

На правах рукописи

АЛФЕРОВ
Александр Андреевич

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ЗНАЧЕНИЕ РАСТВОРИМЫХ ФОРМ
РЕЦЕПТОРА И ЛИГАНДА КОНТРОЛЬНОЙ ТОЧКИ ИММУНИТЕТА
PD-1/PD-L1 ПРИ ОПУХОЛЯХ КОСТЕЙ**

14.03.10 - клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2022 год

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Кушлинский Николай Евгеньевич – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Балдуева Ирина Александровна, доктор медицинских наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научный отдел онкоиммунологии, заведующая;

Моисеенко Федор Владимирович, доктор медицинских наук, ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)» Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга, заведующий онкологическим химиотерапевтическим (противоопухолевой лекарственной терапии) отделением биотерапии

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «28» июня 2022 г. в 14:30 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте: <https://www.nrcerm.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук доцент

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Актуальной задачей клинической лабораторной диагностики при онкологических заболеваниях является выявление биомаркеров информативных в отношении дифференциальной диагностики, прогноза, определения показаний к специфической терапии и оценки ее эффективности.

Поиск значимых лабораторных маркеров при опухолях костей имеет существенное значение в виду крайне агрессивного течения этого заболевания, неблагоприятного прогноза и резистентности к проводимой терапии (Unni, K.K., 2006). Этиология новообразований костей, как и большинства опухолей неизвестна, патогенез изучен не до конца. Однако остается неоспоримым тот факт, что у больных саркомами костей нарушения молекулярно-биологических процессов, в том числе и противоопухолевого иммунитета, лежат в основе клеточной пролиферации, инвазии и метастазирования (Кушлинский, Н.Е. и соавт., 2018; Kushlinskii N.E. et al., 2001; Korpi J.T. et al., 2011; Lizee G. et al., 2013; Zheng B. et al., 2018).

Известно, что важную роль в регуляции противоопухолевого иммунитета играют контрольные точки иммунитета и, в частности, одна из сигнальных систем PD-1/PD-L1, которая включает белок-рецептор программируемой клеточной гибели PD-1 и два его лиганда PD-L1, PD-L2 (Torabi A. et al., 2017).

Мембранный рецептор PD-1 относится к группе CD28/CTLA-4 регуляторных T-клеток и может быть представлен на внешней мембране этих клеток. Основной лиганд PD-1 (PD-L1) представляет собой кластер дифференцировки 274 или гомолог B7 1-го типа (Ключагина, Ю.И. и соавт., 2017; Kyi C., Postow M.A., 2014). Механизм «ускользания» опухоли от действия иммунной системы заключается в стимуляции апоптоза антиген-специфичных T-лимфоцитов и ингибировании апоптоза T-супрессоров за счет активации PD-1/PD-L1 пути (Sunshine J., Taube J.M., 2015).

Особый интерес представляют сравнительные исследования растворимых форм sPD-1 и sPD-L1 в периферической крови здоровых и больных различными онкологическими заболеваниями (Герштейн Е.С. и соавт., 2020; , Zhu X., Lang J., 2017; Wei W. et al., 2018). Рассматриваются два возможных пути образования растворимых форм рецептора PD-1 и его лиганда: протеолиз связи внеклеточного домена мембраносвязанного рецептора или образование этих форм при сплайсинге мРНК. Однако детальный механизм возникновения этих молекул в настоящее время неизвестен.

Результаты большинства исследований имеют противоречивый

характер и отличаются в зависимости от типа опухоли. Исследование уровней sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных опухолями костей практически не изучено и представлено единичными публикациями (Кушлинский Н.Е. и соавт., 2020; Tsukahara T. Et al., 2016; Kabir T.F. et al., 2018; Huang, H.F. et al., 2019), что требует более детального анализа на репрезентативной выборке пациентов с учетом основных клинико-морфологических характеристик опухоли.

Степень разработанности темы исследования

Диагностика и лечение пациентов с саркомами костей остается одной из сложных проблем онкологии ввиду агрессивного течения заболевания, неблагоприятного прогноза и резистентности к проводимому лечению (Kumar R. et al., 2018; Tsuchie H. et al., 2019).

Существенные ограничения традиционных подходов к лечению остеосарком обуславливает интерес исследователей к иммунотерапии в связи с ее успехами в лечении других злокачественных новообразований (Maeda N. et al., 2014; McEachron T.A. et al., 2018).

В основе подбора средств и методов иммунотерапии лежат известные представления о роли нарушения противоопухолевого иммунитета в процессах клеточной пролиферации, инвазии и метастазирования (Pardoll D.M., 2012; Wang, L. et al., 2016). В регуляции противоопухолевого иммунитета важная роль принадлежит ключевым точкам иммунитета, в том числе сигнальной системе, включающей рецептор программируемой клеточной гибели PD-1 и его лиганды (PD-L1 и PD-L2) (Kyū C., 2014). Механизмы влияния ключевых точек иммунитета на формирование иммунного ответа при опухолевых процессах заключается в регуляции активности иммунных реакций, ограничении иммунного повреждения тканей, препятствии запуску аутоиммунных реакций (Боголюбова, А.В. и соавт., 2015; Marin-Acevedo J.A. et al., 2018).

Более значимым маркером при злокачественных онкологических заболеваниях считается PD-L1, экспрессия которого выявлена при немелкоклеточном раке легкого (Мао, Y. et al., 2015) колоректальном раке и раке яичников (Ohigashi, Y. et al., 2005; Maine C.J. et al., 2014), на клетках лимфомы и при лейкозах (Steidl C. et al., 2011). Исследования sPD-1 и sPD-L1 при разных онкологических заболеваниях активно развиваются, они суммированы в фундаментальном обзоре (Zhu, X. et al., 2017), а также в мета-аналитических работах (Ding, Y. et al., 2017).

Данные об экспрессии ключевой точки иммунитета PD-1/PD-L1, в том числе их растворимых форм, у пациентов с саркомами костей малочисленны и представлены единичными публикациями (Kabir, T.F. et al., 2018; Huang, H.F. et al., 2019). Особый интерес представляет выявление роли растворимых форм PD-1/PD-L1 как маркеров прогноза исхода и показаний для специфической терапии при остеосаркомах. В

большинстве известных публикаций отсутствуют данные о связи уровня этих маркеров с клинико-морфологическими факторами или прогнозом заболевания (Ding, Y. et al., 2017; Wei W. et al., 2018).

