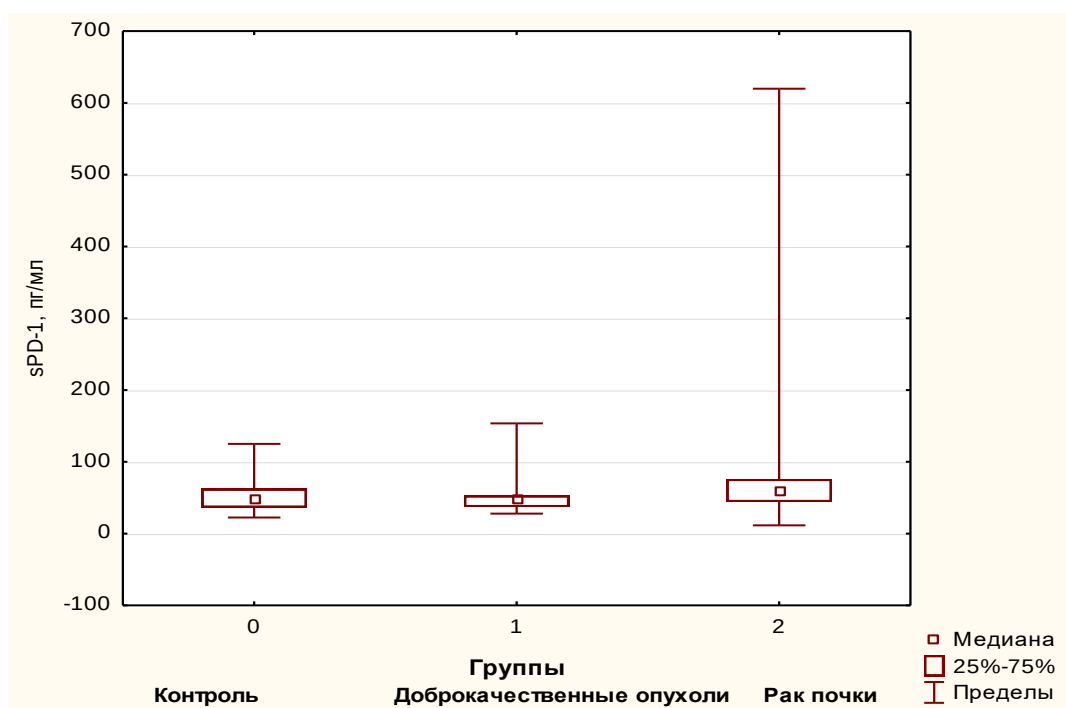


Рисунок 75. Сывороточные уровни sPD-1 в контроле, у больных с доброкачественной опухолью почки и почечно-клеточным раком.

Частота обнаружения уровней sPD-1 более 95% ДИ в контроле (76,3 пг/мл) составила 8,3% при ДОП и 24,8% при ПКР (рисунок 76). Следовательно, у каждого четвертого обследованного больного раком почки концентрации sPD-1 в плазме крови были выше, чем у 95% обследованных здоровых доноров.

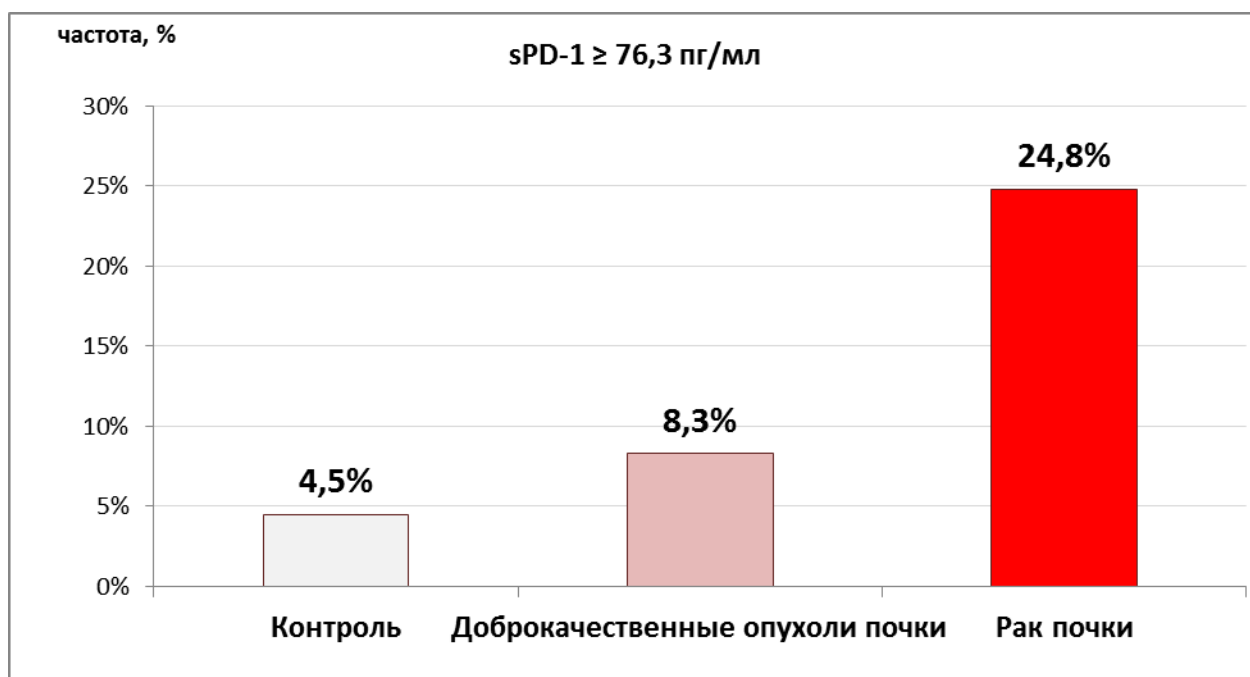


Рисунок 76. Частота обнаружения высоких (от 76,3 пг/мл и более) сывороточных концентраций sPD-1 в обследованных группах.

При ПКР уровень лиганда достоверно выше, чем в контроле (28,2 и 7,6 пг/мл соответственно; $p < 0,0001$) и не отличался при ДОП и ПКР ($p = 0,05$) (рисунок 77).

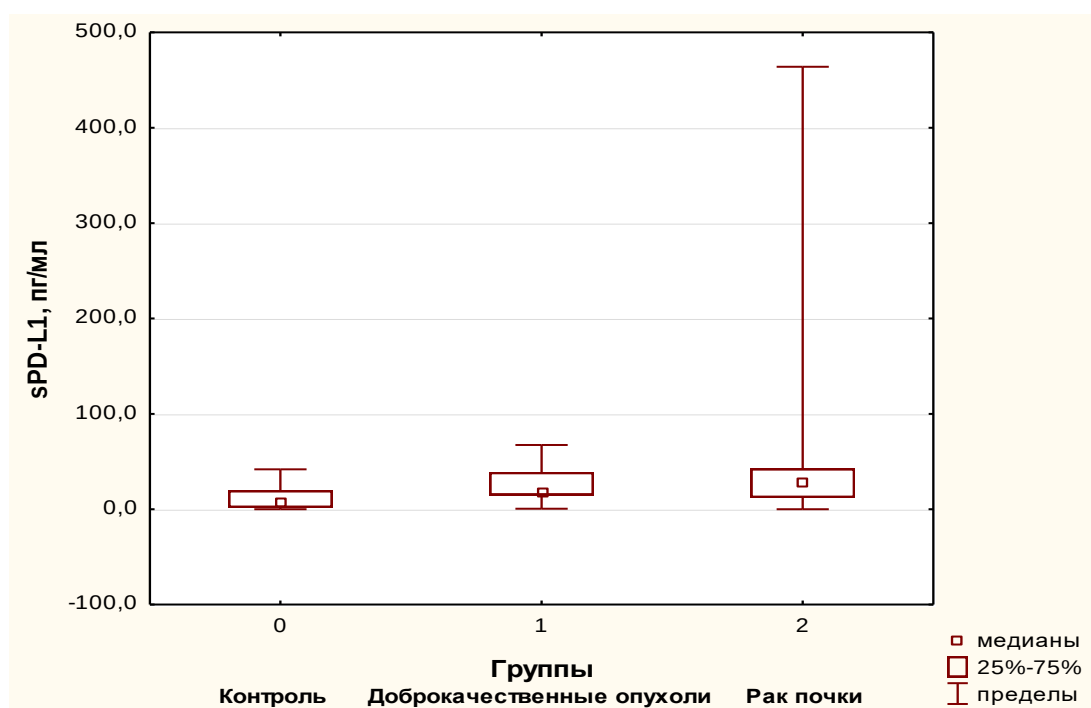


Рисунок 77. Концентрации sPD-L1 у больных почечно-клеточным раком, доброкачественными опухолями почки и в контроле.

При этом, частота концентраций sPD-L1 более 95% ДИ в контроле (27,7 пг/мл) составила 33,3% у больных ДОП и 51,4% при ПКР (рисунок 78). Следовательно, у каждого второго обследованного больного раком почки концентрация sPD-L1 выше, чем в контроле.

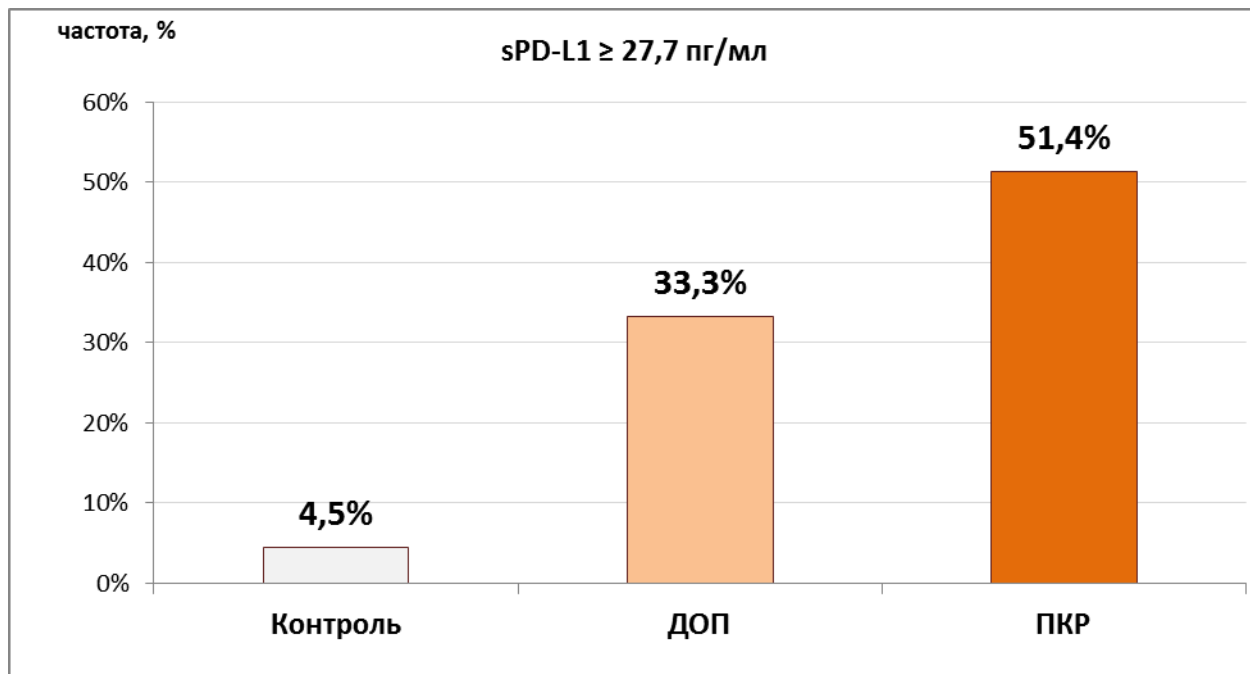


Рисунок 78. Частота обнаружения повышенных уровней sPD-L1 (от 27,7 пг/мл и выше) в крови обследованных групп.

Показатель sPD-1/sPD-L1 был одинаковым при ДОП и контролем ($p=0,15$), но у последних достоверно выше, чем при ПКР (4,6 и 2,1 соответственно; $p<0,0001$) (рисунок 79).

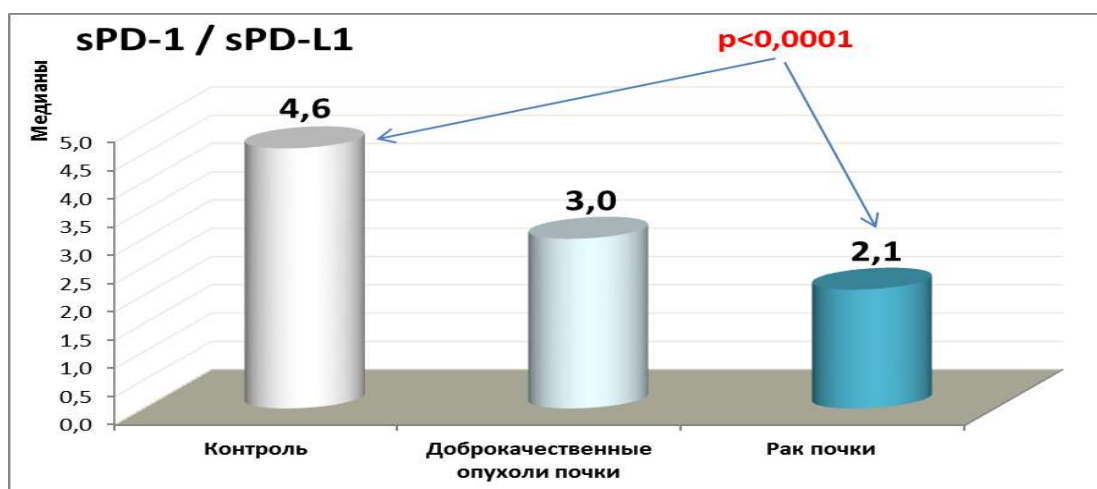


Рисунок 79. Показатель sPD-1/sPD-L1 в контроле, при ДОП и ПКР.

Не выявили корреляции между показателями сывороточных биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 при ПКР ($r_s=0,16$).

5.2. Показатели sPD-1 и sPD-L1 в крови здоровых людей и при ПКР с учетом пола и возраста.

Все расчеты представленные в таблице 61 ранее были опубликованы в журнале «Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии». 2025. Том 28. № 4. С. 56-65.

Таблица 61. Пол больных почечно-клеточным раком и показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1

Группа	Пол	N	Медиана; квартили			
			sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1	
Контроль	Муж.	27	51,4; 36,8-67,2	6,4; 1,1-18,8	26	5,5; 3,0-37,7
	Жен.	40	47,5; 34,9-59,30	8,4; 1,9-21,2	37	3,1; 2,0-10,5
p (Mann-Whitney U test)			0,2	0,32	0,07	
ДОК	Муж.	3	46,7; 33,0-58,4	16,5; 14,6-18,0	3	3,2; 2,0-3,3
	Жен.	9	48,0; 41,4-51,8	22,0; 15,0-42,2	9	2,8; 1,3-3,6
ПКР	Муж.	63	60,6; 45,8-79,9	32,5*; 12,2-46,9	59	2,0; 1,2-3,5
	Жен.	42	53,9; 38,9-74,4	17,9**; 9,2-36,9	35	2,3; 1,3-4,9
p (Mann-Whitney U test)			0,25	*vs**<0,05	0,23	

Среди биомаркеров только лиганд при ПКР у мужчин был достоверно выше, чем у женщин соответственно 32,5 и 17,9 пг/мл ($p<0,05$) (рисунок 80).

В отличие от больных ПКР в контроле выявлена обратная достоверная корреляционная связь возраста и уровней рецептора в крови ($r_s=-0,38$). Показатели лиганда в контроле ($r_s=0,26$) и у больных ПКР ($r_s=-0,17$) не связаны с возрастом.

Дисперсионный анализ подтвердил выше указанные зависимости в обеих группах.

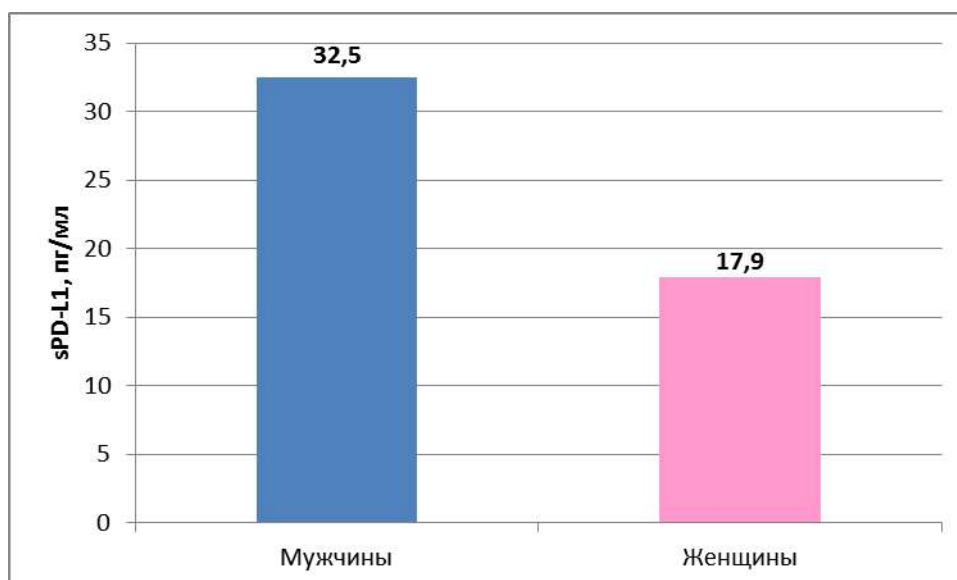


Рисунок 80. Пол больных почечно-клеточным раком и уровни sPD-L1 в крови.

5.3. Индексы TNM и сывороточные показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 при ПКР.

Не выявлено значимой связи концентраций sPD-1 с индексом Т у больных ПКР (рисунок 81).

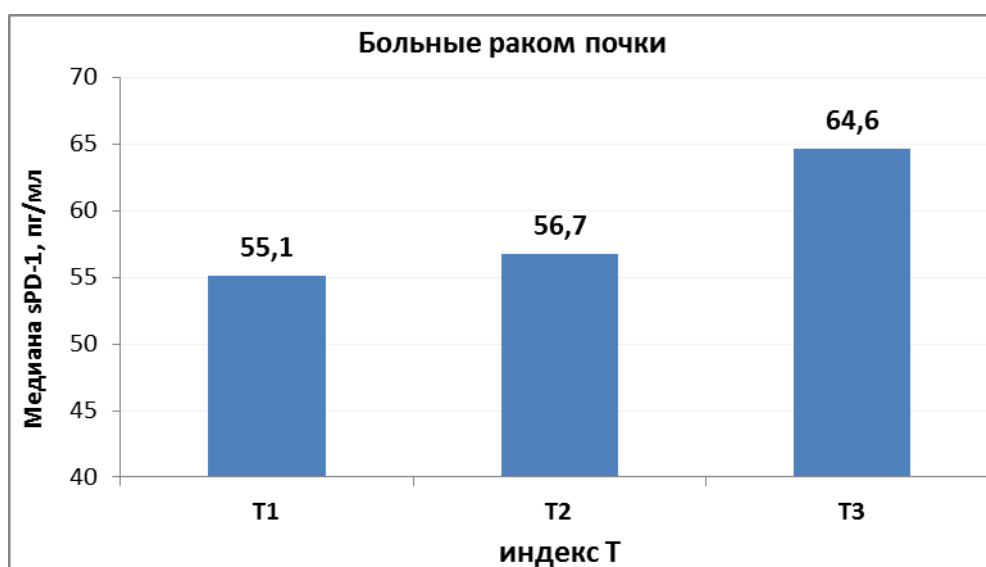


Рисунок 81. Связь индекса Т с уровнем sPD-1 у больных почечно-клеточным раком.

В отличие от рецептора, при ПКР уровни лиганда достоверно были связаны с критерием Т (рисунок 82).

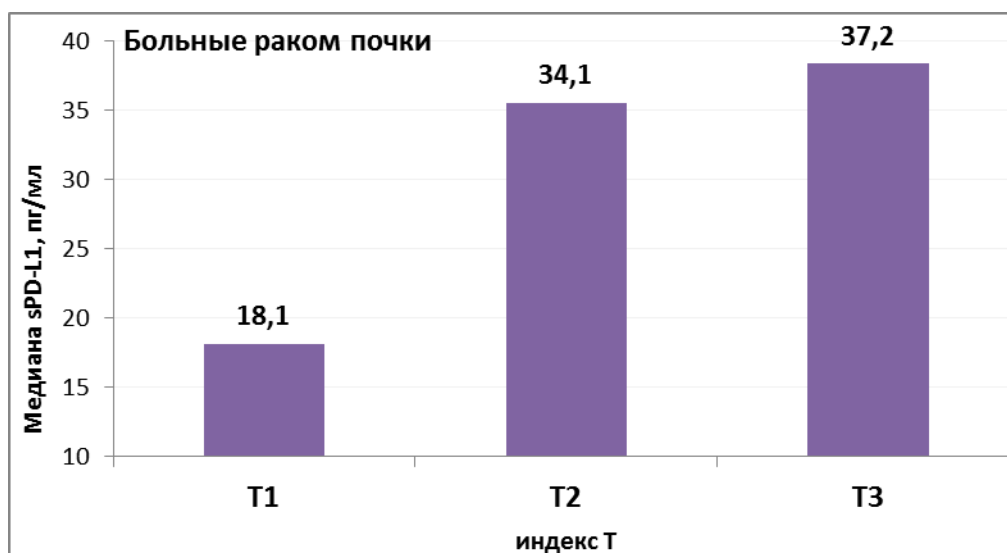


Рисунок 82. Индекс Т и уровни sPD-L1 при почечно-клеточном раке.

При ПКР показатель sPD-1/sPD-L1 не связан с индексом Т ($p=0,16$).

При ПКР уровни биомаркеров sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 анализировали с учетом индекса N (рисунки 83 и 84).

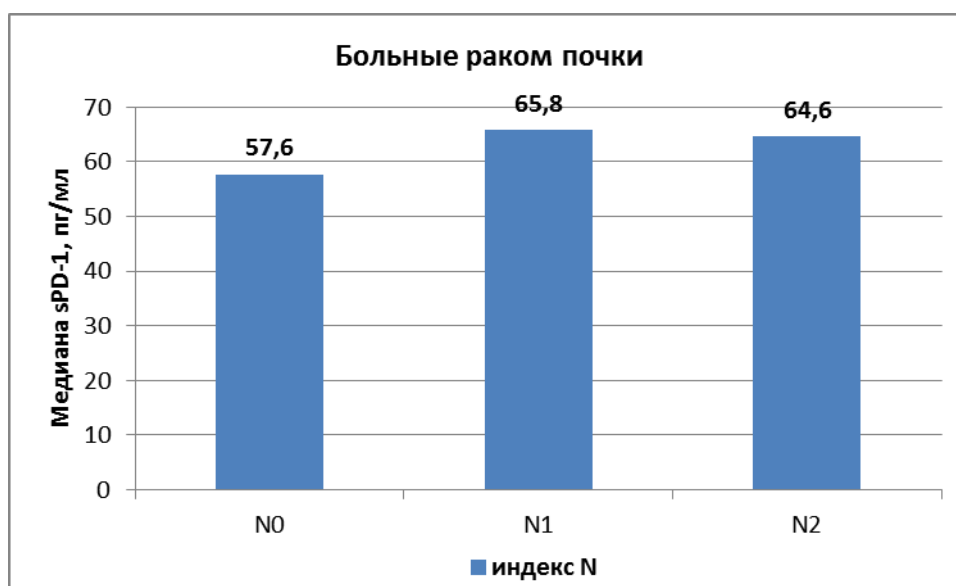


Рисунок 83. Связь критерия N с уровнем sPD-1 у больных почечно-клеточным раком.

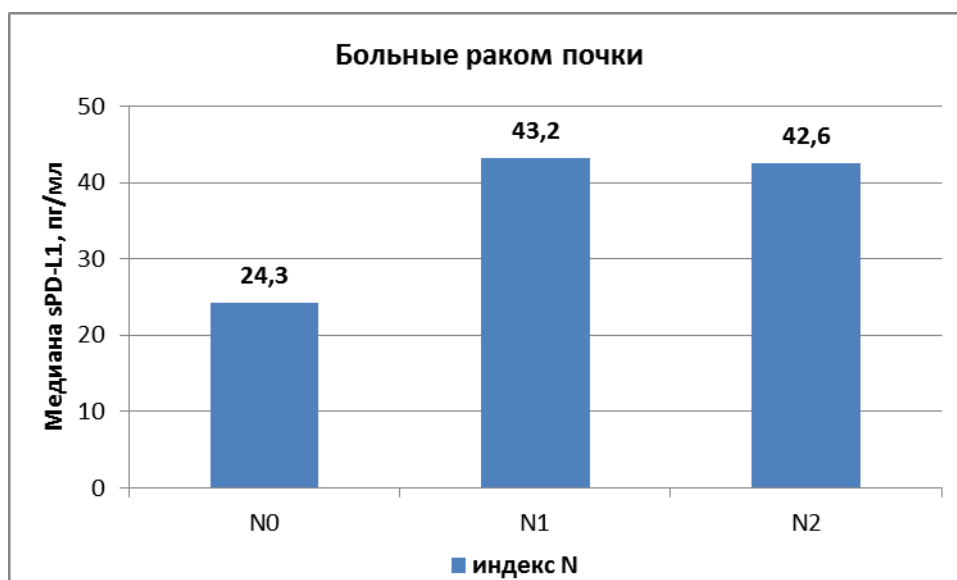


Рисунок 84. Связь критерия N с уровнем sPD-L1 у больных почечно-клеточным раком.

В отличие от рецептора, уровни лиганда были достоверно выше при выявлении регионарных метастазов опухоли (43,2 и 42,6 пг/мл соответственно при N1 и N2), чем без метастазов (индекс N0 24,3 пг/мл; $p=0,008$) (рисунок 84).

С индексом N при ПКР не связан показатель sPD-1/sPD-L1.

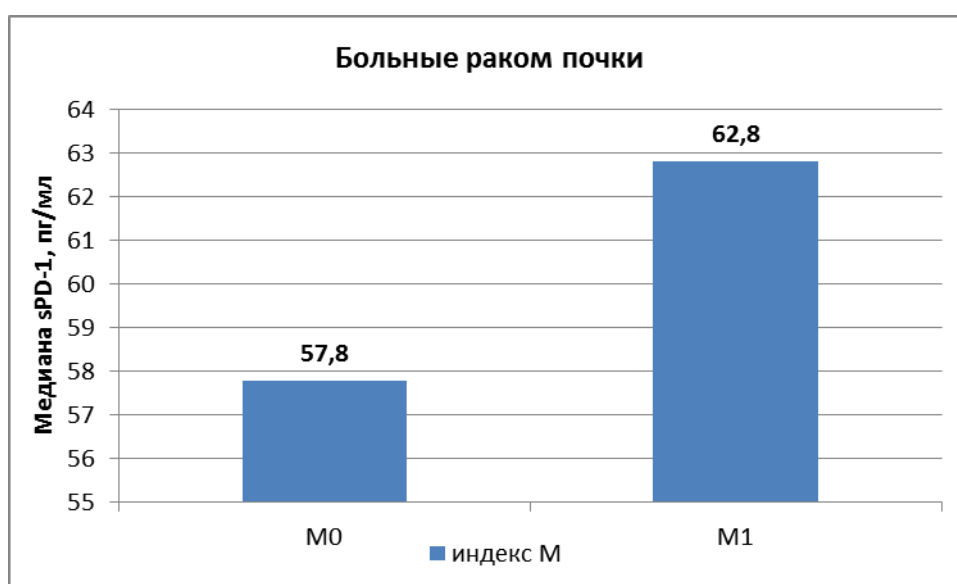


Рисунок 85. Уровни sPD-1 и индексы M0 и M1 у больных почечно-клеточным раком.

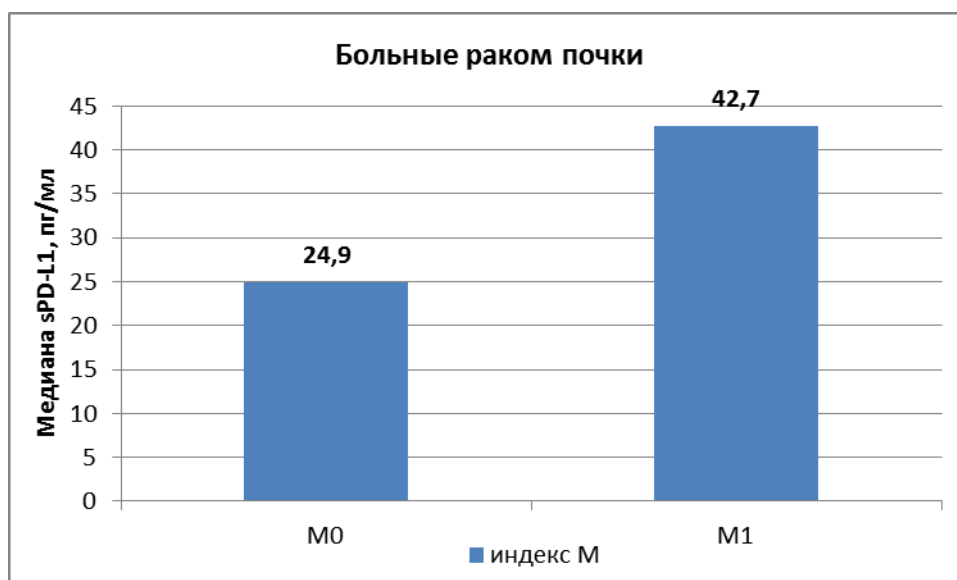


Рисунок 86. Уровни sPD-L1 и индексы M0 и M1 у больных почечно-клеточным раком.

При ПКР в отличие от рецептора (рисунок 85) только концентрации лиганда выше у пациентов с отдаленными метастазами, чем без таковых (соответственно 42,7 против 24,9 пг/мл; $p=0,01$) (рисунок 86).

Анализ связи биомаркеров с клиническими стадиями ПКР представлен на рисунках 87 и 88.

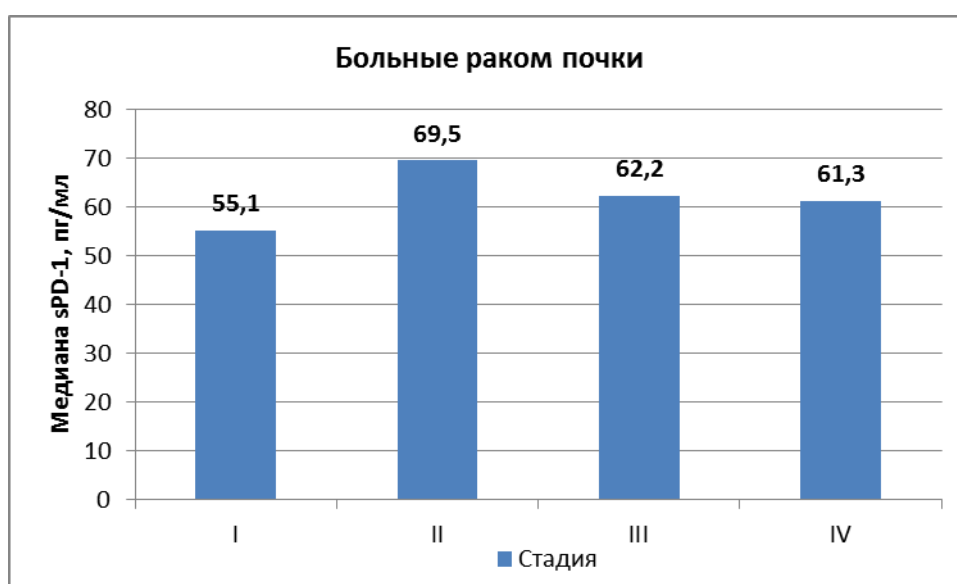


Рисунок 87. Уровни sPD-1 и стадия рака почки.

При ПКР концентрации sPD-1 не связаны с клинической стадией опухолевого процесса (рисунок 87), в отличие от лиганда, который достоверно повышался в крови с увеличением стадии ($p=0,0011$) (рисунок 88).

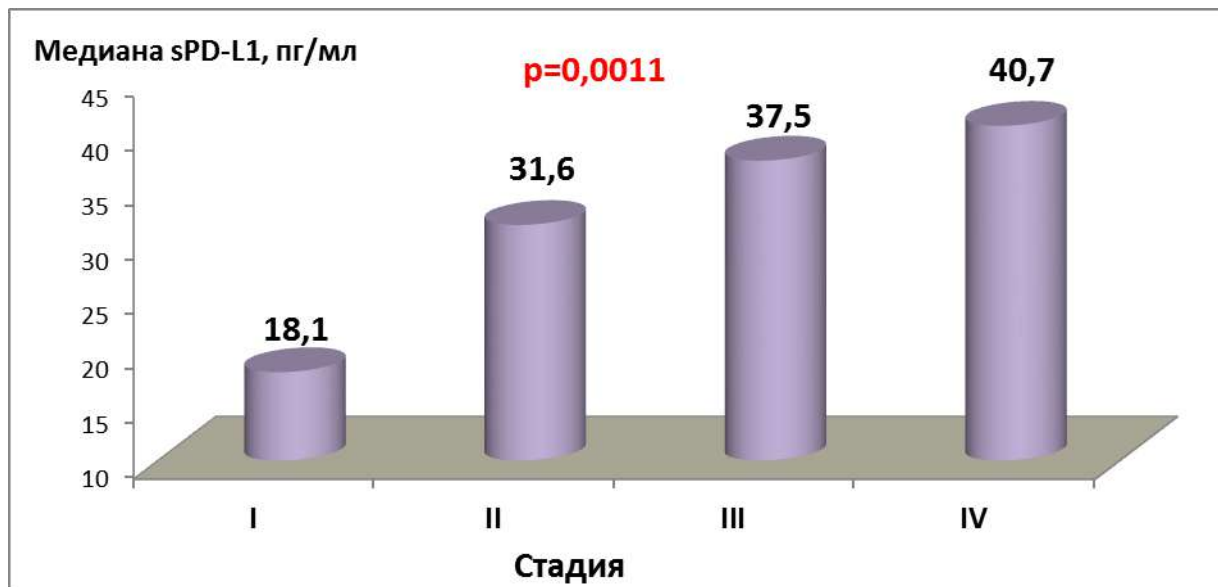


Рисунок 88. Стадия рака почки и уровни sPD-L1 в сыворотке крови больных.

При I стадии ПКР отмечены низкий уровень рецептора sPD-1 (55,1 пг/мл) и высокий показатель sPD-1/sPD-L1 (2,4).

5.4. Уровни биомаркеров с учетом морфологического варианта ПКР.

Данные этого раздела исследований представлены в таблице 62.

Рецептор sPD-1 достоверно связан гистологическим вариантом ПКР (0,0002): при светлоклетом ПКР его концентрация была достоверно ниже, чем при хромофобном ($p=0,03$) и папиллярном 1 типа ($p=0,01$) (таблица 62; рисунок 89).

Таблица 62. Гистологический вариант почечно-клеточного рака и показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 в крови пациентов

Гистологический вариант	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
¹ светлоклеточный	90	53,0; 40,9-72,6	25,2; 12,2-40,7	2,0; 1,2-4,2
² хромофобный	6	91,7; 67,7-209	26,6; 12,2-47,1	5,9; 1,6-31,8
³ папиллярный 1 тип	6	97,1; 79,9-123	29,1; 12,2-36,5	2,9; 2,4-3,5
⁴ папиллярный 2 тип	3	87,0; 72,7-108	77,2; 29,6-78,8	1,4; 0,9-2,9
p (Kruskal-Wallis test)		0,0002; 1vs2=0,03; 1vs3=0,01	0,34	0,2

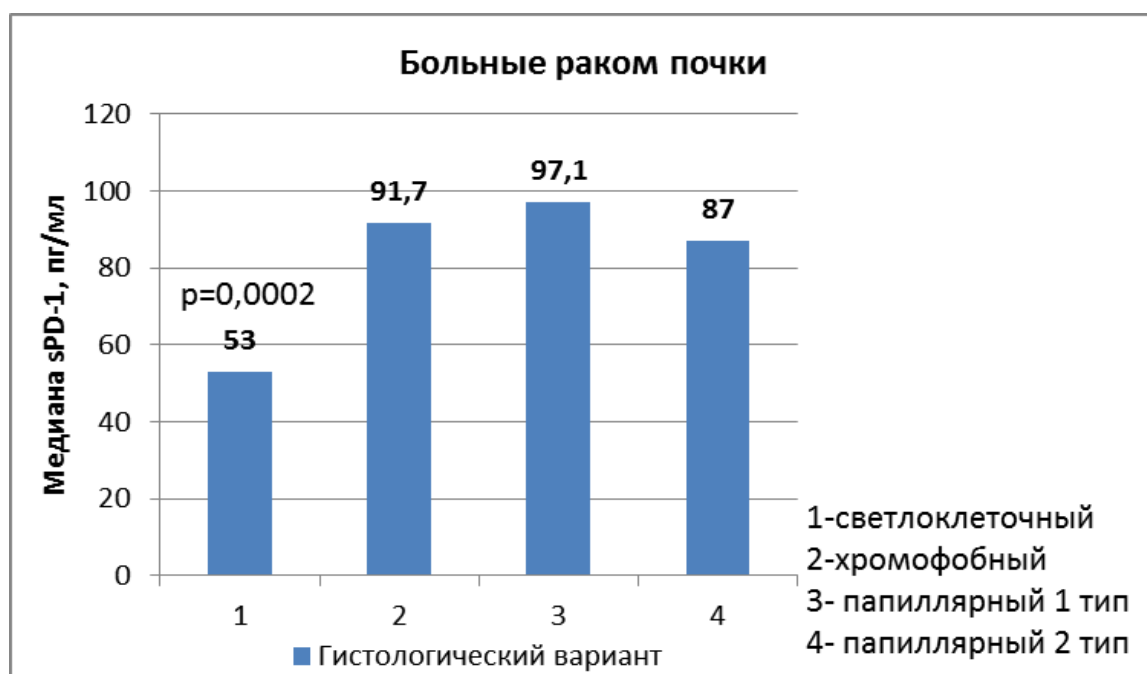


Рисунок 89. Связь уровней sPD-1 с морфологическим типом почечно-клеточного рака.

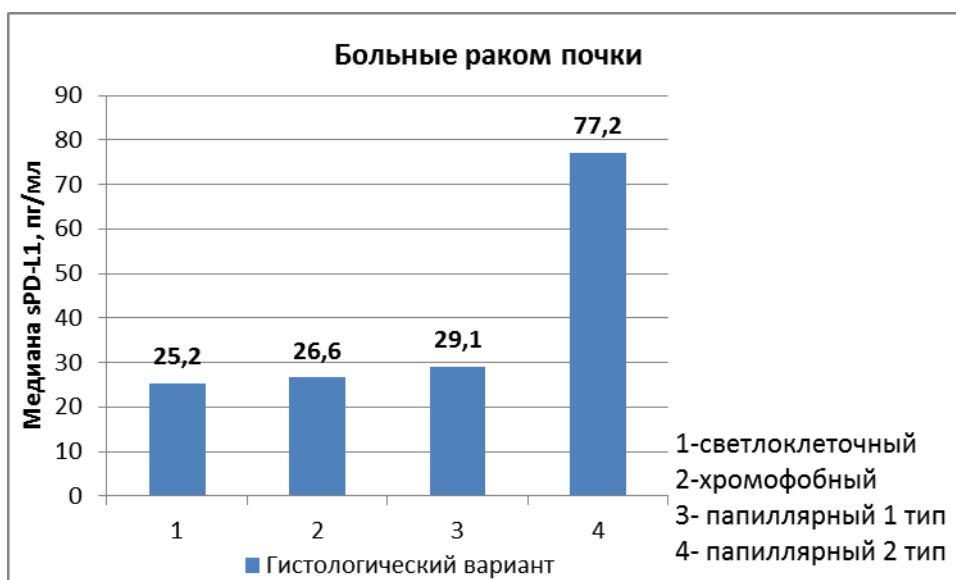


Рисунок 90. Связь уровней sPD-L1 с морфологическим типом почечно-клеточного рака.

Сывороточные уровни лиганда не связаны с морфологическим строением ПКР (рисунок 90), как и показатель sPD-1/sPD-L1 (данные не приведены) ($p>0,05$).

5.5. Уровни sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 и степень дифференцировки ПКР.

На рисунках 91 и 92 приведены данные этого раздела исследований.

Концентрации sPD-1, sPD-L1 (рисунки 91 и 92) в крови больных ПКР не отражали степень дифференцировки опухоли, хотя лиганд постепенно нарастал с повышением индекса G.