Цель исследования

Анализ клинико-лабораторной значимости уровней растворимых форм рецептора программированной гибели клеток sPD-1 и его лиганда sPD-L1 в сыворотке крови больных новообразованиями костей, их связи с клинико-морфологическими характеристиками опухолей и прогнозом заболевания.

Задачи исследования

1. Определить содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных злокачественными, пограничными и доброкачественными новообразованиями костей, не получавших специфического лечения до обследования, а также в группе практически здоровых доноров.

2. Проанализировать зависимость уровней sPD-1 и sPD-L1 и их соотношения sPD-1/sPD-L1 в сыворотке крови пациентов до лечения с учетом характера новообразования, гистологического строения и степени дифференцировки опухоли, распространенности процесса, локализации и типа пораженной кости, а также других клинико-морфологических характеристик заболевания.

3. Провести анализ общей выживаемости больных саркомами костей от начала специфического лечения в зависимости от уровней sPD-1, sPD-L1 и их соотношения sPD-1/sPD-L1 в сыворотке крови.

Научная новизна исследования

Впервые выполнено определение содержания в сыворотке крови растворимых форм ключевой точки иммунитета PD-1/PD-L1 у пациентов с доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями костей и проведен анализ их связи с прогнозом общей выживаемости, а также с основными клиническими и морфологическими характеристиками заболевания.

Получены новые данные о значимом повышении относительно здоровых доноров (контрольная группа) уровней sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных остеосаркомой, хондросаркомой, саркомой Юинга, хордомой, пограничными и доброкачественными опухолями костей.

Впервые показано, что исходные до лечения концентрации sPD-1 в сыворотке крови связаны с гистологическим строением опухоли и достоверно ниже при хрящобразующих (хондросаркома), по сравнению с костеобразующими (остеосаркома) опухолями, саркомой Юинга, и хордомой кости. При этом наиболее высокие уровни sPD-1 обнаружены при пограничной гигантоклеточной опухоли кости.

Не установлено статистически значимой связи концентраций sPD-1 и

sPD-L1 в сыворотке крови больных злокачественными новообразованиями костей с показателями системы TNM и степенью дифференцировки опухоли.

Было показано, что тип кости, пораженной опухолью, не влияет на значения концентраций sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных новообразованиями костей всех групп.

Показана значимо большая исходная концентрация sPD-1 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей с наличием осложнений в виде патологического перелома кости и тромбоэмболией легочной артерии. Концентрации sPD-L1 в сыворотке крови не были связаны с вышеуказанными осложнениями.

Были получены новые данные о связи исходного уровня sPD-1 в сыворотке крови, но не его лиганда, с показателем общей выживаемости больных злокачественными опухолями костей.

Теоретическая и практическая значимость работы

Данные, полученные в результате проведенной работы, расширяют представление о роли растворимых форм рецептора программируемой клеточной гибели sPD-1 и его лиганда sPD-L1 контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 в оценке клинического течения и прогноза общей выживаемости больных первичными злокачественными новообразованиями костей, а также их связи с клинико-морфологическими характеристиками опухоли.

Показана возможность использования лабораторного маркера растворимой формы рецептора программируемой гибели клеток sPD-1 контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 в сыворотке крови больных саркомами костей в качестве потенциального фактора оценки прогноза общей выживаемости. Так, при уровне sPD-1 выше порогового (45,8 нг/мл) общая выживаемость у больных злокачественными новообразованиями костей статистически значимо ниже. Показатели 3-летней общей выживаемости у пациентов с уровнем sPD-1 выше порогового составили 53%, тогда как у пациентов с sPD-1 ниже порогового – 85%.

Получены данные об уровне растворимой формы PD-1 у пациентов злокачественными опухолями костей, на основании которых стало возможным определение группы больных высокого риска с потребностью в адьювантной терапии после операции и необходимостью более пристального наблюдения.

Было установлено, что сывороточный уровень растворимого рецептора PD-1 является независимым фактором прогноза общей выживаемости у больных злокачественными заболеваниями костей.

Включение определения растворимых форм ключевой точки иммунитета sPD-1 и sPD-L1 позволит создать оптимизированный алгоритм

лабораторной диагностики при опухолях костей с учетом биологических характеристик заболевания.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационной работы является комплексное исследование содержания ключевых точек иммунитета растворимых форм рецептора программируемой гибели клеток sPD-1 и его лиганда sPD-L1 в сыворотке крови больных злокачественными, пограничными и доброкачественными новообразованиями костей с использованием иммуноферментных тест-систем, выполненных высокочувствительными иммуноферментными методами исследования с использованием современного оборудования. В исследовании учитывали клиничко-морфологические особенности опухолей костей на основании анализа общеклинических, рентгенологических и гистологических данных. В диссертационном исследовании проводили статистический анализ показателей общей выживаемости больных первичными саркомами костей с учетом изучаемых лабораторных маркеров – sPD-1 и sPD-L1.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Содержание лиганда растворимого рецептора PD-1 (sPD-L1) в сыворотке крови больных первичными опухолями костей значительно выше по сравнению со здоровыми донорами группы контроля. При этом, концентрации sPD-L1 не зависят от возраста, не отражают характер опухолевого процесса и не различаются между больными злокачественными, пограничными и доброкачественными новообразованиями костей.

2. Уровень растворимого рецептора PD-1 (sPD-1) связан с гистологическим строением опухоли и статистически значимо ниже при хрящобразующих (хондросаркома), по сравнению с костеобразующими (остеосаркома) опухолями. Не установлено связи концентраций sPD-1 и sPD-L1 у больных злокачественными новообразованиями костей с критериями системы TNM, степенью дифференцировки опухоли и типом (трубчатые, плоские) пораженной опухолью кости.

3. Содержание маркера sPD-1 в сыворотке крови следует считать статистически значимым и независимым фактором прогноза общей выживаемости у больных первичными злокачественными новообразованиями костей.