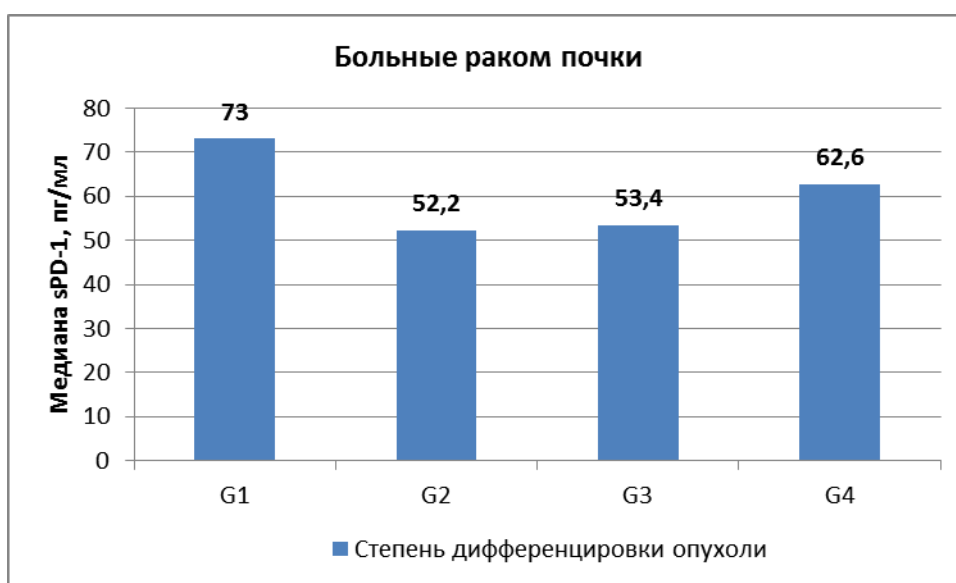


Рисунок 91. Концентрации sPD-1 в крови больных почечно-клеточным раком с учетом степени дифференцировки опухоли.

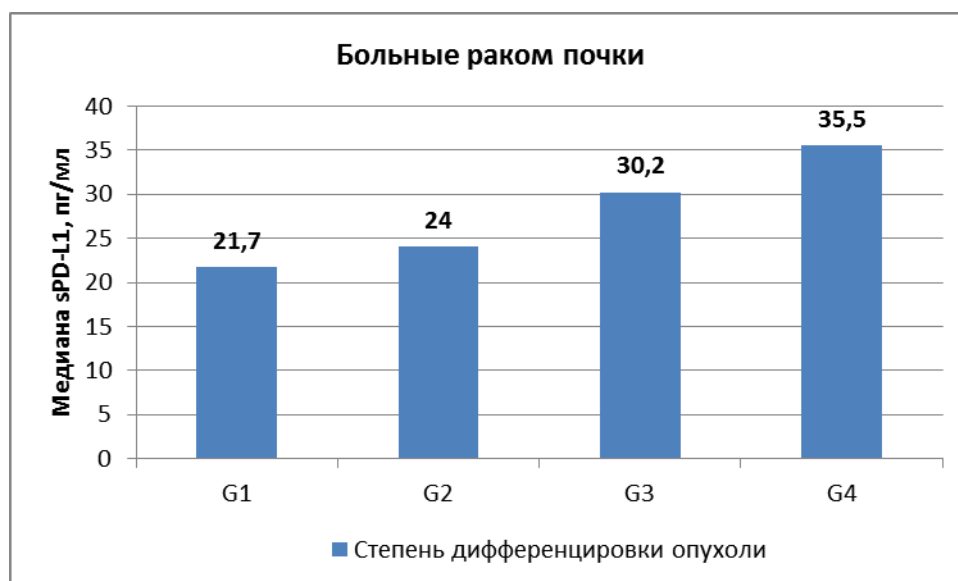


Рисунок 92. Концентрации sPD-L1 в крови больных почечно-клеточным раком с учетом степени дифференцировки опухоли.

Коэффициент соотношения показателей иммунитета sPD-1/sPD-L1 также не был связан индексом G (данные не приводим).

5.6. Данные анамнеза, клинические факторы и их связь с выживаемостью при ПКР.

Отдаленные результаты прослежены у 105 больных ПКР: 74 пациента живы на этапе завершения работы, 31 пациент умер.

Медиана срока жизни от начала лечения не была достигнута на 5-летнем сроке наблюдения (рисунок 93).

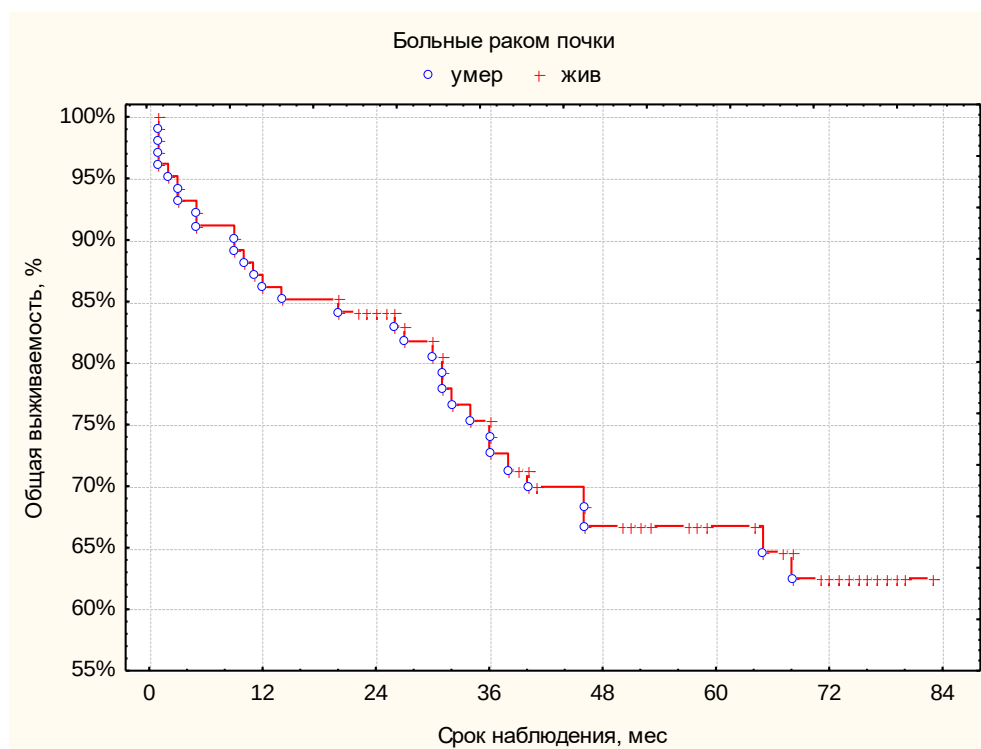


Рисунок 93. Общая выживаемость 105 первичных больных почечно-клеточным раком.

Прежде всего, следует отметить, что показатели возраста не связаны с выживаемостью больных ПКР ($p=0,88$). Приводим данные 5-летней выживаемости по декадам жизни при ПКР: в возрасте до 40 лет она составила $83\pm 23,1\%$, от 40 до 49 лет - $55,2\pm 15,9\%$, от 50 до 59 лет - $64,2\pm 9,0\%$, от 60 до 69 лет - $62,8\pm 9,0\%$ и от 70 лет и более - $39,2\pm 18,3\%$.

Показатели общей выживаемости первичных больных ПКР с учетом клинико-морфологических характеристик заболевания представлены в таблице 63.

Таблица 63. Общая кумулятивная выживаемость больных почечно-клеточным раком с учетом клинических и морфологических признаков заболевания

При знак	Града ция	N	Медиа на срока жизни	Общая кумулятивная выживаемость, %, SE					p
				1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя	
Пол	Муж.	63	Не дост.	95,7 $\pm$ 4,9	82,1 $\pm$ 4,9	68,7 $\pm$ 6,2	58,9 $\pm$ 7,0	57,4 $\pm$ 7,1	0,039
	Жен.	42	Не дост.	97,3 $\pm$ 3,4	95,1 $\pm$ 3,4	86,8 $\pm$ 5,5	79,7 $\pm$ 7,0	77,4 $\pm$ 7,5	

TNM	T1	57	Не дост.	99,1±1,2	97,2±2,2	90,7±4,2	82,7±5,8	81,1±6,1	0,000026
	T2	17	Не дост.	87,9±8,0	81,4±9,7	74,3±11,2	56,8±13,7	49,7±15,3	
	T3	29	46 мес.	64,9±8,9	61,2±9,2	52,5±9,7	47,2±10,1	44,6±10,2	
	T4	2	Умерли соответственно через 11 и 32 мес.						
	N0	90	Не дост.	93,1±2,7	90,7±3,1	85,1±4,0	76,5±5,1	75,5±5,3	0,000001
	N1	6	11 мес.	33,3±19,2	25,0±17,7	12,5±12,5	6,3±8,8	-	
	N2	9	27 мес.	66,6±15,7	55,5±16,6	30,9±15,9	15,4±13,5	7,7±10,3	
	M0	92	Не дост.	91,1±3,0	88,8±3,3	80,8±4,4	72,5±5,2	71,5±5,4	0,0023
M1	13	32 мес.	60,0±13,9	50,8±14,5	40,6±14,7	29,0±14,4	-		
Стадия	I	55	Не дост.	99,0±1,3	97,1±2,3	90,3±4,4	84,7±5,6	82,9±6,0	0,000001
	II	12	Не дост.	95,8±5,8	87,8±9,3	79,5±11,6	59,6±14,9	53,0±16,0	
	III	17	68 мес.	69,7±11,3	66,4±11,7	62,5±12,3	58,0±12,9	53,9±13,2	
	IV	21	46 мес.	61,0±10,8	55,7±11,1	38,1±11,3	24,2±10,6	19,4±9,5	
G	G1	9	Не дост.	88,2±11,1	81,4±13,8	65,2±18,3	54,3±20,7	43,4±21,5	0,002
	G2	60	Не дост.	96,6±2,4	93,1±3,3	85,0±4,9	77,4±6,1	75,8±6,4	
	G3	18	65 мес.	66,7±11,1	63,9±11,3	57,8±11,8	49,5±12,7	44,0±9,4	
	G4	12	30 мес.	63,6±14,5	52,1±15,8	39,0±16,4	26,0±15,2	19,5±9,9	
Гистол. вариант строения опухоли	Светл оклет очны й	90	Не дост.	86,3±3,7	82,6±4,1	72,7±5,0	63,9±5,8	62,8±5,9	0,06
	Хром офоб ный, папил лярн ый 1 и 2 типа	15	Не дост.	93,3±6,4	90,0±7,7	86,5±8,9	7,9±1,1	7,5±11,9	

При ПКР у женщин общая 5-летняя выживаемость значимо выше, чем у мужчин ($p=0,039$; рисунок 94).

Однако это может объясняться тем, что у мужчин преобладала IV стадия ПКР (27,0%), чем у женщин (9,5%) и низкая частота I стадии рака почки (42,9%) против женщин (66,7%).

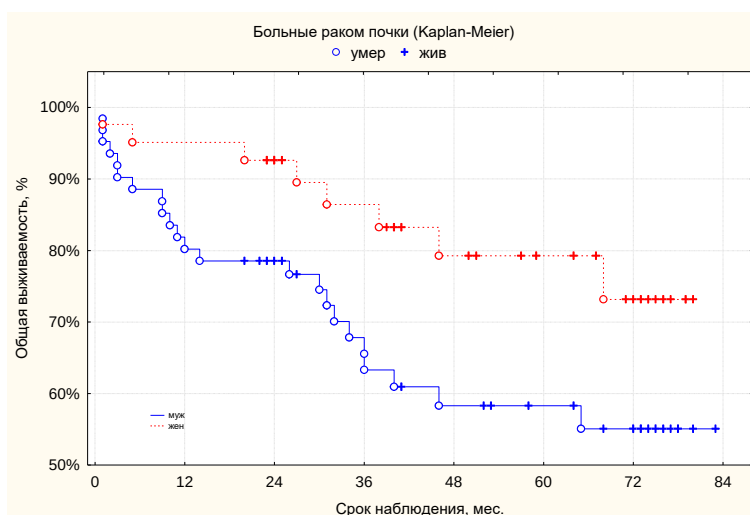


Рисунок 94. Пол больных почечно-клеточным раком и общая выживаемость.

Общая выживаемость больных ПКР достоверно связана с критерием Т: при Т1 составила $81,1 \pm 6,1\%$, при Т3 – $44,6 \pm 10,2\%$ ($p=0,000026$) (рисунок 95), медиана длительности жизни при критерии Т3) составила 46 месяцев.

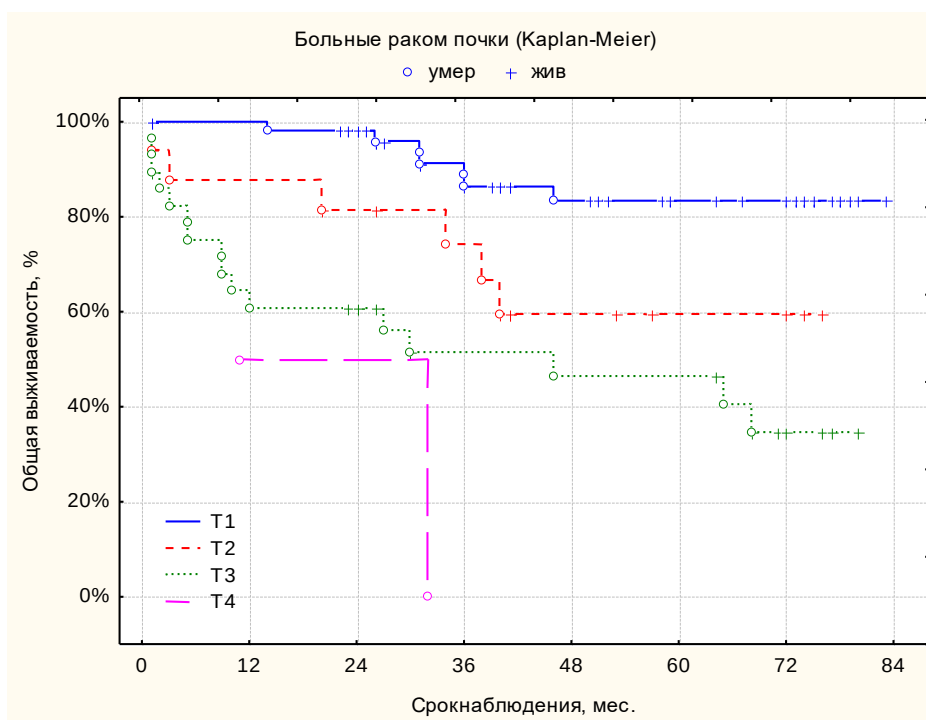


Рисунок 95. Индекс T и общая выживаемость больных почечно-клеточным раком.

Также выявлено, что общая выживаемость при ПКР связана с критерием N: при N0 она составила $75,5 \pm 5,3\%$, при N1+N2 — $7,7 \pm 10,3\%$, различие достоверно ($p=0,000001$) (рисунок 96). Медиана продолжительности жизни при N0 не достигнута, при N1 — 11 месяцев, при N2 — 27 месяцев (таблица 63).

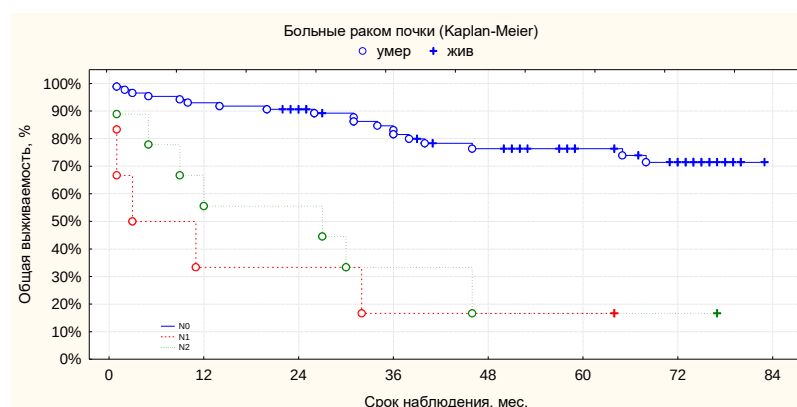


Рисунок 96. Индекс N и общая выживаемость больных почечно-клеточным раком.

Общая выживаемость достоверно ($p=0,0023$) отличалась между больными ПКР без отдаленных метастазов, индекс M0 ($72,5 \pm 5,2\%$, медиана длительности жизни не достигнута) и с выявленными отдаленными

метастазами, индекс M1 ($29,0 \pm 14,4\%$, медиана длительности жизни 32 месяца) (рисунок 97).

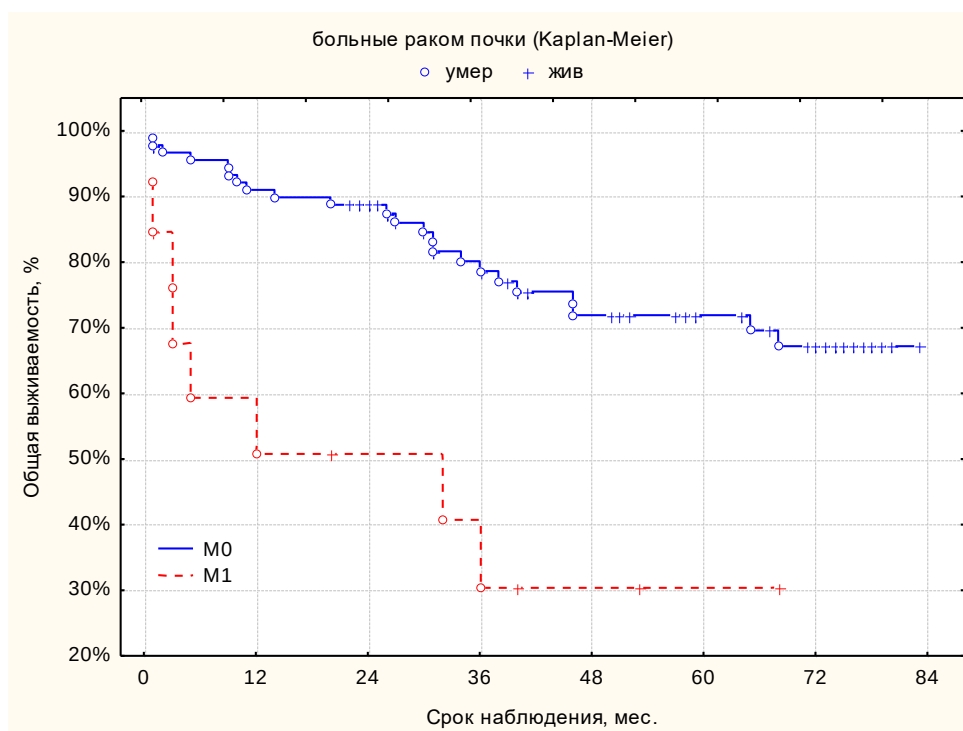


Рисунок 97. Индекс M и общая выживаемость больных почечно-клеточным раком.

Многофакторный анализ (Proportional hazard (Cox) regression) показал, что критерии T ($p=0,03$) и M ($p=0,026$) достоверно связаны с отдаленными результатами лечения больных ПКР.

Показатели 5-летней общей выживаемости больных ПКР достоверно ($p<0,000001$) зависели от клинической стадии ПКР: при I стадии – $82,9 \pm 6,0\%$, при IV стадии – $19,4 \pm 10,5\%$ (рисунок 98).

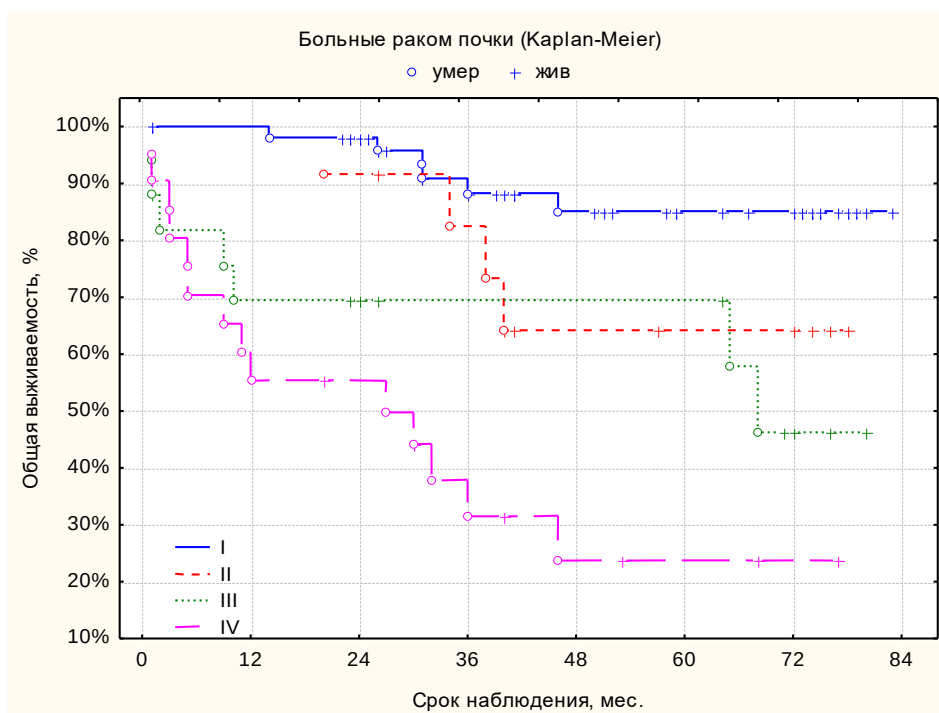


Рисунок 98. Клиническая стадия заболевания и общая выживаемость больных почечно-клеточным раком.

Достоверно ($p=0,002$) низкая общая выживаемость отмечена при индексе G4, медиана длительности жизни при G1 и G2 не достигнута, при G3 – 65 месяцев, при G4 – 30 месяцев (рисунок 99).

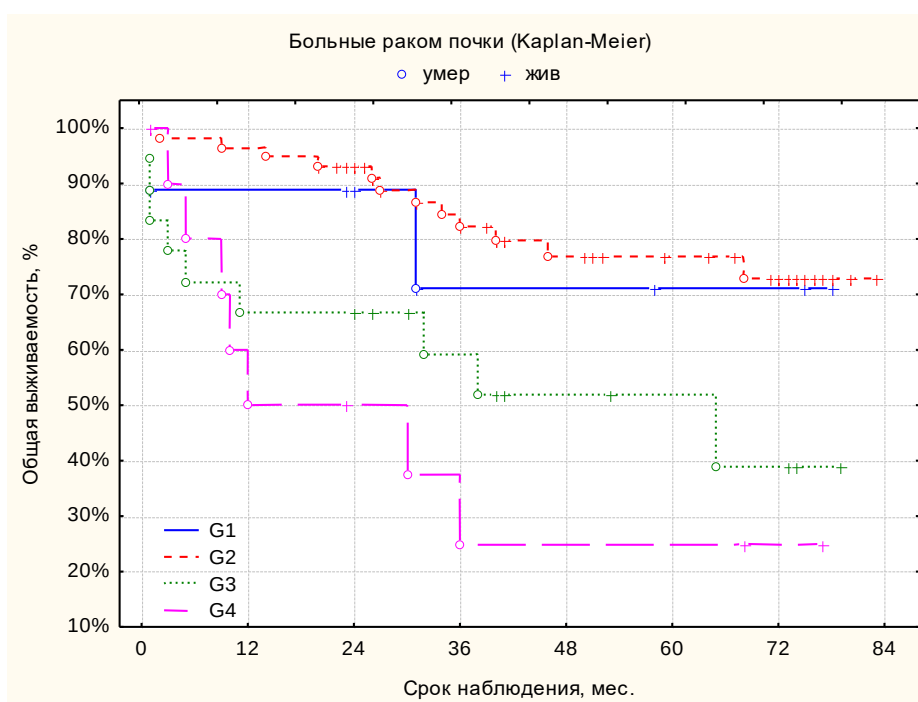


Рисунок 99. Индекс G и общая выживаемость больных ПКР.

Морфологический вариант ПКР не связан с выживаемостью пациенток, хотя при светлоклетном раке почки отмечены худшие его показатели (рисунок 100).

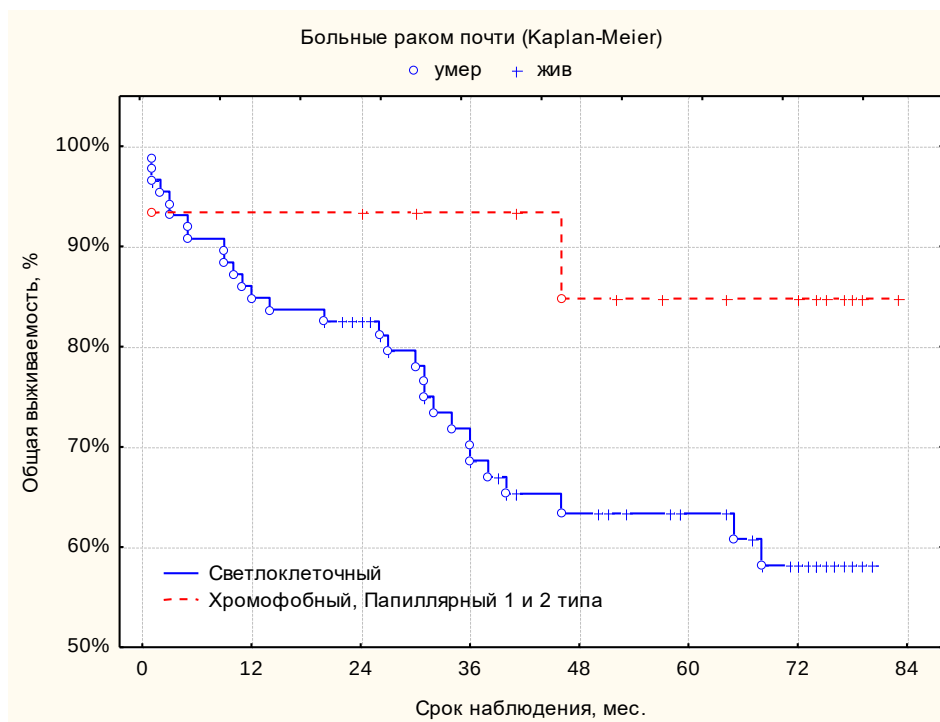


Рисунок 100. Гистологический вариант почечно-клеточного рака и общая выживаемость.

В модели из 5 факторов в многофакторном анализе (индексы T, N, M, G, пол) достоверно с выживаемостью при ПКР связан только T ($p=0,044$), остальные оказались не значимыми (M – $p=0,09$; N – 0,19; G – 0,82; пол – $p=0,15$).

5.7. Выживаемость при ПКР с учетом уровней sPD-1 и sPD-L1.

В таблице 64 приведены данные этого раздела исследования.

Анализ выживаемости при ПКР проведен у 105 пациентов в 4 группах с учетом уровня sPD-1 (таблица 64): 1) $<44,3$ пг/мл; 2) от 44,3 пг/мл до 58,8 пг/мл; 3) от 58,9 пг/мл до 75,9 пг/мл; 4) от 76,0 и более пг/мл.

Среди пациентов ПКР с высокими уровнями рецептора в крови выявлена самая высокая выживаемость (рисунок 101).

Таблица 64. Концентрации sPD-1 и выживаемость больных почечно-клеточным раком

sPD-1, пг/мл	N	Медиана срока жизни	Общая кумулятивная выживаемость, %, SE				
			1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<44,3	26	Не достигнута	88,0±6,4	85,9±7,0	81,1±8,1	74,4±9,8	70,0±11%
44,3-58,7	27	Не достигнута	88,5±6,3	86,3±6,8	74,4±8,9	64,2±10,1	59,9±11,7
58,8-75,9	25	36 мес.	80,0±8,0	72,0±9,0	55,1±10,1	45,5±10,4	42,6±10,5
≥76,0	27	Не достигнута	92,5±5,1	88,4±6,2	86,1±6,9	80,9±8,2	78,0±8,9
p	0,055						

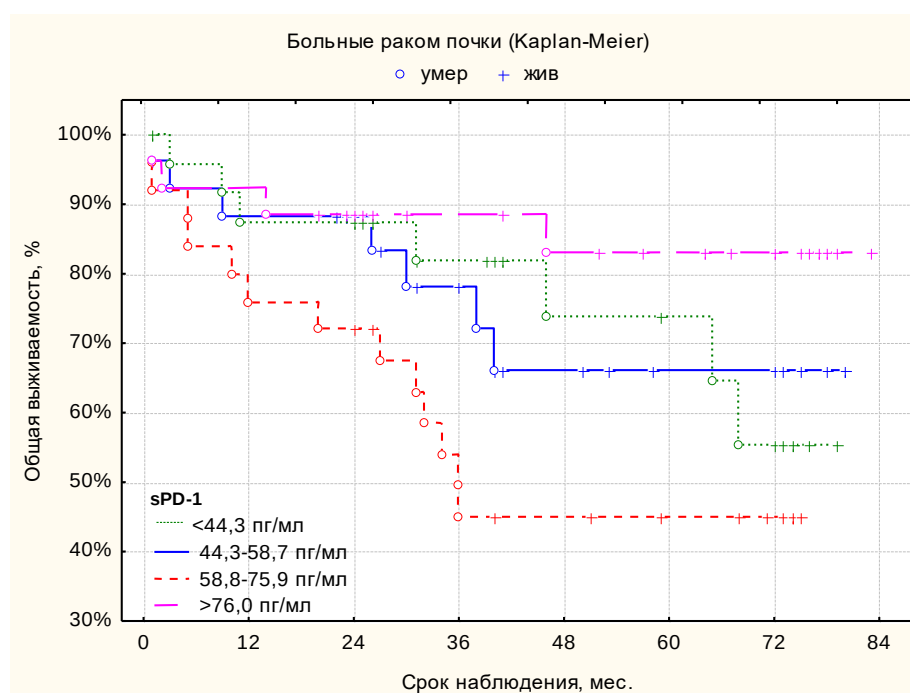


Рисунок 101. Связь сывороточных уровней sPD-1 с выживаемостью больных почечно-клеточным раком.

Пороговый уровень рецептора, составивший 76 пг/мл, достоверно разделил (Cox's F-Test $p=0,047$) больных ПКР на 2 группы: с высокой и низкой общей выживаемостью (таблица 65; рисунок 102). При этом в одной и другой группе пациентов медианы срока жизни не достигнуты.

Таблица 65. Пороговый уровень sPD-1 и выживаемость больных почечно-клеточным раком

sPD-1, пг/мл	N	Медиана срока жизни	Общая кумулятивная выживаемость, %, SE				
			1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<76,0	78	Не достигнута	85,5±4,0	82,7±4,4	71,7±5,4	61,8±6,2	60,5±6,4
≥76,0	28	Не достигнута	92,5±5,1	88,4±6,3	86,1±6,9	80,9±8,2	78,0±8,9
p	Cox's F-Test 0,047						

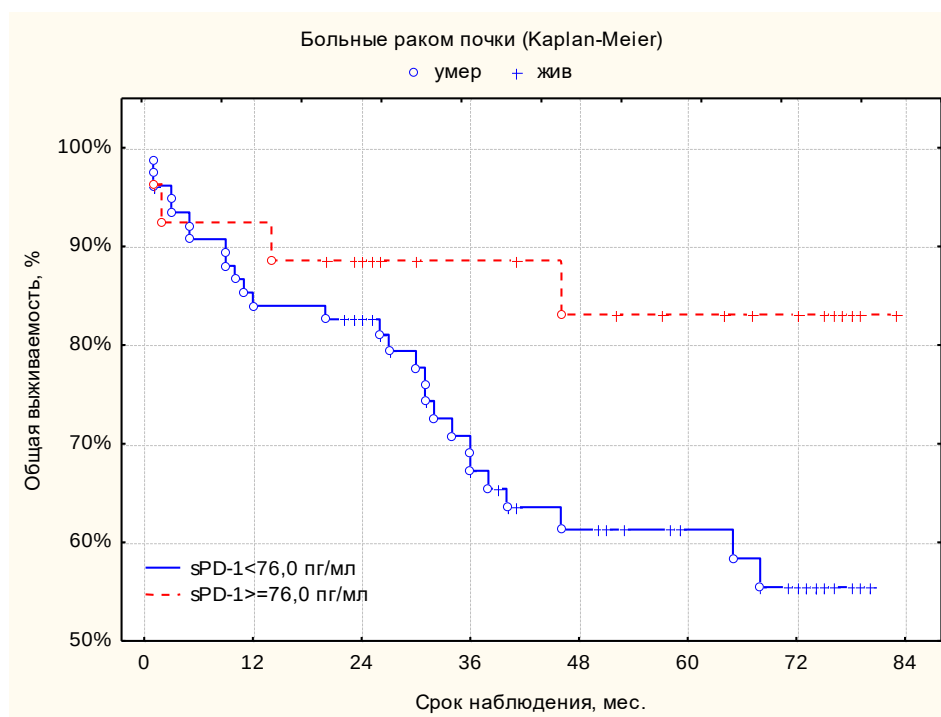


Рисунок 102. Пороговый уровень sPD-1 76 пг/мл и выживаемость больных почечно-клеточным раком.

Однако при многофакторном анализе не было отмечено связи уровней sPD-1 в крови с отдаленными результатами лечения пациентов с ПКР ($p=0,24$).

Исследовали выживаемость больных ПКР с учетом различных уровней лиганда sPD-L1, данные представлены в таблице 66.

Таблица 66. Показатели sPD-L1 и выживаемость больных почечно-клеточным раком

sPD-L1, пг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость, %				
			1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<12,2	29	Не достигнута	96,4±3,5	92,5±5,1	90,0±6,1	77,1±9,9	73,1±10,9
12,2 – 28,1	24	Не достигнута	97,8±3,1	95,6±4,3	76,0±9,4	72,5±10,2	68,2±11,2
28,2 – 42,6	25	Не достигнута	92,2±5,3	84,1±7,3	80,0±8,0	66,7±9,7	64,1±10,0
≥42,6	27	40 мес.	62,3±9,4	60,2±9,5	50,9±10,7	45,6±10,3	42,3±10,6
p	0,0022						

Из данных таблицы 66 следует, что при ПКР значимое снижение выживаемости тесно связано с повышением сывороточной концентрации sPD-L1 ($p=0,0022$). Самые высокие показатели 5-летней выживаемости выявлены при уровнях лиганда менее 12,2 пг/мл ($73,1\pm10,9\%$). Тогда как при уровнях лиганда $\geq 42,6$ пг/мл выживаемость была наиболее низкой ($42,3\pm10,6\%$) при медиане срока жизни 40 месяцев. По результатам проведенного нами исследования следует указать, что при высоких концентрациях sPD-L1 почти половина пациентов умерли в первые 3 года от начала лечения (рисунок 103).

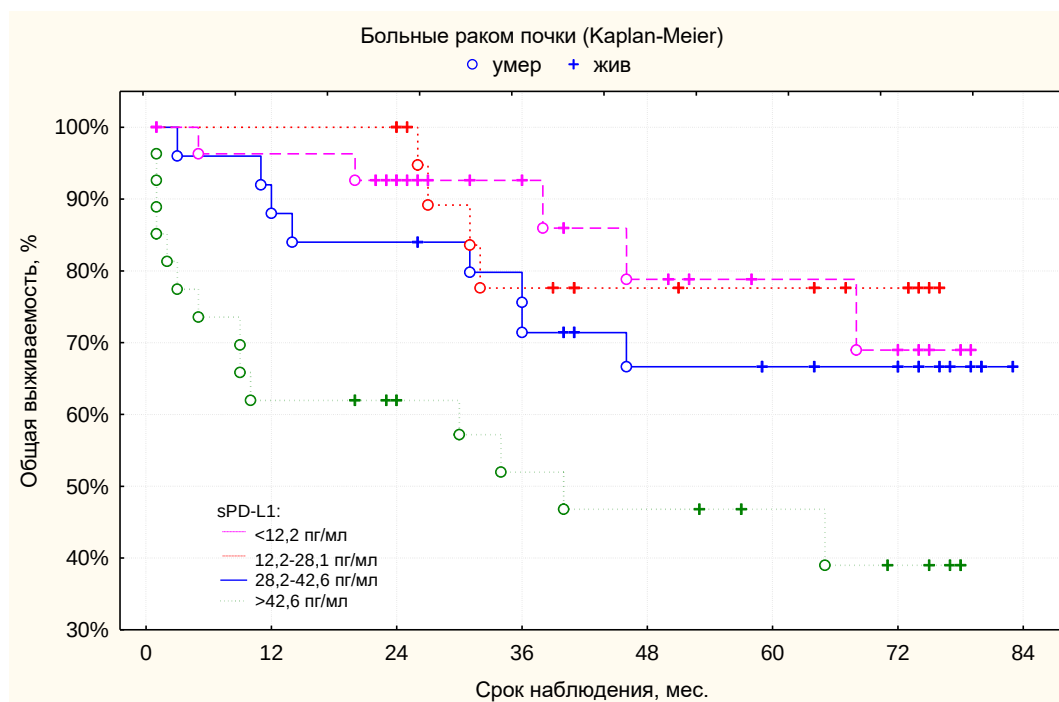


Рисунок 103. Уровни sPD-L1 и общая выживаемость больных почечно-клеточным раком.

При разделении больных раком почки по порогу sPD-L1, равному 42,6 пг/мл раком почки, Log-Rank Test показал значимые различия общей выживаемости ($p=0,0012$) (таблица 67). При этом различия 1-летней выживаемости составили 28,4%, а 5-летней – 43,4% (рисунок 104).

Таблица 67. Связь порогового уровня sPD-L1 42,6 пг/мл в сыворотке крови с общей выживаемость больных почечно-клеточным раком

sPD-L1, пг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость, %				
			1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<42,6	78	Не достигн.	96,1±2,2	91,9±3,2	84,1±4,4	74,3±5,7	73,1±5,8
≥42,6	27	40 мес.	62,3±9,4	60,2±9,5	50,9±10,1	45,6±10,3	42,3±10,6
p	0,0013						

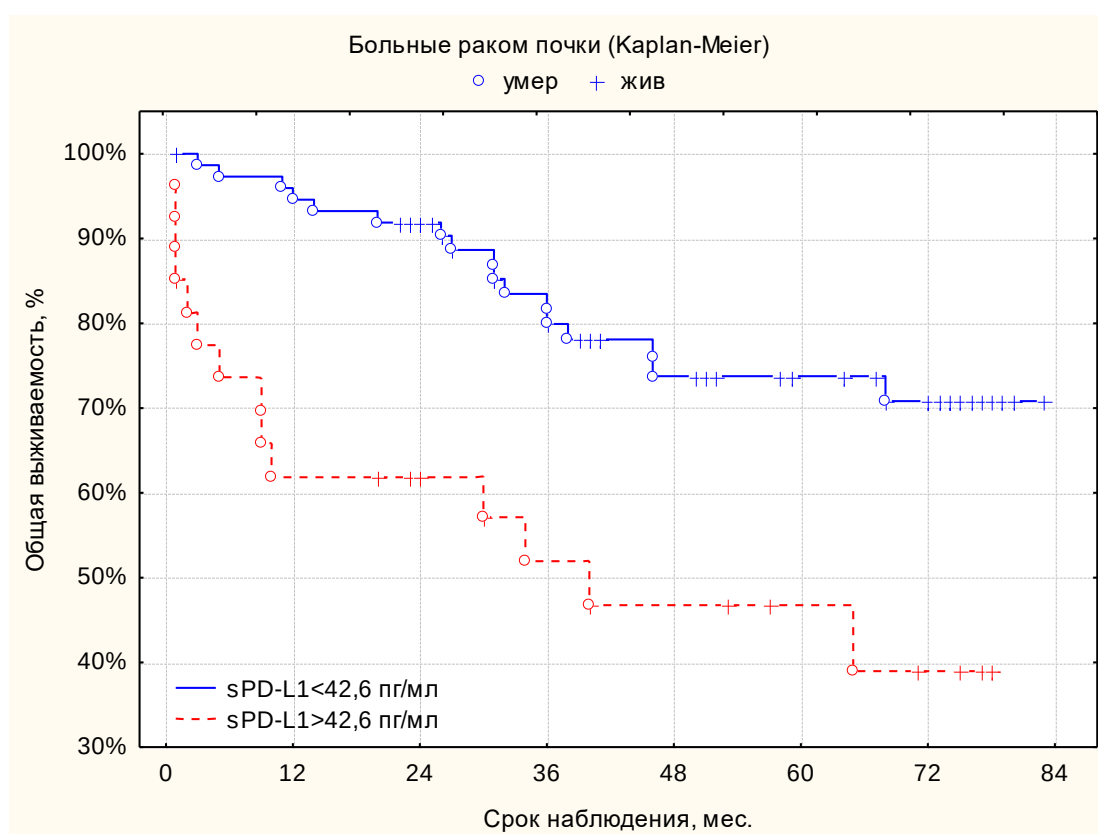


Рисунок 104. Общая выживаемость больных почечно-клеточным раком с учетом уровней sPD-L1 менее и более 42,6 пг/мл.

Многофакторный анализ (Proportional hazard (Cox) regression) убедительно доказал, что пороговый уровень sPD-L1 42,6 пг/мл также следует считать независимым фактором прогноза выживаемости ($p=0,043$) наряду с критерием Т ($p=0,0011$) и индексом М ($p=0,03$) (таблица 68).

Следовательно, уровни лиганда в сыворотке крови при ПКР позволяют уточнить прогноз заболевания, при этом его концентрации $\geq 42,6$ пг/мл следует считать неблагоприятным прогностическим фактором.

Таблица 68. Многофакторный анализ общей выживаемости при почечно-клеточном раке

Факторы	Beta	St.Error	t-value	Wald Statistic	P
Критерий Т	0,805	0,247	3,25	10,61	0,0011
Критерий М	1,074	0,496	2,17	4,65	0,03
Критерий sPD-L1	0,905	0,446	1,78	4,11	0,043

5.8. Показатели sPD-1 и sPD-L1 в диагностике рака почки.

Результаты ROC-анализа представлены на рисунках 105 и 106.