Степень достоверности результатов

Достоверность, полученных в диссертации результатов, обоснована адекватным поставленным задачам объемом проведенных исследований и количеством обследованных пациентов (132 больных опухолями костей). В работе использованы современные методы лабораторного исследования и статистического анализа полученных результатов. Работа выполнена в

соответствии с общепринятыми этическими и научными принципами. Интерпретация данных диссертационного исследования проведена на основе глубокого анализа данных литературы по изучаемой проблеме. Выводы и практические рекомендации основаны на полученных результатах, логичны и соответствуют цели и поставленным задачам исследования.

Апробация работы

Материалы диссертации представлены на: III Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 11-13 октября 2017г.); VI International Symposium «Interactions of the nervous and immune systems in health and disease» (June 20-23, 2017, Saint Petersburg, Russia); IV Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 17-19 декабря 2018г.); Конгрессе «Академия лабораторной медицины: новейшие достижения» (Москва, 25-27 мая 2021г.).

Внедрение результатов работы в практику

Полученные результаты исследования внедрены в клиническую практику лаборатории клинической биохимии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Материалы диссертации используются на лекционных, семинарских занятиях с курсантами циклов повышения квалификации врачей на кафедре клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно выбрано направление, которому посвящена диссертация, спланированы все этапы работы. Автор самостоятельно проводил сбор материала, лабораторные исследования, статистический анализ данных и оценил результаты, представленные в работе. Все научные результаты, содержащиеся в диссертации, получены автором лично.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 12 печатных работ, 4 из них в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований по специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследований», главы «Результаты собственных исследований», обсуждения полученных результатов, выводов и указателя

цитируемой литературы. Общий объем диссертации 141 страница, диссертация иллюстрирована 41 таблицей и 24 рисунками. Указатель литературы содержит 216 источников, из них 14 работ отечественных и 202 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Характеристика больных опухолями костей

В исследование включено 132 больных первичными опухолями костей и 56 практически здоровых доноров (группа контроля). У всех больных клинико-рентгенологический диагноз опухоли кости подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной классификации опухолей костей (ВОЗ, 2013). В таблице 1 представлено распределение больных опухолями костей по полу, возрасту и характеру выявленного новообразования.

Таблица 1. Распределение обследованных больных опухолями костей основных групп по полу, возрасту и характеру новообразования

Группы	N	Возраст, лет		Старше 18 лет	Пол	
		M±m	Пределы колебания		Мужской	Женский
ДОК	14 (10,6%)	26,5±4,0	9-66	12 (85,7%)	8 (57,1%)	6 (42,9%)
ПОК	16 (12,1%)	34,5±3,5	17-70	15 (93,8%)	8 (50,0%)	8 (50,0%)
ЗОК	102 (77,3%)	33,5±1,8	6-69	85 (83,3%)	61 (59,8%)	41 (40,2%)
P		>0,05		>0,05	>0,05	

В таблице 2 представлено распределение больных злокачественными опухолями костей с учетом критериев системы TNM. Преобладали пациенты с распространенностью T2 (67,7%). У 3 пациентов выявлены метастазы в региональных лимфатических узлах и у 9 – в отдаленных органах.

У 102 больных саркомами костей исследована степень дифференцировки первичной опухоли. Следует отметить, что преобладали больные с G3 опухолями (66,7%). Частота выявления G3 опухолей в группе с клинико-морфологическим диагнозом типичная остеосаркома кости составила 97,3%, тогда как в группе пациентов с диагнозом типичная хондросаркома кости – только 21,1%, в этой группе преобладали пациенты с G2 опухолями (52,6%).

Таблица 2. Распределение обследованных больных злокачественными опухолями костей с учетом критериев системы TNM

Обследованные группы	Частота (абс., %)						
	Критерий Т			Критерий N		Критерий M	
	T1	T2	T3	N0	N1	M0	M1
Саркомы костей (n=102)	17 16,7%	69 67,6%	16 15,7%	99 97,1%	3 2,9%	99 91,2%	9 8,8%
Типичная ОС (n=37)	3 8,1%	26 70,3%	8 21,6%	36 97,3%	1 2,7%	31 83,8%	6 16,2%
Типичная ХС (n=38)	9 23,7%	22 57,9%	7 18,4%	37 97,4%	1 2,6%	38 100%	-
Саркома Юинга (n=9)	2 22,2%	6 66,7%	1 11,1%	9 100%	-	8 88,9%	1 11,1%

У 15 больных злокачественными опухолями костей проведена неоадьювантная химиотерапия, 54 больным выполнено хирургическое удаление опухоли, 2 пациентам провели только химиотерапию. Осложнение в виде патологического перелома кости установлено у 7 больных злокачественными опухолями костей.

Специальные биохимические методы исследования

Концентрации sPD-L1 и sPD-1 определяли в образцах сыворотки крови практически здоровых доноров и больных первичными новообразованиями костей, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа Human sPD-L1 Platinum ELISA и Human sPD-1 ELISA kit (Affimetrix, eBioscience, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия).

Статистический анализ полученных результатов

Выбор основных характеристик и статистических критериев при их сравнении осуществляли после изучения распределения признака и его сравнения с распределением Гаусса по критерию Колмогорова-Смирнова. Для признаков с распределением, значимо отличающимся от нормального, рассчитывали медиану, квартили и применяли непараметрические методы сравнения. Для несвязанных признаков при количестве групп более двух, р рассчитывали с применением непараметрического варианта дисперсионного анализа Kruskal-Wallis ANOVA & Median test и Mann-Whitney U test при сопоставлении двух групп. Сравнения связанных значений выполняли с применением непараметрических методов анализа Wilcoxon matched pairs test и Kendall's concordance. Для расчета пороговых значений вычисляли 95% доверительные интервалы показателей. Различия считали статистически

значимыми при $p < 0,05$. При сравнении частот строили таблицы сопряженности признаков. Для расчета p использовали точный критерий Фишера (при небольших объемах групп) и непараметрический критерий хи-квадрат. Проводили корреляционный анализ Spearman для непараметрических данных с расчетом коэффициента корреляции и уровня его значимости. Все вычисления проводили на персональном компьютере с помощью математических пакетов «STATISTICA» и SPSS.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценили концентрации белков sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови двух групп: 1) группа практически здоровые доноры (группа контроля) и 2) общая группа - больные первичными опухолями костей (таблица 3).

Таблица 3. Концентрации sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови здоровых доноров (группа контроля) и общей группы больных опухолями костей

Группы	N	sPD-1, пг/мл		sPD-L1, пг/мл	
		Пределы	Медиана; квартили	Пределы	Медиана; квартили
Контроль	56	11,4-137,8	48,6; 35,1-53,6	1,4-56,6	9,2; 6,9-17,4
Опухоли костей	132	7,5-153,8	48,2; 28,5-68,9	3,4-140	23,8; 16,7-32,0
P	188	>0,05		<0,0000001 M-W	

Как следует из данных, приведенных в таблице 3, уровни sPD-1 в сыворотке крови в контроле и в общей группе больных первичными опухолями костей не различались, их медианы составили 48,6 и 48,2 пг/мл соответственно, пределы колебания уровней изученного рецептора также в этих двух группах составили 11,4-137,8 и 7,5-153,8 пг/мл соответственно. Выявлены статистически значимые различия концентрации лиганда sPD-L1 в выше указанных группах (медианы составили 9,2 пг/мл в группе контроля и 23,8 пг/мл в группе больных первичными опухолями костей, $p < 0,0000001$).

Необходимо отметить, что верхняя граница 95% ДИ в контроле составила 15,8 пг/мл и это значение было взято нами за пороговое при разделении групп больных и здоровых. В группе больных опухолями костей в 78,8% наблюдений (104 из 132) у пациентов выявлены концентрации sPD-L1 в крови, превышающие указанный порог 15,8 пг/мл. При разделении здоровых доноров и пациентов с первичными опухолями костей с помощью построения кривых ROC был получен порог sPD-L1 в сыворотке крови, равный 16,5 пг/мл, при этом специфичность в общей группе опухолей костей была равна 75,4%, а чувствительность - 75,9%. Таким образом, лиганд sPD-

L1 в концентрации 16,5 пг/мл в сыворотке крови статистически значимо отражает наличие опухолевого процесса в кости.

Установлены значимые различия концентраций sPD-L1 в сыворотке крови в исследованных группах больных первичными опухолями костей ($p=0,00001$; таблица 4). Вместе с тем, в группе больных доброкачественными новообразованиями костей медиана sPD-1 в сыворотке крови была наименьшей и равнялась 42,5 пг/мл, а в группе больных пограничной опухолью кости – наибольшей и составила 68,8 пг/мл. Однако при учете поправки Бонферрони на количество сравниваемых групп все различия были статистически незначимыми ($p>0,05$) и это следует объяснять малочисленностью пациентов в группах с доброкачественными и пограничными опухолями костей.

Таблица 4. Концентрации sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови здоровых доноров и больных опухолями костей в зависимости от характера новообразования

Обследованные группы	N	sPD-1, пг/мл		sPD-L1, пг/мл	
		Пределы	Медиана; квартили	Пределы	Медиана; квартили
Контроль ⁰	56	11,4-137,8	48,6; 35,1-53,6	1,4-56,6	9,2; 6,9-17,4
ДОК ¹	14	18,9-120,7	42,5; 29,0-51,1	3,4-78,1	25,5; 16,7-33,0
ПОК ²	16	45,3-87,7	68,8; 54,5-75,1	4,9-53,3	21,6; 16,4-27,6
ЗОК ³	102	7,5-153,8	46,0; 25,5-68,5	6,1-140	23,8; 17,6-32,8
P		p=0,0107 K-W; 0 vs 2 p=0,000137; 1 vs 2 p=0,002762; 2 vs 3 p=0,003410		p=0,00001 K-W; 1 vs 0 p=0,00044 M-W; 2 vs 0 p=0,00124 M-W; 3 vs 0 p<0,00001 M-W	

Группа больных саркомами костей характеризовалась близкими пределами колебания исходных концентраций белка sPD-1, что и в контроле и сопоставимыми уровнями этого маркера. Не выявлено различий в концентрации сывороточного sPD-1 между больными саркомами костей и здоровыми донорами.

В то же время анализ концентраций лиганда sPD-L1 в сыворотке крови пациентов с разным характером новообразования кости показал наличие статистически значимых различий только по сравнению с группой контроля и, следовательно, данный белок не может служить онкомаркером у больных с опухолевой патологией костей скелета.

Также, необходимо указать, что частота выявления повышенных сывороточных значений sPD-L1 $\geq 16,5$ пг/мл в группе больных доброкачественными новообразованиями костей составила 78,6% (11 из 14), в группе больных пограничной опухолью кости 75,0% (12 из 16), в группе больных злокачественными опухолями костей 75,5% (77 из 102). Согласно полученным нами данным, лиганд sPD-L1 не обладал диагностической ценностью в распознавании характера выявленной опухоли в кости.

Оценили концентрации рецептора sPD-1 и его лиганда sPD-L1 в сыворотке крови больных новообразованиями костей с учетом гистологического строения опухоли (таблица 5).

Как следует из данных таблицы 5, медианы концентраций sPD-1 у больных саркомами костей заметно различались в группах с различным их гистологическим строением, а при учете поправки Бонферрони на количество сравниваемых групп установлено, что медиана sPD-1 у больных хондросаркомой (30,5 пг/мл) была статистически значимо ниже, чем у больных типичной остеосаркомой (55,5 пг/мл, $p=0,004$), а также по сравнению с больными пограничными опухолями кости (68,8 пг/мл; $p=0,0002$).

Концентрации sPD-1 в сыворотке больных гигантоклеточной опухолью кости была статистически значимо выше, чем при хордоме (68,8 и 49,4 пг/мл соответственно; $p=0,003$) с учетом поправки Бонферрони. Сравнение уровней маркера в контроле и у больных хондросаркомой кости при учете поправки Бонферрони показали только тенденцию к различию ($p=0,13$). Также следует отметить, что наибольшая медиана концентрации белка sPD-1 обнаружена в сыворотке крови больных саркомой Юинга (70,3 пг/мл).

В то же время сопоставление концентрации лиганда sPD-L1 в сыворотке крови больных новообразованиями костей с различным их гистологическим строением выявило статистически значимые отличия только с контролем и отсутствие статистически значимых различий между разными по гистологическому строению группами больных сарком костей.

Однако следует отметить, что наименьшие концентрации лиганда sPD-L1 обнаружены у больных хордомой (19,4 пг/мл), а наибольшие – при саркомой Юинга (26,6 пг/мл) и хондросаркоме кости (26,2 пг/мл).