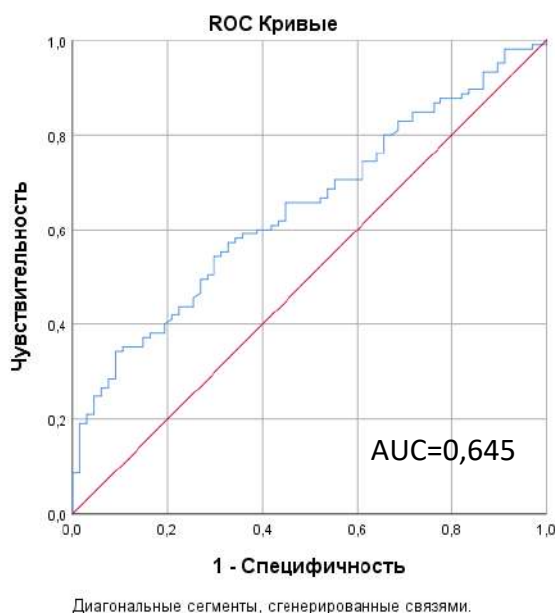


Рисунок 105. Анализ ROC-кривой для sPD-1 у больных раком почки.

ROC-анализ для sPD-1 при ПКР показал, что при концентрации рецептора 72,3 пг/мл чувствительность метода составила 34%,

специфичность 91% (AUC – площадь под кривой 0,645 ($p=0,001$); индекс Юдена 0,253). Эти данные свидетельствуют о том, что использовать данный белок в диагностике ПКР невозможно (рисунок 105).

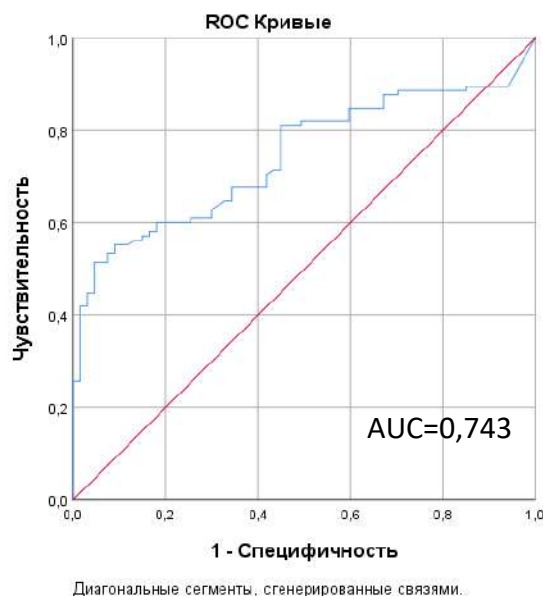


Рисунок 106. Анализ ROC-кривой для sPD-L1 у больных раком почки.

ROC-анализ сывороточного sPD-L1 у больных ПКР показал, что при концентрации лиганда 27,7 пг/мл чувствительность метода составила 51%, специфичность 95% (AUC – площадь под кривой 0,743 ($p=0,0001$); индекс Юдена 0,470), что указывает перспективу дальнейших исследований биомаркера в диагностике ПКР (рисунок 106).

Исследование показателей биомаркеров в сыворотке крови больных ПКР позволяет сделать следующие выводы:

- У больных ПКР уровни рецептора sPD-1 в сыворотке были статистически значимо выше (56,7 пг/мл), чем в контроле (48,8 пг/мл; $p=0,004$), концентрации sPD-1, наоборот, были значимо ниже у пациентов с доброкачественными опухолями почки (47,3 пг/мл), чем при ПКР (58,8 пг/мл) ($p=0,013$).
- Частота сывороточных уровней sPD-1 (от 76,3 пг/мл и выше) при ПКР выше, чем у 95% здоровых доноров группы контроля.

- Такие клинико-морфологические характеристики как пол, возраст, критерии системы TNM, стадия заболевания, степень дифференцировки опухоли не связаны с уровнями рецептора в сыворотке крови.
- Сывороточные уровни рецептора зависели от морфологии ПКР. Самые низкие концентрации sPD-1 обнаружены при светлоклеточном (55,4 пг/мл) по сравнению с хромофобным (91,7 пг/мл) и папиллярным ПКР 1 типа (97,1 пг/мл) ($p=0,002$).
- Медианы сывороточного sPD-L1 у больных опухолями почки высокочисло выше таковых у здоровых доноров группы контроля (27,0 и 7,6 пг/мл соответственно, $p<0,0001$). Медиана sPD-L1 при доброкачественных новообразованиях почки составила 18,6 пг/мл и не отличалась от такового показателя при ПКР (18,6 пг/мл) ($p>0,05$).
- Выявили значимо высокие уровни sPD-L1 у больных ПКР мужчин (32,5 пг/мл) относительно женщин (17,9 пг/мл; $p<0,05$).
- Не обнаружено значимой связи концентраций sPD-L1 в плазме крови больных раком почки с возрастом, гистологическим вариантом строения опухоли и степенью дифференцировки опухоли.
- Обнаружено достоверное повышение лиганда sPD-L1 в сыворотке крови с увеличением индексов T, N, M системы TNM и стадией ПКР.
- Сывороточные уровни лиганда связаны со степенью дифференцировки ПКР, маркер достоверно снижался при снижении степени дифференцировки опухоли (с 34,2 пг/мл при G1 до 20,6 пг/мл при G3, $p=0,019$).
- Как в контроле, так и при ПКР не выявили корреляционной ассоциации между уровнями исследуемых рецептора и лиганда в сыворотке крови ($r_s=-0,05$ и $r_s=0,16$, соответственно).
- Коэффициент sPD-1/sPD-L1 у пациентов с новообразованием почки общей группы был достоверно ниже (2,2), чем в контроле (4,6;

$p < 0,0001$), не различался при ПКР (2,1) и ДОП (3,0), а при ПКР был высокочислительно ниже, чем в контроле ($p < 0,0001$).

- Показатель sPD-1/sPD-L1 не связан с основными клиническими и морфологическими характеристиками ПКР: пол и возраст пациентов, критерии TNM, стадия заболевания, морфологический вариант опухоли и степень ее дифференцировки.
- Однофакторный анализ показал, что общая выживаемость больных ПКР достоверно связана с критериями Т ($p = 0,00016$), N ($p < 0,0001$), М ($p = 0,0085$), стадией заболевания ($p < 0,0001$), степенью дифференцировки опухоли ($p = 0,02$), полом пациентов ($p = 0,027$). Многофакторный анализ показал преимущественное влияние на общую выживаемость критериев Т ($p = 0,044$) и М ($p = 0,09$).
- Сывороточные уровни sPD-1 не связаны общей выживаемостью больных ПКР.
- Общая выживаемость больных раком почки значимо снижалась по мере увеличения концентраций лиганда sPD-L1 в плазме крови пациентов ($p = 0,0064$). Так, наилучшая 5-летняя общая выживаемость отмечена в группе с наименьшими концентрациями sPD-L1 (менее 12,2 пг/мл), составившая $91,6 \pm 5,7\%$, а наихудшая - при наибольших значениях sPD-L1 от 42,6 пг/мл и более и равная $27,8 \pm 20,0\%$ с медианой срока жизни 33,4 месяца ($p = 0,0064$).
- У 44,3% больных ПКР с уровнем сывороточного лиганда (от 42,6 пг/мл и более) достоверно снижались показатели выживаемости, поэтому sPD-L1 следует считать неблагоприятным фактором прогноза 4-летней выживаемости больных ПКР ($p = 0,0012$).
- **Многофакторный** анализ связи общей выживаемости больных ПКР показал, что лиганд sPD-L1 можно считать независимым фактором прогноза ($p = 0,043$) наряду с критерием Т ($p = 0,0011$) и индексом М ($p = 0,03$).

ГЛАВА 6.

sPD-1 и sPD-L1 В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЯИЧНИКОВ (результаты собственных исследований)

6.1. Содержание sPD-1 и sPD-L1 в контроле и у больных новообразованиями яичников (общая группа).

Исследовали концентрации sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови 141 пациентки: ЗОЯ (n=109), ПОЯ (n=10), ДОЯ (n=22).

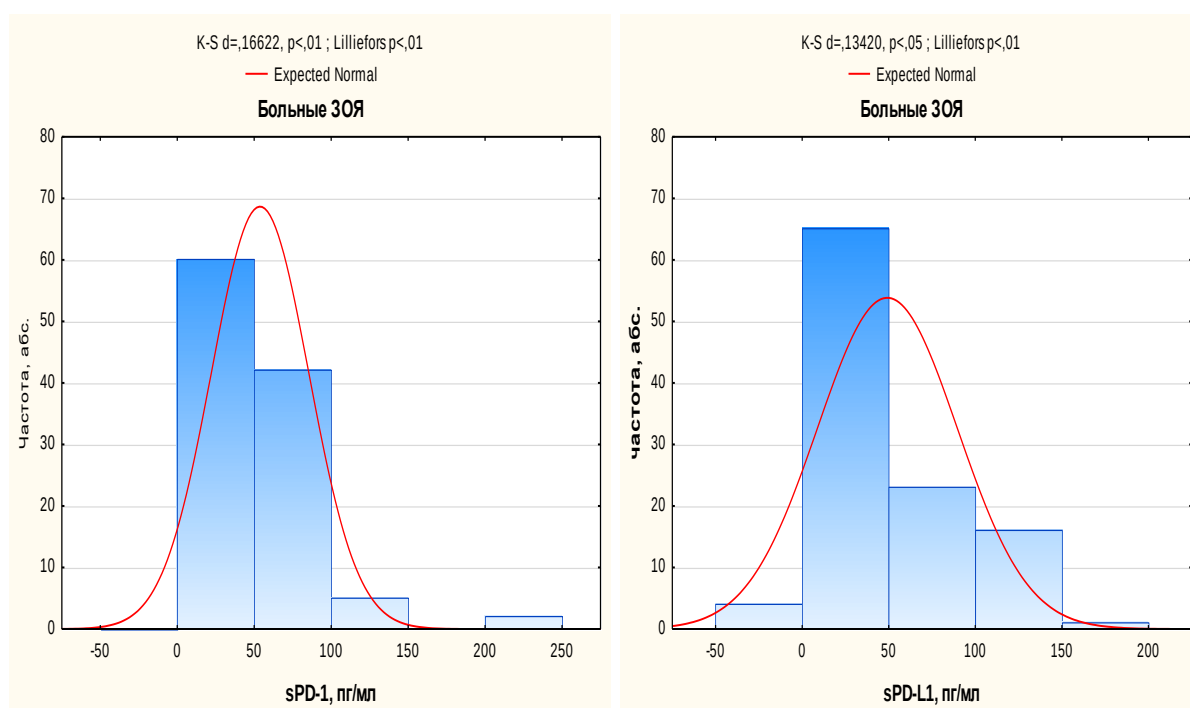


Рисунок 107. Концентрации sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови больных опухолями яичников.

Следует указать, что уровни плазменных биомаркеров sPD-1 и sPD-L1 у пациенток с ЗОЯ отличались от распределения Гаусса (рисунок 107), поэтому для их характеристики использовали непараметрические методы, а в качестве характеристики медиану и квартили. Результаты представлены в таблице 69.

Таблица 69. Уровни биомаркеров в контроле и больных опухолями яичников
(общая группа)

Группа	N	Статистики	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	N	sPD-1/sPD-L1
Контроль	35	Медиана	43,8	60,9	35	0,8
		Квартили	33,7-54,6	26,2-91,7		0,4-1,8
		Пределы	19,1-66,4	7,6-149		0,3-5,9
		95%ДИ	22,7-66,3	9,0-110		0,3-4,8
Опухоли яичников	141	Медиана	47,9	32,2	137	1,6
		Квартили	35,8-61,8	15,2-71,2		0,7-3,1
		Пределы	11,7-219	0-176		0,1-17,7
		95%ДИ	24,8-119	4,3-121		0,3-7,8
P (Mann-Whitney U test)			0,13	0,019		0,0029

Не выявили различий в уровнях рецептора между контролем (47,9 пг/мл) и больными с новообразованиями яичников (НОЯ) (общая группа) (43,8 пг/мл; $p=0,13$), тогда как содержание лиганда было достоверно ниже у больных (32,2 пг/мл), по сравнению с контролем (60,9 пг/мл; $p=0,019$) (таблица 69).

Показатели sPD-1/sPD-L1 достоверно ($p=0,0029$) различались у больных и в контроле (таблица 70).

В таблице 70 представлены концентрации показателей иммунитета в плазме крови больных новообразованиями яичников в зависимости от их морфологического строения.

Выявили, что уровни рецептора в контроле не отличались от больных ДОЯ, ПОЯ, ЗОЯ, но достоверно различались между ДОЯ (53,6 пг/мл) и ПОЯ (36,9 пг/мл; $p=0,015$) (таблица 70).

Не обнаружили различий в уровнях лиганда между больными ДОЯ, ПОЯ, ЗОЯ и в контроле (таблица 70).

Показатель sPD-1/sPD-L1 отличался только между контролем и больными ДОЯ (таблица 70).

Таблица 70. Концентрации sPD-1, sPD-L1 и их соотношение sPD-1/sPD-L1 в группах больных доброкачественными, пограничными и злокачественными новообразованиями яичников

Группа	N	Статистики	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1 / sPD-L1
⁰ Контроль	35	Медиана	43,8	60,9	0,8
		Квартили	33,7-54,6	26,2-91,7	0,4-1,8
		Пределы	19,1-66,4	7,6-149	0,3-5,9
		95%ДИ	22,7-66,3	9,0-110	0,3-4,8
¹ ДОЯ	22	Медиана	53,6	22,7	2,2
		Квартили	44,9-85,3	14,0-49,8	1,6-4,3
		Пределы	32,1-150	5,9-154	0,3-14,4
		95%ДИ	32,7-126	11,9-88,8	0,6-9,0
² ПОЯ	10	Медиана	36,9	26,7	1,5
		Квартили	30,4-45,8	10,8-61,8	0,7-2,8
		Пределы	11,7-52,9	5,8-113	0,3-5,1
		95%ДИ	11,7-52,9	5,8-113	0,3-5,1
³ ЗОЯ	109	Медиана	47,9	40,5	1,3
		Квартили	35,5-61,9	15,5-79,5	0,7-3,0
		Пределы	18,6-219	0-176	0,1-17,7
		95%ДИ	24,7-107	3,6-121	0,4-7,4
P (Kruskal-Wallis test)			⁰ _{vs1} =0,058; ¹ _{vs2} =0,015; ² _{vs3} =0,18	⁰ _{vs1} =0,065; ⁰ _{vs2} =0,4; ⁰ _{vs3} =0,3	⁰ _{vs1} =0,0018; ⁰ _{vs3} =0,074; ¹ _{vs3} =0,2

Не выявили корреляционной связи между уровнями рецептора и лиганда в контроле ($r_s = -0,01$) и у больных ЗОЯ ($r_s = 0,2$).

Отмечено повышение показателя соотношения sPD-1/sPD-L1 во всех группах пациенток относительно контроля, но это различие было достоверным только при ДОЯ (медианы 2,2 и 0,8, $p=0,0018$).

Коэффициенты соотношения sPD-1/sPD-L1 у больных ПОЯ и ЗОЯ были сопоставимы (медианы 1,5 и 1,3; $p>0,05$) (рисунок 108). При этом, частота превышения концентраций лиганда sPD-L1 над рецептором sPD-1 в плазме крови обследованных женщин было наименьшим в группе больных

ДОЯ (18,2%, 4 из 22), увеличивалось до 40,0% (4 из 10) в группе больных ПОЯ и до 42,2% (46 из 109) у больных ЗОЯ ($p=0,1$).

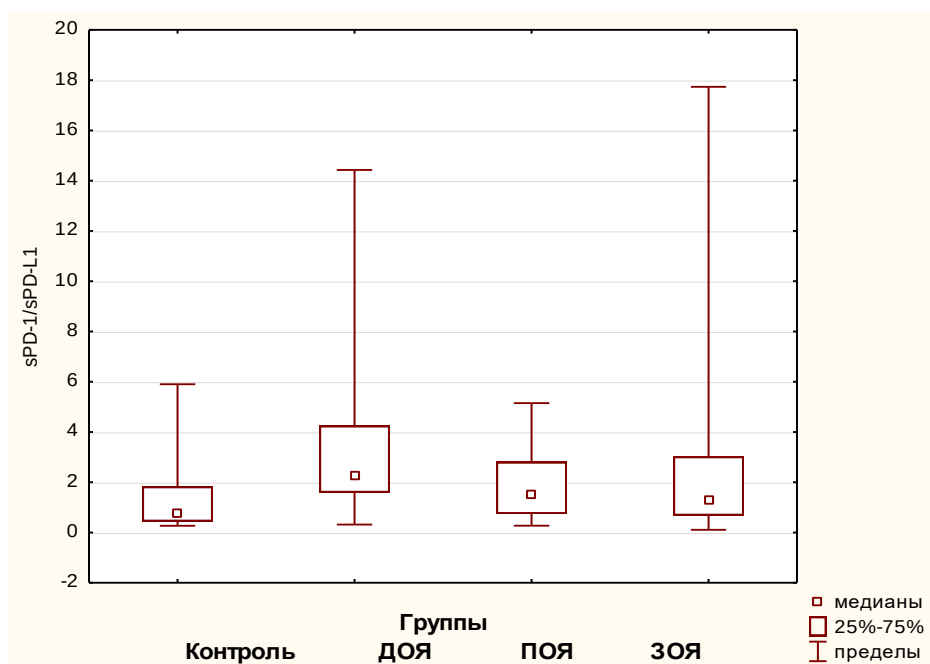


Рисунок 108. Показатель PD-1/sPD-L1 в обследованных группах.

6.2. Уровни sPD-1 и sPD-L1 в контроле и у больных злокачественными опухолями яичников с учетом возраста.

Не обнаружили корреляционной связи между плазменными уровнями sPD-1 и возрастом в контроле ($r_s = -0,1$) и у больных ЗОЯ ($r_s = 0,1$), а также между уровнями лиганда и возрастом в контроле ($r_s = -0,14$) и в группе пациенток с ЗОЯ ($r_s = -0,05$).

Дисперсионный анализ не подтвердил связи уровней sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 с возрастом (по декадам) в контроле и при ЗОЯ (таблица 71).

В таблице 72 приведены данные о биомаркерах у больных ЗОЯ, которые показывают на отсутствие их связи с состоянием репродуктивной функции.

Таблица 71. Показатели биомаркеров в контроле и у больных злокачественными опухолями яичников с учетом возраста

Группа	Возраст, лет	N	Медиана; квартили			
			sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1	
Контроль	18-29	7	59,9; 43,8-64,3	42,0; 30,2-99,4	7	1,0; 0,6-1,9
	30-39	7	37,8; 34,6-45,8	62,1; 49,5-82,8	7	0,5; 0,4-0,9
	40-49	9	29,6; 28,0-42,2	90,2; 43,9-102	9	0,4; 0,3-1,0
	50-59	9	49,4; 43,8-54,6	36,8; 25,3-91,7	9	1,5; 0,5-1,8
	≥60	3	44,7; 26,9-53,8	26,2; 7,6-58,9	3	2,1; 0,5-5,9
p (Mann-Whitney U test)			>0,05	>0,05		>0,05
Больные ЗОЯ	18-29	2	38,6 и 127*	4,3 и 36,2*	2	3,5 и 8,9*
	30-39	10	42,9; 37,1-52,3	46,1; 26,2-66,1	10	0,9; 0,5-2,1
	40-49	18	40,6; 33,2-50,3	39,9; 24,7-60,4	16	1,0; 0,6-1,5
	50-59	43	49,0; 36,3-59,3	36,1; 11,9-82,0	42	1,3; 0,6-3,6
	60-69	24	53,1; 32,4-73,1	44,4; 15,8-84,7	23	1,0; 0,7-3,4
	≥70	12	54,8; 46,2-69,1	23,7; 16,9-89,4	12	2,3; 0,7-3,5
P (Mann-Whitney U test)			>0,05	>0,05		>0,05

Примечание: * - абсолютное значение.

Таблица 72. Показатели биомаркеров и репродуктивная функция больных злокачественными опухолями яичников

Менструальный статус	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Норма	20	49,0; 37,8-59,3	37,8; 7,0-60,4	1,2; 1,0-4,0
Менопауза	82	45,4; 35,1-62,3	26,5; 14,8-46,9	2,0; 1,0-3,4
Дисменорея	6	55,9; 36,8-71,0	30,2; 4,2-66,2	1,4; 1,1-6,9
Аменорея	1	25,2*	64,7*	0,4*
P (Kruskal-Wallis test)		0,9	0,4	0,5

Примечание: * - абсолютное значение.

6.3. Показатели иммунитета sPD-1 и sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом стадии заболевания по системе TNM и FIGO.

Рассчитали концентрации sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови, а также коэффициент их соотношения sPD-1/sPD-L1 в группе больных злокачественными опухолями яичников с учетом индекса Т системы TNM (таблица 73).

Таблица 73. Показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом индекса Т

Критерий Т	N	Медиана; квартили		
		sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
In situ	1	44,1*	12,4*	3,6*
T1	28	44,5; 34,2-55,1	14,8; 7,7-43,7	2,6; 1,0-5,5
T2	15	51,2; 33,2-60,9	23,7; 5,9-42,9	3,0; 0,7-4,4
T3	65	48,1; 37,1-68,0	48,8; 26,2-99,4	1,0; 0,5-2,1
P (Kruskal-Wallis test)		0,7	0,0001	0,0012

Индекс Т не был связан с уровнями плазменного sPD-1 у больных ЗОЯ ($p=0,7$) (рисунок 109).

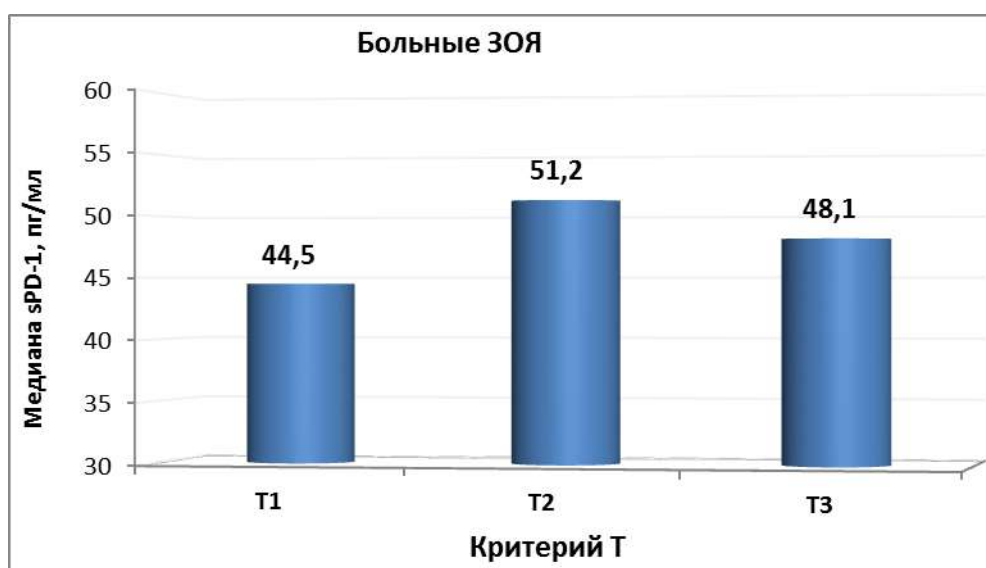


Рисунок 109. Плазменный уровень sPD-1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом критерия Т.

Уровень лиганда значительно повышался при ЗОЯ ($p < 0,0001$) с увеличением критерия Т (рисунок 110).

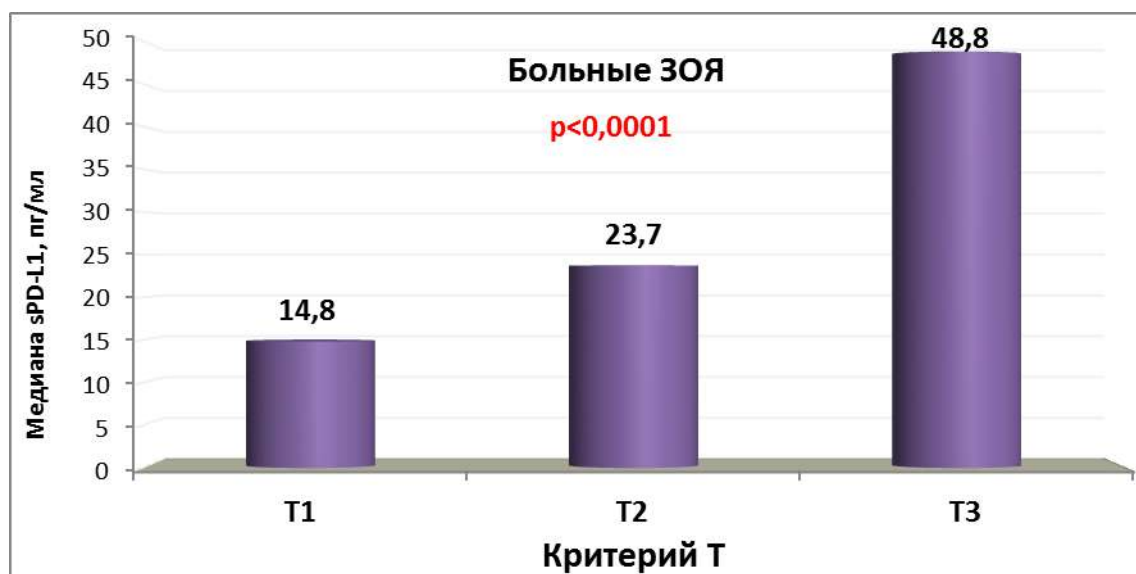


Рисунок 110. Плазменный уровень sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом критерия Т.

Из данных, представленных на рисунке 115 следует, что медиана коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1 при индексе Т3 достоверно снижена и составила 1,0 ($p = 0,0012$) относительно Т2 (рисунок 111).

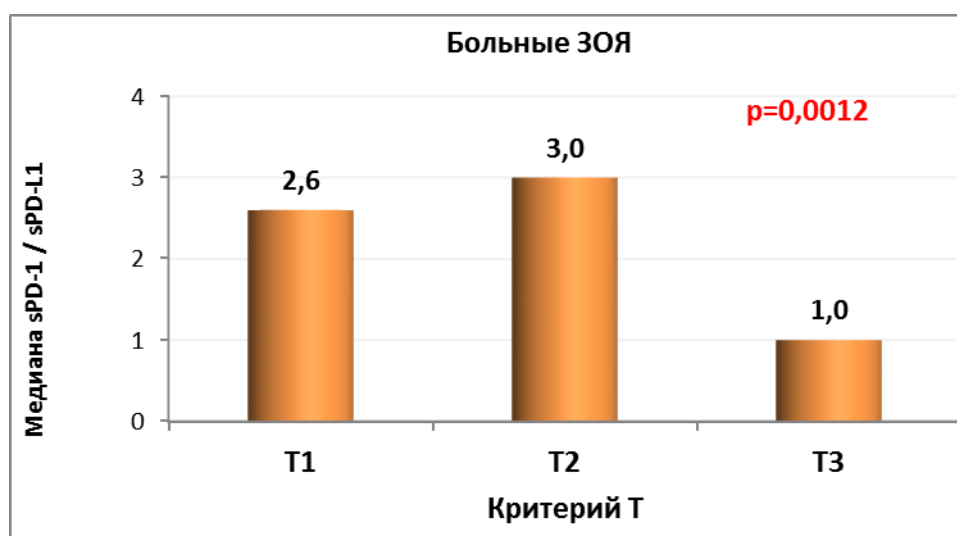


Рисунок 111. Показатель sPD-1/sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом критерия Т.

Следует отметить, что частота превышения концентраций лиганда sPD-L1 над sPD-1 была наименьшей при Т0-Т1 (26,9%, 7 из 26), но повышалась до

33,3% (5 из 15) при T2 и до 53,1% (34 из 64) при T3 ($p=0,05$ сильная тенденция к различию частот).

Провели анализ уровней sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 у больных ЗОЯ с учетом индекса N (таблица 74).

Таблица 74. Показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом индекса N

Критерий N	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
N0	100	47,9; 36,1-62,3	37,9; 14,8-75,7	1,3; 0,7-3,2
N1	9	47,8; 38,6-62,4	69,6; 31,1-101	0,8; 0,4-1,7
p Mann-Whitney		0,7	0,093	0,16

Показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 у больных ЗОЯ не связаны с критерием N (таблица 74; рисунок 112).

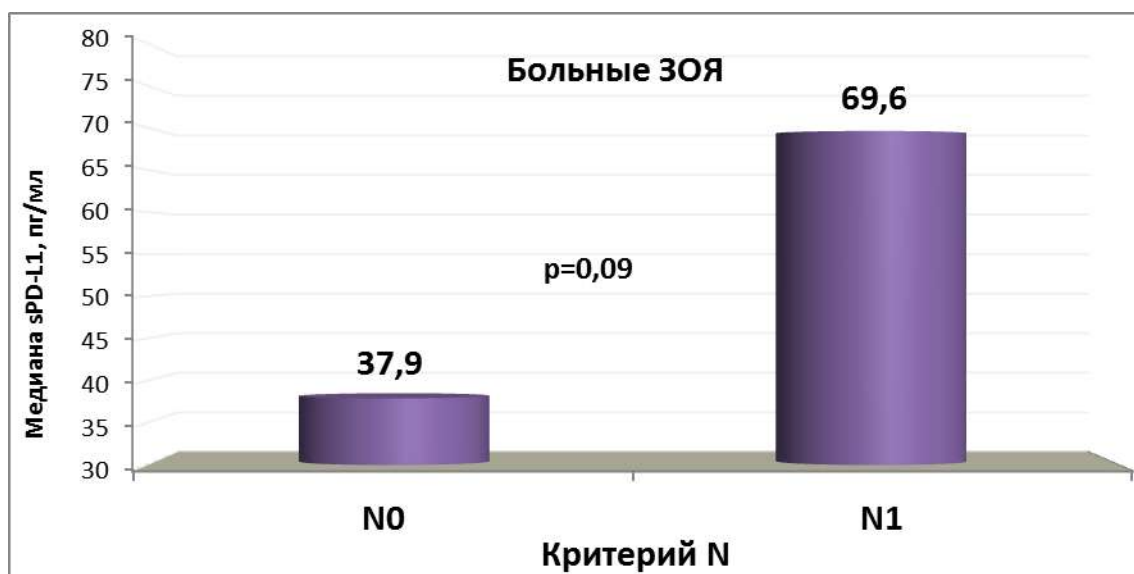


Рисунок 112. Критерий N и концентрации sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников.

Исследованные биомаркеры при ЗОЯ не связаны с критерием M (таблица 75; рисунок 113).

Таблица 75. Показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом индекса М

Критерий М	Медиана; квартили				
	N	sPD-1, пг/мл		sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
M0	100	47,1; 35,6-61,4		39,2; 15,4-73,8	1,3; 0,6-3,1
M1	9	51,7; 28,2-74,2		80,8; 21,1-94,1	0,9; 0,7-1,2
P (Mann Whitney test)		0,9		0,29	0,45

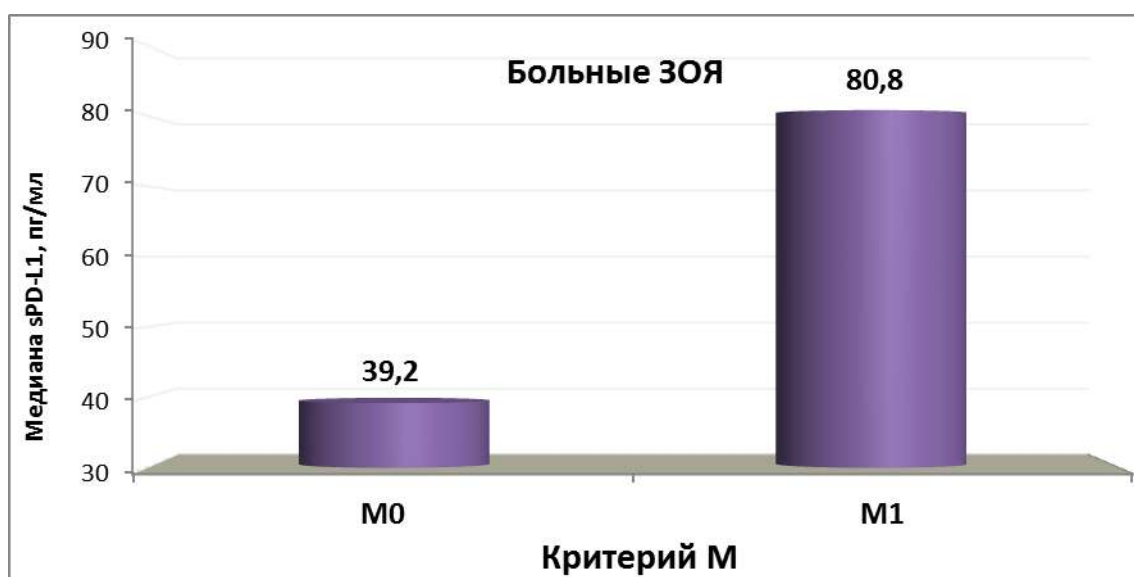


Рисунок 113. Концентрации sPD-L1 в плазме крови больных злокачественными опухолями яичников в зависимости от критерия распространенности М.

Провели анализ показателей sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 у больных ЗОЯ с учетом стадии заболевания по FIGO (таблица 76).

Не обнаружили связи между уровнями рецептора в крови и клиническими стадиями ЗОЯ по FIGO ($p > 0,05$) (рисунок 114).

Таблица 76. Биомаркеры у больных злокачественными опухолями яичников с учетом стадии заболевания по FIGO

Стадия		Медиана; квантили			
		N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
	In situ	1	44,1	12,4	3,6
	Ia	5	51,2; 49,0-60,3	66,2; 17,7-77,1	0,9; 0,7-1,9
	Ic	24	41,2; 33,2-51,4	13,0; 7,7-40,6	3,0; 1,0-6,9
I		30	45,1; 35,0-51,9	14,8; 8,4-46,9	2,6; 0,8-5,5
	IIb	3	53,6; 40,7-60,9	15,5; 12,4-42,0	3,9; 1,0-4,3
	IIc	9	49,7; 32,2-59,3	20,4; 5,8-37,3	3,0; 1,3-5,3
II		12	51,6; 35,4-60,1	18,0; 5,8-39,7	3,5; 1,2-4,8
	IIIa	8	43,5; 35,1-69,7	51,4; 26,2-99,5	1,1; 0,4-2,3
	IIIb	7	45,8; 256,8-54,7	23,5; 11,9-36,1	2,2; 1,3-3,4
	IIIc	44	49,3; 37,5-68,2	51,7; 35,1-103	0,9; 0,5-1,9
III		59	46,3; 37,1-68,0	48,3; 27,7-102	1,0; 0,5-2,1
IV		8	51,7; 28,2-74,2	80,8; 21,1-94,1	0,9; 0,7-1,2
P (Kruskal-Wallis test)			0,9	<0,0001	0,0056

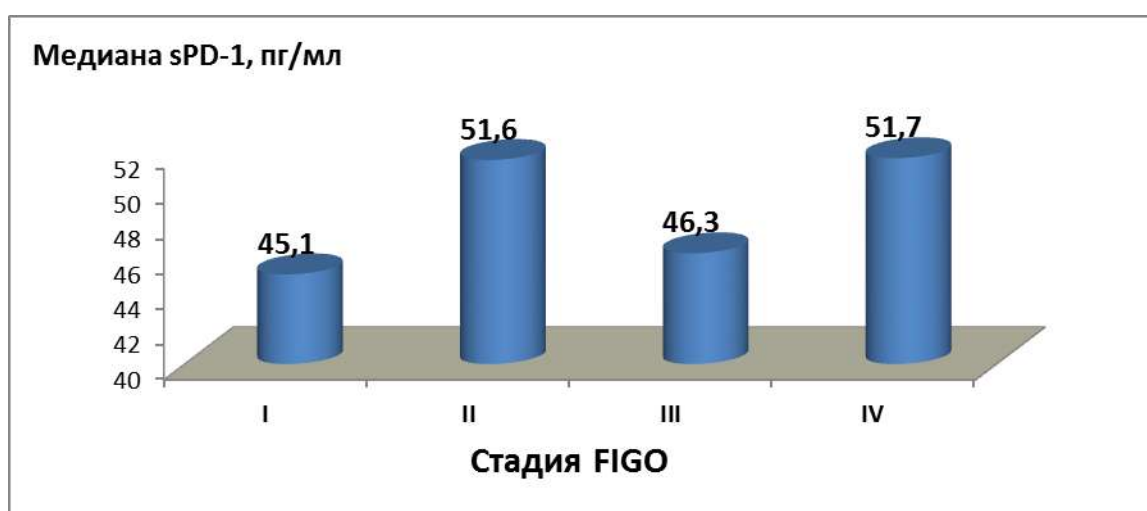


Рисунок 114. Стадии злокачественных опухолей яичников с учетом уровней плазменного sPD-1.

Отмечено достоверное ($p < 0,0001$) повышение уровня sPD-L1 в плазме крови с увеличением стадии ЗОЯ (рисунок 115). Однако у некоторых пациенток высокие концентрации лиганда могут выявляться уже при Ia стадии РЯ.

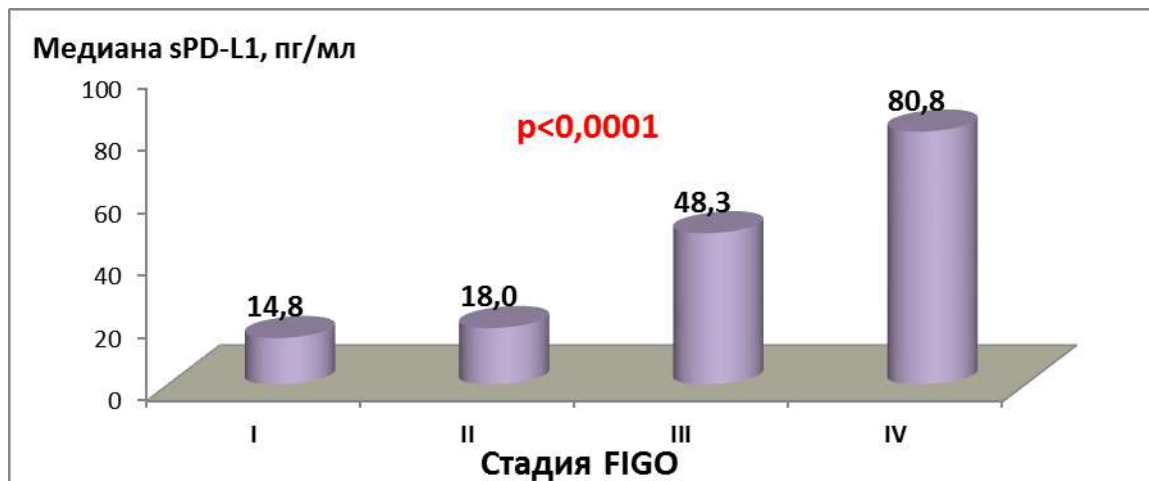


Рисунок 115. Стадия рака яичников по FIGO и плазменные уровни sPD-L1.

Обнаружены достоверно низкие уровни показателя sPD-1/sPD-L1 ($p = 0,0056$) при ЗОЯ III и IV стадиях ($p = 0,0056$) (рисунок 116).

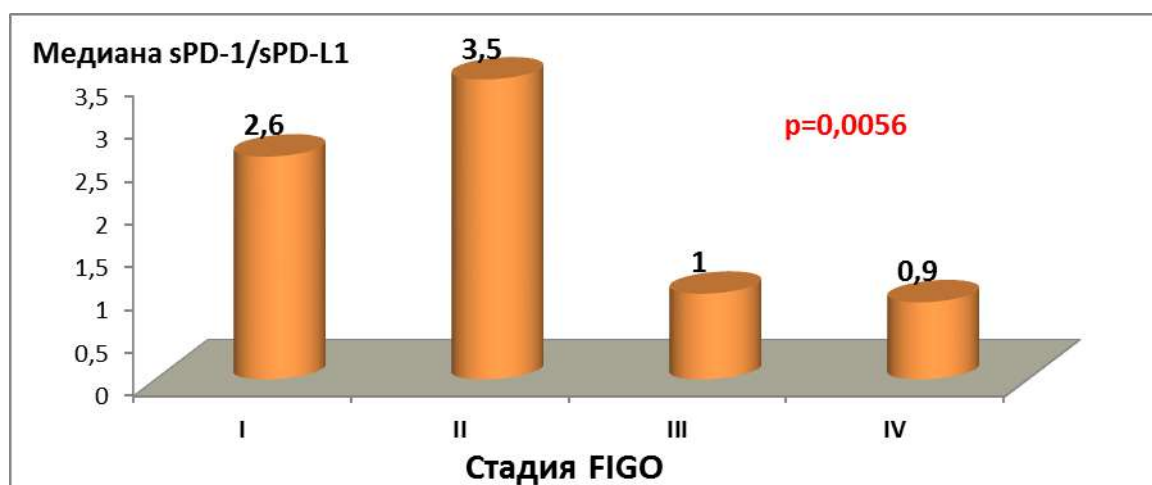


Рисунок 116. Стадии злокачественных опухолей яичников и показатели sPD-1/sPD-L1 в плазме крови больных.

Частота превышения концентраций лиганда sPD-L1 над концентрациями рецептора sPD-1 была наименьшей при I и II стадиях (29,6%, 8 из 27 и 25,0%, 3 из 12 соответственно), но повышалась до 51,7% (30 из 58) при III стадии и до 62,5% (5 из 8) при IV стадии ($p = 0,08$).

6.4. Содержание показателей иммунитета у больных злокачественными опухолями яичников с учетом морфологического варианта строения опухоли.

С уровнями показателей sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 не связаны морфологические типы ЗОЯ (таблица 77).

Таблица 77. Показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 в плазме крови у больных злокачественными опухолями яичников с учетом их морфологического строения

Морфологический вариант рака яичников	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Серозная аденокарцинома	86	47,1; 37,6-64,3	39,2; 17,6-82,0	1,2; 0,7-2,9
Эндометриоидная аденокарцинома	14	51,8; 38,3-68,8	34,3; 23,6-60,4	1,5; 0,8-2,7
Муцинозная аденокарцинома	9	44,0; 32,7-53,5	42,9; 14,2-74,5	1,0; 0,6-2,8
P		>0,5	>0,5	>0,5

6.5. Степень дифференцировки злокачественных опухолей яичников и показатели иммунитета.

У больных серозным РЯ рассчитали уровни sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 с учетом степени дифференцировки опухоли (таблица 78). Оказалось, что биомаркеры не выявили связи уровней sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 с степенью дифференцировки серозного РЯ.

Таблица 78. Показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 и степень дифференцировки серозного рака яичников

Степень дифференцировки	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Low grade	42	44,9; 32,9-54,1	41,2; 21,3-79,1	1,1; 0,5-2,7
High grade	67	50,3; 35,5-60,9	37,8; 14,8-64,7	1,3; 0,7-2,8

6.6. Иммунологические показатели плазмы крови у больных злокачественными опухолями яичников с учетом наличия асцита, раковых клеток в смывах из брюшной полости, максимального размера опухоли, стороны поражения.

В отличие от уровней рецептора, концентрация лиганда была достоверно выше, а показатель sPD-1/sPD-L1 ниже в плазме крови больных ЗОЯ с наличием асцита (таблица 79; рисунок 117).

Таблица 79. Показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом наличия асцита

Асцит	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Не выявлен	52	49,3; 39,0-60,6	20,8; 8,8-41,3	2,8; 1,0-4,7
Выявлен	57	46,0; 32,7-64,7	60,0; 26,2-97,9	0,9; 0,5-2,0
P (Kruskal-Wallis test)		0,4	<0,0001	<0,0001

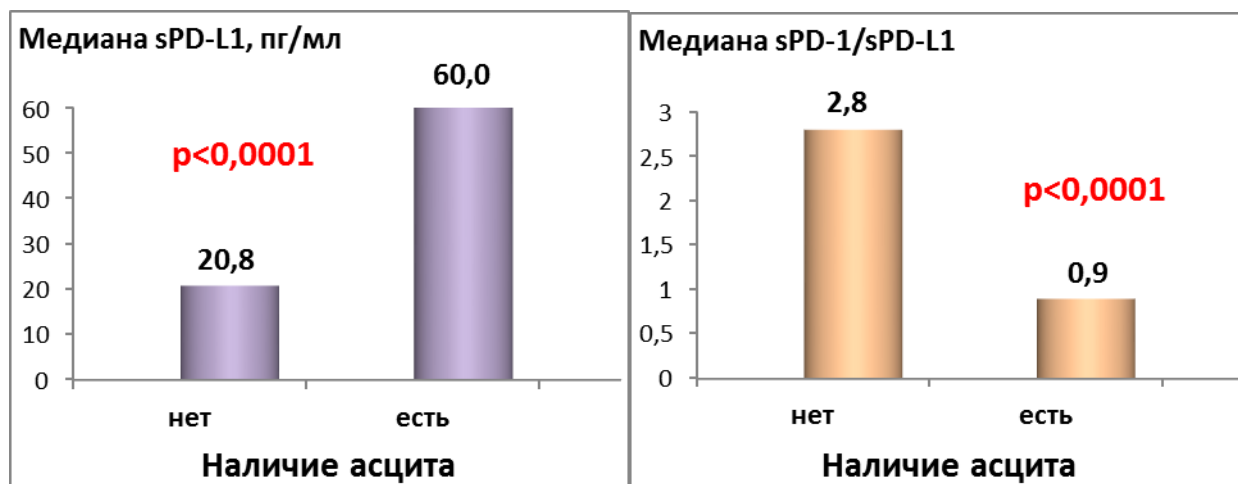


Рисунок 117. Плазменные уровни sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников (слева) и показатель sPD-1/sPD-L1 (справа) в зависимости от наличия асцита.

Частота превышения концентраций лиганда sPD-L1 над sPD-1 была статистически значимо выше у больных раком яичников с наличием асцита (57,1%) по сравнению с больными без асцита (24,4%; $p=0,001$) (рисунок 118).

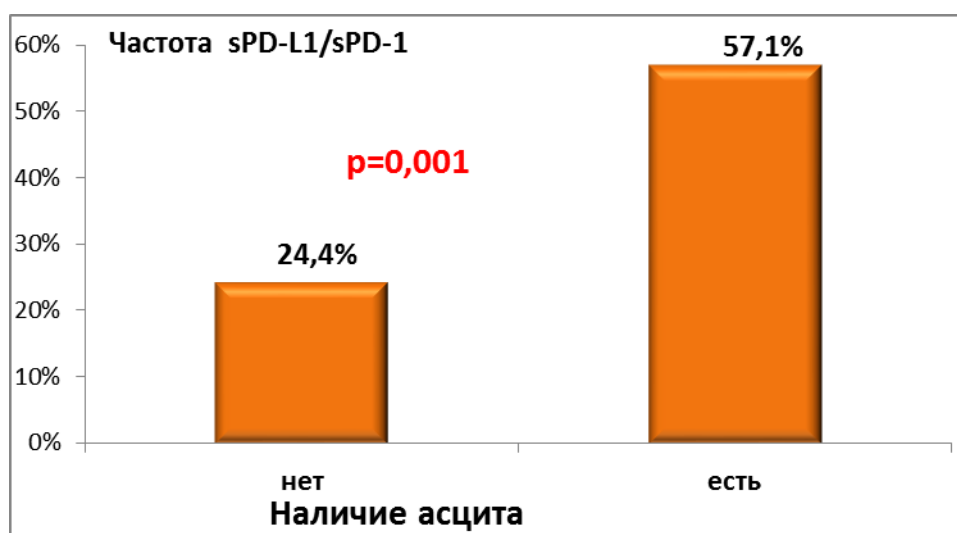


Рисунок 118. Частота превышения лиганда в показателе sPD-L1/sPD-1 у больных злокачественными опухолями яичников с учетом наличия асцита.

Уровни исследованных показателей sPD-1 и sPD-L1 не связаны с наличием раковых клеток в смывах из брюшной полости больных ЗОЯ ($p>0,05$), за исключением коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1 ($p=0,009$) (таблица 79).

Таблица 79. Уровни показателей sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 в плазме крови с учетом обнаружения раковых клеток в смывах из брюшной полости больных злокачественными опухолями яичников

Клетки опухоли в смывах из брюшной полости	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Обнаружены	27	51,2; 40,7-60,9	17,9; 12,4-60,4	2,2; 1,0-3,9
Не обнаружены	36	46,6; 32,2-58,8	80,8; 23,7-111	0,6; 0,4-1,8
P (Kruskal-Wallis test)		0,9	0,31	0,009

При этом, частота превышения концентраций лиганда sPD-L1 над рецептором sPD-1 была значимо выше у пациенток с наличием раковых клеток в смывах из брюшной полости (72,0%) по сравнению с больными без таковых – 28,6% ($p=0,009$) (рисунок 119).

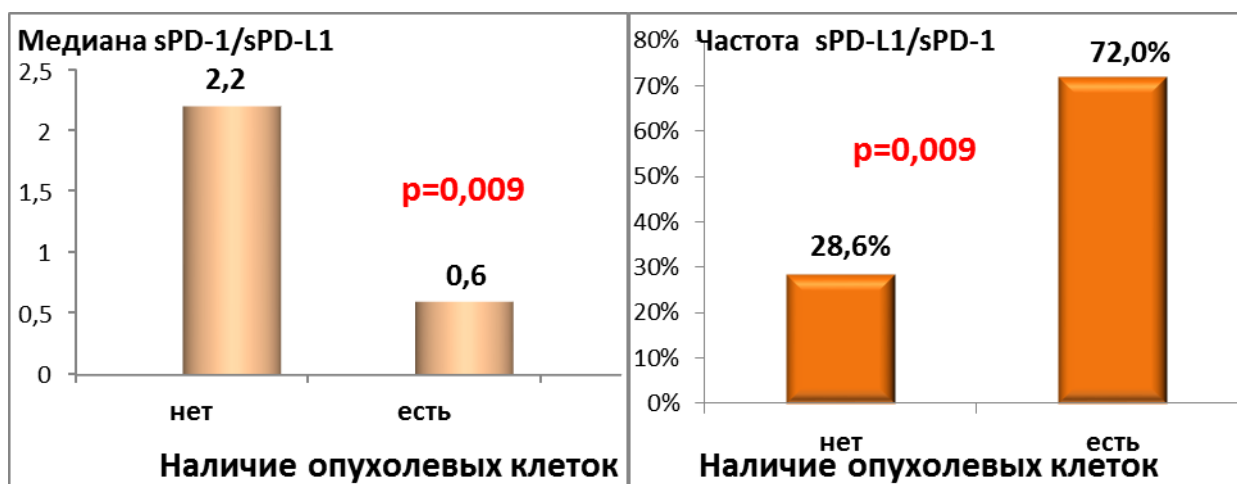


Рисунок 119. Уровни показателя sPD-1/sPD-L1 (слева) и частота превышения лиганда над рецептором (справа) при злокачественных опухолях яичников с учетом наличия опухолевых клеток в смывах из брюшной полости.

В таблице 80 представлены концентрации sPD-1 и sPD-L1, а также коэффициент их соотношения в плазме крови больных злокачественными опухолями яичников в группах с максимальными размерами опухоли по данным УЗИ менее 5 см, 5-10 см и более 10 см. Значимых различий показателей не получено ($p>0,05$), однако концентрации лиганда были заметно выше при размерах опухоли от 10 см и более (медиана 46,8 пг/мл).

Таблица 80. Уровни показателей sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 при злокачественных опухолях яичников с учетом максимального размера опухоли по данным УЗИ

Размер опухоли	Медиана; квартили				
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	N	sPD-1/sPD-L1
<5 см	7	35,1; 25,0-68,8	31,1; 23,7-102	7	1,0; 0,4-2,9
5-10 см	28	43,0; 37,5-61,4	25,9; 12,0-49,3	28	1,9; 0,9-3,3
≥10 см	58	49,8; 37,6-59,1	46,9; 17,9-86,4	57	1,0; 0,5-2,2
P (Kruskal-Wallis test)		0,54	0,12		0,18

Примечание: * - абсолютное значение.

Связь показателей sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1, измеренных в плазме крови больных злокачественными опухолями яичников с односторонним и двусторонним поражением органа представлены в таблице 81.

Таблица 81. Уровни показателей sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 у больных злокачественными опухолями яичников в зависимости от стороны поражения

Сторона поражения	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Одностороннее	75	49,8; 35,8-61,9	36,8; 12,6-65,7	1,4; 0,8-3,4
Двустороннее	34	41,1; 32,5-65,8	52,5; 23,6-112	0,8; 0,5-2,1
P (Mann-Whitney test)		0,37	0,012	0,005

Концентрации sPD-1 в плазме крови больных раком яичников не отражали сторону поражения. Напротив, концентрации лиганда sPD-L1 при двустороннем опухолевом поражении яичников были значимо выше таковых при одностороннем поражении (медианы 52,5 и 36,8 пг/мл соответственно; $p=0,012$). Обратная также значимая закономерность получена при анализе коэффициента соотношения исследованных показателей (рисунок 120).

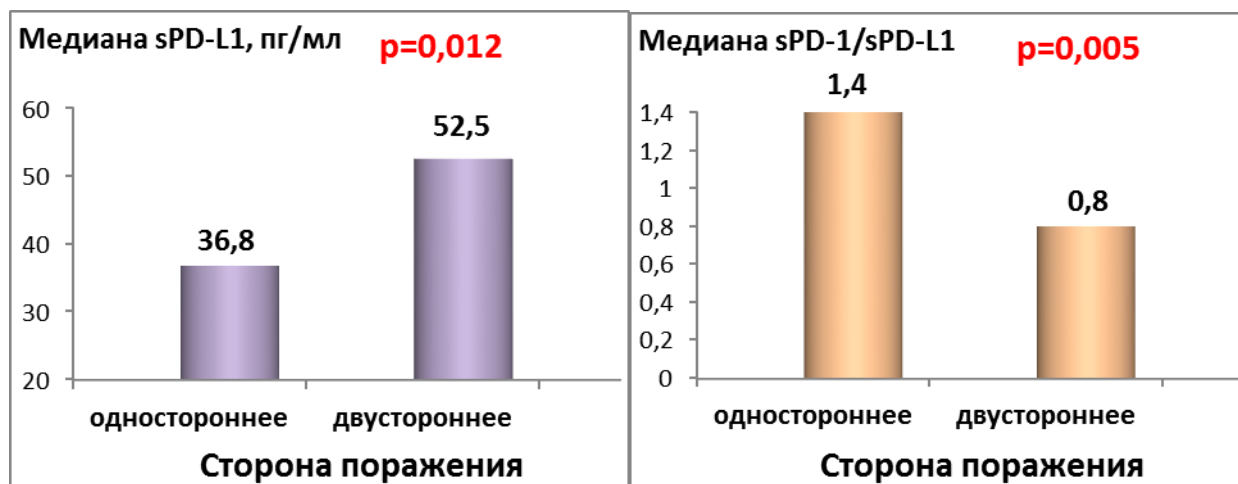


Рисунок 120. Концентрации sPD-L1 (слева) и показатель sPD-1/sPD-L1 (справа) у больных злокачественными опухолями яичников в зависимости от стороны поражения органа.

При двустороннем поражении яичников наиболее часто концентрация лиганда преобладала над рецептором (57,6%) в сравнении с односторонним поражением органа (38,0%) ($p=0,06$).

Концентрации sPD-1 не отражали объемы циторедукции (таблица 82). Значимо меньшая концентрация лиганда выявлена в группе пациенток с

полной циторедукцией (22,4 пг/мл) по сравнению с оптимальной (42,3 пг/мл) и не оптимальной (44,4 пг/мл) циторедукцией ($p=0,018$). Медиана коэффициента соотношения исследованных показателей была наибольшей при полной циторедукции (2,2) и наименьшей при не оптимальной циторедукции (1,0) (рисунок 121).

Таблица 82. Концентрации sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови, а также их соотношение в группе больных злокачественными опухолями яичников в зависимости от вида циторедукции

Циторедукция	Медиана; квартили			
	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл	sPD-1/sPD-L1
Полная	48	43,6; 33,2-58,6	22,4; 9,5-42,7	2,1; 1,0-4,3
Оптимальная	20	51,2; 41,8-64,3	42,3; 25,3-59,6	1,7; 0,9-2,3
Не оптимальная	41	46,0; 35,3-65,8	44,4; 23,5-84,7	1,0; 0,6-2,2
P (Kruskal-Wallis test)		0,26	0,018	0,1

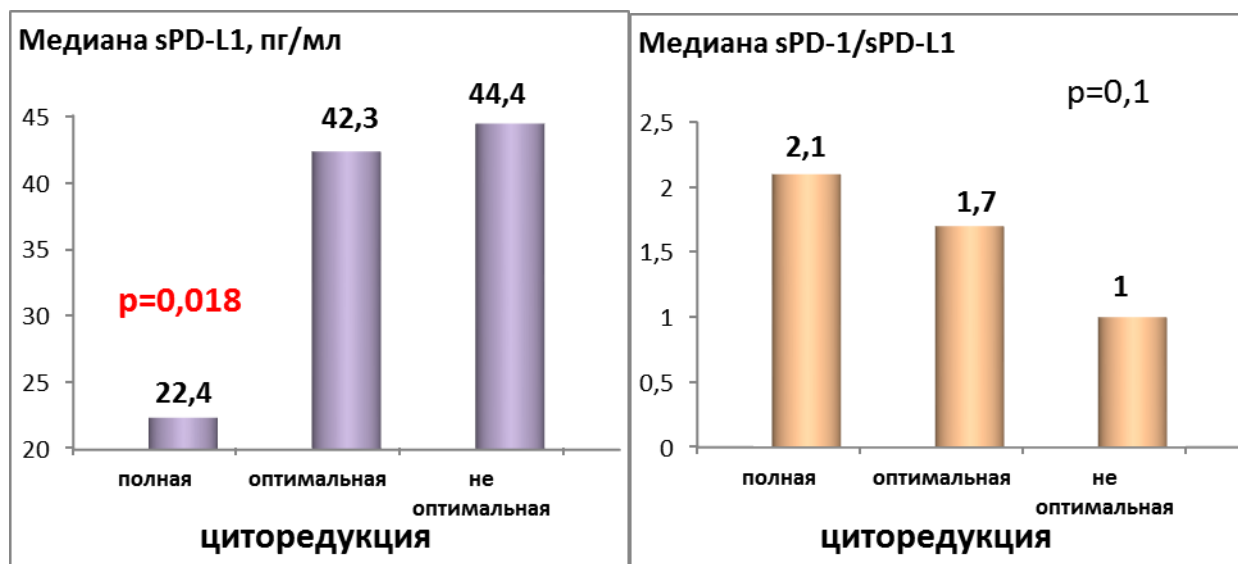


Рисунок 121. Объем циторедукции и уровни sPD-L1 (слева) и sPD-1/sPD-L1 (справа) в зависимости от объема циторедукции у больных злокачественными опухолями яичников.

6.7. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с учетом клинических факторов и данных анамнеза.

Показатели выживаемости проанализировали у 109 больных ЗОЯ, из них 34 – умерли в сроки 2,6-54,2 месяца, 76 – живы в сроки 1,1-62,5 месяцев.

Показатели выживаемости больных ЗОЯ: 1-летней составил $94,4 \pm 2,2\%$, 2-летней – $87,0 \pm 3,2\%$, 3-летней – $79,5 \pm 3,9\%$, 4-летней – $69,5 \pm 4,5\%$, 5-летней – $66,8 \pm 4,7\%$. Медиана срока жизни после проведенного лечения больных злокачественными опухолями яичников не была достигнута на 5-летнем сроке наблюдения (рисунок 122).

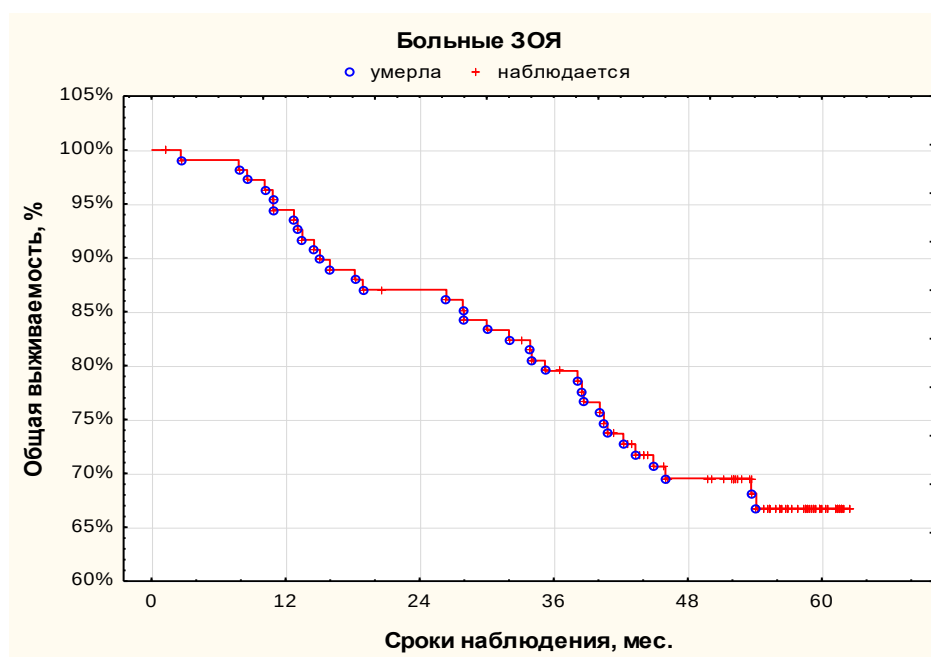


Рисунок 122. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников.

В таблице 83 представлены результаты однофакторного анализа общей выживаемости больных ЗОЯ с учетом клинико-морфологических факторов.

Таблица 83. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с учетом основных клинических и морфологических факторов

Признак	Градация	N		Общая выживаемость, %			Р
				1-летняя	3-летняя	5-летняя	
Возраст, лет	До 40	12	Не дост.	100	91,7±8,0	82,5±11,3	0,012
	40-49	18	Не дост.	100	94,4±5,4	94,4±5,4	
	50-59	43	Не дост.	95,3±3,2	83,7±5,6	71,6±7,0	
	60-69	24	Не дост.	87,0±7,0	55,4±10,5	50,4±10,7	
	≥70	12	46,0	91,7±8,0	75,0±12,5	30,0±14,0	
TNM	T1	28	Не дост.	100	96,4±3,5	82,5±8,2	0,017
	T2	15	Не дост.	92,9±6,9	85,7±9,4	78,6±11,0	
	T3	65	Не дост.	92,3±3,3	70,5±5,7	56,9±6,3	
	N0	100	Не дост.	93,9±2,4	79,5±4,1	67,3±5,0	0,8
	N1	9	Не дост.	100	87,5±11,7	62,5±17,1	
	M0	100	Не дост.	93,9±2,4	79,7±4,0	70,7±4,7	0,037
	M1	9	38,6	100	72,9±16,5	0	
FIGO	I	30	Не дост.	100	96,7±3,3	83,7±7,7	0,015
	II	12	Не дост.	90,9±8,7	72,7±13,4	72,7±13,4	
	III	59	Не дост.	91,5±3,6	71,2±5,9	64,2±6,3	
	IV	8	38,6	100	72,9±16,5	0	
G	G1	16	Не дост.	100	100	93,8±6,1	0,054
	G2	26	Не дост.	88,0±6,5	76,0±8,5	62,8±10,0	
	G3	56	Не дост.	94,6±3,0	74,8±5,8	69,6±6,7	
Опухол. клетки в смывах	Не обн.	17	Не дост.	100	94,1±5,7	94,1±5,7	0,01
	Обнар.	26	Не дост.	96,4±3,9	68,0±9,3	56,0±9,9	
Наличие асцита	нет	48	Не дост.	97,8±2,1	87,3±4,9	77,5±6,4	0,048
	есть	57	Не дост.	93,0±3,4	73,3±5,9	58,8±6,9	
Размер по УЗИ, см	<5	7	Не дост.	100	85,7±13,2	85,7±13,2	0,23
	5-10	28	Не дост.	92,9±4,9	71,4±8,5	55,9±9,6	
	≥10	58	Не дост.	93,0±3,4	78,9±5,4	65,6±6,4	
Сторона поражен.	Одност.	75	Не дост.	93,2±3,0	88,8±4,6	66,2±5,9	0,9
	Двустор	34	Не дост.	97,1±2,9	76,1±7,4	66,5±8,3	
Циторе-дукция	Полная	48	Не дост.	91,5±4,1	91,5±4,1	76,2±7,4	0,09
	Оптим.	18	Не дост.	92,3±7,4	69,2±12,8	69,2±12,8	

	Не опт.	21	Не дост.	100	75,2±9,3	51,6±11,1	
Гистол. вариант строения опухоли	САК	86	Не дост.	95,5±2,6	80,3±4,9	67,5±5,9	0,26
	ЭАК	14	Не дост.	84,6±10,0	84,6±10,0	67,3±13,6	
	МАК	98	Не дост.	100	100	100	

Примечание: САК – серозная аденокарцинома; ЭАК – эндометриоидная аденокарцинома; МАК – муцинозная аденокарцинома.

Как следует из данных таблицы 83, наилучшие отдаленные результаты лечения отмечены у больных в возрасте моложе 50 лет, а наихудшие у пациенток от 60 и более лет ($p=0,012$), медиана срока жизни 36 больных старше 60 лет составила 45,6 месяцев от начала лечения. При этом, различия выживаемости были проявлены после 1 года наблюдения от начала лечения (рисунок 123).

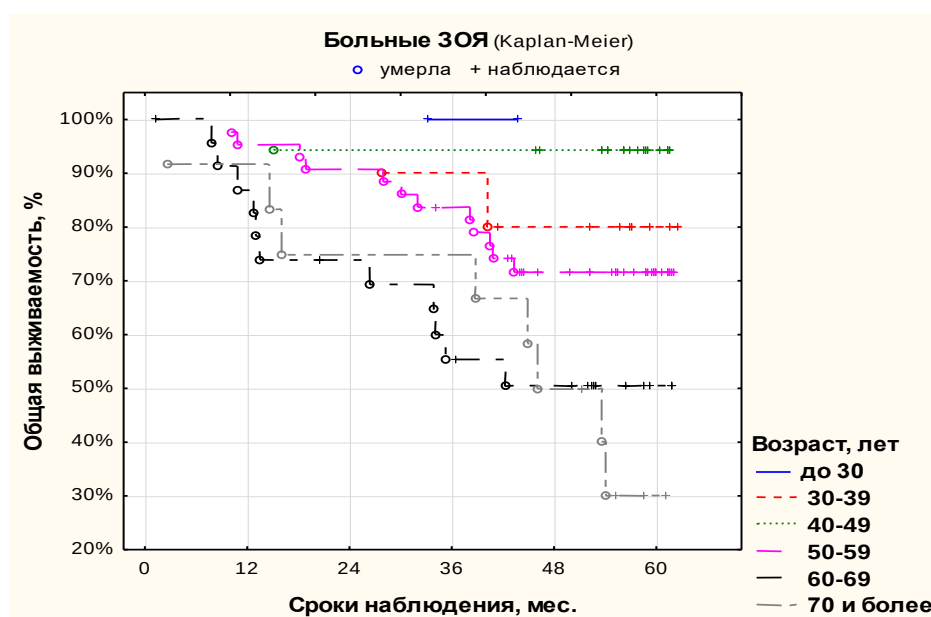


Рисунок 123. Возраст и общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников.

Значимо худшие отдаленные результаты лечения выявлены у больных злокачественными опухолями яичников с критерием распространенности T3 (5-летняя безрецидивная выживаемость составила $56,9\pm6,3\%$, тогда как при T1 – $82,5\pm8,2\%$; $p=0,017$).

В то же время 2-летняя общая выживаемость пациенток заметно снижалась уже при критерии T2 (рисунок 124).

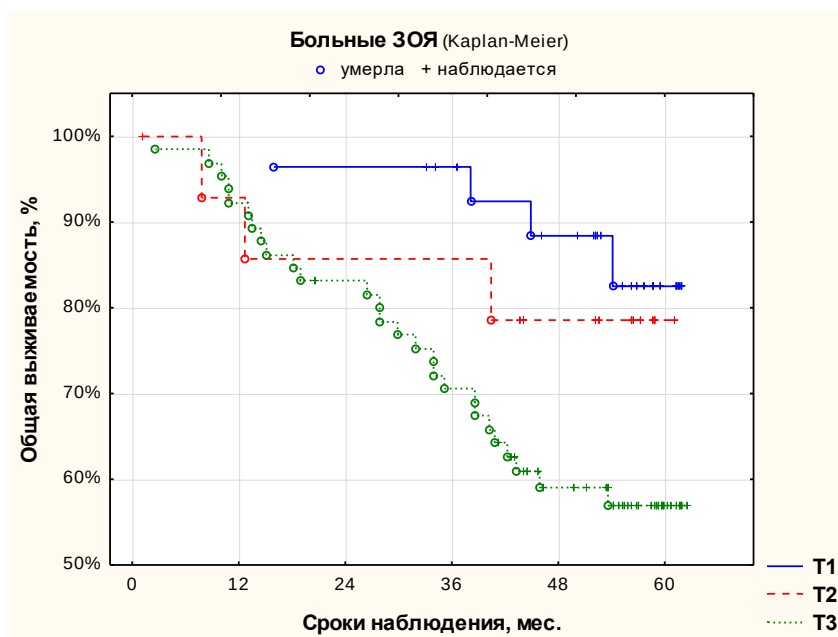


Рисунок 124. Критерий Т и общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников.

Критерий N не связан с показателями общей выживаемости больных ЗОЯ ($p=0,8$).

Выявлено достоверное снижение общей выживаемости больных ЗОЯ при выявлении отдаленных метастазов, индекс M1 в сравнении с M0 ($p=0,037$). Эти различия отмечались уже после 3-летнего наблюдения (рисунок 125).

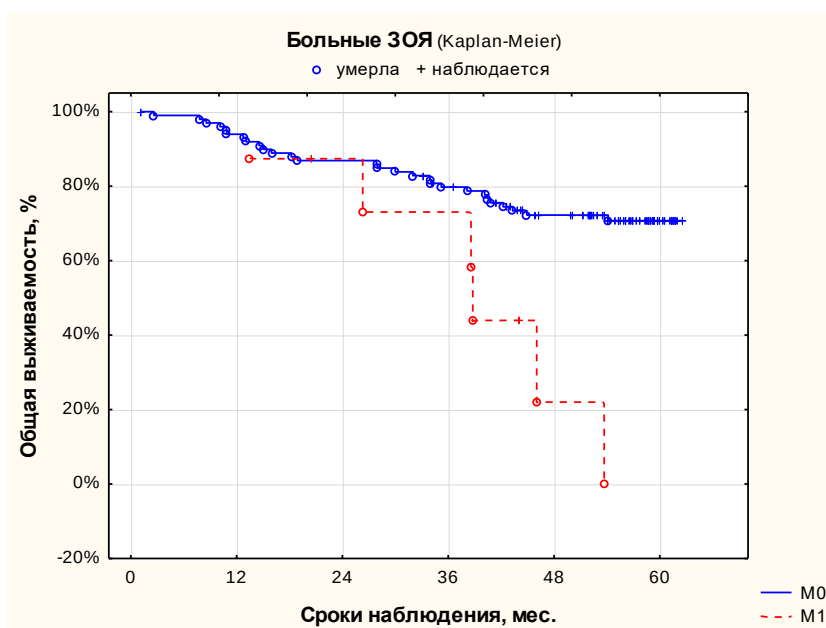


Рисунок 125. Критерий М и общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников.

Многофакторный анализ (Proportional hazard (Cox) regression) показал, что из критериев системы TNM независимым фактором прогноза длительности жизни больных злокачественными опухолями яичников является только критерий M ($p=0,004$).

Стадия FIGO при однофакторном анализе также показала значимую связь с общей выживаемостью больных злокачественными новообразованиями яичников ($p=0,015$). Так, 5-летняя общая выживаемость равнялась $83,7 \pm 7,7\%$ - при I стадии, снижалась до $72,7 \pm 13,4\%$ - при II стадии, до $64,2 \pm 6,3\%$ - при III стадии и до 0% - при IV стадии (рисунок 126).

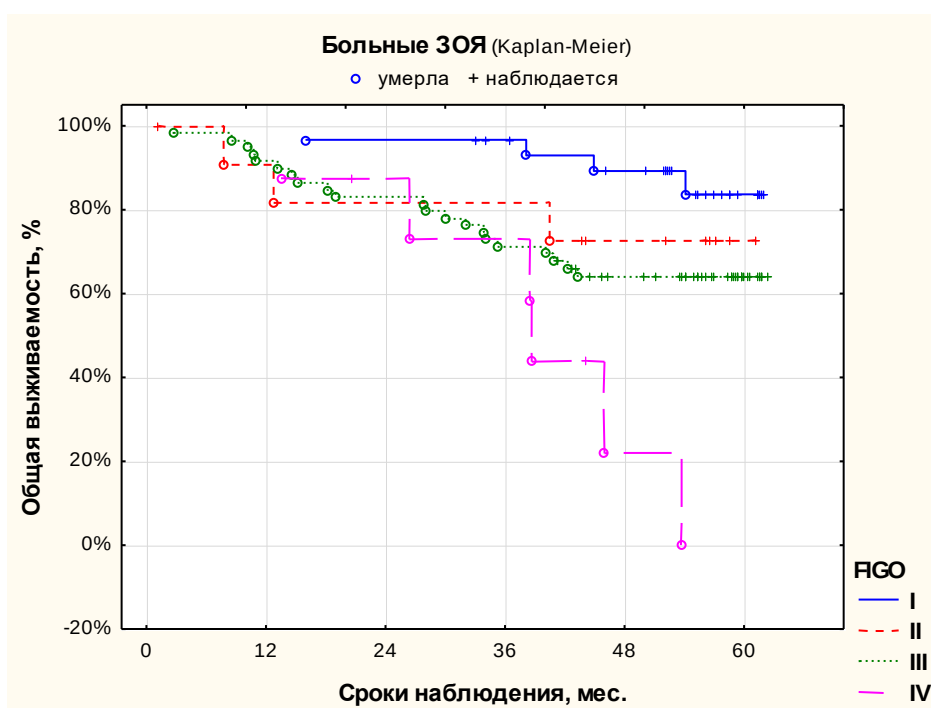


Рисунок 126. Клиническая стадия злокачественных опухолей яичников и общая выживаемость.

Отмечено достоверное снижение на $38,1\%$ 5-летней общей выживаемости при ЗОЯ среди пациенток с выявленными клетками опухоли в смывах из брюшной полости ($p=0,01$) (рисунок 127).

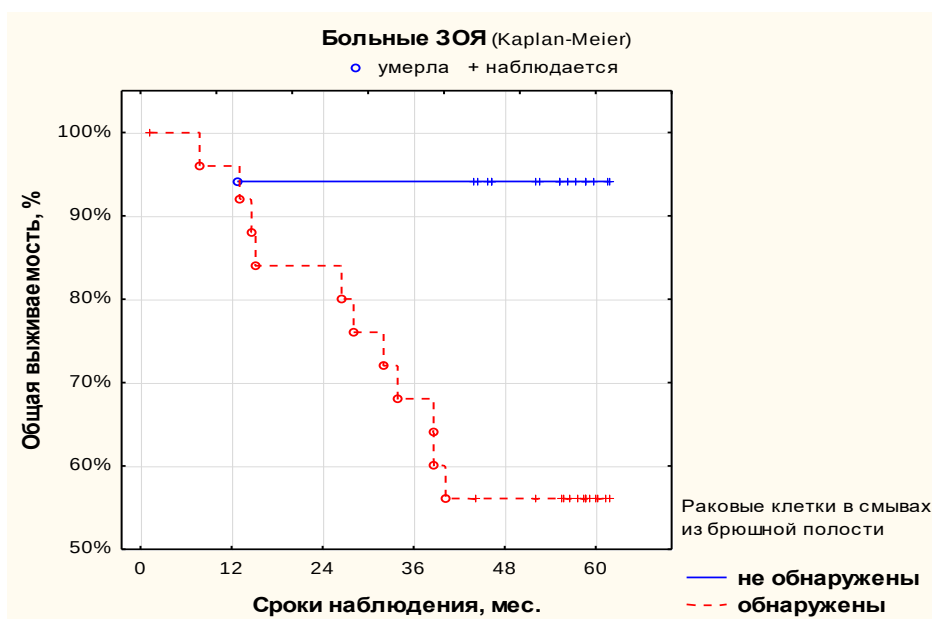


Рисунок 127. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с учетом наличия раковых клеток в смывах из брюшной полости.

Выявлена сильная тенденция к снижению на 24,2-30% 5-летней общей выживаемости больных злокачественными опухолями яичников при степени дифференцировки опухоли G2-G3 ($p=0,054$) (рисунок 128).

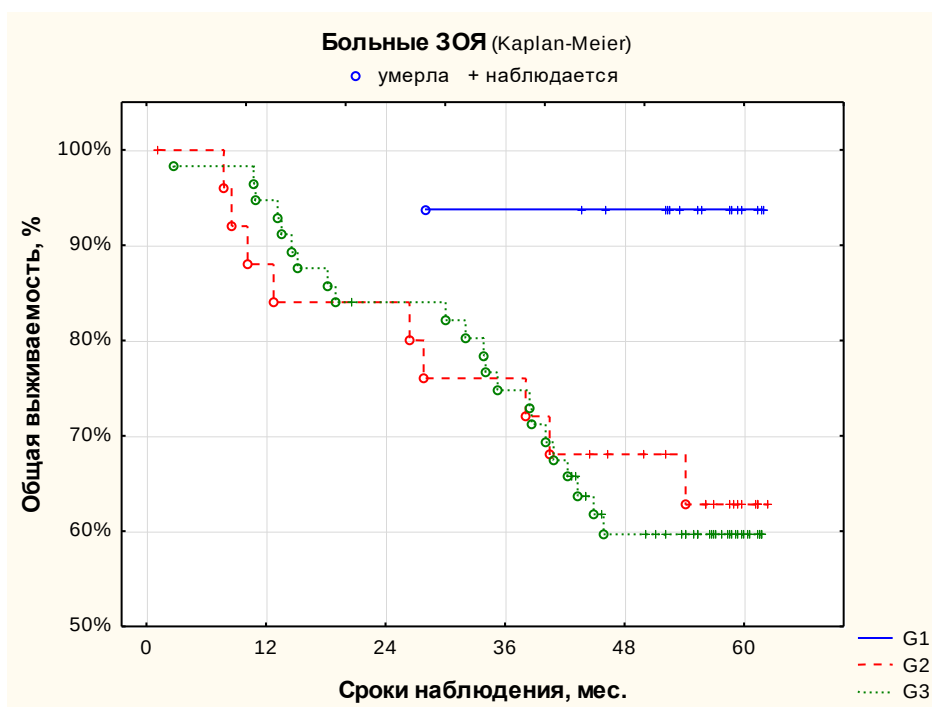


Рисунок 128. Степень дифференцировки злокачественных опухолей яичников и общая выживаемость больных.

Наличие асцита также достоверно снижало 5-летнюю общую выживаемость больных злокачественными опухолями яичников на 19% ($p=0,048$) (рисунок 129). Различия были проявлены после 2-летнего срока наблюдения от начала лечения.

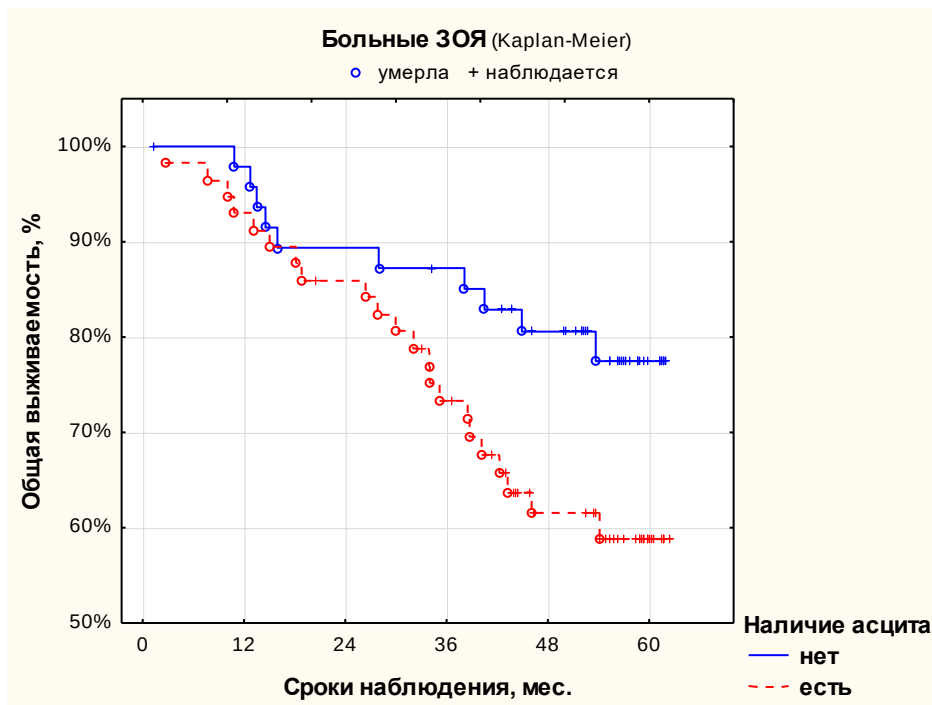


Рисунок 129. Наличие асцита и общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников.

На 25% снижалась 5-летняя общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников при выполнении не оптимальной циторедукции по сравнению с полной редукцией ($p=0,09$) (рисунок 130).

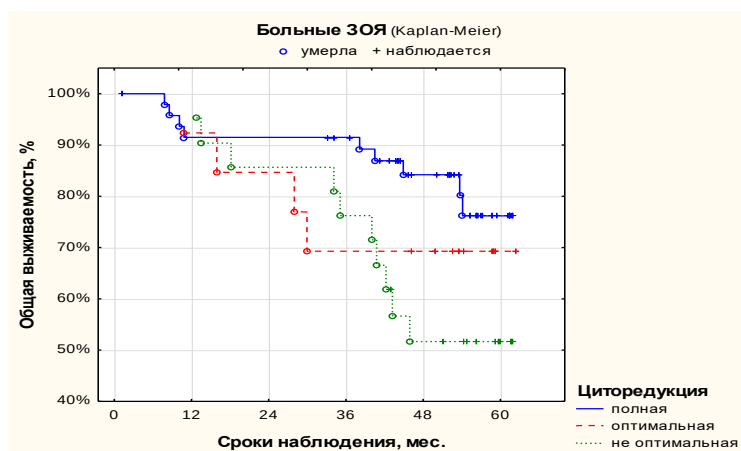


Рисунок 130. Объем циторедукции и общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников.