Также следует отметить, что чувствительность теста sPD-L1 $\geq 16,5$ пг/мл в группе больных хордомой составила 58,3% (7 из 12), в группе больных типичной остеосаркомой – 70,3% (26 из 37), то есть не достигала необходимого уровня чувствительности.

Таблица 5. Уровни sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови здоровых доноров и больных первичными опухолями костей с учетом гистологического строения

Группы	N	sPD-1, пг/мл		sPD-L1, пг/мл	
		Пределы	Медиана; квартили	Пределы	Медиана; квартили
Контроль ⁰	56	11,4-137,8	48,6; 35,1-53,6	1,4-56,6	9,2; 6,9-17,4
Доброкачественные опухоли костей ¹	14	18,9-120,7	42,5; 29,0-51,1	3,4-78,1	25,5; 16,7-33,1
Аневризмальную костная киста	4	18,9-31,2	28,4;	19,8-26,6	25,5;
Энхондрома	2	48,2-85,0	66,6;	15,6-33,1	24,3
Фиброзная дисплазия	2	29,0-40,3	34,6;	38,7-78,1	58,4
Остеобластома	3	49,7-54,8	51,1;	16,7-29,5	22,9;
Хондробластома	1	19,4*	-	37,9*	-
Остеоид-остеома	1	121*	-	11,7*	-
Остеохондрома	1	44,8*	-	3,4*	-
Пограничные (гигантоклеточная) опухоли костей ²	16	45,3-87,7	68,8; 54,5-75,1	4,9-53,3	21,6; 16,4-27,6
Злокачественные опухоли костей ³	102	7,5-153,8	46,0; 25,5-68,5	6,1-140	23,8; 17,6-32,8
Остеосаркома ³¹	37	14,5-121,1	55,5; 37,9-77,9	8,7-58,2	22,3; 15,4-29,3
Паростальная остеосаркома	1	48,2*	-	46,3*	-
Периостальная остеосаркома	1	27,9*	-	18,7*	-
Хондросаркома ³²	38	11,4-153,8	30,5; 21,7-52,0	10,3-140	26,2; 19,4-38,7
Периостальная хондросаркома	1	39,9*	-	28,5*	-
Вторичная хондросаркома	2	16,3-26,1	21,2;	47,1-53,6	50,3;
Саркома Юинга ³³	9	17,1-110	70,3; 52,1-93,0	12,8-50,9	26,6; 17,6-38,7
Хордома ³⁴	12	10,9-68,8	49,4; 37,6-55,8	6,1-93,4	19,4; 13,5-28,9
Плеоморфная недифференцированная саркома кости	1	7,5*	-	13,9*	-
P		0 vs 32 p=0,0074 M-W; 0 vs 33 p=0,0143 M-W; 1 vs 33 p=0,041 M-W; 2 vs 32 p=0,0002 M-W; 2 vs 34 p=0,003 M-W; 31 vs 32 p=0,004 M-W; 32 vs 33 p=0,011 M-W; 33 vs 34 p=0,033 M-W		0 vs 31 p=0,000001 M-W; 0 vs 32 p=0,0000001 M-W; 0 vs 33 p=0,00077 M-W; 0 vs 34 p=0,01 M-W	

Примечание: *абсолютное значение.

Наибольшая чувствительность теста выявлена в группе больных хондросаркомой кости – 84,2% (32 из 38). Таким образом, уровни sPD-L1 в большей степени отражали наличие опухолевого процесса в кости независимо от его характера, а уровни sPD-1 – гистологический тип опухоли.

Рассчитали коэффициент соотношения sPD-L1/sPD-1, измеренных маркеров в сыворотке крови группы контроля и больных новообразованиями костей с учетом их гистологического строения. Как следует из полученных данных, коэффициент соотношения sPD-L1/sPD-1 в контроле был значимо меньше, чем у больных опухолями костей основных групп. Кроме того, при учете поправки Бонферрони значимо большее соотношение выявлено в группе пациентов с хондросаркомой (0,81) по сравнению с гигантоклеточной опухолью (0,36) и с типичной остеосаркомой кости (0,35).

При разделении группы больных хондросаркомой от других злокачественных новообразований и гигантоклеточной опухоли кости наилучший порог соотношения sPD-L1/sPD-1, полученный с помощью построения кривой ROC, равнялся 0,5 (чувствительность 73,0%, специфичность 72,2%). Следовательно, коэффициент соотношения sPD-L1/sPD-1 также не обладал приемлемой диагностической ценностью.

Концентрации sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови больных новообразованиями костей с учетом пола и возраста

Выявлена обратная корреляционная зависимость между возрастом и концентрациями sPD-1 в группе контроля. В остальных обследованных группах корреляционная зависимость между возрастом и уровнями sPD-1, sPD-L1 была слабой и статистически незначимой, либо отсутствовала. Не обнаружено линейной зависимости между возрастом и концентрациями изученных сывороточных маркеров sPD-1, sPD-L1 в группах больных саркомами костей с различным гистологическим строением. На основании полученных данных следует считать, что возраст не связан с уровнями как sPD-1, так и sPD-L1 у больных новообразованиями костей всех групп.

Сравнения концентраций исследованных маркеров в группах взрослых и детей выполнены только в общей группе больных злокачественными опухолями костей, а также в группах с типичной остеосаркомой и саркомой Юинга. В остальных группах сравнения не проводили из-за малочисленности или отсутствия таковых наблюдений у детей.

Как следует из полученных данных, в общей группе больных злокачественными новообразованиями костей не установлено статистически значимых различий между исходным содержанием sPD-1 в сыворотке крови взрослых и детей (46,6 и 37,9 пг/мл соответственно; $p > 0,05$), а также между содержанием sPD-L1 в указанных группах (22,9 и 27,0 пг/мл соответственно; $p > 0,05$). Однако в группе больных типичной остеосаркомой концентрации

sPD-1, были статистически значимо ниже у детей по сравнению с взрослыми (28,7 и 60,8 пг/мл; $p=0,007$). Следует отметить, что коэффициент соотношения sPD-L1/sPD-1 и уровни его колебания в группе больных типичной остеосаркомой кости статистически значимо различались у взрослых и детей (0,34; 0,18-0,51 и 0,85; 0,56-1,3 соответственно; $p=0,001$).