Однофакторный анализ при ЗОЯ показал, что возраст больных ($p=0,007$) и критерий M ($p=0,013$) могут служить независимыми факторами прогноза общей выживаемости. В меньшей степени отдаленные результаты лечения определяли наличие раковых клеток в смывах из брюшной полости ($p=0,058$), критерий N ($p=0,1$) и объем циторедукции ($p=0,13$).

6.8. Выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с учетом уровней биомаркеров.

Анализ связи показателей иммунитета sPD-1 и sPD-L1 с отдаленными результатами лечения больных злокачественными опухолями яичников также выполняли в общей группе пациенток.

Ориентируясь на квартили и медиану sPD-1 провели анализ общей выживаемости у больных ЗОЯ в нескольких группах: 1) группа – концентрация sPD-1 <35,5 пг/мл; 2) группа – концентрация sPD-1 от 35,5 до 47,8 пг/мл; 3) группа – концентрация sPD-1 от 47,8 до 61,9 пг/мл и 4) группа – концентрация sPD-1 от 61,9 пг/мл и более (таблица 84).

Таблица 84. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с учетом уровней sPD-1 в плазме крови

sPD-1, пг/мл	N	Общая выживаемость, %				
		1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<35,5	27	100	88,5±6,3	80,8±7,7	75,0±9,1	75,0±9,1
35,5-47,8	28	92,9±4,9	85,7±6,6	78,2±7,9	78,2±7,9	73,3±8,8
47,9-61,8	27	92,5±5,0	81,5±7,5	74,1±8,4	55,6±9,6	50,5±9,9
≥61,9	27	92,6±5,0	92,6±5,0	77,0±8,3	68,9±9,1	68,9±9,1
P	0,20					

Несколько лучшая общая выживаемость выявлена в группе больных злокачественными опухолями яичников с низкими значениями sPD-1 - менее 35,5 пг/мл - 5-летняя выживаемость составила 75,0±9,1%. Наихудшая выживаемость отмечена в группе пациенток при значениях показателя sPD-1 47,9-61,8 пг/мл - 5-летняя выживаемость была ниже примерно на 25% и составила 50,5±9,9% (рисунок 131).

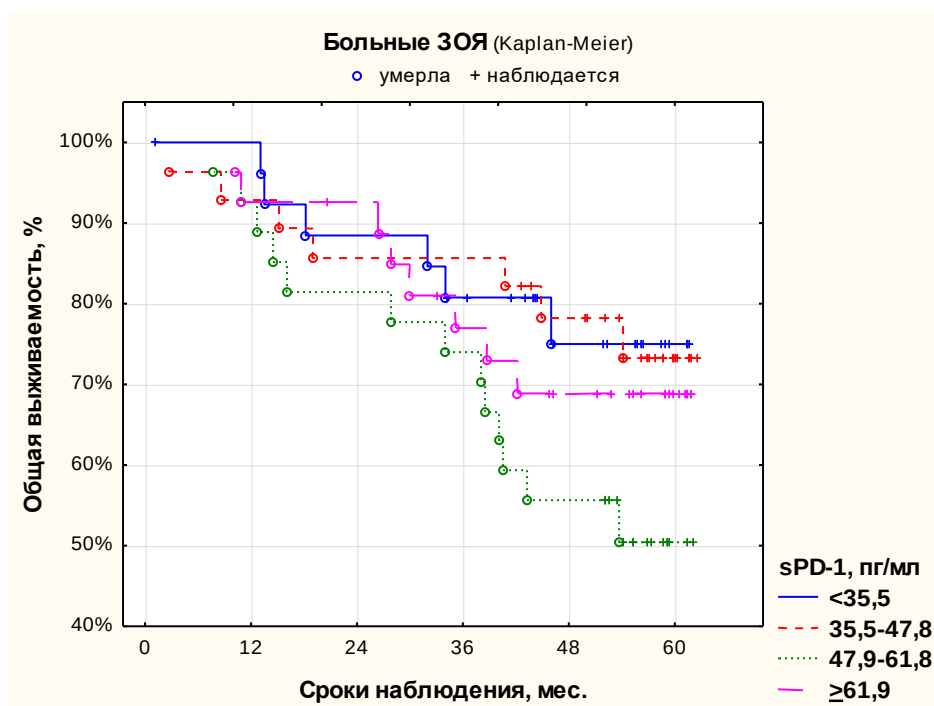


Рисунок 131. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников в зависимости от концентраций sPD-1 в плазме крови.

Достоверно разделяющей пациентов с ЗОЯ с благоприятным и неблагоприятным прогнозом, оказалась концентрация sPD-1 в плазме крови близкая к медиане показателя и равная 45 пг/мл (таблица 85).

Таблица 85. Пороговый уровень sPD-1 45 пг/мл и выживаемость больных злокачественными опухолями яичников

sPD-1, пг/мл	N	Общая выживаемость, %				
		1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<45	50	98,0±2,0	87,8±4,7	83,7±5,3	81,6±5,7	77,7±6,4
≥45	59	91,5±3,6	86,4±4,5	76,0±5,6	60,1±6,5	57,8±6,6
P	0,032 Log-Rank					

Анализ полученных данных показал, что при высоких концентрациях плазменного рецептора (≥ 45 пг/мл) общая 5-летняя выживаемость на 20% ниже ($57,8 \pm 6,6\%$), чем при уровнях маркера < 45 пг/мл ($77,7 \pm 6,4\%$) ($p=0,032$) (таблица 85 и рисунок 132).

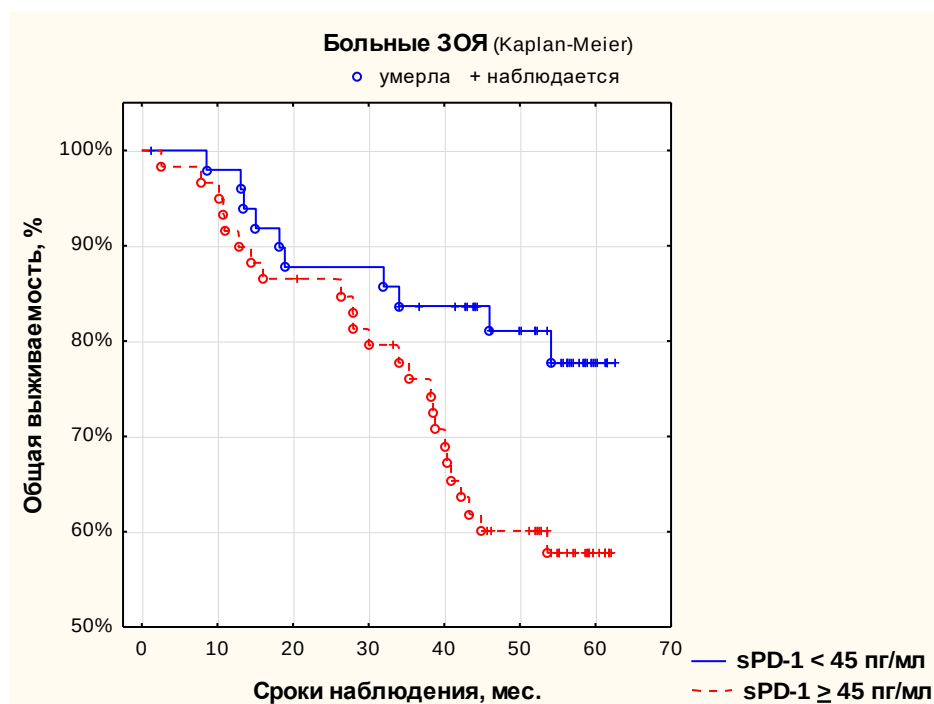


Рисунок 132. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников в зависимости от концентраций sPD-1 в плазме крови менее и более 45 пг/мл.

Многофакторный анализ показал, что пороговый уровень sPD-1 45 пг/мл ($p=0,047$) наряду с критерием M ($p=0,008$) является значимым фактором прогноза длительности жизни пациенток от начала лечения.

Особенно это важно для больных ЗОЯ с индексом M0. Так, в группе 46 больных с индексом M0 показатель 5-летней выживаемости при sPD-1 <45 пг/мл был довольно высоким и равнялся $80,8 \pm 6,3\%$, но снижался до $62,6 \pm 6,6\%$ у 54 больных при «высоких» значениях sPD-1 ≥ 45 пг/мл (различия значимы $p=0,045$) (рисунок 133).

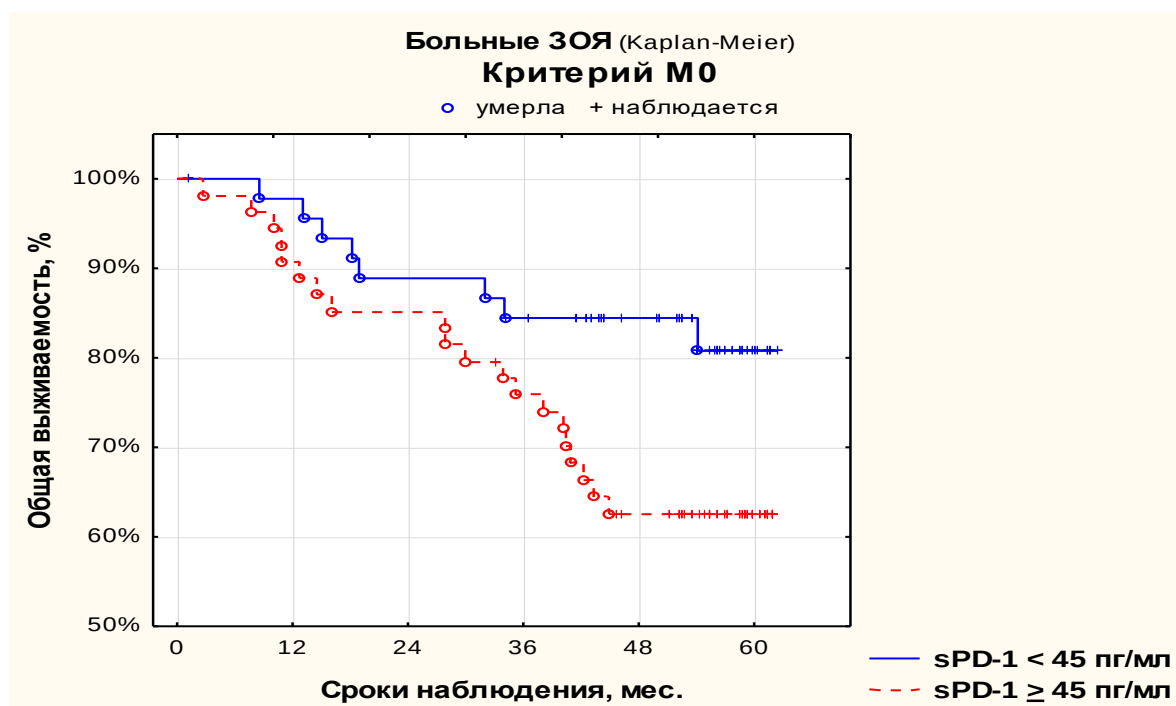


Рисунок 133. Общая выживаемость больных ЗОЯ с критерием M0 при пороге sPD-1 45 пг/мл.

Анализ общей выживаемости для sPD-L1 провели в 4-х группах, ориентируясь на квартили и медиану показателя, ранее рассчитанных у больных ЗОЯ: 1) группа – концентрация sPD-L1 <15,5 пг/мл; 2) группа – концентрация sPD-L1 от 15,5 до 40,5 пг/мл; 3) группа – концентрация sPD-L1 от 40,5 до 79,5 пг/мл и 4) группа – концентрация sPD-L1 от 79,5 пг/мл и более (таблица 86).

Таблица 86. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с учетом уровней sPD-L1 в плазме крови

sPD-L1, пг/мл	N	Общая выживаемость, %				
		1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<15,5	27	100	88,9±6,0	88,9±6,0	79,5±8,3	72,3±10,2
15,5 – 40,4	27	96,3±3,6	92,6±5,0	92,6±5,0	76,6±8,4	76,6±8,4
40,5 – 79,4	28	88,9±6,0	81,5±7,5	70,4±8,8	66,7±9,1	66,7±9,1
≥79,5	27	92,6±5,0	85,2±6,8	65,8±9,3	54,2±9,8	50,0±9,9
P	0,10					

Из данных таблицы 86 и рисунка 137 следует, что наихудшая 5-летняя общая выживаемость отмечена в группе с наибольшими концентрациями sPD-L1 (от 79,5 пг/мл), составившая $50,0 \pm 9,9\%$ (рисунок 134).

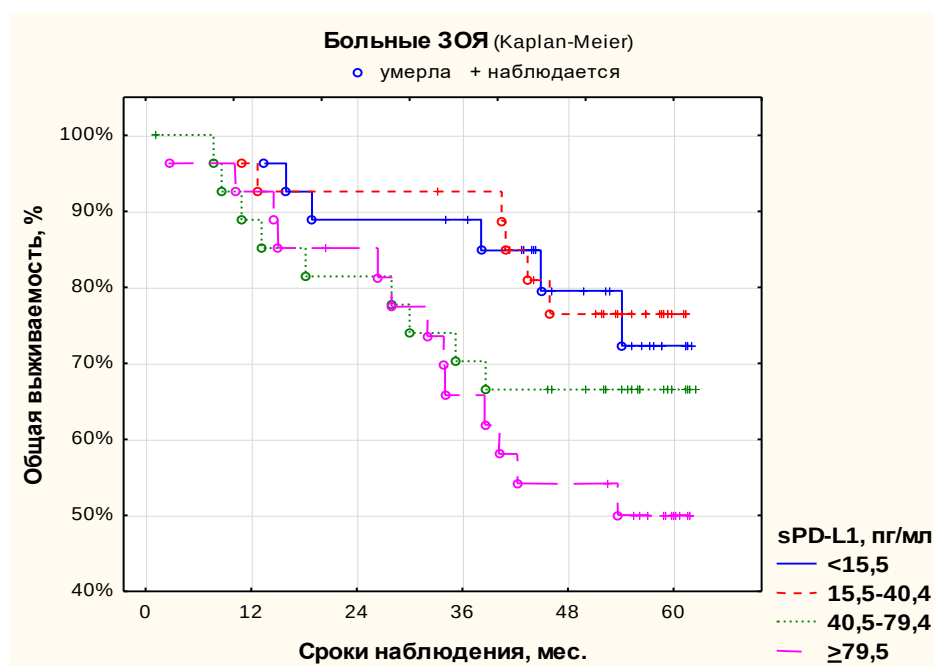


Рисунок 134. Уровни sPD-L1 и общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников.

При разделении больных ЗОЯ по порогу 41 пг/мл sPD-L1 близкому к медиане, Log-Rank Test показал значимые различия общей выживаемости в группах ($p=0,018$) (таблица 87). Различия в показателях выживаемости были отмечены на всем сроке наблюдения (рисунок 135).

Таблица 87. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников при пороговом уровне sPD-L1 41 пг/мл

sPD-L1, пг/мл	Кол-во	Общая выживаемость, %				
		1-летняя	2-летняя	3-летняя	4-летняя	5-летняя
<41,0	56	$98,2 \pm 1,8$	$91,1 \pm 3,8$	$91,1 \pm 3,8$	$78,8 \pm 5,7$	$75,7 \pm 6,3$
$\geq 41,0$	53	$90,4 \pm 4,1$	$82,7 \pm 5,2$	$66,9 \pm 6,6$	$59,1 \pm 6,9$	$56,7 \pm 7,0$
P	0,018 Log-Rank Test					

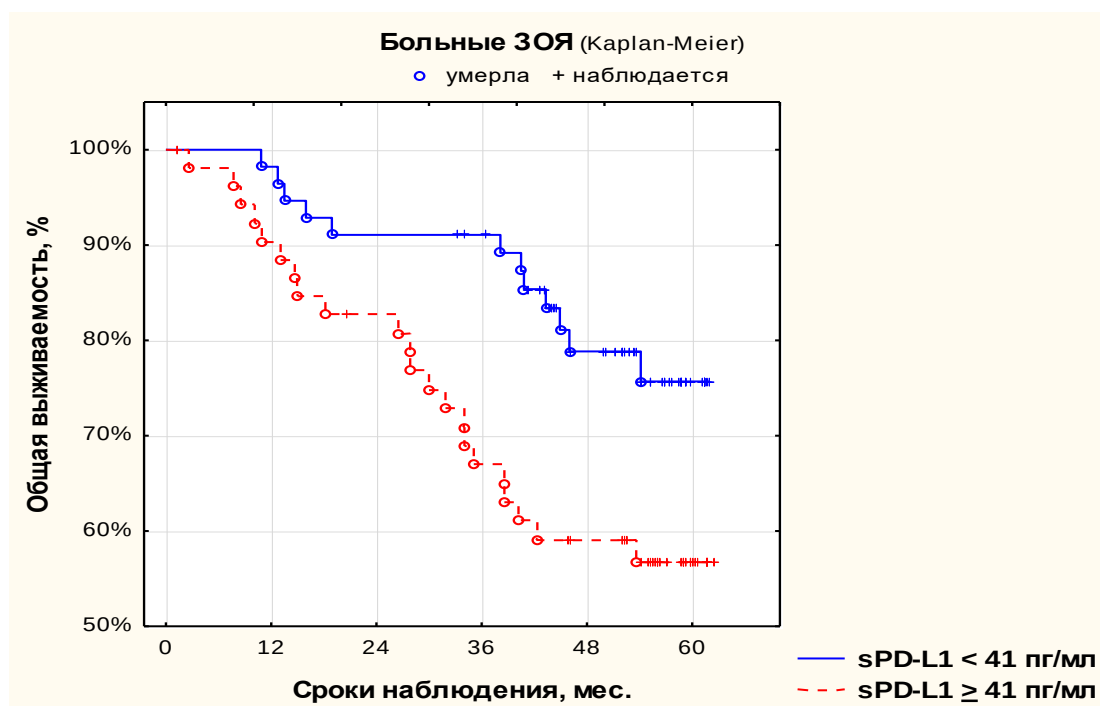


Рисунок 135. Пороговый уровень sPD-L1 41 пг/мл и общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников.

Многофакторный анализ показал, что концентрации лиганда достоверно связаны с отдаленными результатами лечения ЗОЯ ($p=0,035$), наряду с критерием M ($p=0,012$).

Можно сделать заключение, что концентрации лиганда, исследованные в плазме крови больных злокачественными опухолями яичников, дополнительно позволяют уточнить отдаленный прогноз длительности жизни пациенток, особенно в благоприятной группе с M0. Так, в группе 52 больных ЗОЯ с индексом M0 5-летняя общая выживаемость в группе уровнями sPD-L1 >41 пг/мл составила $78,1 \pm 6,3\%$, но снижалась до $61,7 \pm 7,1\%$ концентрациях маркера ≥ 41 пг/мл ($p=0,031$) (рисунок 136).

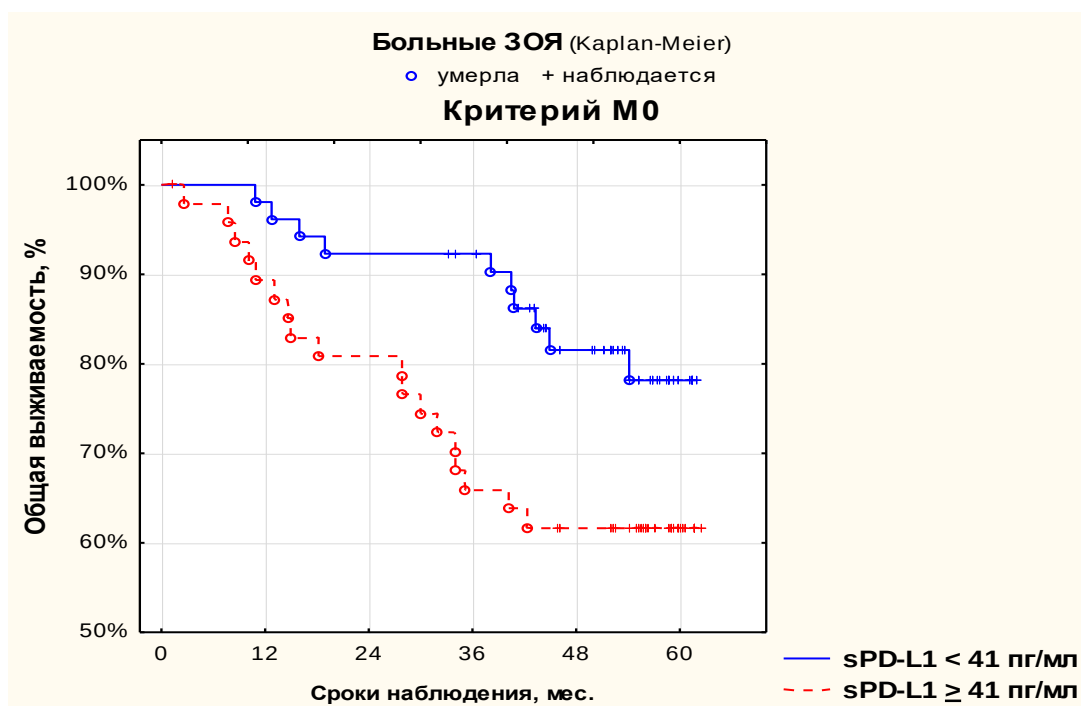


Рисунок 136. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с критерием M0 в зависимости от концентраций sPD-L в плазме крови менее и более 41 пг/мл.

Интерес представлял анализ выживаемости при различных сочетаниях биомаркеров в плазме крови (таблица 88).

Таблица 88. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников при разных сочетаниях уровней sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови

sPD-1 пг/мл	sPD-L1 пг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость, %		
				1-летняя	3-летняя	5-летняя
<45	<41	27	Не дост.	100	92,6±5,0	78,1±10,6
<45	≥41	23	Не достиг.	95,5±4,4	72,7±9,5	72,7±9,5
≥45	<41	29	Не достиг.	96,6±3,4	89,7±5,7	71,7±8,5
≥45	≥41	30	41,4	86,7±6,2	62,5±9,0	44,2±9,4
P		0,012				

Как следует из данных таблицы 88, самая высокая 5-летняя отмечена у больных ЗОЯ при одновременно низких уровнях биомаркеров (sPD-1 <45 пг/мл и sPD-L1 ≤41 пг/мл), составившая 78,1±10,6%. В этой группе также обнаружен высокий показатель 3-летней выживаемости (92,6±5,0%).

В группе больных ЗОЯ с одновременно высокими биомаркерами (sPD-1 ≥ 45 пг/мл и sPD-L1 ≥ 41 пг/мл) отмечены самые низкие уровни 5-летней выживаемости ($44,2 \pm 9,4\%$) с медианой 41,4 месяца ($p=0,012$).

При разнонаправленных сочетаниях показателей иммунитета общая выживаемость была сопоставима, 5-летняя выживаемость пациенток этих групп была в пределах 72-73% (рисунок 137).

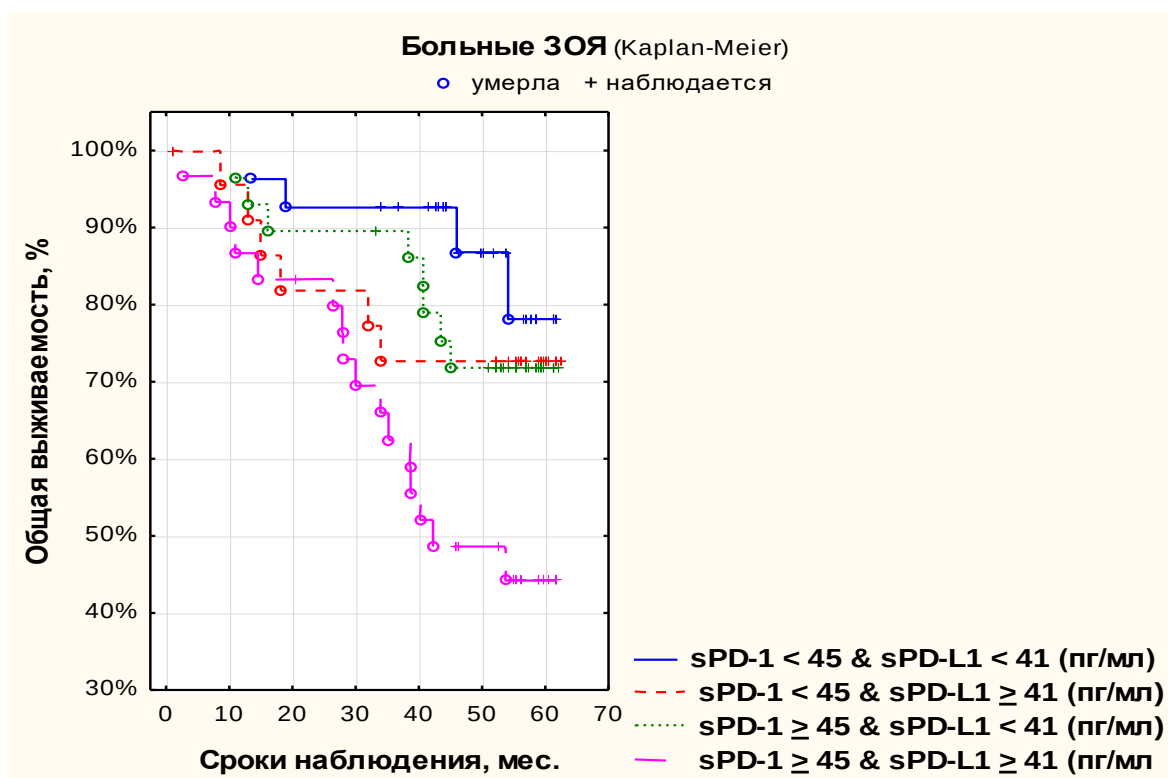


Рисунок 137. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с учетом различных сочетаний уровней биомаркеров в плазме крови.

Исследование обоих иммунологических маркеров у больных ЗОЯ позволило дополнительно выделить группу из 30 (27,5%) пациенток с неблагоприятным 5-летним прогнозом заболевания. При наличии одновременно «высоких» значений обоих показателей иммунитета 5-летняя выживаемость таких пациенток была на 31,2% значительно хуже, чем в группе пациенток ($n=79$) с другими сочетаниями изучаемых белков ($p=0,0022$) (таблица 89; рисунок 138).

Таблица 89. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников с учетом пороговых концентраций биомаркеров в плазме крови

Группы прогноза	N	Общая выживаемость, %		
		1-летняя	3-летняя	5-летняя
sPD-1 ≥ 45 пг/мл sPD-L1 ≥ 41 пг/мл	30	86,7 $\pm$ 6,2	62,5 $\pm$ 9,0	44,2 $\pm$ 9,4
Прочие сочетания	79	97,4 $\pm$ 1,8	85,9 $\pm$ 3,9	75,4 $\pm$ 5,1
P	0,0022			

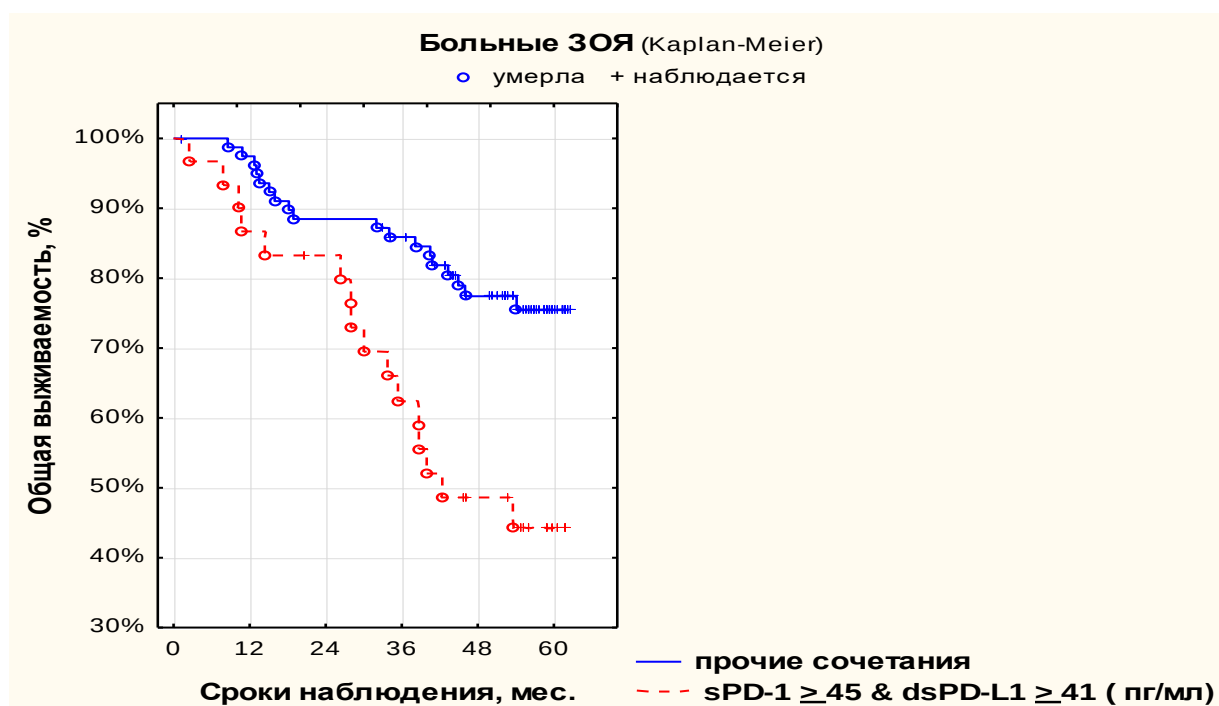


Рисунок 138. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями яичников в подгруппах с одновременно неблагоприятными «высокими» концентрациями sPD-1 и sPD-L1 и при прочих сочетаниях уровней маркеров.

Многофакторный анализ (Proportional hazard (Cox) regression) связи общей выживаемости больных злокачественными опухолями яичников с такими факторами как прогноз по обоим показателям иммунитета (sPD-1, sPD-L1) и критериям распространенности заболевания TNM, показал, что показатели иммунитета (sPD-1 и sPD-L1) можно считать независимыми факторами прогноза длительность жизни пациенток ($p=0,02$) наряду с критерием M ($p=0,045$) (таблица 90).

Таблица 90. Результаты многофакторного анализа общей выживаемости больных злокачественными опухолями яичников

Факторы	Beta	St.Error	t-value	Wald Statistic	P
Критерий Т	-0,013	0,035	-0,372	0,138	0,71
Критерий N	0,012	0,010	1,139	1,297	0,25
Критерий М	0,961	0,479	2,01	4,022	0,045
Прогноз sPD-1& sPD-L1	0,857	0,368	2,33	5,426	0,020

Эти данные показывают, что для уточнения прогноза заболевания необходимо одновременное определение концентраций показателей иммунитета sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови больных злокачественными опухолями яичников.

Кроме того, значимо худшая общая выживаемость в группе больных с превышением концентраций лиганда sPD-L1 над sPD-1 ($p=0,031$). Так, 5-летняя выживаемость 46 больных злокачественными опухолями яичников с наличием превышения концентраций лиганда ($sPD-L1 > sPD-1$) равнялась $56,7 \pm 7,5\%$, тогда как у пациенток с превышением sPD-1 над своим лигандом была выше на 15% и составила $71,7 \pm 6,4\%$ (рисунок 139).

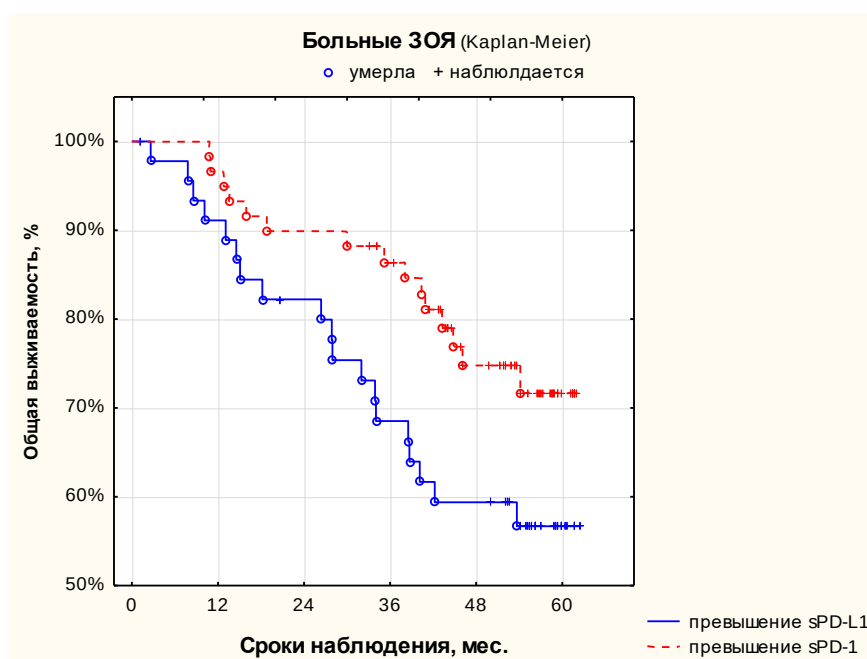


Рисунок 139. Общая выживаемость больных ЗОЯ в подгруппах с превышением уровней sPD-1 либо sPD-L1 в плазме крови.

Таким образом, превышение концентраций лиганда sPD-L1 над sPD-1 также является прогностически неблагоприятным фактором прогноза длительности жизни больных злокачественными опухолями яичников, однако этот фактор был незначим при многофакторном анализе.

Подводя итоги анализа концентраций показателей иммунитета sPD-1 и sPD-L1, исследованных в плазме крови при ЗОЯ, следует отметить:

- Не выявили различий между уровнями sPD-1 у больных НОЯ (общая группа) и в контроле (медианы 47,9 и 43,8 пг/мл соответственно, $p=0,13$), однако уровни рецептора при ДОЯ были значимо выше (53,6 пг/мл), чем при ПОЯ (36,9 пг/мл) ($p=0,015$) и не отличались от ЗОЯ (47,9 пг/мл). Следует отметить, что уровни рецептора в контроле и у всех групп пациенток с НОЯ были одинаковыми.
- Уровни рецептора не связаны с возрастом больных ЗОЯ, критериями TNM, стадией, гистологическим вариантом строения опухоли и степенью ее дифференцировки, наличием асцита и раковых клеток в смывах из брюшной полости, объемом выполненной циторедукции.
- Уровни лиганда sPD-L1 достоверно выше в контроле, чем при НОЯ (медианы 32,2 и 60,9 пг/мл соответственно; $p=0,019$). Медианы sPD-L1 в плазме крови больных доброкачественными (22,7 пг/мл), пограничными (26,7 пг/мл) и злокачественными (40,5 пг/мл) опухолями яичников значимо не различались.
- Не выявили значимой связи концентраций sPD-L1 в плазме крови больных злокачественными опухолями яичников с возрастом, менструальным статусом, морфологическим строением и степенью дифференцировки опухоли.
- Уровни лиганда при ЗОЯ достоверно повышались при увеличении критерия Т (с 14,8 пг/мл при Т1 до 48,8 пг/мл при Т3, $p<0,0001$), но не отличались при N1 и N0 (69,6 и 37,9 пг/мл соответственно; $p=0,09$), при M1 и M0 (80,8 и 39,2 пг/мл соответственно; $p=0,29$).

- При ЗОЯ уровни лиганда достоверно повышались с увеличением клинической стадии заболевания и наличии асцита.
- Концентрации лиганда sPD-L1 незначимо повышались при наличии опухолевых клеток в смывах из брюшной полости и при крупных размерах ЗОЯ.
- При двустороннем РЯ медиана концентраций sPD-L1 значимо выше по сравнению с односторонним поражением (52,5 и 36,8 пг/мл соответственно; $p=0,012$).
- При полной редукции РЯ медиана концентраций sPD-L1 достоверно ниже по сравнению с оптимальной и неоптимальной редукцией (22,4 и 42,3-44,4 пг/мл соответственно; $p=0,018$).
- Не отмечено корреляционной зависимости между уровнями рецептора и лиганда в контроле и при ЗОЯ. Частота превышения концентраций sPD-L1 в плазме крови над sPD-1 составила 18,2% при ДОЯ, 40% при ПОЯ, 42,2% при ЗОЯ ($p=0,1$).
- Показатель sPD-1/sPD-L1 был достоверно выше при НОЯ, чем в контроле (1,6 и 0,8 соответственно; $p=0,029$). Медианы соотношения sPD-1/sPD-L1 в плазме крови больных доброкачественными (2,2), пограничными (1,5) и злокачественными (1,3) опухолями яичников не различались.
- Возраст больных, менструальный статус, гистологический вариант опухоли и степень ее дифференцировки, максимальный размер новообразования не связаны с уровнем sPD-1/sPD-L1.
- Обнаружено достоверное снижение показателя sPD-1/sPD-L1 с повышением критерия Т (с 2,6 - при Т1 и 3,0 - при Т2 до 1,0 - при Т3; $p=0,0012$). Снижение медиан коэффициента соотношения в группах пациенток с N0 и N1 было незначимо (1,3 и 0,8 соответственно; $p=0,16$), как и пациенток с M0 и M1 (1,3 и 0,9 соответственно; $p=0,4$).
- Показатель sPD-1/sPD-L1 достоверно снижался при увеличении клинической стадии ЗОЯ (с 2,6 - при I стадии и до 0,9 - при IV стадии;

$p=0,005$). Частота превышения концентраций лиганда над концентрациями sPD-1 была наименьшей при I (29,6%) и II (25,0%) стадиях, но повышалась до 62,5% при IV стадии ($p=0,08$ тенденция к различию частот).

- При асците у больных ЗОЯ обнаружили достоверное снижение лиганда, чем без такового (0,9 и 2,8 пг/мл соответственно, $p<0,0001$) и его концентрации превышали уровень рецептора в группах достоверно (57,1% и 24,4% соответственно; $p=0,001$).

- При ЗОЯ уровни лиганда не связаны с наличием опухолевых клеток в смывах из брюшной полости, но достоверно превышали уровни рецептора при их выявлении, чем без таковых (72,0% и 28,6% соответственно; $p=0,009$).

- При двустороннем РЯ уровни плазменного sPD-L1 достоверно ниже, чем с односторонним поражением (0,8 и 1,4 соответственно; $p=0,005$).

- Медиана концентраций sPD-L1 в плазме крови больных злокачественными опухолями яичников у пациенток с неоптимальной редукцией была незначимо ниже по сравнению с таковой у пациенток с полной оптимальной редукцией (1,0 и 2,1 пг/мл соответственно; $p=0,1$).

- Показатель 5-летней общей выживаемости больных злокачественными опухолями яичников составил $66,8\pm 4,7\%$. Однофакторным анализом выявлена значимая связь общей выживаемости больных злокачественными опухолями яичников с возрастом ($p=0,012$), критерием Т ($p=0,017$), критерием М ($p=0,037$), стадией FIGO ($p=0,015$), наличием опухолевых клеток в смывах из брюшной полости ($p=0,01$), наличием асцита ($p=0,048$).

- Многофакторный анализ установил, что выживаемость больных преимущественно определяется критерием М ($p=0,013$) и возрастом пациенток ($p=0,07$).

- Значимо худшая общая выживаемость выявлена в группе больных с превышением концентраций лиганда sPD-L1 над sPD-1, составившая $56,7 \pm 7,5\%$ ($p=0,031$).

- Высокие значения sPD-1 ≥ 45 пг/мл в плазме крови больных злокачественными опухолями яичников следует считать прогностически неблагоприятными, различия 5-летней общей выживаемости достигали 20% ($57,8 \pm 6,6\%$ - при sPD-1 ≥ 45 пг/мл против $77,7 \pm 6,4\%$ - при sPD-1 < 45 пг/мл; $p=0,032$).

- Достоверное различие 5-летней общей кумулятивной выживаемости больных ЗОЯ обнаружено при уровнях sPD-L1 ≥ 41 пг/мл ($56,7 \pm 7,0\%$) и < 41 пг/мл ($75,7 \pm 6,3\%$; $p=0,018$).

- Общая 5-летняя выживаемость при ЗОЯ достоверно ($p=0,0022$) выше при одновременно низких уровнях биомаркеров (sPD-1 < 45 пг/мл и sPD-L1 < 41 пг/мл) ($78,1 \pm 10,6\%$) и прочих их сочетаниях (72-73%), а наихудшие при одновременно «высоких» (≥ 45 и ≥ 41 пг/мл) показателях обоих маркеров ($44,2 \pm 9,4\%$).

- Многофакторный анализ связи общей выживаемости больных злокачественными опухолями яичников с такими факторами как клинικο-морфологический диагноз и прогноз по обоим показателям иммунитета, показал, что показатели иммунитета можно считать независимыми факторами прогноза длительность жизни пациенток ($p=0,02$) наряду с критерием M ($p=0,045$).

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ 29 групп онкологических заболеваний в 195 странах мира с 1990 по 2017 годы убедительно показал их рост [104]. Только в 2017 году было зарегистрировано 24,5 миллиона заболевших различными типами рака и 9,6 миллионов смертей от этих болезней.

Следует указать, что общий прогноз наиболее часто встречающихся онкологических заболеваний таких как рак желудка, колоректальный рак, почечно-клеточный рак, саркомы костей остается неблагоприятным, несмотря на использование комплексных методов лечения [2, 37]. Прежде всего, это связано с выявлением заболевания в распространенных III и IV стадиях опухолевого процесса, когда эффект вышеуказанных методов лечения гораздо хуже, по сравнению с начальными I и II стадиями рака желудка, колоректального рака, почечно-клеточного рака, сарком костей, когда комплексная или комбинированная терапия оказывает выраженный лечебный эффект [5, 30, 31, 32, 49, 104, 158]. Кроме того, недостаточные знания патогенеза выше указанных заболеваний и узкий круг лекарственных препаратов, не всегда позволяют добиться удовлетворительных результатов их лечения, на которые указывают эпидемиологические данные [12, 13, 14, 15].

Актуальной проблемой современной онкологии является лабораторный поиск новых мишеней в опухоли и разработка их ингибиторов, которые могут иметь тесную связь с прогрессированием онкологического процесса (инфильтрацией в окружающие ткани, инвазией в кровеносные и лимфатические сосуды, метастазированием в отдаленные органы) позволяют подобрать комплекс препаратов, целенаправленно подавляющих рост опухолей [3, 30, 34].

В настоящее время особое внимание уделяют выявлению контрольных точек иммунитета и их глубокому изучению [33, 88, 145, 278]. При этом, системе PD-1/PD-L1, а именно ее ключевым компонентам рецептору

программируемой гибели клетки 1 (PD-1) и лиганду (PD-L1) отводят особую роль в регуляции противоопухолевого иммунитета, структура и функция которых наряду с другими КТИ подробно изложены в обзоре настоящей работы [23, 145]. Прежде всего это связано с тем, что контрольные точки иммунитета PD-1/PD-L1 и CTLA-4 были открыты первыми и впервые был показан положительный эффект МА к PD-1 и CTLA-4 при злокачественных опухолях.

В литературе опубликован ряд клинических исследований по растворимым формам sPD-1 и sPD-L1, в которых анализировали их значимость и роль в оценке эффекта ингибиторов к PD-1 и PD-L1 у онкологических больных, при этом особое внимание уделяли иммуногистохимическому (ИГХ) методу анализа PD-L1 в первичной опухоли при различных опухолях [145, 176].

Особый приоритет в исследованиях до недавнего времени принадлежал иммуногистохимическому анализу экспрессии лиганда PD-L1 в опухоли. При этом, на первых этапах этого направления исследований обнаружение экспрессии лиганда в опухоли, как правило, было связано с благоприятным эффектом анти-PD-1/PD-L1 терапии и хорошим прогнозом заболевания [17, 39, 45, 48]. Однако этого оказалось недостаточно, поэтому экспрессию рецептора программируемой гибели клетки и ее лиганда 1 типа стали изучать не только в клетках опухоли, но и в строме, в различных иммунных клетках, инфильтрирующих опухолевое поле, а также в биологических жидкостях (асцит, плазма и сыворотка крови) [21, 22, 116, 156, 157, 176, 190]. Однако следует отметить, что ИГХ анализ экспрессии PD-L1 в опухоли можно выполнить только однократно – в биоптатах опухоли или после ее удаления. При этом результаты большинства исследователей оказались не однозначными, а порой носили противоположный характер. Кроме того, учитывая гетерогенный характер опухоли, ее молекулярно-генетические поломки, появляющиеся при прогрессировании опухолевого процесса, этого анализа оказалось недостаточно для практикующих врачей.

И только в конце 20-х годов XXI века произошел прорыв в онкоиммунологии, когда стал понятен механизм «ускользания» клеток опухоли от действия иммунной системы, за это открытие в 2018 году японский исследователь Тасуку Хондзё и американский исследователь Джеймс Эллисон стали лауреатами Нобелевской премии. Как оказалось, особую роль в этом механизме играют растворимые формы рецептора sPD-1, sPD-L1, sPD-L2, повышенный интерес к которым проявили многие онкологи [117, 127, 145, 157, 277]. До настоящего времени происхождение этих форм не известно. Кроме того, ряд ключевых аспектов их биологии до конца не изучен, при этом они являются активными регуляторами в паракринной и системной модуляции иммунных реакций, подобно цитокинам [7, 8]. Более подробно их образование и функции описаны в обзорах литературы [8, 191].

Предпочтение изучению sPD-1 и sPD-L1 в онкологической клинике связано с тем, что позволяет неоднократно определять эти белки и быстро получать информацию об этих молекулах иммунитета у пациента. Предварительные результаты ряда авторов показали их клиническую значимость при определенных опухолях.

Нами стали широко проводиться эти исследования с 2016 г. в ФГБУ «Национальный медицинский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, на кафедре клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, а затем в онкологическом отделении противоопухолевой лекарственной терапии №15 Московского многопрофильного научно-клинического центра им. С.П. Боткина в течение последних 10 лет и получены определенные результаты, которые на наш взгляд, заслуживают внимания в онкологической клинике.

Цель настоящего исследования – разработка комплексного клинικο-лабораторного метода диагностики и оптимизации прогноза у больных различными типами злокачественных новообразований с учетом особенностей частоты выявления, распределения и содержания растворимых

форм биохимических маркеров sPD-1 и sPD-L1, их связь с клиническими, морфологическими характеристика онкологических больных и роль в прогрессии заболевания.

В обсуждении остановимся на ключевых данных этих исследований, полученных в результате проведенной нами работы, которые заслуживают особого внимания.

Следует отметить, что выбор нами групп онкологических больных связан, прежде всего, с особенностями их клинического течения и неоднозначного прогноза, а также поиском возможных мишеней иммунотерапии в этих опухолях, которые могут играть значимую практическую роль, в тех случаях, когда стандартное лекарственное лечение оказалась не эффективным или мало эффективным.

Особый интерес представлял для нас анализ исходных до лечения концентраций растворимых форм рецептора программируемой гибели клетки и его лиганда в крови в сравнении с уровнями таковых маркеров в контроле у здоровых доноров.

Так, оказалось, что концентрации sPD-1 и sPD-L1 во всех группах обследованных онкологических больных колебались в широких пределах. Однако при КРР уровни рецептора sPD-1 достоверно снижались относительно контроля, у больных ПКР, наоборот, статистически значимо повышались, не отличались от контроля при новообразованиях костей и больных НОЯ.

Следует отметить, что в отличие от рецептора, уровни лиганда sPD-L1 были статистически значимо выше при КРР, саркомах костей, ПКР по отношению к здоровым донорам контрольной группы. При этом, содержание лиганда в группе контроля было выше, чем у больных НОЯ.

Следует указать, что уровни исследованных биомаркеров могли носить также разнонаправленный характер. Так, в группе больных ПКР концентрации и sPD-1, и sPD-L1 были достоверно выше, чем в контроле. В группе пациентов с КРР концентрации рецептора и лиганда имели

разнонаправленный характер: при достоверном снижении sPD-1 отмечалось значимое повышение sPD-L1 в крови относительно контроля. Для больных новообразованиями костей отмечено повышение уровня лиганда sPD-L1 и полное совпадение уровней рецептора sPD-1 у больных и в контроле. При новообразованиях яичников отмечено снижение концентраций sPD-L1 в плазме крови относительно контрольной группы.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о разнонаправленном уровне sPD-1 и sPD-L1 в крови больных КРР, новообразованиями костей, ПКР и опухолями яичников. Следует указать, что в современной литературе выше указанные зависимости между уровнями растворимых форм рецептора и лиганда отмечены не только нами, но и в работах ряда авторов, которые исследовали эти компоненты контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 у онкологических больных [7, 8, 10, 193]. Попытки объяснить это явление не всегда оказывались успешными и это было связано с разнородностью групп больных и стадий заболевания, небольшим числом наблюдений и разными методическими подходами к определению в крови sPD-1 и sPD-L1 с использованием различных антител.

В представленной нами работе приведены данные изучения sPD-1 и sPD-L1 в крови четырех групп 770 больных, у которых злокачественная опухоль выявлена впервые и до специфического лечения пациенты не получали лечения: колоректальный рак, первичные саркомы костей, почечно-клеточный рак и новообразования яичников.

В настоящем исследовании нами представлена наибольшая группа 318 больными новообразованиями толстой кишки, из них у 303 пациентов выявлен КРР. При анализе данных у этих пациентов показано, что при новообразованиях толстой кишки (общая группа) концентрации рецептора значимо ниже, чем в контроле (39,6 и 46,3 пг/мл соответственно; $p=0,016$), тогда как уровни лиганда sPD-L1, наоборот, выше у пациентов относительно контроля (6,4 и 4,2 соответственно; $p=0,016$). Наиболее различались в

группах больных и контроля коэффициенты соотношения sPD-L1/sPD-1 (медианы 5,6 и 10,6 соответственно; $p=0,0065$).

При более глубоком анализе выявлено, что концентрации рецептора при ДОК, КРР и в контроле не различались. На основании этих данных убедительно утверждаем, что белок sPD-1 не обладает необходимой информативностью в диагностике КРР.

Последующий анализ показал, что медиана концентрации лиганда sPD-L1 при КРР достоверно выше, чем в контроле (соответственно 6,4 и 4,2 пг/мл; $p=0,016$), как и при ДОК (соответственно 8,1 и 4,2 пг/мл; $p<0,05$), но у последних не отличалась от больных КРР ($p=0,42$). При этом, как в контрольной группе, так и у больных КРР не выявлено корреляционной ассоциации между уровнями рецептора sPD-1 и лиганда sPD-L1 в сыворотке крови.

Следует отметить, что исследования растворимых форм sPD-1 и sPD-L1 проводятся активно в клинической онкологии [91, 246, 281]. При этом, отмечены повышенные уровни sPD-L1 в крови больных при диффузной крупноклеточной В-лимфоме [211], меланоме [279], немелкоклеточном раке легкого [199], а высокая экспрессия PD-L1 отмечена при гепатоцеллюлярной карциноме [267]. Авторы этих исследований относят высокий уровень sPD-L1 к неблагоприятным факторам злокачественной опухоли [267].

Особую группу в настоящем исследовании представляют первичные злокачественные опухоли костей, которые отличаются крайне редкой частотой выявления, в основном у подростков и детей пубертатного возраста, протекают агрессивно и склонны в основном к гематогенному метастазированию в легкие [237]. У этих пациентов большинство авторов отмечают выраженные нарушения системы противоопухолевого иммунитета, которые в ряде наблюдений сопутствуют метастазированию этих новообразований [37, 140, 166, 275].

Анализ исходных до лечения концентраций рецептора sPD-1 не выявил различий между группами контроля, злокачественными,

доброкачественными и пограничными (гигантоклеточная) опухолей костей, что не позволяет использовать данный белок sPD-1 в качестве биомаркера в диагностике опухолей костей. Этот вывод подтвердили результаты проведенного нами ROC-анализа.

Вместе с тем, интересный факт выявлен нами при анализе исходных до лечения концентраций лиганда sPD-L1 в группе пациентов с новообразованиями костей. Так, содержание лиганда sPD-L1 в крови больных новообразованиями костей всех групп было достоверно выше таковых в контроле (9,2 пг/мл), но не различалось между пациентами с различным характером опухолевого процесса и составило при злокачественных, пограничных, доброкачественных новообразованиях соответственно 23,2, 21,6 и 24,7 пг/мл ($p > 0,05$). При этом, не обнаружили корреляционной ассоциации между растворимыми формами рецептора sPD-1 и лиганда sPD-L1 у здоровых доноров группы контроля ($r_s = 0,02$) и в общей группе больных первичными саркомами костей ($r_s = -0,14$).

Близко к группе больных первичными ЗОК стоит группа пациентов с ПКР по уровню распределения концентраций sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови. Следует отметить, ПКР в мире считается лидером среди онкологических болезней органов мочеполовой системы [1, 40], что связано с улучшением ранней диагностики. При этом, ПКР представляет достаточно гетерогенную группу новообразований и их клиническое течение может быть неоднозначным. В одних случаях он протекает длительно и бессимптомно, в других, крайне агрессивно, с быстрым ростом и метастазированием, низкой эффективностью лекарственной терапии [9, 35]. Кроме того, следует отметить, что рак почки относят к высокоиммуногенным опухолям [11, 33, 191] и их длительное бессимптомное клиническое течение отличает от других злокачественных опухолей. Поэтому пристальный интерес исследователей и практикующих онкологов к контрольным точкам иммунитета и их ингибиторам при ПКР неслучаен. Прежде всего, это связано с внедрением в современную онкологическую клинику новых ингибиторов КТИ

(ипилимумаб, ниволумаб, алектумаб, ритуксимаб), изменивших прогноз болезни, в том числе и ПКР [141, 181, 189, 231].

Анализ полученных нами данных отметил достоверно высокие уровни рецептора при ПКР (58,8 пг/мл) относительно контроля (48,8 пг/мл; $p=0,0042$), которые не отличались от пациентов с ДОП (47,3 пг/мл; $p=0,13$), но последние не отличались от контроля. Все выше указанное свидетельствует о том, что sPD-1 не может служить диагностическим маркером рака почки, что подтвердил ROC-анализ.

Сходная зависимость отмечена и для лиганда, который также был значимо выше при ПКР относительно котроля (соответственно 28,2 и 7,6 пг/мл; $p<0,0001$) и не отличался от пациентов с ДОП (18,6 пг/мл). Поэтому, использовать сывороточные показатели лиганда sPD-L1 в диагностике ПКР также не представляется возможным, что подтверждено кривыми ROC-анализа. Представленные нами данные подтверждают результаты исследования sPD-L1, полученные другими авторами, которые свидетельствуют об увеличении концентрации sPD-L1 в крови больных раком желудка [277], гепатоцеллюлярной карциномой [103], немелкоклеточным раком легкого [271], лимфомой Ходжкина [117].

Несомненный интерес представлял анализ связи исследованных маркеров иммунитета у онкологических больных с возрастом.

Так, например, в контроле ($r_s=-0,48$) и у больных саркомами костей ($r_s=-0,37$) обнаружена обратная значимая связь с возрастом уровней рецептора. В тоже время, уровни лиганда в общей группе больных саркомами костей не связаны с возрастом ($r_s=0,2$). Однако нами отмечено статистически значимое снижение уровней рецептора у взрослых лиц (старше 18 лет) в контроле и у больных саркомами костей, что подтвердил дисперсионный анализ, при этом, уровни лиганда и показатель sPD-1/sPD-L1 не связаны с возрастом пациентов в обеих группах. В контроле самые высокие медианы рецептора обнаружены в возрасте до 30 лет (53,0 пг/мл), а самые низкие – старше 60 лет (36,3 пг/мл; $p=0,06$). Выше указанная

зависимость была характерной и для сарком костей, но достоверная: уровни рецептора были наибольшими у пациентов до 30 лет (60,2 пг/мл) и наименьшими – в возрасте 50-59 лет (37,0 пг/мл; $p=0,01$).

Уровни рецептора при ПКР не имели связи с возрастом ($r_s=-0,03$), в отличие от контроля, где выявлена обратная достоверная корреляционная зависимость между указанными показателями ($r_s=-0,38$). Показатели лиганда в контроле и у больных ПКР не связаны с возрастом (соответственно $r_s=0,26$ и $r_s=-0,17$), как и показатель sPD-1/sPD-L1, все это подтвердил дисперсионный анализ.

Вместе с тем, в работе Y. Chen et al. (2011) авторы обнаружили наиболее низкие уровни sPD-L1 у здоровых детей в возрасте до 10 лет, а наиболее высокие значения маркера в возрасте 51-70 лет, что отличает их от полученных нами данных в контрольной группе здоровых детей и подростков [76]. В проведенном нам исследовании у детей отмечены высокие показатели лиганда в отличие от взрослых, что подтверждают данные Y. Ding et al. (2017) [91].

По нашим данным биомаркеры и показатель sPD-1/sPD-L1 при ЗОЯ не связаны с возрастом и репродуктивным статусом, что было характерно и для контроля.

Таким образом, связь уровней исследованных нами биомаркеров с возрастом в контроле и группах больных КРР, саркомами костей, при ПКР и новообразованиях яичников носит разнонаправленный характер. Объяснить этот факт данными литературы представляется в настоящее время практически не возможным, поскольку таких работ очень мало, однако следует обратить внимание на то, что нами обнаружено достоверное снижение рецептора sPD-1 с возрастом как в контроле, так и у больных первичными злокачественными опухолями костей.

Интерес представлял анализ исследованных иммунологических показателей в крови онкологических больных с учетом их пола.

В наибольшей группе 303 больных КРР не установлено связи между исследованными иммунными маркерами sPD-1 и sPD-L1 с полом пациентов. Полученные нами результаты подтверждает работа с мета-анализом данных, авторы которой также не выявили связи лиганда sPD-L1 с полом больных КРР [158]. При этом, следует отметить, что КРР является наиболее частым заболеванием у женщин [104].

При ДОК, ПОК и ЗОК дисперсионный анализ не выявил связи с sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 с полом пациентов. Следует отметить, что частота превышения sPD-1 над его лигандом была значимо выше в группе больных саркомами костей мужчин (83,1%, 49 из 59) по сравнению с таковой у женщин (62,2%, 23 из 37) ($p=0,021$).

Уровни биомаркеров и показатель sPD-1/sPD-L1 не связаны с полом в контроле, у больных доброкачественными опухолями почки и ПКР, что подтвердил дисперсионный анализ, за исключением концентраций лиганда sPD-L1 у больных раком почки ($p=0,02$). При ПКР у мужчин уровни лиганда достоверно выше, чем у женщин (32,5 и 17,9 пг/мл соответственно; $p<0,022$).

Следует отметить, что в работе X. Li et al. (2021) был представлен мета-анализ 21 исследования иммуноферментным методом концентрации sPD-L1 в крови с участием 2413 онкологических пациентов и у большинства исследователей не наблюдалось значимой корреляции между уровнями sPD-L1 и полом, возрастом обследованных пациентов [158].

Представленные нами данные свидетельствуют о том, что уровни лиганда и рецептора при КРР, ПКР, опухолях костей носят разнонаправленный характер и зависят от пола.

На следующем этапе работы проанализировали ассоциацию концентраций sPD-1, sPD-L1 и коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1 с критериями системы TNM.

При КРР не обнаружили связи концентраций sPD-1 с критерием Т, но выявили достоверное повышение уровней лиганда sPD-L1 и коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1 по мере увеличения критерия Т.

У больных опухолями костей не выявлено связи критерия Т с исследованными концентрациями маркеров иммунитета. Однако установлена достоверная обратная ассоциация между уровнями sPD-1 у больных саркомами костей и наибольшим размером опухоли по данным УЗИ ($r_s = -0,48$; $p < 0,05$), зависимость размера опухоли с концентрацией лиганда sPD-L1 была прямой и незначимой ($r_s = 0,3$; $p > 0,05$).

У больных ПКР не обнаружили ассоциации концентраций sPD-1 и коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1 с критерием Т, но отмечено достоверное повышение медиан концентраций лиганда sPD-L1 с увеличением критерия Т.

В группе больных злокачественными опухолями яичников не выявили связи концентраций sPD-1 в плазме крови с критерием Т, а для лиганда sPD-L1 обнаружено высокосignимое повышение уровней sPD-L1 в плазме крови при увеличении критерия Т.

Таким образом, в трех группах обследованных больных КРР, ПКР, ЗОЯ обнаружено повышение концентрации лиганда sPD-L1 в крови с увеличением критерия Т.

Провели анализ исследованных уровней биомаркеров с критерием N во всех обследованных группах.

Так, показатели sPD-1 и sPD-L1 не были достоверно связаны с критерием N при КРР, однако обнаружена сильная тенденция к наименьшей медиане коэффициента соотношения белков sPD-1/sPD-L1 у больных КРР с критерием N2.

Ввиду малочисленности больных первичными саркомами костей с регионарными метастазами ($n=3$) анализ изученных биомаркеров с критерием N не проводили.

Уровни рецептора sPD-1 и показатель sPD-1/sPD-L1 не связаны при ПКР с регионарными метастазами (критерии N1 и N2), однако концентрации лиганда достоверно связаны с критериями N1 и N2 и их уровни были достоверно выше, чем при N0.

Исследованные маркеры и показатель sPD-1/sPD-L1 очень слабо отражали их связь с регионарными метастазами при ЗОЯ.

Проанализировали связь показателей sPD-1, sPD-L1 и их соотношение sPD-1/sPD-L1 в крови обследованных групп больных с учетом индекса М.

У больных КРР и саркомами костей не обнаружили значимой связи уровней показателей sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 с критерием М.

У больных ПКР критерий М наибольшим образом отражала концентрация лиганда sPD-L1 в крови. Медиана концентраций лиганда была достоверно выше при М⁺, показатели рецептора и sPD-1/sPD-L1 не связаны с индексом М.

При ЗОЯ исследованные биомаркеры не связаны с индексом М.

Провели анализ концентраций sPD-1 и sPD-L1 в крови, а также их соотношение у больных с учетом клинической стадии заболевания.

При КРР наибольшим образом клиническую стадию отражал лиганд и показатель sPD-1/sPD-L1. В качестве примера, показатель sPD-1/sPD-L1 был достоверно выше при начальных I-II стадиях.

Исследованные биомаркеры не были связаны со стадией заболевания у больных злокачественными опухолями костей.

При ПКР выявлен значимый рост концентраций лиганда sPD-L1 в крови у пациентов при увеличении клинической стадии заболевания.

У больных ЗОЯ не выявлено значимой связи концентраций sPD-1 со стадией заболевания по FIGO, тогда как лиганд был достоверно выше при IV (80,8 пг/мл) стадии по сравнению с I стадией (14,8 пг/мл; $p < 0,0001$).

Следует указать, что ряд исследователей подтвердили полученные нами данные о связи экспрессии PD-1 и/или PD-L1 с распространенностью опухолевого процесса и прогрессией ЗОЯ [86, 95]. Бессимптомное течение, низкие показатели выживаемости при раке яичников [173, 221] и обнаружение экспрессии PD-L1 в опухоли как мишени иммунотерапии может иметь большое значение [95]. При этом, выявленные растворимые формы рецептора программируемой гибели клетки и его лиганда

свидетельствуют об активном их участии в прогрессии болезни и, вероятно, механизмах действия иммунотерапии [130].

На следующем этапе работы проанализировали уровни биомаркеров у больных обследованных групп с учетом морфологического строения опухоли.

Колоректальный рак был представлен аденокарциномой (301 наблюдение), поэтому не представляло возможным проводить связь исследованных маркеров с морфологическим вариантом новообразования.

Например, при хрящобразующей хондросаркоме кости установлены наименьшие значения сывороточного рецептора (36,3 пг/мл), а наибольшие при опухоли Юинга (70,3 пг/мл). Объяснением этому факту може быть связь sPD-1 с возрастом в вышеуказанных группах, многофакторный анализ (см. выше) подтвердил большую связь уровней sPD-1 с возрастом больных саркомами костей ($p=0,015$), чем с морфологическим типом ЗОК ($p=0,049$). Кроме того, многофакторный анализ выявил, что показатель sPD-1/sPD-L1 при ЗОК достоверно определял морфологический тип саркомы кости ($p=0,0019$), а для возраста был незначимым ($p=0,25$). Уровни лиганда sPD-L1 в крови не отражали достоверно морфологический вариант ЗОК, хотя они были более высокими при саркоме Юинга (26,6 пг/мл) и ниже при хордоме (18,7 пг/мл).

У больных ПКР выявлены определенные зависимости уровней биомаркеров от морфологического типа новообразования: при светлоклеточном варианте ПКР обнаружена наименьшая медиана рецептора программируемой гибели клетки (55,4 пг/мл), тогда как при прочих его гистологических вариантах медиана sPD-1 колебалась от 87,0 до 97,1 пг/мл. В настоящем исследовании следует указать на небольшие группы пациентов с редкими морфологическими типами ПКР Концентрации лиганда sPD-L1 и соотношение показателей иммунитета sPD-1/sPD-L1 в крови пациентов с ПКР не отражали морфологический тип опухоли ($p>0,05$).

В проведенном нами исследовании среди опухолей у больных раком яичников преобладала серозная аденокарцинома и небольшие группы эндометриоидной и муцинозной аденокарцином, что подтверждают результаты других исследователей [148, 152, 160]. При этом уровни исследованных биомаркеров не связаны с морфологическим вариантом ЗОЯ.

Анализировали уровни sPD-1 и sPD-L1 в крови больных с учетом степени дифференцировки злокачественных опухолей.

У больных КРР наблюдали достоверное снижение уровня рецептора по мере снижения степени дифференцировки опухоли с G1 до G3 ($p=0,02$), тогда как для sPD-L1, наоборот, установили статистически значимое повышение концентрации маркера (5,7 пг/мл – при G1 и 7,5 пг/мл – при G2; $p=0,004$), однако в группе пациентов с низкой степенью дифференцировки опухоли G3 медиана концентрации лиганда вновь снижалась до значения 5,8 пг/мл. Высокозначимо снижалась медиана коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1 исследованных белков в крови больных КРР с G2 опухолями по сравнению с таковой при G1 опухолях, при G3 опухолях медиана соотношения маркеров не отличалась от таковой при G1 опухолях.

Следует отметить, что при разделении больных серозным раком яичников с учетом степени злокачественности (Low grade и High grade) согласно современной классификации различий в уровнях биомаркеров не выявили.

Следует отметить, что у больных ПКР исследованные уровни sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 не связаны с критерием G.

Сходная закономерность выявлена у больных раком яичников, у которых уровни биомаркеров не связаны со степенью дифференцировки рака яичников, хотя другие исследователи выявили экспрессию PD-L1 значительно чаще в опухолях высокой степени злокачественности (41,5%), чем в опухолях низкой степени злокачественности (7,7%; $p=0,040$) [95], что в будущем предсказывало неблагоприятный прогноз заболевания.

Следует указать, что мета-анализ 21 работы по иммуноферментному исследованию концентрации sPD-L1 в крови различных онкологических больных не выявил связи уровней маркера с клинической стадией и степенью дифференцировки опухолей [158].

На следующем этапе работы провели анализ связи локализаций опухолей в пораженных органах с уровнями биомаркеров.

Показатели sPD-1, sPD-L1, sPD-1/sPD-L1 при KPP не связаны со стороной поражения толстой кишки (правой, левой), однако концентрация лиганда была достоверно выше при раке прямой кишки, чем его локализация в ректосигмоидном отделе (7,1 и 4,7 пг/мл соответственно, $p=0,008$). Группа авторов выявила связь уровня sPD-L1 с анатомической локализацией опухоли, но в желудке [84]. Достоверно высокие концентрации sPD-L1 обнаружены в пищеводно-желудочном переходе по сравнению с телом и пилоро-антральным отделом пораженного опухолью органа.

Только уровни sPD-1 достоверно связаны с видом пораженной кости ($p=0,007$): низкие значения рецептора обнаружены при саркоме лонной кости (21,2 пг/мл), а наиболее высокие при опухоли бедренной кости (61,9 пг/мл). При саркомах лонной кости обнаружена также наибольшая медиана лиганда sPD-L1, но она носила характер недостоверной (39,1 пг/мл).

Концентрации sPD-1 в плазме крови больных ЗОЯ не отражали сторону поражения органа. Напротив, концентрации лиганда sPD-L1 при двустороннем опухолевом поражении яичников были значимо выше таковых, чем при одностороннем (52,5 и 36,8 пг/мл соответственно; $p=0,012$).

Превышение концентраций лиганда над рецептором достоверно выше у больных РЯ с асцитом (57,1%, 32 из 56), чем без такового (24,4%, 11 из 45; $p=0,001$), что свидетельствует о связи лиганда с прогрессией опухолевого процесса. Это подтвердили в своих исследованиях другие авторы [50, 51]. Кроме того, не обнаружено связи концентраций sPD-1 и коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1 в плазме крови в группах больных ЗОЯ с наличием и отсутствием раковых клеток в смывах из брюшной полости

($p > 0,05$). При этом, медиана sPD-L1 была заметно выше (80,8 пг/мл), а коэффициент соотношения достоверно ниже (0,6) в сравниваемых группах пациенток с наличием или отсутствием раковых клеток в смывах из брюшной полости ($p = 0,009$). При этом, частота превышения концентраций лиганда sPD-L1 над рецептором sPD-1 была значимо выше у пациенток с наличием раковых клеток в смывах из брюшной полости (72,0%, 18 из 25) по сравнению с больными без таковых (28,6%, 4 из 14; $p = 0,009$), что также указывает на связь иммунологических показателей с прогрессией заболевания [156, 176].

Несомненный интерес представлял анализ связи уровней sPD-1, sPD-L1 и коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1 с прогнозом выживаемости.

При однофакторном анализе достоверно общую выживаемость отражали у больных KPP такие клинические признаки как критерий M ($p < 0,0001$), критерий T ($p = 0,017$), критерий N ($p = 0,0001$), клиническая стадия ($p < 0,0001$), степень дифференцировки опухоли ($p = 0,007$), локализация опухоли в кишке ($p = 0,01$). Однако, при многофакторном анализе только критерий M можно считать независимым фактором прогноза ($p < 0,0001$). Также выявлено, что низкие значения sPD-1 < 25 пг/мл в крови больных KPP следует считать прогностически неблагоприятными ($p = 0,048$). Высокие значения sPD-L1 ≥ 10 пг/мл в крови больных KPP показали достоверно худшую 5-летнюю общую выживаемость ($p = 0,0007$). Самые высокие показатели 5-летней выживаемости отмечены при KPP у пациентов при одновременном уровне sPD-1 ≥ 25 пг/мл и sPD-L1 < 10 пг/мл ($96,1 \pm 2,3\%$). Многофакторный анализ (Proportional hazard (Cox) regression) подтвердил, что у больных KPP общая выживаемость связана с изученными показателями иммунитета sPD-1, sPD-L1 и критериям системы TNM, которые следует считать независимыми факторами прогноза.

Обнаружено, что высокие значения sPD-1 ≥ 40 пг/мл в крови больных ЗОК следует считать прогностически неблагоприятными, различия 5-летней выживаемости достигали 33% ($41,5 \pm 10,7\%$ при sPD-1 ≥ 40 против $74,4 \pm 7,7\%$

при sPD-1 <40 пг/мл, $p=0,037$). Концентрации sPD-L1 ≥ 18 пг/мл в крови больных саркомами костей показали на 51,3% значимо худшую общую выживаемость ($p=0,032$). Наиболее высокая 5-летняя кумулятивная выживаемость обнаружена у больных с sPD-1 <40 пг/мл и sPD-L1 <18 пг/мл (100%), исследованных одновременно. Достоверно наихудшая 5-летняя общая кумулятивная выживаемость при ЗОК отмечена с одновременно «высокими» уровнями биомаркеров (sPD-1 ≥ 40 пг/мл и sPD-L1 ≥ 18 пг/мл), относительно «низких» их значений ($p=0,018$). Многофакторный анализ показал, что длительность жизни пациентов в большей степени определяли показатели иммунитета sPD-1, sPD-L1 ($p=0,003$), чем морфологическое строение новообразования ($p=0,015$).

В литературе представлены единичные работы по исследованию sPD-1 и sPD-L1 при опухолях костей [123, 137, 235]. В основном изучение продукции PD-1 и PD-L1 проводили методом ИГХ, который оценивает экспрессию маркера в опухолях костей. Так, например результаты авторов свидетельствуют о том, что продукция первичными саркомами костей PD-L1 варьирует в широких пределах, а гиперэкспрессия выявлена только в 23,7% опухолей [217].

Полученные нами данные подтверждают исследования других авторов о неблагоприятном прогнозе выживаемости и высоком риске метастазирования у больных с гиперэкспрессией PD-L1 в остеосаркомах, злокачественных опухолях яичников, ПКР [4, 281].

По данным Z. Zhu et al. (2017) была выявлена достоверная связь экспрессии PD-L1 в опухоли (мета-анализ данных 868 пациентов из США, Великобритании, Японии, Южной Кореи, Нидерландов, Италии, Бразилии) с выживаемостью при остеосаркоме и хондросаркоме кости [281]. Однако следует отметить, что уровни экспрессии PD-L1 колебались от 6% до 75%. Кроме того, экспрессия PD-L1 положительно коррелировала с инфильтрацией Т-лимфоцитов, позитивных по гену программируемой смерти 1 (PD-1) ($p=0,000$). Исследователи полагают, что высокая экспрессия

PD-L1, вероятно, является негативным фактором для пациентов с саркомами костей и предсказывает худшие результаты выживания.

По данным представленного нами исследования и ранее опубликованных результатов [43] установлено, что выживаемость при ПКР связана достоверно с каждым из критериев системы TNM, стадией болезни, степенью дифференцировки опухоли и полом пациентов. Однако многофакторный анализ выделил только два достоверных фактора: критерии Т и М. Из биомаркеров только лиганд, а не рецептор программируемой гибели клетки, был достоверно связан с прогнозом ПКР, выживаемость снижалась при увеличении содержания сывороточного sPD-L1 ($p=0,0064$). При этом, многофакторный анализ связи общей выживаемости больных ПКР в сравнении с такими факторами прогноза как критерии Т и М, выявил, что sPD-L1 также можно считать достоверным и независимым фактором прогноза ($p=0,043$) наряду с критерием Т ($p=0,0011$) и критерием М ($p=0,03$).

Значимо худшие отдаленные результаты при ЗОЯ отмечены при критерии распространенности Т3 (5-летняя общая выживаемость составила $56,9 \pm 6,3\%$, а при Т1 – $82,5 \pm 8,2\%$; $p=0,017$). В то же время 2-летняя общая выживаемость пациенток заметно снижалась уже при критерии Т2. Общая выживаемость больных раком яичников с критерием N1 не отличалась значимо от таковой в группе пациенток без метастазов в регионарных лимфоузлах ($p=0,8$). Достоверно хуже была выживаемость больных ЗОЯ в группе с критерием M1 (0%) ($p=0,037$). Медиана срока жизни этих пациенток была наименьшей и составила 38,6 месяцев от начала лечения. При этом различия становились выраженными после 3-летнего срока наблюдения. Многофакторный анализ (Proportional hazard (Cox) regression) показал, что из критериев системы TNM независимым фактором прогноза длительности жизни больных ЗОЯ является только критерий М ($p=0,004$). Стадия FIGO при однофакторном анализе также показала значимую связь с выживаемостью больных ЗОЯ ($p=0,015$). Так, 5-летняя выживаемость составила $83,7 \pm 7,7\%$ -

при I стадии, снижалась до $72,7 \pm 13,4\%$ - при II стадии, до $64,2 \pm 6,3\%$ - при III стадии и до 0% - при IV стадии.

Проведенный X. Li et al. (2021) мета-анализ растворимой формы лиганда sPD-L1 в крови при различных типах злокачественных опухолей подтвердил тот факт, что высокие концентрации маркера следует считать неблагоприятным фактором прогноза [158].

Подводя итоги настоящей работы можно сделать следующее заключение. Растворимые формы sPD-1 и sPD-L1 тесно связаны с основными клиническими и морфологическими характеристиками колоректального рака, почечно-клеточного рака, первичными злокачественными опухолями костей и раком яичников, а следовательно, с развитием, клиническим течением и прогрессией этих новообразований. По данным анализа ROC-кривых sPD-1 и sPD-L1 не могут быть использованы в качестве маркеров диагностики выше указанных злокачественных опухолей, однако могут служить наряду с известными биомаркерами и клинико-морфологическими характеристиками выше указанных нозологических форм опухолей факторами прогноза выживаемости у больных раком толстой кишки, почки, костей и яичников. Проведенные нами исследования могут служить ориентиром для оценки прогноза и стратификации риска у пациентов с КРР, ПКР, первичными саркомами костей и раком яичников, а также мишенями для иммунного лечения этих заболеваний.

ВЫВОДЫ

1. Уровни sPD-1 до лечения при злокачественных и доброкачественных опухолях толстой кишки не различались, но достоверно ниже, чем в контроле и значимо снижались при снижении степени дифференцировки опухоли. Концентрации sPD-L1 при KPP достоверно выше относительно контроля, при увеличении критерия Т и умеренной степени дифференцировки опухоли, не связаны с критериями N и M, значимо выше при раке прямой кишки по сравнению с сигмовидной. С увеличением критерия Т показатель sPD-1/sPD-L1 достоверно снижался, но слабо отражал критерии N и M, был выше при высокодифференцированных опухолях и их локализации в прямой кишке по сравнению с сигмовидной.

2. Однофакторный анализ показал, что 5-летнюю общую выживаемость достоверно отражали критерии Т ($p=0,017$), N ($p<0,0001$), M ($p=0,0001$), степень дифференцировки опухоли ($p=0,007$) и ее локализация ($p=0,01$). При многофакторном анализе только критерий M можно считать независимым фактором прогноза выживаемости больных KPP ($p<0,0001$). Значения sPD-1 <25 пг/мл в сыворотке крови больных KPP следует считать прогностически неблагоприятными факторами прогноза 5-летней общей выживаемости. Неблагоприятный прогноз выживаемости отмечен среди пациентов с уровнями sPD-L1 ≥ 10 пг/мл в сыворотке крови ($p=0,0007$): 5-летняя общая выживаемость в этой группе оставила $57,5 \pm 14,3\%$, тогда как при sPD-L1 <10 пг/мл – $93,6 \pm 2,6\%$.

3. Достоверно высокая 5-летняя общая выживаемость отмечена при KPP с одновременно высоким уровнем sPD-1 ≥ 25 пг/мл и низким sPD-L1 <10 пг/мл и составила $96,1 \pm 2,3\%$. Многофакторный анализ выявил, что показатели sPD-1 и sPD-L1 ассоциированы с бóльшим влиянием на длительность жизни этих пациентов ($p=0,0021$), как и критерии Т ($p=0,018$) и N ($p=0,039$). В общей группе больных KPP многофакторный анализ подтвердил связь с общей выживаемостью уровней sPD-1 и sPD-L1 и критериев Т и N.

4. Исходные до лечения уровни рецептора sPD-1 не отличались у больных доброкачественными, пограничными, злокачественными опухолями костей от контроля, при саркомах костей не связаны с полом пациентов, критериями системы TNM, локализацией опухоли, типом пораженной кости, но достоверно выше при мезенхимальной саркоме Юинга и костеобразующей остеосаркоме, по сравнению с хрящеобразующей хондросаркомой кости.

5. Сывороточные уровни sPD-L1 не отличались у больных доброкачественными, пограничными, злокачественными опухолями костей, но в общей группе были выше, чем в контроле. При этом концентрации лиганда не связаны с возрастом, полом, критериями T, N, M, типом пораженной кости и локализацией опухоли в костях скелета, но достоверно снижались с уменьшением степени дифференцировки опухоли.

6. При саркомах костей одновременно высокие уровни сывороточных биомаркеров (sPD-1 ≥ 40 пг/мл и sPD-L1 ≥ 18 пг/мл) следует считать неблагоприятным фактором прогноза, а многофакторный анализ выявил связь длительности жизни больных с показателями иммунологических биомаркеров ($p=0,0039$) и морфологическим типом новообразования ($p=0,015$).

7. Обнаружены достоверно высокие сывороточные уровни sPD-1 у больных ПКР, по сравнению с доброкачественными новообразованиями почки ($p=0,013$) и контролем ($p=0,004$), которые не связаны с полом, возрастом, критериями T, N, M, степенью дифференцировки опухоли и только медиана уровня рецептора достоверно ниже у больных светлоклеточным ПКР по сравнению с хромофобным и папиллярным ($p=0,002$).

8. Показано, что сывороточные концентрации лиганда sPD-L1 при ПКР достоверно выше, чем в контроле ($p<0,0001$), не отличались от доброкачественных опухолей почки, но были выше у мужчин, чем женщин ($p=0,022$). При этом, установлено достоверное повышение маркера при

увеличении индексов T, N, M и его снижение по мере снижения степени дифференцировки опухоли; уровни sPD-1 и sPD-L1 не коррелировали между собой.

9. При однофакторном анализе 5-летняя общая выживаемость больных ПКР достоверно связана с критериями T ($p=0,00016$), N ($p<0,0001$), M ($p=0,0085$), стадией заболевания ($p<0,0001$), степенью дифференцировки опухоли ($p=0,02$) и полом пациентов ($p=0,027$). Многофакторный анализ подтвердил ассоциацию общей выживаемости больных ПКР с такими факторами как T, M и sPD-L1. Сывороточные концентрации sPD-L1 $\geq 42,6$ пг/мл следует считать неблагоприятным фактором прогноза общей выживаемости при ПКР ($p=0,0012$).

10. Уровни sPD-1 при доброкачественных новообразованиях яичников значимо выше, чем при пограничных опухолях ($p=0,015$) и не отличались от больных раком яичников. Концентрации sPD-1 у пациенток всех онкологических групп не отличались достоверно от контроля. Не выявлено связи концентраций sPD-1 у больных раком яичников с возрастом, критериями системы TNM, стадией, морфологическим вариантом строения опухоли и степенью ее дифференцировки, наличием асцита и раковых клеток в смывах из брюшной полости, объемом выполненной циторедукции.