Проведен сравнительный анализ концентраций sPD-1, sPD-L1 и коэффициента соотношения sPD-L1/sPD-1 только в группах взрослых больных саркомами костей. Так, у взрослых больных типичной остеосаркомой и саркомой Юинга обнаружены наиболее высокие концентрации sPD-1 (60,8 и 64,5 пг/мл соответственно). При этом отмечены статистически значимые различия концентраций рецептора sPD-1 в сыворотке крови между больными типичной остеосаркомой и хондросаркомой кости при учете поправки Бонферрони ($p<0,004$). Коэффициенты соотношения sPD-L1/sPD-1 в указанных группах также статистически значимо различались с учетом поправки Бонферрони и равнялись 0,81 и 0,34 соответственно ($p<0,004$).

В таблице 6 представлены концентрации исследованных маркеров в сыворотке крови основных групп с учетом пола.

Таблица 6. Концентрации sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови взрослых больных новообразованиями костей основных групп и в контроле

Группы	Пол	N	sPD-1, пг/мл		sPD-L1, пг/мл	
			Медиана; квартили	P M-W	Медиана; квартили	P M-W
Контроль ⁰	муж	20	49,7; 40,3-54,4	0,18	10,0; 6,3-15,8	>0,05
	жен	36	45,8; 30,7-53,6		8,9; 7,0-21,2	
Опухоли костей	муж	77	52,0; 37,9-71,8	0,004	23,9; 16,1-32,0	>0,05
	жен	55	36,4; 21,4-67,0		23,6; 17,6-32,8	
ДОК ¹	муж	8	47,2; 24,6-53,0	>0,05	21,3; 14,2-27,9	0,12
	жен	6	35,7; 29,0-48,2		29,9; 24,7-38,7	
ПОК ²	муж	8	68,8; 53,9-74,8	>0,05	23,6; 17,4-27,6	>0,05
	жен	8	68,8; 57,7-77,7		21,2; 11,7-26,7	
ЗОК ³	муж	61	49,7; 37,0-73,1	0,0005	24,5; 15,4-34,0	>0,05
	жен	41	27,9; 18,1-55,0		22,0; 18,1-30,5	
Типичная ОС ³¹	муж	24	58,6; 40,1-76,2	>0,05	22,6; 14,4-29,7	>0,05
	жен	13	50,4; 22,8-78,9		19,2; 17,6-27,0	
Типичная ХС ³²	муж	18	36,6; 27,8-67,0	0,03	26,2; 19,8-38,7	>0,05
	жен	20	24,9; 17,8-40,7		24,9; 18,9-35,9	
СЮ ³³	муж	8	77,0; 55,4-99,4	-	25,8; 15,9-44,1	-
	жен	1	17,1*		26,6*	
Хордома ³⁴	муж	8	51,2; 43,1-55,8	>0,05	17,4; 13,5-24,2	>0,05
	жен	4	43,2; 23,2-59,4		26,6; 13,0-37,9	

Примечание: *абсолютное значение.

Установлено, что в большинстве групп содержание sPD-1 в сыворотке крови женщин снижено по сравнению с мужчинами. Так, в общей группе больных опухолями костей, в группе больных саркомами костей, в группе больных типичной хондросаркомой различия уровней sPD-1 были статистически значимо ниже у женщин по сравнению с мужчинами. У больных опухолями костей всех групп лиганд sPD-L1 в сыворотке крови не отражал пол пациента.

У лиц мужского пола установлены статистически значимые различия между концентрациями sPD-1 при хондросаркоме и саркоме Юинга ($p=0,01$), при хордоме и саркоме Юинга ($p=0,01$). Также в обследованных группах женского пола различия были статистически значимыми ($p=0,0089$ K-W). Статистически значимо различались по показателю sPD-1 группы женщин, больных доброкачественными новообразованиями костей от пограничных ($p=0,03$), а пограничные от злокачественных опухолей ($p=0,004$). Отмечено статистически значимое снижение содержания sPD-1 в сыворотке крови женщин, больных типичной хондросаркомой (24,9 пг/мл), по сравнению с женщинами, больными пограничной опухолью кости (68,8 пг/мл; $p=0,002$).

Концентрации sPD-1 и sPD-L1 у больных опухолями костей с учетом основных клинических и морфологических факторов

Не выявили различий в концентрациях sPD-1 и sPD-L1 у больных опухолями костей всех групп в зависимости от типа пораженной опухолью кости. Не установлено также различий между концентрациями sPD-1 в сыворотке крови больных новообразованиями костей разных групп, в зависимости от локализации опухоли в костях скелета. При типичной хондросаркоме обнаружены статистически значимые отличия в уровне sPD-L1 между опухолями, локализованными в грудной клетки, и костях таза ($p=0,04$). В группе больных саркомами костей медиана sPD-1 была статистически значимо ниже при локализации опухоли в лонной кости (16,3 пг/мл) по сравнению с опухолевым поражением крестца (53,4 пг/мл), бедренной (46,6 пг/мл) и подвздошной (46,6 пг/мл) костей ($p<0,05$).

У больных саркомами костей медиана sPD-1 была статистически значимо ниже при локализации опухоли в лонной кости (16,3 пг/мл) по сравнению с опухолевым поражением крестца (медиана 53,4 пг/мл), бедренной (46,6 пг/мл) и подвздошной (46,6 пг/мл) костей ($p<0,05$). Медиана sPD-L1 была статистически значимо ниже при локализации опухоли в ребре (12,0 пг/мл) по сравнению с группами пациентов с поражением опухолью всех прочих костей ($p<0,05$).

Не установлено статистически значимых различий в уровне исследованных нами маркеров в сыворотке крови больных типичными

остеосаркомой и хондросаркомой с учетом локализации опухоли в костях скелета.

Концентрации sPD-1, sPD-L1 у больных саркомами костей с учетом распространенности процесса и степени злокачественности опухоли

Не выявлено значимой связи концентраций sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови общей группе больных саркомами костей с учетом критериев системы TNM. В группах больных типичными остеосаркомой и хондросаркомой кости также не обнаружили статистически значимой связи изученных маркеров с критериями TNM ($p > 0,05$). Медиана sPD-1 в сыворотке крови больных саркомами костей не зависела от наличия регионарных и отдаленных метастазов. Концентрации sPD-L1 также не отражали наличие метастазов у больных саркомами костей.