11. Концентрации лиганда sPD-L1 в плазме крови общей группы больных новообразованиями яичников были достоверно ниже, чем у здоровых женщин и не различались при доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях яичников. Не выявлено значимой связи концентраций sPD-L1 в плазме крови больных раком яичников с возрастом, менструальным статусом, морфологическим вариантом опухоли и степенью ее дифференцировки. Обнаружено высокозначимое повышение медиан концентраций sPD-L1 по мере увеличения критерия T, клинической стадии заболевания, при наличии асцита и двустороннем поражении органа. При однофакторном анализе выявлена значимая связь 5-летней общей выживаемости больных раком яичников с возрастом ($p=0,012$), критерием T

($p=0,017$), критерием М ($p=0,037$), стадией FIGO ($p=0,015$), наличием опухолевых клеток в смывах из брюшной полости ($p=0,01$), наличием асцита ($p=0,048$), а при многофакторном – только с критерием М ($p=0,013$). Достоверно худшая общая выживаемость выявлена в группе больных с превышением концентраций лиганда sPD-L1 над sPD-1, составившая $56,7 \pm 7,5\%$ ($p=0,031$). Значения sPD-1 ≥ 45 пг/мл в плазме крови больных раком яичников следует считать прогностически неблагоприятным относительно 5-летней выживаемости ($p=0,032$). Наилучшая 5-летняя выживаемость выявлена в группе больных раком яичников с одновременно низкими концентрациями sPD-1 < 45 пг/мл и sPD-L1 < 41 пг/мл ($78,1 \pm 10,6\%$), а наихудшая в группе пациенток с одновременно «высокими» концентрациями исследованных маркеров ($44,2 \pm 9,4\%$).

12. Многофакторный анализ связи общей выживаемости больных злокачественными опухолями яичников с такими факторами как морфологический диагноз и прогноз по обоим показателям иммунитета, показал, что показатели иммунитета можно считать независимыми факторами прогноза общей выживаемости пациенток ($p=0,02$) наряду с критерием М ($p=0,045$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Врачам клинической лабораторной диагностики, онкологам, проктологам, гастроэнтерологам, травматологам и ортопедам, работающим в специализированных онкологических стационарах, рекомендуется:

1. Определение у больных колоректальным раком sPD-1 в сыворотке крови - значения маркера < 25 пг/мл следует считать значимым прогностически неблагоприятным фактором, а высокие концентрации sPD-L1 ≥ 10 пг/мл показывают достоверно худшую 5-летнюю общую выживаемость ($p=0,0007$). Наилучшая 5-летняя общая выживаемость обнаружена у больных колоректальным раком с одновременно высокими концентрациями sPD-1 ≥ 25 пг/мл и низкими концентрациями sPD-L1 < 10

пг/мл, которая составляет $96,1 \pm 2,3\%$. Многофакторный анализ (Proportional hazard (Cox) regression) подтвердил, что у больных КРР общая выживаемость связана с показателям иммунитета sPD-1, sPD-L1 и критериям системы TNM, которые следует считать независимыми факторами прогноза.

2. Исследование в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей уровней sPD-1 ≥ 40 пг/мл следует считать прогностически неблагоприятным фактором относительно прогноза общей 5-летней выживаемости. Концентрации sPD-L1 ≥ 18 пг/мл в крови больных саркомами костей указывают на достоверно худшую общую выживаемость этой категории пациентов. Статистически значимо худшая 5-летняя общая выживаемость отмечена у пациентов с одновременно высокими концентрациями sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови. Многофакторный анализ показал, что длительность жизни больных саркомами костей статистически значимо определяли показатели растворимых форм рецептора sPD-1 и его лиганда sPD-L1.

3. «Высокие» концентрации лиганда sPD-L1 (от 42,6 пг/мл и более) следует считать неблагоприятным фактором прогноза длительности жизни больных почечно-клеточным раком. Многофакторный анализ выявил, что уровни sPD-L1 можно считать достоверным независимым фактором прогноза наряду с критериями T и M системы TNM.

4. Целесообразно включить в программы повышения квалификации специалистов клинической лабораторной диагностики цикл лекций по проблеме прогностической значимости маркеров sPD-1 и sPD-L1 в крови больных колоректальным раком, саркомами костей, почечно-клеточным раком и раком яичников.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшее изучение проблемы растворимых форм рецептора программируемой гибели клеток sPD-1 и его рецептора sPD-L1 является перспективным направлением в оценке прогноза рака желудка, колоректального рака, сарком костей, почечно-клеточного рака. Наиболее перспективным путем разработки темы является сравнительный анализ сывороточных уровней sPD-1, sPD-L1 и уровня экспрессии PD-L1 в тканях первичных опухолей и анализ полученных данных в оценке эффективности лекарственной терапии (таргетной терапии, химиотерапии, иммунотерапии).

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев, Б.Я. Рак почки. Глава 18.2. Онкология. Национальное руководство. Краткое издание (Под рук. Чиссова В.И., Давыдова М.И.) / Б.Я. Алексеев, А.С. Калпинский // М.: Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа». – 2017. – С. 421–436.
2. Бежанова, С.Д. Морфологические особенности почечно-клеточного рака. В книге «Рак почки: клинические и экспериментальные исследования» / под ред. Н.Е. Кушлинского, В.Б. Матвеева, Н.А. Огнерубова, М.И. Давыдова). М.: Издательство РАМН, 2019. С. 37-66.
3. Биологические маркеры опухолей: фундаментальные и клинические исследования / Под ред. Н.Е. Кушлинского, М.А. Красильникова. М. – Издательство РАМН. – 2017. – 632 с.
4. Боголюбова, А.В. Иммуноterapia опухолей, основанная на блокировке иммунологических контрольных «точек» («чекпойнтов») / А.В. Боголюбова, Г.А. Ефимов, М.С. Друцкая, С.А. Недоспасов // Медицинская иммунология. – 2015. – Том 17, № 5. – С. 395–406.
5. Гарин, А.М. Заболеваемость, смертность, отдаленные результаты и последствия лечения онкологических больных в разных странах мира / А.М. Гарин, И.С. Базин // Российский онкологический журнал. – 2016. – Том 21, № 1-2. – С. 11–18.
6. Герштейн, Е.С. Растворимые формы PD-1 и PD-L1 в плазме крови больных раком желудка и их связь с клиническими и морфологическими характеристиками заболевания / Е.С. Герштейн, Н.А. Огнерубов, В.Л. Чанг [соавт.] // Клин. Лаб. Диагн. – 2020. – Том 65, № 6. – С. 347–352.
7. Глазанова, Т.В. Растворимые молекулы иммунных контрольных точек: механизмы образования, функции, роль при злокачественных новообразованиях / Т.В. Глазанова, И.Е. Павлова, Е.В. Кузьмич, Л.Н. Бубнова // Медицинская иммунология. – 2025. – Том. 27, № 1. – С. 21-34.

8. Глазанова, Т.В. Роль растворимых молекул иммунных контрольных точек при злокачественных заболеваниях системы крови (обзор литературы) / Т.В. Глазанова, И.Е. Павлова, Е.В. Кузьмич и соавт. // Молекулярная медицина. – 2024. – Т. 22, № 6. – С. 14-20.
9. Дьяков, И.Н. Клинико-экономический анализ 1-й и 2-й линий таргетной терапии распространенного почечно-клеточного рака / И.Н. Дьяков, С.К. Зырянов // Онкоурология. – 2016. – Том 12, № 4. – С. 43–51.
10. Заботина, Т.Н. Мембранные (CD8+PD-1+ и CD4+PD-1+) и растворимые (sPD-1 и sPD-L1) формы контрольных точек иммунитета у больных меланомой, раком молочной железы и раком слизистой оболочки полости рта / Т.Н. Заботина, А.И. Черткова, А.А. Борунова и соавт. // Современная онкология. – 2023. – Т. 25, № 3. – С. 301-307.
11. Заридзе Д.Г. Молекулярная эпидемиология рака почки. Глава в книге «Рак почки: клинические и экспериментальные исследования / под ред. Н.Е. Кушлинского, В.Б. Матвеева, Н.А. Огнерубова, М.И. Давыдова. – М.: Издательство РАМН, 2019. – С. 67-92.
12. Заридзе, Д.Г. Динамика заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в России / Д.Г. Заридзе, А.Д. Каприн, И.С. Стилиди // Вопросы онкологии. – 2018. –Том 64, № 5. – С. 578–590.
13. Заридзе, Д.Г. Профилактика злокачественных новообразований / Д.Г. Заридзе, Д.М. Максимович // Успехи молекулярной онкологии. – 2017. – Том 4, № 4. – С. 8–25.
14. Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадорой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2023.
15. Имянитов, Е.Н. Фундаментальная онкология в 2020 году: обзор наиболее интересных открытий / Е.Н. Имянитов // Практическая онкология. – 2021. – Том 22, № 1. – С. 1-8.

- 16.Кадагидзе, З.Г. Иммунная система и рак / З.Г. Кадагидзе, А.И. Черткова // Практическая онкология. – 2016. – Том 17, № 2. – С. 62–73.
- 17.Киселевский, М.В. Прогностические биомаркеры эффективности иммунотерапии злокачественных новообразований ингибиторами контрольных точек иммунного ответа / Киселевский М.В., И.В. Самойленко И.В., Жаркова О.В., [соавт.] // Российский журнал детской онкологии и гематологии. – 2021. – Том 8, № 2. – С. 73–83.
- 18.Ключагина, Ю.И. Роль рецептора PD1 и его лигандов PDL1 и PDL2 в иммунотерапии опухолей / Ю.И. Ключагина, З.А. Соколова, М.А. Барышникова // Онкопедиатрия. – 2017. – Том 4, № 1. – С. 49-55.
- 19.Ковалева, О.В. Иммуногистохимический анализ экспрессии PD-L1, CD4, CD8, CD20 и PU.1 в дедифференцированной хондросаркоме: клиническое и прогностическое значение / О.В. Ковалева, И.В. Булычева, Д.В. Рогожин // Альманах клинической медицины. – 2025. – Том 53, № 1. – С. 1-8.
- 20.Ковалева, О.В. Прогностическая значимость sPD-1/sPD-L1 при раке почки в зависимости от фенотипа опухолевых и стромальных клеток / О.В. Ковалева, А.Н. Грачев, Э.И. Макарова [соавт.] // Онкоурология. – 2022. – Том 18, № 2. – С. 1-12.
- 21.Ковалева, О.В. Прогностическая значимость экспрессии лиганда рецептора программируемой клеточной гибели PD-L1 в хордомах / О.В. Ковалева, И.В. Булычева, А.Н. Грачев [соавт.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2021. – Том 10, № S4. – С. 61-67.
- 22.Ковалева, О.В. Факторы иммуносупрессии PD-1, PD-L1, IDO1 и колоректальный рак / О.В. Ковалева, М.А. Рашидова, А.Н. Грачев А.Н. [соавт.] // Доклады Российской Академии Наук. Науки о жизни. – 2021. – Т. 497. – С. 160-164.
- 23.Кушлинский, Н.Е. [соавт.] / Ключевые компоненты сигнального пути контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 в сыворотке крови при

- опухолях костей / Н.Е. Кушлинский, А.А. Алферов, Ю.С. Тимофеев [соавт.] // Бюлл. Экспер. Биол. Мед. – 2020. – Том 170, № 7. – С. 79–83.
24. Кушлинский, Н.Е. Клиническая и прогностическая значимость sPD-1/sPD-L1 при раке яичников / Н.Е. Кушлинский, О.В. Ковалева, А.Н. Грачев [соавт.] // Иммунология. – 2024. – Том 45, № 2. – С. 183-192.
25. Кушлинский, Н.Е. Клиническая и прогностическая значимость растворимой формы контрольной точки иммунитета VISTA у больных первичными опухолями костей / Н.Е. Кушлинский, О.В. Ковалева, Ю.Б. Кузьмин [соавт.] // Клиническая лабораторная диагностика. - 2021. - Том. 66, № 9. - Р. 533-538.
26. Кушлинский, Н.Е. Современные подходы к иммунотерапии рака почки / Н.Е. Кушлинский, М.В. Фридман, А.А. Морозов и соавт. // Онкоурология. – 2018. – Том 14, N 2. – С. 54–67.
27. Кушлинский, Н.Е. Содержание растворимых форм рецептора программируемой гибели клетки sPD-1 и его лиганда sPD-L1 в сыворотке крови больных колоректальным раком / Н.Е. Кушлинский, В.В. Масленников, Е.А. Короткова [соавт.] // Технологии живых систем. – 2022. – Том 19, № 2. – С. 5-17.
28. Мамаев, А.Н. Статистические методы в медицине / А.Н. Мамаев, Д.А. Кудлай // М. – Практическая медицина. – 2021. – 136 с.
29. Матвеев, В.Б. Ниволумаб – новый стандарт в лечении метастатического рака почки / В.Б. Матвеев // Онкоурология. – 2017. – Том 13, № 3. – С. 18–26.
30. Моисеенко, Ф.В. Наноопухолевые биомаркеры / Ф.В. Моисеенко // Практическая онкология. – 2021. – Том 22, № 1. – С. 9–21.
31. Моисеенко, Ф.В. Резистентность к таргетной терапии / Ф.В. Моисеенко, В.М. Моисеенко // Практическая онкология. – 2021. – Том 22, № 2. – С. 138–164.
32. Моисенко, В.М. (Под ред.). Злокачественные опухоли [спецвыпуск журнала]: Практические рекомендации Российского общества

- клинической онкологии. Лекарственное лечение злокачественных опухолей. Поддерживающая терапия в онкологии // М. Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии», 2018. – 704 с.
- 33.Набережнов, Д.С. Система PD-1/PD-L1 при иммунотерапии рака почки. Часть 1. Сигнальный путь PD-1/PD-L1, его роль в иммунной системе и иммунотерапии / Д.С. Набережнов, А.А. Морозов, М.Ф. Фридман [соавт.] / Набережнов, Д.С. Морозов А.А., Фридман М.В. и соавт. // Медицинский алфавит. – 2018. – Том 2, № 29(366). – С. 22-31.
- 34.Носов, А.К. В поисках Атлантиды: предиктивные биомаркеры ответа на иммунотерапию / А.К. Носов, Н.Ф. Кротов, В.М. Беркут // Онкоурология. – 2021. – Том 17, № 1. – С. 167–177.
- 35.Носов, Д.А. Современное представление об алгоритме лекарственного лечения и оптимальной последовательности использования таргетных препаратов / Д.А. Носов, Е.А. Ворошилова, М.С. Саяпина // Онкоурология. – 2014. – № 3. – С. 12–21.
- 36.Онкология. Национальное руководство. Краткое издание / Под ред. В.И. Чиссова, М.И. Давыдова. – М. – ГЭОТАР-Медиа. – 2017. – 624 с.
- 37.Опухоли костей: клинические и фундаментальные исследования / Под ред. Н.Е. Кушлинского, И.В. Булычевой, Ю.Н. Соловьева. – Москва : Блок-Принт, 2025. – 1024 с.
- 38.Петри, А. Наглядная медицинская статистика / А. Петри, Л. Сэбин; пер. с англ.; под ред. В.П. Леонова – 3-е изд. перераб. и доп. // М. – ГЭОТАР-Медиа. – 2019. – 216 с.
- 39.Проценко, С.А. Современная иммунотерапия рака почки / С.А. Проценко, А.И. Семенова, А.П. Оганесян [соавт.] // Фарматека. – 2019. – Том 26. – № 7. – С. 73-78.
- 40.Рак почки: клинические и экспериментальные исследования / Под ред. Н.Е. Кушлинского, В.Б. Матвеева, Н.А. Огнерубова, М.И. Давыдова. – М.: Издательство РАМН, 2019. – 752 с.

41. Румянцев, А.Г. Эффективность ингибиторов контрольных точек иммунного ответа в лечении солидных опухолей / А.Г. Румянцев, С.А. Тюляндин // Практическая онкология. – 2016. – Том 17, № 2. – С. 74–89.
42. Саламатин, С.С. Растворимые формы рецептора программируемой гибели клетки PD-1 и его лиганда PD-L1 при раке молочной железы / С.С. Саламатин, О.В. Ковалева, Д.А. Рябчиков // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Том 27, № 12. – С. 3–9.
43. Соколов, Н.Ю. Показатели общей выживаемости больных почечно-клеточным раком и уровни sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови / Н.Ю. Соколов, О.В. Ковалева, С.Д. Бежанова [соавт.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2025. – Том 28, № 5. – С. 3–9.
44. Соколов, Н.Ю. Растворимые формы PD-1 и PD-L1 у больных опухолями костей / Н.Ю. Соколов, Д.В. Рогожин, К.А. Борзов [соавт.] // Технологии живых систем. – 2025. – Том 22, № 2. – С. 5–17.
45. Солопова, А.Г. Возможности и перспективы иммунотерапии в онкогинекологии / А.Г. Солопова, А.Ю. Власина, Н.И. Украинцев // Онкогинекология. – 2021. – № 1. – С. 4–13.
46. Стилиди, И.С. Белки sPD-1/sPD-L1 при немелкоклеточном раке легкого и плоскоклеточном раке пищевода / И.С. Стилиди, О.В. Ковалева, А.Н. Грачев [соавт.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2022. – Том 21, № 3. – С. 96–106.
47. Султанбаев, А.В. Механизмы формирования специфического опухолевого иммунитета и резистентности к ингибиторам контрольных точек иммунного ответа / А.В. Султанбаев, И.А. Тузанкина, А.Ф. Насретдинов [соавт.] // Вопросы онкологии. – 2024. – Том 70, № 3. – С. 433–439.
48. Тарасова, А.В. Современные возможности применения иммунотерапии в лечении рака шейки матки / А.В. Тарасова, К.А. Ганина, М.А. Мешкова //

- Опухоли женской репродуктивной системы. – 2021. – Том 17, № 2. – С. 104–111.
- 49.Хохлова С.В. Лекарственное лечение рака яичников. В книге «Рак яичников: фундаментальные и клинические исследования / под ред. Н.Е. Кушлинского, Л.Ф. Гуляевой, Н.А. Огнерубова, И.С. Стилиди. – Москва : Блок-Принт, 2021. – С. 644-693.
 - 50.Abiko, K. Dynamic host immunity and PD-L1/PD-1 blockade efficacy: developments after "IFN- γ from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer" / K. Abiko, J. Hamanishi, N. Matsumura, M. Mandai // Br. J. Cancer. – 2023. – Vol. 128, N 3. – P. 461-467.
 - 51.Abiko, K. IFN- γ from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer / K. Abiko, N. Matsumura, J. Hamanishi [et al.] // Br. J. Cancer. – 2015. – Vol. 112. – N 9. – P. 1501-1509.
 - 52.Abu Hejleh, T. The clinical significance of soluble PD-1 and PD-L1 in lung cancer / T. Abu Hejleh, M. Furqan, Z. Ballas, G. Clamon // Crit. Rev. Oncol. Hematol. – 2019. – Vol. 143. – P. 148-152.
 - 53.Adams, J.L. Big opportunities for small molecules in immuno-oncology / J.L. Adams, J. Smothers, R. Srinivasan, A. Hoos // Nat. Rev. Drug Discov. – 2015. – Vol. 14, N 9. – P. 603-622.
 - 54.Amand, M. Human CD56(dim)CD16(dim) Cells As an Individualized Natural Killer Cell Subset / M. Amand, G. Iserentant, A. Poli et al. // Front. Immunol. – 2017. – Vol. 8: 699.
 - 55.Amodio, V. Mechanisms of Immune Escape and Resistance to Checkpoint Inhibitor Therapies in Mismatch Repair Deficient Metastatic Colorectal Cancers / V. Amodio, G. Mauri, N.M. Reilly et al. // Cancers (Basel). – 2021. – Vol. 13, N 11:2638.
 - 56.Anderson, N.M. The tumor microenvironment / N.M. Anderson, M.C. Simon // Curr. Biol. – 2020. – Vol. 30, N 16. – R921-R925.
 - 57.Antonia, S.J. Immunologic nonresponsiveness to tumors / S.J. Antonia, M. Extermann, R.A. Flavell // Crit. Rev. Oncog. – 1998. – Vol. 9, N 1. – P. 35-41.

58. Avci, O. Soluble B7H3 level in breast cancer and its relationship with clinicopathological variables and T cell infiltration / O. Avci, E. Cavdar, Y. Iriagac et al. // *Contemp. Oncol. (Pozn)*. – 2022. – Vol. 26, N 1. – P. 27-31.
59. Balar, A.V. First-line pembrolizumab in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and unresectable or metastatic urothelial cancer (KEYNOTE-052): a multicentre, single-arm, phase 2 study / A.V. Balar, D. Castellano, P.H. O'Donnell [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2017. – Vol. 18, N 11. – P. 1483-1492.
60. Baragano Raneros, A. Secretory pathways generating immunosuppressive NKG2D ligands: New targets for therapeutic intervention / A. Baragano Raneros, B. Suarez-Alvarez, C. Lopez-Larrea // *Oncoimmunology*. – 2014. – Vol. 3: e28497.
61. Baral, A. B7-H3 and B7-H1 expression in cerebral spinal fluid and tumor tissue correlates with the malignancy grade of glioma patients / A. Baral, H.X. Ye, P.C. Jiang [et al.] // *Oncol. Lett.* – 2014. – Vol. 8, N 3. – P. 1195-1201.
62. Barata, P.C. Treatment of renal cell carcinoma: Current status and future directions / P.C. Barata, B.I. Rini // *Cancer J. Clin.* – 2017. – Vol. 67, N 6. – P. 507-524.
63. Bardhan, K. Phosphorylation of Y248 in the ITSM of PD-1 is indicative of PD-1-mediated inhibitory function / K. Bardhan, J.D. Weaver, I. Strauss, N. Patsoukis, V.A. Boussiotis // *J. Immunol.* – 2017. – Vol. 198, N 1, Supplement. – P. 154.9-9.
64. Bardhan, K. The PD1:PD-L1/2 Pathway from Discovery to Clinical Implementation / K. Bardhan, T. Anagnostou, V.A. Boussiotis // *Front. Immunol.* – 2016. – Vol. 7: 550.
65. Bi, X.W. PD-L1 is upregulated by EBV-driven LMP1 through NF-kappaB pathway and correlates with poor prognosis in natural killer/T-cell lymphoma / X.W. Bi, H. Wang, W.W. Zhang [et al.] // *J. Hematol. Oncol.* – 2016. – Vol. 9, N 1: 109.
66. Boorjian, S.A. T-cell coregulatory molecule expression in urothelial cell carcinoma: clinicopathologic correlations and association with survival / S.A.

- Boorjian, Y. Sheinin, P.L. Crispen [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2008. – Vol. 14, N 15. – P. 4800-4808.
67. Boudreau, J.E. Natural Killer Cell Education and the Response to Infection and Cancer Therapy: Stay Tuned / J.E. Boudreau, K.C. Hsu // Trends Immunol. – 2018. – Vol. 39, N 3. – P. 222-239.
68. Bradley, M. Role of spontaneous and interleukin-2-induced natural killer cell activity in the cytotoxicity and rejection of Fas⁺ and Fas⁻ tumor cells / M. Bradley, A. Zeytun, A. Rafi-Janajreh [et al.] // Blood. – 1998. – Vol. 92, N 11. – P. 4248-4255.
69. Bruno, A. A think tank of TINK/TANKs: tumor-infiltrating/tumor-associated natural killer cells in tumor progression and angiogenesis / A. Bruno, G. Ferlazzo, A. Albini, D.M. Noonan // J. Natl. Cancer Inst. – 2014. – Vol. 106, N 8. – P. dju200.
70. Cai, X. Control of Tumor Initiation by NKG2D Naturally Expressed on Ovarian Cancer Cells / X. Cai, A. Caballero-Benitez, M.M. Gewe [et al.] // Neoplasia. – 2017. – Vol. 19, N 6. – P. 471-482.
71. Chapoval, A.I. B7-H3: a costimulatory molecule for T cell activation and IFN- γ production / A.I. Chapoval, J. Ni, J.S. Lau [et al.] // Nat. Immunol. – 2001. – Vol. 2, N 3. – P. 269-274.
72. Chapoval, A.I. Immune Checkpoints of the B7 Family. Part 1. General Characteristics and First Representatives: B7-1, B7-2, B7-H1, B7-H2, and B7-DC / A.I. Chapoval, S.P. Chapoval, N.S. Shcherbakova, D.N. Shcherbakov // Rus. J. Bioorganic Chem. – 2019. – Vol. 45, N 4. – P. 225-240.
73. Che, F. B7-H6 expression is induced by lipopolysaccharide and facilitates cancer invasion and metastasis in human gliomas / F. Che, X. Xie, L. Wang [et al.] // Int. Immunopharmacol. – 2018. – Vol. 59. – P. 318-327.
74. Chen, L. Upregulation of soluble B7-H3 in NSCLC-derived malignant pleural effusion: A potential diagnostic biomarker correlated with NSCLC staging / L. Chen, G. Zhang, S. Sheng [et al.] // Clin. Chim. Acta. – 2016. – Vol. 457. – P. 81-85.

- 75.Chen, W. Characterization of a soluble B7-H3 (sB7-H3) spliced from the intron and analysis of sB7-H3 in the sera of patients with hepatocellular carcinoma / W. Chen, P. Liu, Y. Wang [et al.] // *PloS One*. – 2013. – Vol. 8, N 10: e76965.
- 76.Chen, Y. Development of a sandwich ELISA for evaluating soluble PD-L1 (CD274) in human sera of different ages as well as supernatants of PD-L1+ cell lines / Y. Chen, Q. Wang, B. Shi [et al.] // *Cytokine*. – 2011. – Vol. 56, N 2. – P. 231-238.
- 77.Chen, Y.W. The immunoregulatory protein human B7-H3 is a tumor-associated antigen that regulates tumor cell migration and invasion / Y.W. Chen, C. Tekle, O. Fodstad // *Curr. Cancer Drug Targets*. – 2008. – Vol. 8, N 5. – P. 404-413.
- 78.Cheng, H.Y. Circulating programmed death-1 as a marker for sustained high hepatitis B viral load and risk of hepatocellular carcinoma / H.Y. Cheng, P.J. Kang, Y.H. Chuang [et al.] // *PloS One*. – 2014. – Vol. 9, N 11: e95870.
- 79.Chung, H.W. Clinical significance of serum levels of immune-associated molecules, uric acid and soluble MHC class I chain-related molecules A and B, as diagnostic tumor markers for pancreatic ductal adenocarcinoma / H.W. Chung, J.B. Lim // *Cancer Sci*. – 2011. – Vol. 102, N 9. v P. 1673-1679.
- 80.Coca, S. The prognostic significance of intratumoral natural killer cells in patients with colorectal carcinoma / S. Coca, J. Perez-Piqueras, D. Martinez [et al.] // *Cancer*. – 1997. – Vol. 79, N 12. – P. 2320-2328.
- 81.Conroy, J.M. Next generation sequencing of PD-L1 for predicting response to immune checkpoint inhibitors / J.M. Conroy, S. Pabla, M.K. Nesline [et al.] // *J. Immunother. Cancer*. – 2019. – Vol. 7, N 1: 18.
- 82.Corbet, C. Tumour acidosis: from the passenger to the driver's seat / C. Corbet, O. Feron // *Nat. Rev. Cancer*. – 2017. – Vol. 17, N 10. – P. 577-5793.
- 83.Crispen, P.L. Tumor cell and tumor vasculature expression of B7-H3 predict survival in clear cell renal cell carcinoma / P.L. Crispen, Y. Sheinin, T.J. Roth [et al.] // *Clin. Cancer Res*. – 2008. – Vol. 14, N 16. – P. 5150-5157.

- 84.da Silva, L.M. Evaluation of soluble co-inhibitors and co-stimulators levels of the immune response in gastric cancer / L.M. da Silva, M.R. Martins, R.L. Dos Santos [et al.] // J Surg Oncol. – 2024. – Vol. 130. N 4. – P. 757-768. (sPD-1 неблагоприятный прогноз)
- 85.Dangaj, D. Novel recombinant human B7-H4 antibodies overcome tumoral immune escape to potentiate T-cell antitumor responses / D. Dangaj, E. Lanitis, A. Zhao [et al.] // Cancer Res. – 2013. – Vol. 73, N 15. – P. 4820-4829.
- 86.Darb-Esfahani, S. Prognostic impact of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand 1 (PD-L1) expression in cancer cells and tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian high grade serous carcinoma / S. Darb-Esfahani, C.A. Kunze, H. Kulbe [et al.] // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7, N 2. – P. 1486–1499.
- 87.Deng, J. A New VISTA on combination therapy for negative checkpoint regulator blockade / J. Deng, I. Le Mercier, A. Kuta, R.J. Noelle // J. Immunother. Cancer. – 2016. – Vol. 4: 86.
- 88.Dermani, F.K. PD-1/PD-L1 immune checkpoint: potential target for cancer therapy / F.K. Dermani, P. Samadi, G. Rahmani [et al.] // J. Cell Physiol. – 2019. – Vol. 234. N 2. – P. 1313-1325.
- 89.Diefenbach, A. Selective associations with signaling proteins determine stimulatory versus costimulatory activity of NKG2D / A. Diefenbach, E. Tomasello, M. Lucas [et al.] // Nat. Immunol. – 2002. – Vol. 3, N 12. – P. 1142-1149.
- 90.Dill, E.A. PD-L1 Expression and Intratumoral Heterogeneity Across Breast Cancer Subtypes and Stages: An Assessment of 245 Primary and 40 Metastatic Tumors / E.A. Dill, A.A. Gru, K.A. Atkins [et al.] // Am. J. Surg. Pathol. – 2017. – Vol. 41, N 3. – P. 334-342.
- 91.Ding, Y. The Prognostic Significance of Soluble Programmed Death Ligand 1 Expression in Cancers: A Systematic Review and Meta-analysis / Y. Ding, C. Sun, J. Li [et al.] // Scand. J. Immunol. – 2017. – Vol. 86, N 5. – P. 361-367
- 92.Dizon, D.S. Clinical Cancer Advances 2016: Annual Report on Progress Against Cancer From the American Society of Clinical Oncology / D.S. Dizon,

- L. Krilov, E. Cohen [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2016. – Vol. 34, N 9. – P. 987-1011.
93. Dong, H. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion / H. Dong, S.E. Strome, D.R. Salomao [et al.] // Nat. Med. – 2002. – Vol. 8, N 8. – P. 793-800.
 94. Dong, Y. PD-1 and its ligands are important immune checkpoints in cancer / Y. Dong, Q. Sun, X. Zhang // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, N 2. – P. 2171-2186.
 95. Drakes, M.L. Stratification of ovarian tumor pathology by expression of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand- 1 (PD-L1) in ovarian cancer / M.L. Drakes, S. Mehrotra, M. Aldulescu [et al.] // J. Ovarian Res. – 2018. – Vol. 11, N 1. – P. 43.
 96. Dranoff, G. Targets of protective tumor immunity / G. Dranoff // Ann. N Y Acad. Sci. – 2009. – Vol. 1174. – P. 74-80.
 97. El-Khoueiry, A.B. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial / A.B. El-Khoueiry, B. Sangro, T. Yau [et al.] // Lancet. – 2017. – Vol. 389, N 10088. – P. 2492-2502.
 98. ElTanbouly, M.A. VISTA is a checkpoint regulator for naive T cell quiescence and peripheral tolerance / M.A. ElTanbouly, Y. Zhao, E. Nowak [et al.] // Science. – 2020. – Vol. 367, N 6475: eaay0524.
 99. Facciabene, A. Tumour hypoxia promotes tolerance and angiogenesis via CCL28 and T(reg) cells / A. Facciabene, X. Peng, I.S. Hagemann [et al.] // Nature. – 2011. – Vol. 475, N 7355. – P. 226-230.
 100. Fan, M. B7-H4 expression is correlated with tumor progression and clinical outcome in urothelial cell carcinoma / M. Fan, Q. Zhuang, Y. Chen [et al.] // Int. J. Clin. Exp. Pathol. – 2014. – Vol. 7, N 10. – P. 6768-6775.
 101. Ferrari de Andrade, L. Antibody-mediated inhibition of MICA and MICB shedding promotes NK cell-driven tumor immunity / L. Ferrari de Andrade, R.E. Tay, D. Pan [et al.] // Science. – 2018. – Vol. 359, N 6383. – P. 1537-1542.

102. Fiegler, N. Downregulation of the activating NKp30 ligand B7-H6 by HDAC inhibitors impairs tumor cell recognition by NK cells / N. Fiegler, S. Textor, A. Arnold [et al.] // *Blood*. – 2013. – Vol. 122, N 5. – P. 684-693.
103. Finkelmeier, F. High levels of the soluble programmed death-ligand (sPD-L1) identify hepatocellular carcinoma patients with a poor prognosis / F. Finkelmeier, Ö. Canli, A. Tal [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2016. – Vol. 59. – P. 152-159.
104. Fitzmaurice, C. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 29 cancer groups, 1990 to 2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study / C. Fitzmaurice, D. Abate, N. Abbasi [et al.] // *JAMA Oncol*. – 2019. – Vol. 5. – N 12. – P. 1749–1768.
105. Flem-Karlsen, K. Immunoregulatory protein B7-H3 promotes growth and decreases sensitivity to therapy in metastatic melanoma cells / K. Flem-Karlsen, C. Tekle, Y. Andersson [et al.] // *Pigment Cell. Melanoma Res.* – 2017. – Vol. 30, N 5. – P. 467-476.
106. Flies, D.B. Cutting edge: A monoclonal antibody specific for the programmed death-1 homolog prevents graft-versus-host disease in mouse models / D.B. Flies, S. Wang, H. Xu, L. Chen // *J. Immunol.* – 2011. – Vol. 187, N 4. – P. 1537-1541.
107. Freeman, G.J. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation / G.J. Freeman, A.J. Long, Y. Iwai [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2000. – Vol. 192, N 7. – P. 1027-1034.
108. Fridman, W.H. Prognostic and predictive impact of intra- and peritumoral immune infiltrates / W.H. Fridman, J. Galon, F. Pages [et al.] // *Cancer Res.* – 2011. – Vol. 71, N 17. – P. 5601-565.
109. Frigola, X. Soluble B7-H1: differences in production between dendritic cells and T cells / X. Frigola, B.A. Inman, C.J. Krco [et al.] // *Immunol. Lett.* – 2012. – Vol. 142, N 1-2. – P. 78-82.

110. Fukushima, A. B7-H3 regulates the development of experimental allergic conjunctivitis in mice / A. Fukushima, T. Sumi, K. Fukuda [et al.] // *Immunol. Lett.* – 2007. – Vol. 113, N 1. – P. 52-57.
111. Garcia-Diaz, A. Interferon Receptor Signaling Pathways Regulating PD-L1 and PD-L2 Expression / A. Garcia-Diaz, D.S. Shin, B.H. Moreno [et al.] // *Cell. Rep.* – 2017. – Vol. 19, N 6. – P. 1189-1201.
112. Gauthier, M. Natural Killer cells and monoclonal antibodies: Two partners for successful antibody dependent cytotoxicity against tumor cells / M. Gauthier, C. Laroye, D. Bensoussan [et al.] // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2021. – Vol. 160: 103261.
113. George, J. Genomic Amplification of CD274 (PD-L1) in Small-Cell Lung Cancer / J. George, M. Saito, K. Tsuta [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2017. – Vol. 23, N 5. – P. 1220-1226.
114. Gilfillan, S. NKG2D recruits two distinct adapters to trigger NK cell activation and costimulation / S. Gilfillan, E.L. Ho, M. Cella [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2002. – Vol. 3, N 12. – P. 1150-1155.
115. Gregorio, A. Small round blue cell tumours: diagnostic and prognostic usefulness of the expression of B7-H3 surface molecule / A. Gregorio, M.V. Corrias, R. Castriconi [et al.] // *Histopathology.* – 2008. – Vol. 53, N 1. – P. 73-80.
116. Guan, J. Programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in the programmed death receptor-1 (PD-1)/PD-L1 blockade: a key player against various cancers / J. Guan, K.S. Lim, T. Mekhail, C.C. Chang // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2017. – Vol. 141, N 6. – P. 851-861.
117. Guo, X. High Serum Level of Soluble Programmed Death Ligand 1 is Associated With a Poor Prognosis in Hodgkin Lymphoma / X. Guo, J. Wang, J. Jin [et al.] // *Transl. Oncol.* – 2018. – Vol. 11, N 3. – P. 779-785.
118. Hashiguchi, M. Triggering receptor expressed on myeloid cell-like transcript 2 (TLT-2) is a counter-receptor for B7-H3 and enhances T cell responses / M.

- Hashiguchi, H. Kabori, P. Ritprajak [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2008. – Vol. 105, N 30. – P. 10495-10500.
119. He, C. The inhibitory role of B7-H4 in antitumor immunity: association with cancer progression and survival / C. He, H. Qiao, H. Jiang, X. Sun // Clin. Dev. Immunol. – 2011. – Vol. 2011: 695834.
 120. Hmeljak, J. Integrative Molecular Characterization of Malignant Pleural Mesothelioma / J. Hmeljak, F. Sanchez-Vega, K.A. Hoadley [et al.] // Cancer Discov. – 2018. – Vol. 8, N 12. – P. 1548-1565.
 121. Hong, L. Programmed Death-Ligand 1 Heterogeneity and Its Impact on Benefit From Immune Checkpoint Inhibitors in NSCLC / L. Hong, M.V. Negrao, S.S. Dibaj [et al.] // J. Thorac. Oncol. – 2020. – Vol. 15, N 9. – P. 1449-1459.
 122. Howe, F.S. Is H3K4me3 instructive for transcription activation? / F.S. Howe, H. Fischl, S.C. Murray, J. Mellor // Bioessays. – 2017. – Vol. 39, N 1. – P. 1-12.
 123. Huang, H.F. Progress in Research on Tumor Immune PD-1/PD-L1 Signaling Pathway in Malignant Bone Tumors / H.F. Huang, H. Zhu, X.T. Yang [et al.] // Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. – 2019. – Vol. 41, N 6. – P. 410–414.
 124. Huang, S.Y. Soluble PD-L1: A biomarker to predict progression of autologous transplantation in patients with multiple myeloma / S.Y. Huang, H.H. Lin, C.W. Lin [et al.] // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7, N 38. – P. 62490-62502.
 125. Huber, V. Cancer acidity: An ultimate frontier of tumor immune escape and a novel target of immunomodulation / V. Huber, C. Camisaschi, A. Berzi [et al.] // Seminars in cancer biology. – 2017. – Vol. 43 – P. 74-89.
 126. Ilie, M. Comparative study of the PD-L1 status between surgically resected specimens and matched biopsies of NSCLC patients reveal major discordances: a potential issue for anti-PD-L1 therapeutic strategies / M. Ilie, E. Long-Mira, C. Bence [et al.] // Ann. Oncol. – 2016. – Vol. 27, N 1. – P. 147-153.

127. Incorvaia, L. Can the plasma PD-1 levels predict the presence and efficiency of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with metastatic melanoma? / L. Incorvaia, G. Badalamenti, G. Rinaldi [et al.] // *Ther. Adv. Med. Oncol.* – 2019. – Vol. 11:175883591984887.
128. Ingebrigtsen, V.A. B7-H3 expression in colorectal cancer: nuclear localization strongly predicts poor outcome in colon cancer / V.A. Ingebrigtsen, K. Boye, C. Tekle [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2012. – Vol. 131, N 11. – P. 2528-2536.
129. Ishida, Y. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death / Y. Ishida, Y. Agata, K. Shibahara, T. Honjo // *EMBO J.* – 1992. – Vol. 11, N 11. – P. 3887-3895.
130. Iwai, Y. Hamanishi J., Chamoto K., Honjo T. Cancer immunotherapies targeting the PD-1 signaling pathway / Y. Iwai, J. Hamanishi, K. Chamoto, T. Honjo // *J. Biomed. Sci.* – 2017. – Vol. 24, N 1. – P. 1–11.
131. Ji, M. PD-1/PD-L1 pathway in non-small-cell lung cancer and its relation with EGFR mutation / M. Ji, Y. Liu, Q. Li [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2015. – Vol. 13. – P. 5.
132. Jiang, J. Tumor expression of B7-H4 predicts poor survival of patients suffering from gastric cancer / J. Jiang, Y. Zhu, C. Wu [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2010. – Vol. 59, N 11. – P. 1707-1714.
133. Jinushi, M. MHC class I chain-related protein A antibodies and shedding are associated with the progression of multiple myeloma / M. Jinushi, M. Vanneman, N.C. Munshi [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2008. – Vol. 105, N 4. – P. 1285-1290.
134. Johnston, R.J. VISTA is an acidic pH-selective ligand for PSGL-1 / R.J. Johnston, L.J. Su, J. Pinckney [et al.] // *Nature.* – 2019. – Vol. 574, N 7779. – P. 565-570.
135. Jovanovic, D. Membrane PD-L1 expression and soluble PD-L1 plasma levels in idiopathic pulmonary fibrosis-a pilot study / D. Jovanovic, M.

- Roksandic Milenkovic, J. Kotur Stevuljevic [et al.] // J. Thorac. Dis. – 2018. – Vol. 10, N 12. – P. 6660-6669.
136. Julia, E.P. Avelumab, an IgG1 anti-PD-L1 Immune Checkpoint Inhibitor, Triggers NK Cell-Mediated Cytotoxicity and Cytokine Production Against Triple Negative Breast Cancer Cells / E.P. Julia, A. Amante, M.B. Pampena [et al.] // Front. Immunol. – 2018. – Vol. 9: 2140.
 137. Kabir, T.F. Immune Checkpoint Inhibitors in Pediatric Solid Tumors: Status in 2018 / T.F. Kabir, A. Chauhan, L. Anthony, G.C. Hildebrandt // Ochsner J. Winter. – 2018. – Vol. 18, N 4. – P. 370–376.
 138. Keir, M.E. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity / M.E. Keir, M.J. Butte, G.J. Freeman, A.H. Sharpe // Annu. Rev. Immunol. – 2008. – Vol. 26. – P. 677-704.
 139. Khan, M. Soluble PD-1: Predictive, Prognostic, and Therapeutic Value for Cancer Immunotherapy / M. Khan, Z. Zhao, S. Arooj, Y. Fu, G. Liao // Front Immunol. – 2020. – Vol. 11: 587460.
 140. Korpi, J.T. Expression of matrix metalloproteinases-2, -8, -13, -26, and tissue inhibitors of metalloproteinase-1 in human osteosarcoma / J.T. Korpi, J. Hagstrom, N. Lehtonen [et al.] // Surg. Oncol. – 2011. – Vol. 20, N 1. – P. 18–22.
 141. Koshkin, V.S. Emerging therapeutics in refractory renal cell carcinoma / V.S. Koshkin, B.I. Rini // Expert Opin. Pharma-cother. – 2016. – Vol. 17, N 9. – P. 1225-1232.
 142. Kraus, M. Implications of acidic tumor microenvironment for neoplastic growth and cancer treatment: a computer analysis / M. Kraus, B. Wolf // Tumour Biol. – 1996. – Vol. 17, N 3. – P. 133-154.
 143. Kuklinski, L.F. VISTA expression on tumor-infiltrating inflammatory cells in primary cutaneous melanoma correlates with poor disease-specific survival / L.F. Kuklinski, S. Yan, Z. Li [et al.] // Cancer Immunol. Immunother. – 2018. – Vol. 67, N 7. – P. 1113-1121.

144. Kumar, V. Soluble MICA and a MICA variation as possible prognostic biomarkers for HBV-induced hepatocellular carcinoma / V. Kumar, P.H. Yi Lo, H. Sawai [et al.] // PloS One. – 2012. – Vol. 7, N 9: e44743.
145. Kushlinskii, N.E. Assessing the Clinical Relevance of Soluble PD-1 and PD-L1: A Multi-Cohort Study Across Diverse Tumor Types and Prognostic Implications / N.E. Kushlinskii, O.V. Kovaleva, A.N. Gratchev [et al.] // Biomedicines. – 2025. – Vol. 13: 500.
146. Kushlinskii, N.E. Key Immune Checkpoint PD-1/PD-L1 Signaling Pathway Components in the Blood Serum from Patients with Bone Tumors / N.E. Kushlinskii, A.A. Alferov, Y.S. Timofeev [et al.] // Bull. Exp. Biol. Med. – 2020. – Vol. 170, N 1. – P. 64-68.
147. Kushlinskii, N.E., Gershtein E.S., Morozov A.A. [et al.]. Checkpoint Receptor (sPD-L1) in Blood Serum of Patients with Renal Cell Carcinoma / N.E. Kushlinskii, E.S. Gershtein, A.A. Morozov [et al.]. // Bull. Exp. Biol. Med. – 2019. – Vol. 166, N 3. – P. 353–357.
148. Kutilin, D.S. The metabolomic profile features of some biological fluids in serous adenocarcinoma patients / D.S. Kutilin, F.E. Filippov, O.N. Guskova [et al.] // Klin. Onkol. – 2025. – Vol. 38, N 1. – P. 38-44.
149. Kuusk, T. Antiangiogenic therapy combined with immune checkpoint blockade in renal cancer / T. Kuusk, L. Albiges, B. Escudier [et al.] // Angiogenesis. – 2017. – Vol. 20, N 2. – P. 205–215.
150. Laszik, Z. P-selectin glycoprotein ligand-1 is broadly expressed in cells of myeloid, lymphoid, and dendritic lineage and in some nonhematopoietic cells / Z. Laszik, P. Jansen, R. Cummings [et al.] // Blood. – 1996. – Vol. 88, N 8. – P. 3010-3021.
151. Latchman, Y. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation / Y. Latchman, C.R. Wood, T. Chernova [et al.] // Nat. Immunol. – 2001. – Vol. 2, N 3. – P. 261-268.
152. Laury, A.R. Opening the Black Box: Spatial Transcriptomics and the Relevance of Artificial Intelligence-Detected Prognostic Regions in High-

- Grade Serous Carcinoma / A.R. Laury, S. Zheng, N. Aho [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2024 – Vol. 37, N 7: 100508.
153. Ledford, H. Cancer immunologists scoop medicine Nobel prize / H. Ledford, H. Else, M. Warren // *Nature.* – 2018. – Vol. 562, N 7725. – P. 20-21.
 154. Lee, Y.H. Inhibition of the B7-H3 immune checkpoint limits tumor growth by enhancing cytotoxic lymphocyte function / Y.H. Lee, N. Martin-Orozco, P. Zheng [et al.] // *Cell. Res.* – 2017. – Vol. 27, N 8. – P. 1034-1045.
 155. Leitner, J. B7-H3 is a potent inhibitor of human T-cell activation: No evidence for B7-H3 and TREML2 interaction / J. Leitner, C. Klauser, W.F. Pickl [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2009. – Vol. 39, N 7. – P. 1754-1764.
 156. Li, J. Prognostic value of programmed cell death ligand 1 expression in patients with head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis / J. Li, P. Wang, Y. Xu // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12, N 6. – P. 1–16.
 157. Li, N. Immune-checkpoint protein VISTA critically regulates the IL-23/IL-17 inflammatory axis / N. Li, W. Xu, Y. Yuan [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7: 1485.
 158. Li, X. Prognostic Value of Soluble Programmed Cell Death Ligand-1 (sPD-L1) in Various Cancers: A Meta-analysis / X. Li, Y. Zheng, F. Yue // *Target Oncol.* – 2021. – Vol. 16, N 1. – P. 13-26.
 159. Lines, J.L. VISTA is an immune checkpoint molecule for human T cells / J.L. Lines, E. Pantazi, J. Mak [et al.] // *Cancer Res.* – 2014. – Vol. 74, N 7. – P. 1924-1932.
 160. Lisio, M.A. High-Grade Serous Ovarian Cancer: Basic Sciences, Clinical and Therapeutic Standpoints / M.A. Lisio, Fu L., A. Goyeneche [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, N 4: 952.
 161. Liu, H. B7-H3 silencing increases paclitaxel sensitivity by abrogating Jak2/Stat3 phosphorylation / H. Liu, C. Tekle, Y.W. Chen [et al.] // *Mol. Cancer Ther.* – 2011. – Vol. 10, N 6. – P. 960-971.

162. Liu, K.G. Immunotherapy: incorporation in the evolving paradigm of renal cancer management and future prospects / K.G. Liu, S. Gupta, S. Goel // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, N 10. – P. 17313-17327.
163. Liu, S. The Clinical Significance of Soluble Programmed Cell Death-Ligand 1 (sPD-L1) in Patients With Gliomas / S. Liu, Y. Zhu, C. Zhang [et al.] // *Front. Oncol.* – 2020. – Vol. 10: 9.
164. Liu, Y. Immune Cell PD-L1 Colocalizes with Macrophages and Is Associated with Outcome in PD-1 Pathway Blockade Therapy / Y. Liu, J. Zugazagoitia, F.S. Ahmed [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2020. – Vol. 26, N 4. – P. 970-977.
165. Liu, Y. Intracellular pH Regulates Cancer and Stem Cell Behaviors: A Protein Dynamics Perspective / Y. Liu, K.A. White, D.L. Barber // *Front. Oncol.* – 2020. – Vol. 10: 1401.
166. Lizee, G. Harnessing the power of the immune system to target cancer / G. Lizee, W.W. Overwijk, L. Radvanyi [et al.] // *Annu. Rev. Med.* – 2013. – Vol. 64. – P. 71-90.
167. Loeser, H. The expression of the immune checkpoint regulator VISTA correlates with improved overall survival in pT1/2 tumor stages in esophageal adenocarcinoma / H. Loeser, M. Kraemer, F. Gebauer [et al.] // *Oncoimmunology*. – 2019. – Vol. 8, N 5: e1581546.
168. Loo, D. Development of an Fc-enhanced anti-B7-H3 monoclonal antibody with potent antitumor activity / D. Loo, R.F. Alderson, F.Z. Chen [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2012. – Vol. 18, N 14. – P. 3834-3845.
169. Loos, M. Expression of the costimulatory molecule B7-H3 is associated with prolonged survival in human pancreatic cancer / M. Loos, D.M. Hedderich, M. Ottenhausen [et al.] // *BMC cancer*. – 2009. – Vol. 9: 463.
170. Lu, C. The MLL1-H3K4me3 Axis-Mediated PD-L1 Expression and Pancreatic Cancer Immune Evasion / C. Lu, A.V. Paschall, H. Shi [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2017. – Vol. 109, N 6: djw283.

171. Lu, H. B7-H3 inhibits the IFN-gamma-dependent cytotoxicity of Vgamma9Vdelta2 T cells against colon cancer cells / H. Lu, T. Shi, M. Wang [et al.] // *Oncoimmunology*. – 2020. – Vol. 9, N 1: 1748991.
172. Luo, L. B7-H3 enhances tumor immunity in vivo by costimulating rapid clonal expansion of antigen-specific CD8⁺ cytolytic T cells / L. Luo, A.I. Chapoval, D.B. Flies [et al.] // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 173, N 9. – P. 5445-5450.
173. Luvero, D. Milani A., Ledermann J.A. Treatment options in recurrent ovarian cancer: latest evidence and clinical potential / D. Luvero, A. Milani, J.A. Ledermann // *Ther. Adv. Med. Oncol.* – 2014. – Vol. 6, N 5. – P. 229–239.
174. Lyford-Pike, S. Evidence for a role of the PD-1: PD-L1 pathway in immune resistance of HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma / S. Lyford-Pike, S. Peng, G.D. Young, J.M. Taube, W.H. Westra, B. Akpeng [et al.] // *Cancer Res.* – 2013. – Vol. 73, N 6. – P. 1733–1741.
175. Ma, J. B7-H3 as a promising target for cytotoxicity T cell in human cancer therapy / J. Ma, P. Ma, C. Zhao [et al.] // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7, N 20. – P. 29480-29491.
176. Maine, C.J. Programmed death ligand-1 over-expression correlates with malignancy and contributes to immune regulation in ovarian cancer / C.J. Maine, N.H. Aziz, J. Chatterjee [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2014. – Vol. 63, N 3. – P. 215–224.
177. Mantovani, S. An Anti-MICA/B Antibody and IL-15 Rescue Altered NKG2D-Dependent NK Cell Responses in Hepatocellular Carcinoma / S. Mantovani, S. Varchetta, D. Mele [et al.] // *Cancers (Basel)*. – 2020. – Vol. 12, N 12. – P. 3583.
178. Mao, Y. B7-H1 and B7-H3 are independent predictors of poor prognosis in patients with nonsmall cell lung cancer / Y. Mao, W. Li, K. Chen [et al.] // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6, N 5. – P. 3452–3461.

179. Marin-Acevedo, J.A. Next generation of immune checkpoint therapy in cancer: new developments and challenges / J.A. Marin-Acevedo, B. Dholaria, A.E. Soyano [et al.] // J. Hematol. Oncol. – 2018. – Vol. 11, N 1. – P. 39.
180. Masuda, A. Clinical significance of serum soluble T cell regulatory molecules in clear cell renal cell carcinoma / A. Masuda, K. Arai, D. Nishihara et al. // Biomed. Res. Int. – 2014. – Vol. 2014: 396064.
181. McDermott, D.F. Atezolizumab, an Anti-Programmed Death-Ligand 1 Antibody, in Metastatic Renal Cell Carcinoma: Long-Term Safety, Clinical Activity, and Immune Correlates From a Phase Ia Study / D.F. McDermott, J.A. Sosman, M. Sznol [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2016. – Vol. 34, N 8. – P. 833–842.
182. McGilvray, R.W. NKG2D ligand expression in human colorectal cancer reveals associations with prognosis and evidence for immunoediting / R.W. McGilvray, R.A. Eagle, N.F. Watson [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2009. – Vol. 15, N 22. – P. 6993-7002.
183. McGilvray, R.W. ULBP2 and RAET1E NKG2D ligands are independent predictors of poor prognosis in ovarian cancer patients / R.W. McGilvray, R.A. Eagle, P. Rolland [et al.] // Int. J. Cancer. – 2010. – Vol. 127, N 6. – P. 1412-1420.
184. McLaughlin, J. Quantitative Assessment of the Heterogeneity of PD-L1 Expression in Non-Small-Cell Lung Cancer / J. McLaughlin, G. Han, K.A. Schalper [et al.] // JAMA Oncol. – 2016. – Vol. 2, N 1. – P. 46-54.
185. Mehta, N. An engineered antibody binds a distinct epitope and is a potent inhibitor of murine and human VISTA / N. Mehta, S. Maddineni, R.L. Kelly [et al.] // Sci. Rep. – 2020. – Vol. 10, N 1. – P. 15171.
186. Mehta, N. Structure and Functional Binding Epitope of V-domain Ig Suppressor of T Cell Activation / N. Mehta, S. Maddineni, I.I. Mathews [et al.] // Cell. Rep. – 2019. – Vol. 28, N 10. – P. 2509-2516 e5.
187. Molfetta, R. Post-translational Mechanisms Regulating NK Cell Activating Receptors and Their Ligands in Cancer: Potential Targets for Therapeutic

- Intervention / R. Molfetta, A. Zingoni, A. Santoni, R. Paolini // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10: 2557.
188. Moon, J.W. IFN γ induces PD-L1 overexpression by JAK2/STAT1/IRF-1 signaling in EBV-positive gastric carcinoma / J.W. Moon, S.K. Kong, B.S. Kim [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, N 1: 17810.
 189. Motzer, R.J. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma / R.J. Motzer, B. Escudier, D.F. McDermott [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2015. – Vol. 373, N 19. – P. 1803–1813.
 190. Muenst, S. The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer / S. Muenst, S.D. Soysal, F. Gao [et al.] // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2013. – Vol. 139, N 3. – P. 667–676.
 191. Naberezhnov, D.S. PD-1/PD-L1 pathway at immunotherapy of renal cell carcinoma. Part 2. Functions of signal way PD-1/PD-L1 for immune system and immunotherapy / D.S. Naberezhnov, A.A. Morozov, M.V. Fridman [et al.] // *Medical Alphabet.* – 2019. – Vol. 1, N 10. – P. 54-61.
 192. Nagashima, O. B7-H3 contributes to the development of pathogenic Th2 cells in a murine model of asthma / O. Nagashima, N. Harada, Y. Usui [et al.] // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 181, N 6. – P. 4062-4071.
 193. Nagato, T. Ohkuri T., Ohara K. [et al.] Programmed death-ligand 1 and its soluble form are highly expressed in nasal natural killer/T-cell lymphoma: a potential rationale for immunotherapy / Nagato, T. Ohkuri T., Ohara K. [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2017. – Vol. 66: 877–890.
 194. Nielsen, C. Alternative splice variants of the human PD-1 gene / C. Nielsen, L. Ohm-Laursen, T. Barington [et al.] // *Cell. Immunol.* – 2005. – Vol. 235, N 2. – P. 109-116.
 195. Nurieva, R. T-cell tolerance or function is determined by combinatorial costimulatory signals / R. Nurieva, S. Thomas, T. Nguyen [et al.] // *EMBO J.* – 2006. – Vol. 25, N 11. – P. 2623-2633.

196. Oestreich, K.J. NFATc1 regulates PD-1 expression upon T cell activation / K.J. Oestreich, H. Yoon, R. Ahmed, J.M. Boss // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 181, N 7. – P. 4832-4839.
197. Ohigashi, Y. Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 and programmed death-1 ligand-2 expression in human esophageal cancer / Y. Ohigashi, M. Sho, Y. Yamada, H. Matsuoka, Y. Majima, K. Ikeda [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11, N 8. – P. 2947–2953.
198. Okazaki, T. PD-1 immunoreceptor inhibits B cell receptor-mediated signaling by recruiting src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2 to phosphotyrosine / T. Okazaki, A. Maeda, H. Nishimura [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2001. – Vol. 98, N 24. – P. 13866-13871.
199. Okuma, Y. Soluble Programmed Cell Death Ligand 1 as a Novel Biomarker for Nivolumab Therapy for Non-Small-cell Lung Cancer / Y. Okuma, H. Wakui, H. Utsumi [et al.] // *Clin. Lung Cancer.* – 2018. – Vol. 19, N 5. – P. 410-417.e1.
200. Okuyama, M. Elevated Soluble PD-L1 in Pregnant Women's Serum Suppresses the Immune Reaction / M. Okuyama, H. Mezawa, T. Kawai, M. Urashima // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10: 86.
201. Pardoll, D.M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy / D.M. Pardoll // *Nature reviews Cancer.* – 2012. – Vol. 12, N 4. – P. 252-264.
202. Patel, S.P. PD-L1 Expression as a Predictive Biomarker in Cancer Immunotherapy / S.P. Patel, R. Kurzrock // *Mol. Cancer Ther.* – 2015. – Vol. 14, N 4. – P. 847-856.
203. Patsoukis, N. Interaction of SHP-2 SH2 domains with PD-1 ITSM induces PD-1 dimerization and SHP-2 activation / N. Patsoukis, J.S. Duke-Cohan, A. Chaudhri [et al.] // *Commun. Biol.* – 2020. – Vol. 3, N 1: 128.
204. Peng, Y.P. Comprehensive analysis of the percentage of surface receptors and cytotoxic granules positive natural killer cells in patients with pancreatic

- cancer, gastric cancer, and colorectal cancer / Y.P. Peng, Y. Zhu, J.J. Zhang [et al.] // J. Transl. Med. – 2013. – Vol. 11: 262.
205. Picarda, E. Molecular Pathways: Targeting B7-H3 (CD276) for Human Cancer Immunotherapy / E. Picarda, K.C. Ohaegbulam, X. Zang // Clin. Cancer Res. – 2016. – Vol. 22, N 14. – P. 3425-3431.
206. Reck, M. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer / M. Reck, D. Rodriguez-Abreu, A.G. Robinson [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2016. – Vol. 375, N 19. – P. 1823-1833.
207. Rezvani, K. Engineering Natural Killer Cells for Cancer Immunotherapy / K. Rezvani, R. Rouce, E. Liu, E. Shpall // Mol. Ther. – 2017. – Vol. 25, N 8. – P. 1769-1781.
208. Rittmeyer, A. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial / A. Rittmeyer, F. Barlesi, D. Waterkamp [et al.] // Lancet. – 2017. – Vol. 389, N 10066. – P. 255-265.
209. Romagnani, C. CD56brightCD16- killer Ig-like receptor- NK cells display longer telomeres and acquire features of CD56dim NK cells upon activation / C. Romagnani, K. Juelke, M. Falco [et al.] // J. Immunol. – 2007. – Vol. 178, N 8. – P. 4947-4955.
210. Rosenberg, S.A. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines / S.A. Rosenberg, J.C. Yang, N.P. Restifo // Nature Medicine. – 2004. – Vol. 10, N 9. – P. 909-915.
211. Rossille, D. High level of soluble programmed cell death ligand 1 in blood impacts overall survival in aggressive diffuse large B-Cell lymphoma: results from a French multicenter clinical trial / D. Rossille, M. Gressier, D. Damotte [et al.] // Leukemia. – 2014. – Vol. 28, N 12. – P. 2367-2375.
212. Roth, T.J. B7-H3 ligand expression by prostate cancer: a novel marker of prognosis and potential target for therapy / T.J. Roth, Y. Sheinin, C.M. Lohse [et al.] // Cancer Res. – 2007. – Vol. 67, N 16. – P. 7893-7900.

213. Schildberg, F.A. Coinhibitory Pathways in the B7-CD28 Ligand-Receptor Family / F.A. Schildberg, S.R. Klein, G.J. Freeman, A.H. Sharpe // *Immunity*. – 2016. – Vol. 44, N 5. – P. 955-972.
214. Schmid, P. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer / P. Schmid, S. Adams, H.S. Rugo [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2018. – Vol. 379, N 22. – P. 2108-2121.
215. Scotta, C. FOXP3 induced by CD28/B7 interaction regulates CD25 and anergic phenotype in human CD4+CD25- T lymphocytes / C. Scotta, M. Soligo, C. Camperio, E. Piccolella // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 181, N 2. – P. 1025-33.
216. Sharpe, A.H. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection / A.H. Sharpe, E.J. Wherry, R. Ahmed, G.J. Freeman // *Nat. Immunol.* – 2007. – Vol. 8, N 3. – P. 239-245.
217. Shen, J.K. Programmed cell death ligand 1 expression in osteosarcoma / J.K. Shen, G.M. Cote, E. Choy [et al.] // *Cancer Immunol. Res.* – 2014. – Vol. 2, N 7. – P. 690–698.
218. Shin, S.J. Clinicopathologic Analysis of PD-L1 and PD-L2 Expression in Renal Cell Carcinoma: Association with Oncogenic Proteins Status / S.J. Shin, Y.K. Jeon, P.J. Kim [et al.] // *Ann. Sur. Oncol.* – 2016. – Vol. 23, N 2. – P. 694–702.
219. Shinohara, T. Structure and chromosomal localization of the human PD-1 gene (PDCD1) / T. Shinohara, M. Taniwaki, Y. Ishida [et al.] // *Genomics*. – 1994. – Vol. 23, N 3. – P. 704-706.
220. Shoji, S. The current status of tailor-made medicine with molecular biomarkers for patients with clear cell renal cell carcinoma / S. Shoji, M. Nakano, H. Sato [et al.] // *Clin. Exp. Metastasis*. – 2014. – Vol. 31, N 1. – P. 111-134.
221. Siegel, R.L. Cancer statistics, 2017 / R.L. Siegel, K.D. Miller, A. Jemal // *CA Cancer J. Clin.* – 2017. – Vol. 67, N 1. – P. 7–30.

222. Snyder, L. Inventors Anti-vista antibodies and fragments. US2015 / L. Snyder, G. Powers // Patent.
223. Sorensen, S.F. Increase in soluble PD-1 is associated with prolonged survival in patients with advanced EGFR-mutated non-small cell lung cancer treated with erlotinib / S.F. Sorensen, C. Demuth, B. Weber [et al.] // Lung Cancer. – 2016. – Vol. 100. – P. 77-84.
224. Steidl, C. MHC class II transactivator CIITA is a recurrent gene fusion partner in lymphoid cancers / C. Steidl, S.P. Shah, B.W. Woolcock [et al.] // Nature. – 2011. – Vol. 471, N 7338. – P. 377–381.
225. Suh, W.K. The B7 family member B7-H3 preferentially down-regulates T helper type 1-mediated immune responses / W.K. Suh, B.U. Gajewska, H. Okada [et al.] // Nat. Immunol. – 2003. – Vol. 4, N 9. – P. 899-906.
226. Sun, J. Clinical significance and regulation of the costimulatory molecule B7-H3 in human colorectal carcinoma / J. Sun, L.J. Chen, G.B. Zhang [et al.] // Cancer Immunol. Immunother. – 2010. – Vol. 59, N 8. – P. 1163-1171.
227. Sun, J. Clinical significance of the induction of macrophage differentiation by the costimulatory molecule B7-H3 in human non-small cell lung cancer / J. Sun, Y. Mao, Y.Q. Zhang [et al.] // Oncol. Lett. – 2013. – Vol. 6, N 5. – P. 1253-1260.
228. Sung, H. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / H. Sung, J. Ferlay, R.L. Siegel [et al.] // CA Cancer J. Clin. – 2021. – Vol. 71, N 3. – P. 209-249.
229. Sunshine, J. PD-1/PD-L1 inhibitors / J. Sunshine, J.M. Taube // Curr. Opin. Pharmacol. – 2015. – Vol. 23. – P. 32-38.
230. Thompson, R.H. Significance of B7-H1 overexpression in kidney cancer / R.H. Thompson, E.D. Kwon // Clin. Genitourin Cancer. – 2006. – Vol. 5, N 3. – P. 206–211.
231. Tomita, Y. Nivolumab versus everolimus in advanced renal cell carcinoma: Japanese subgroup analysis from the CheckMate 025 study / Y. Tomita, S.

- Fukasawa, N. Shinohara [et al.] // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2017. – Vol. 47, N 7. – P. 639-646.
232. Torabi, A. PD-1 and PD-L1 expression in bone and soft tissue sarcomas / A. Torabi, C.N. Amaya, F.H. Jr. Wians, B.A. Bryan // *Pathology.* – 2017. – Vol. 49, N 5. – P. 506–513.
233. Torres, N. Restoration of antitumor immunity through anti-MICA antibodies elicited with a chimeric protein / N. Torres, M.V. Regge, F. Secchiari [et al.] // *J. Immunother. Cancer.* – 2020. – Vol. 8, N 1: e000233.
234. Tringler, B. B7-H4 is highly expressed in ductal and lobular breast cancer / B. Tringler, S. Zhuo, G. Pilkington [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11, N 5. – P. 1842-1848.
235. Tsukahara, T. The future of immunotherapy for sarcoma / T. Tsukahara, M. Emori, K. Murata, E. Mizushima [et al.] // *Expert. Opin. Biol. Ther.* – 2016. – Vol. 16, N 8. – P. 1049–1057.
236. Twa, D.D. Genomic rearrangements involving programmed death ligands are recurrent in primary mediastinal large B-cell lymphoma / D.D. Twa, F.C. Chan, S. Ben-Neriah [et al.] // *Blood.* – 2014. – Vol. 123, N 13. – P. 2062-2065.
237. Unni, K.K., Inwards C.Y. Dahlin's bone tumors: general aspects and data on 10165 cases / K.K. Unni // Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
238. Vigdorovich, V. Structure and T cell inhibition properties of B7 family member, B7-H3 / V. Vigdorovich, U.A. Ramagopal, E. Lazar-Molnar [et al.] // *Structure.* – 2013. – Vol. 21, N 5. – P. 707-717.
239. Villarroel-Espindola, F. Spatially Resolved and Quantitative Analysis of VISTA/PD-1H as a Novel Immunotherapy Target in Human Non-Small Cell Lung Cancer / F. Villarroel-Espindola, X. Yu, I. Datar [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2018. – Vol. 24, N 7. – P. 1562-1573.
240. Villegas, F.R. Prognostic significance of tumor infiltrating natural killer cells subset CD57 in patients with squamous cell lung cancer / F.R. Villegas, S.

- Coca, V.G. Villarrubia [et al.] // Lung Cancer. – 2002. – Vol. 35, N 1. – P. 23-28.
241. Vivier, E. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells / E. Vivier, D.H. Raulet, A. Moretta [et al.] // Science. – 2011. – Vol. 331, N 6013. – P. 44-49.
242. Wang, J. VSIG-3 as a ligand of VISTA inhibits human T-cell function / J. Wang, G. Wu, B. Manick [et al.] // Immunology. – 2019. – Vol. 156, N 1. – P. 74-85.
243. Wang, L. Disruption of the immune-checkpoint VISTA gene imparts a proinflammatory phenotype with predisposition to the development of autoimmunity / L. Wang, I. Le Mercier, J. Putra [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2014. – Vol. 111, N 41. – P. 14846-14851.
244. Wang, L. Serum levels of soluble programmed death ligand 1 predict treatment response and progression free survival in multiple myeloma / L. Wang, H. Wang, H. Chen [et al.] // Oncotarget. – 2015. – Vol. 6, N 38. – P. 41228-41236.
245. Wang, Y. PD-L1 induces epithelial-to-mesenchymal transition via activating SREBP-1c in renal cell carcinoma / Y. Wang, H. Wang, Q. Zhao [et al.] // Med. Oncol. – 2015. – Vol. 32, N 8: 212.
246. Wei, W. Prognostic significance of circulating soluble programmed death ligand-1 in patients with solid tumors: A meta-analysis / W. Wei, B. Xu, Y. Wang [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2018. – Vol. 97, N 3: e9617.
247. Weidle, U.H. Tumor-antigen-binding bispecific antibodies for cancer treatment / U.H. Weidle, R.E. Kontermann, U. Brinkmann // Semin. Oncol. – 2014. – Vol. 41, N 5. – P. 653-660.
248. Wu, C.P. Relationship between co-stimulatory molecule B7-H3 expression and gastric carcinoma histology and prognosis / C.P. Wu, J.T. Jiang, M. Tan [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2006. – Vol. 12, N 3. – P. 457-459.

249. Wu, J. DAP10 and DAP12 form distinct, but functionally cooperative, receptor complexes in natural killer cells / J. Wu, H. Cherwinski, T. Spies [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2000. – Vol. 192, N 7. – P. 1059-1068.
250. Xiao, G. Activator protein 1 suppresses antitumor T-cell function via the induction of programmed death 1 / G. Xiao, A. Deng, H. Liu [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2012. – Vol. 109, N 38. – P. 15419-15424.
251. Xiao, Y. RGMb is a novel binding partner for PD-L2 and its engagement with PD-L2 promotes respiratory tolerance / Y. Xiao, S. Yu, B. Zhu [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2014. – Vol. 211, N 5. – P. 943-959.
252. Xie, C. Soluble B7-H3 promotes the invasion and metastasis of pancreatic carcinoma cells through the TLR4/NF-kappaB pathway / C. Xie, D. Liu, Q. Chen [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 27528.
253. Xin Yu J. Immuno-oncology drug development goes global / Yu. J. Xin., V.M. Hubbard-Lucey, J. Tang // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2019. – Vol. 18, N 12. – P. 899-900.
254. Xu, H. MicroRNA miR-29 modulates expression of immunoinhibitory molecule B7-H3: potential implications for immune based therapy of human solid tumors / H. Xu, I.Y. Cheung, H.F. Guo, N.K. Cheung // *Cancer Res.* – 2009. – Vol. 69, N 15. – P. 6275-6281.
255. Xu, W. Immune-Checkpoint Protein VISTA Regulates Antitumor Immunity by Controlling Myeloid Cell-Mediated Inflammation and Immunosuppression / W. Xu, J. Dong, Y. Zheng [et al.] // *Cancer Immunol. Res.* – 2019. – Vol. 7, N 9. – P. 1497-1510.
256. Xu, X. PD-1 and BTLA regulate T cell signaling differentially and only partially through SHP1 and SHP2 / X. Xu, B. Hou, A. Fulzele [et al.] // *J. Cell. Biol.* – 2020. – Vol. 219, N 6: e201905085.
257. Yamato, I. Clinical importance of B7-H3 expression in human pancreatic cancer / I. Yamato, M. Sho, T. Nomi [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2009. – Vol. 101, N 10. – P. 1709-1716.

258. Yan, Y. Interferon regulatory factor 1 (IRF-1) and IRF-2 regulate PD-L1 expression in hepatocellular carcinoma (HCC) cells / Y. Yan, L. Zheng, Q. Du [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2020. – Vol. 69, N 9. – P. 1891-1903.
259. Yao, S. B7-H2 is a costimulatory ligand for CD28 in human / S. Yao, Y. Zhu, G. Zhu [et al.] // *Immunity.* – 2011. – Vol. 34, N 5. – P. 729-740.
260. Yao, S. PD-1 as an immune modulatory receptor / S. Yao, L. Chen // *Cancer journal.* – 2014. – Vol. 20, N 4. – P. 262-264.
261. Ye, Q. Proteins in Cancer Progression: Immunological and Non-Immunological Functions / Q. Ye, J. Liu, K. Xie // *J. Cancer Treat. Diagn.* – 2019. – Vol. 3, N 4. – P. 1-6.
262. Yi, M. Regulation of PD-L1 expression in the tumor microenvironment / M. Yi, M. Niu, L. Xu [et al.] // *J. Hematol. Oncol.* – 2021. – Vol. 14, N 1: 10.
263. Yuan, L. VISTA: A Mediator of Quiescence and a Promising Target in Cancer Immunotherapy / L. Yuan, J. Tatineni, K.M. Mahoney, G.J. Freeman // *Trends Immunol.* – 2021. – Vol. 42, N 3. – P. 209-227.
264. Yuasa, T. Biomarkers to predict prognosis and response to checkpoint inhibitors / T. Yuasa, H. Masuda, S. Yamamoto [et al.] // *Int. J. Clin. Oncol.* – 2017. – Vol. 22, N 4. – P. 629–634.
265. Zang, X. B7-H3 and B7x are highly expressed in human prostate cancer and associated with disease spread and poor outcome / X. Zang, R.H. Thompson, H.A. Al-Ahmadie [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2007. – Vol. 104, N 49. – P. 19458-19463.
266. Zang, X. Tumor associated endothelial expression of B7-H3 predicts survival in ovarian carcinomas / X. Zang, P.S. Sullivan, R.A. Soslow [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2010. – Vol. 23, N 8. – P. 1104-1112.
267. Zeng, Z. Upregulation of circulating PD-L1/PD-1 is associated with poor post-cryoablation prognosis in patients with HBV-related hepatocellular carcinoma / Z. Zeng, F. Shi, L. Zhou [et al.] // *PloS One.* – 2011. – Vol. 6, N 9: e23621.

268. Zerdes, I. Genetic, transcriptional and post-translational regulation of the programmed death protein ligand 1 in cancer: biology and clinical correlations / I. Zerdes, A. Matikas, J. Bergh [et al.] // *Oncogene*. – 2018. – Vol. 37, N 34. – P. 4639-4661.
269. Zhang, G. Soluble CD276 (B7-H3) is released from monocytes, dendritic cells and activated T cells and is detectable in normal human serum / G. Zhang, J. Hou, J. Shi [et al.] // *Immunology*. – 2008. – Vol. 123, N 4. – P. 538-546.
270. Zhang, J. Antibody-mediated neutralization of soluble MIC significantly enhances CTLA4 blockade therapy / J. Zhang, D. Liu, G. Li [et al.] // *Sci. Adv.* – 2017. – Vol. 3, N 5: e1602133.
271. Zhang, J. Circulating PD-L1 in NSCLC patients and the correlation between the level of PD-L1 expression and the clinical characteristics / J. Zhang, J. Gao, Y. Li [et al.] // *Thorac. Cancer*. – 2015. – Vol. 6, N 4. – P. 534–538.
272. Zhang, P. [Levels of programmed death-1 and programmed death ligand-1 in the peripheral blood of patients with oral squamous cell carcinoma and its clinical implications] / P. Zhang, S. Ouyang, J. Wang [et al.] // *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. – 2015. – Vol. 33, N 5. – P. 529-533.
273. Zhang, Y. Expression and clinical significance of programmed death-1 on lymphocytes and programmed death ligand-1 on monocytes in the peripheral blood of patients with cervical cancer / Y. Zhang, W. Zhu, X. Zhang [et al.] // *Oncol. Lett.* – 2017. – Vol. 14, N 6. – P. 7225-7231.
274. Zhao, L. Early Detection of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Hepatocirrhosis by Soluble B7-H3 / L. Zhao, C. Xie, D. Liu [et al.] // *J. Gastrointest. Surg.* – 2017. – Vol. 21, N 5. – P. 807-812.
275. Zheng, B. PD-1 axis expression in musculoskeletal tumors and antitumor effect of nivolumab in osteosarcoma model of humanized mouse / B. Zheng, T. Ren, Y. Huang [et al.] // *J. Hematol. Oncol.* – 2018. – Vol. 11, N 1. – P. 16.
276. Zheng, Z. Level of circulating PD-L1 expression in patients with advanced gastric cancer and its clinical implications / Zheng Z., Bu Z., Liu X. [et al.] // *Chin. J. Cancer. Res.* – 2014. – Vol. 26, № 1. – P. 104–111.

277. Zheng, Z. Level of circulating PD-L1 expression in patients with advanced gastric cancer and its clinical implications / Z. Zheng, Z. Bu, X. Liu [et al.] // Chin. J. Cancer Res. – 2014. – Vol. 26, N 1. – P. 104-111.
278. Zhong, A. Prognostic value of programmed cell death-ligand 1 expression in patients with non-small-cell lung cancer: evidence from an updated meta-analysis / A. Zhong, Y. Xing, X. Pan [et al.] // Onco Targets Ther. – 2015. – Vol. 8. – P. 3595–3601.
279. Zhou, J. Soluble PD-L1 as a Biomarker in Malignant Melanoma Treated with Checkpoint Blockade / J. Zhou, K.M. Mahoney, A. Giobbie-Hurder [et al.] // Cancer Immunol. Res. – 2017. – Vol. 5, N 6. – P. 480-492.
280. Zhu, X. Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer / X. Zhu, J. Lang // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, N 57. – P. 97671-97682.
281. Zhu, Z. Prognostic value of programmed death-ligand 1 in sarcoma: a meta-analysis / Z. Zhu, Z. Jin, M. Zhang [et al.] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, N 35. – P. 59570–59580.
282. Zhuang, X. CD28 Homolog Is a Strong Activator of Natural Killer Cells for Lysis of B7H7(+) Tumor Cells / X. Zhuang, E.O. Long // Cancer Immunol. Res. – 2019. – Vol. 7, N 6. – P. 939-951.
283. Zong, L. High VISTA Expression Correlates With a Favorable Prognosis in Patients With Colorectal Cancer / L. Zong, S. Yu, S. Mo [et al.] // J. Immunother. 2021. – Vol. 44, N 1. – P. 22-28.
284. Zong, L. High VISTA Expression Correlates With a Favorable Prognosis in Patients With Colorectal Cancer / L. Zong, S. Yu, S. Mo [et al.] // J. Immunother. – 2021. – Vol. 44, N 1. – P. 22-28.
285. Zvirble, M. Prognostic significance of soluble PD-L1 in prostate cancer / M. Zvirble, Z. Survila, P. Bosas [et al.] // Front Immunol. – 2024. – Vol. 15: 1401097.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДК	- дендритные клетки
ДОК	- доброкачественные опухоли костей
ДОЯ	- доброкачественные опухоли яичников
ЗОК	- злокачественный опухоли костей
ЗОЯ	- злокачественный опухоли яичников
КРР	- колоректальный рак
КТИ	- контрольная точка иммунитета
МАИР	- Международное агентство по изучению рака
ОС	- остеосаркома
ПКР	- почечно-клеточный рак
ПОК	- пограничные опухоли костей
ПОЯ	- пограничные опухоли яичников
РЖ	- рак желудка
РМЖ	- рак молочной железы
РП	- рак пищевода
РЯ	- рак яичников
СЮ	- саркома Юинга
ХС	- хондросаркома
ADCC	- антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность
APC	- антигенпрезентирующие клетки
Akt	- семейство протеинкиназ В человека (Akt1, Akt2, Akt3)
B7-H4	- негативный регулятор Т клеток
B7-H3	- КТИ семейства B7-CD28
CD8+ Т- клетки	- вид Т-лимфоцитов, также известный как Т-киллеры или цитотоксические Т-лимфоциты (CTL)
CSPG4	- chondroitin sulfate proteoglycan 4
DAP10	- семейство трансмембранных адаптерных белков

DNAM-1	- молекула адгезии, контролирующая цитотоксичность НК-клеток и продукцию интерферона-γ против широкого спектра раковых и инфицированных клеток
ERK	- один из ключевых сигнальных путей MAPK (mitogen-activated protein kinase)
FasL	- (CD95L или Apo-1L) – трансмембранный белок II типа из суперсемейства факторов некроза опухолей (TNF)
Grb2	- основной активатор фосфатидил-инозитол-3-киназы
HLA-G	- антиген G лейкоцитов человека
ICOS	- индуцибельный ко-стимулятор Т-клеток
JAK/STAT	- сигнальный путь, передающий сигналы извне клетки в ядро, включает янус-киназы (JAK) и трансдукторы сигналов и активаторы транскрипции (STAT), влияющие на пролиферацию, дифференцировку, иммунный ответ, апоптоз.
KLRK1	- лектин-подобный рецептор клеток-киллеров K1
LAG-3	- лимфокин-активированные клетки
MICA, MICB	- гликопротеины родственные молекулам главного комплекса гистосовместимости I класса
NCR	- рецептор относится к семейству белков натуральной цитотоксичности
NFAT	- ядерный фактор активированных Т-клеток
NK	- природные киллеры
NKG2D	- активирующий рецептор цитотоксических лимфоцитов человека
NKG2DL	- лиганд активирующего рецептора цитотоксических лимфоцитов человека
NKT-клетки	- натуральные киллерные Т-клетки – субпопуляция лимфоцитов, которая сочетает в себе признаки как НК-клеток, так и Т-клеток, занимая промежуточное положение между врожденным и адаптивным иммунитетом
OX40	- (TNFRSF4, CD134) мембранный белок, рецептор из надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли лиганда
PI3K	- фосфоинозитид-3-киназы – семейство ферментов, фосфорилирующих фосфатидилинозитол в положении 3D инозитольного кольца
PSGL-1	- трансмембранный гликопротеиновый лиганд Р-селектина 1
sPD-1	- растворимая форма рецептора программируемой гибели клетки

sPD-L1	- растворимая форма лиганда программируемой гибели клетки
TCR	- Т-клеточный рецептор
TGF- β	- трансформирующий фактор роста бета
TIGIT	-белок-рецептор контрольной точки иммунитета, ингибирует функцию Т-клеток и НК-клеток, нарушая их активацию и уничтожение раковых клеток
TILs	- лимфоциты, инфильтрирующие опухоль
TIM-3	- Т-клеточный иммуноглобулин и муцин-домен-3 – коингибиторный мембранный белок, играющий ключевую роль в регуляции иммунного ответа и экспрессирующийся на различных иммунных клетках, таких как Т-хелперы
Th1	- регуляторные Т-клетках (Treg), дендритных клетках и естественных киллерах.
TRAIL	- цитокин семейства факторов некроза опухоли, лиганд, вызывающий апоптоз
Tregs	- регуляторные Т-клетки
VISTA (B7-H5)	- растворимая форма супрессора активации Т клеток
VSIG3	- лиганд семейства B7 VISTA/PD-1H, ингибирует функции Т-клеток человека через новый путь VSIG-3/VISTA
VSTB112	- антитело к человеческому VISTA