Концентрация sPD-1 не зависела от степени дифференцировки сарком костей, но уровень sPD-L1 был статистически значимо выше в группе больных со степенью дифференцировки G2 в сравнении с G3 ($p = 0,03$).

В группе больных типичной остеосаркомой кости не исследовали связь изучаемых белков со степенью дифференцировки новообразований ввиду преобладания G3 опухолей ($n = 36$). У больных типичной хондросаркомой кости различия концентраций sPD-1 и sPD-L1 с учетом степени дифференцировки опухоли были незначимы.

В группе контроля и у больных типичной хондросаркомой кости выявлена тенденция к слабой положительной корреляционной зависимости между концентрациями sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови. Вместе с тем, в группе больных типичной остеосаркомой кости зависимость между изученными маркерами в сыворотке крови была обратной и статистически значимой ($r_s = -0,32$; $p < 0,05$). Такая же корреляционная зависимость между sPD-1 и sPD-L1 отмечена у больных саркомой Юинга и хордовой кости.

Провели анализ уровней sPD-1 и sPD-L1 в двух группах больных саркомами костей: 1) группа с наличием сопутствующих осложнений и 2) группа с отсутствием сопутствующих осложнений. Следует отметить, что медиана концентрации sPD-1 была статистически значимо выше у пациентов 1) группы с патологическим переломом пораженной опухолью кости (85,0 пг/мл; $n = 7$) по сравнению с пациентами 2) группы - без таковых осложнений (42,0 пг/мл, $n = 95$; $p = 0,01$). В то же время концентрации лиганда sPD-L1 в выше указанных двух группах пациентов не различались.

Анализ выживаемости больных злокачественными и пограничными опухолями костей с учетом концентраций sPD-1, sPD-L1

Отдаленные результаты лечения прослежены у 101 (99%) больного злокачественными и пограничными опухолями костей. Наибольший срок прослеженности (длительности жизни) от начала лечения составил 58

месяцев. Установлены значимые различия общей выживаемости больных саркомами костей в зависимости от гистологического строения опухоли ($p=0,019$). Так, все больные хордомой были живы на этапе завершения исследования, медиана прослеженности в этой группе составила 31,9 (26,4-38,9) месяцев. Наихудшие отдаленные результаты лечения отмечены у больных саркомой Юинга (3-летняя выживаемость равнялась $33,3\pm 27,2\%$, медиана срока жизни 28,4 месяцев). В группе больных хондросаркомой 3-летняя выживаемость составила $76,1\pm 10,0\%$, медиана срока жизни на 4-летнем сроке наблюдения не была достигнута. В группе больных типичной остеосаркомой 3-летняя общая выживаемость составила $47,3\pm 11,1\%$. Все больные ГКО были живы на этапе завершения исследования.

Отмечена тенденция к снижению отдаленных результатов лечения больных злокачественными опухолями костей при повышении степени злокачественности опухоли. Так 3-летняя выживаемость составила при G1 100%, но снижалась до $57,7\pm 10,2\%$ при G3 ($p=0,09$). Более высокие отдаленные показатели выявлены у больных с опухолями губчатых костей, 3-летняя общая выживаемость составила $82,3\pm 7,4\%$. Стадия заболевания не влияла на отдаленные результаты лечения больных злокачественными опухолями костей, что объясняется небольшим количеством наблюдений с распространенной стадией. Таким образом, определяющим фактором следует считать морфологический диагноз, который наибольшим образом определяет отдаленные результаты лечения больных саркомами костей.

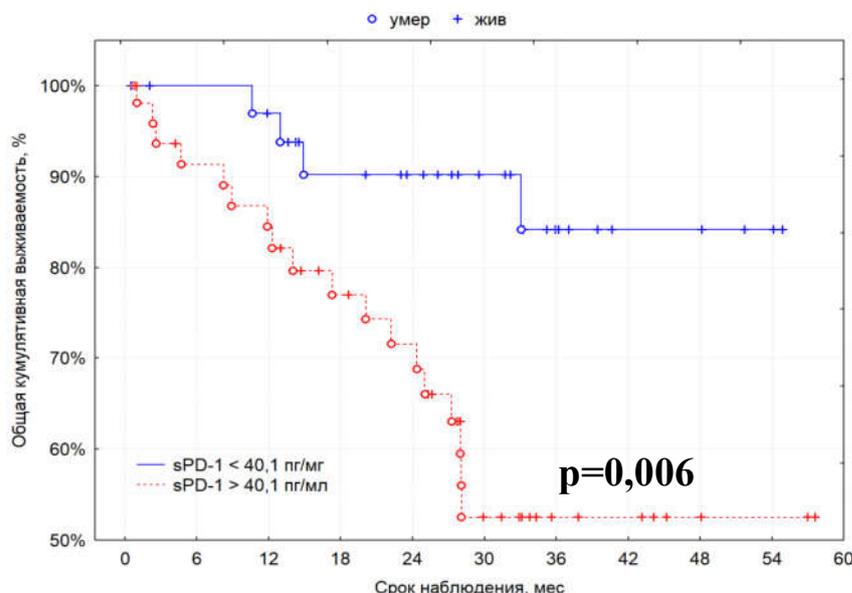


Рисунок 1. Кривые общей выживаемости в общей группе больных различными саркомами костей с низкими ($<40,1$ пг/мл) и высокими ($\geq 40,1$ пг/мл) концентрациями рецептора sPD-1 в сыворотке крови.

Нами выявлено статистически значимое различие в продолжительности жизни при разделении группы пациентов по порогу для

sPD-1 равному 40,1 пг/мл ($p=0,011$ Cox'F-test) и 14,2 пг/мл для sPD-L1 ($p=0,017$ Cox'F-test) (рисунок 1).

На рисунках 2 и 3 представлены кривые выживаемости с учетом уровней sPD-1 и sPD-L1 ($p=0,003$ и $p=0,02$ соответственно) для общей группы больных саркомами костей.

В группе больных саркомами костей с высокими концентрациями sPD-1 $\geq 40,1$ пг/мл 3-летняя общая выживаемость снижалась на 29%.

К 3-му году наблюдения общая выживаемость больных злокачественными новообразованиями костей при неблагоприятных уровнях лиганда sPD-L1 $\geq 14,2$ пг/мл в сыворотке крови снижалась на 28%.

Также установлено, что наилучшие отдаленные результаты лечения больных злокачественными опухолями костей получены в малочисленной группе больных с одновременно прогностически благоприятными низкими уровнями как рецептора sPD-1 $< 40,1$ пг/мл, так и лиганда sPD-L1 $< 14,2$ пг/мл (все 5 пациентов были живы в момент завершения исследования). Напротив, наихудшая общая выживаемость отмечена в группе из 45 (44,6%) пациентов с одновременно неблагоприятными уровнями как sPD-1 $\geq 40,1$ пг/мл, так и sPD-L1 $\geq 14,2$ пг/мл (3-летняя общая выживаемость составила только $49,5 \pm 9,6\%$, медиана срока жизни равнялась 27,6 месяцев).

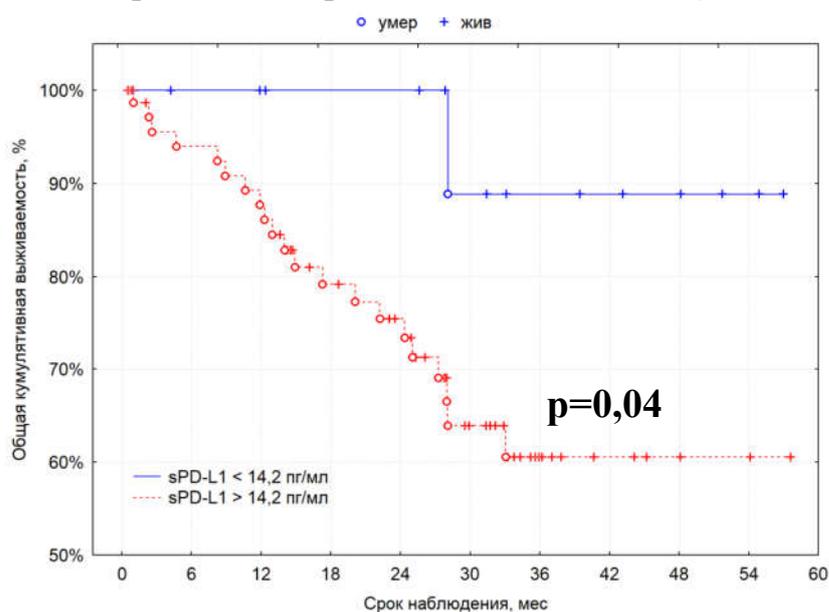


Рисунок 2. Кривые выживаемости в группах больных саркомами костей с низкими ($< 14,2$ пг/мл) и высокими ($\geq 14,2$ пг/мл) концентрациями sPD-L1 в сыворотке крови.

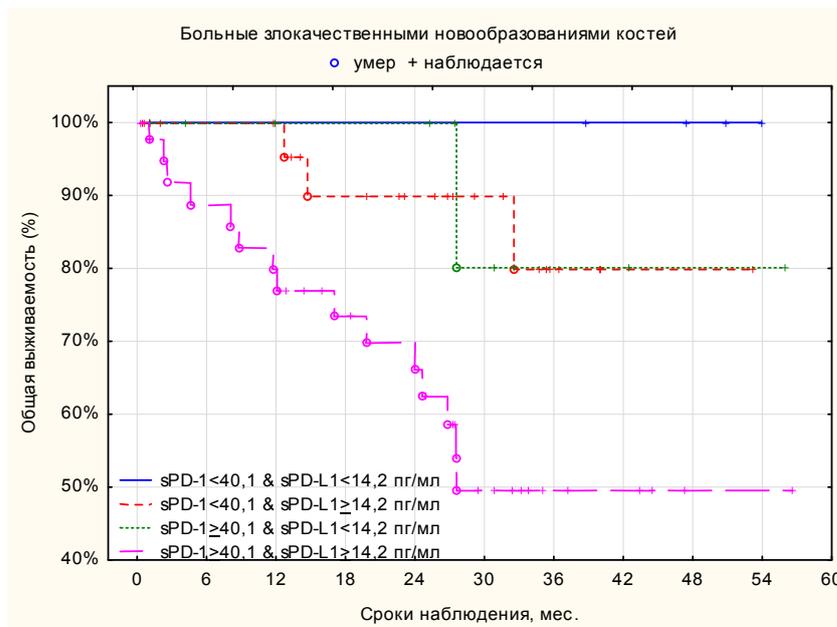


Рисунок 3. Кривые выживаемости в группах больных саркомами костей с одновременно низкими, высокими и разнонаправленными уровнями sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови.

В группе, включавшей 51 (49,5%) больного с разнонаправленными концентрациями маркеров, 3-летняя общая выживаемость была сопоставимой и равной $80,0 \pm 11,2\%$. Различия статистически значимы ($p=0,01$). Таким образом, одновременно высокие концентрации sPD-1 и sPD-L1 следует считать неблагоприятным фактором прогноза жизни больных злокачественными опухолями костей.

ВЫВОДЫ

1. Обнаружено статистически значимо более высокое содержание sPD-L1 в сыворотке крови больных первичными опухолями костей по сравнению со здоровых донорами.
2. Выявлено, что уровни sPD-L1 статистически значимо связаны с наличием новообразования кости (чувствительность 75,9%, специфичность 75,4%), не отражают характер опухолевого процесса и не различаются между больными злокачественными, пограничными и доброкачественными новообразованиями костей.
3. Показано, что концентрации sPD-1 и sPD-L1 не связаны с возрастом больных новообразованиями костей и здоровых доноров, при этом уровни sPD-1 статистически значимо выше у мужчин, чем женщин в общей группе больных опухолями костей, в группе больных злокачественными опухолями костей и типичной хондросаркомой.
4. Выявлено, что концентрации sPD-1 связаны с гистологическим строением опухоли и статистически значимо ниже при хрящеобразующих

(хондросаркома), по сравнению с костеобразующими (остеосаркома) опухолями; наиболее высокие уровни sPD-1 выявлены при пограничной гигантоклеточной опухоли кости.

5. Не установлено связи концентраций sPD-1 и sPD-L1 у больных злокачественными новообразованиями костей с критериями системы TNM, степенью дифференцировки опухоли и типом (трубчатые, плоские) пораженной кости.

6. Выявлены статистически значимо высокие уровни sPD-1 у больных саркомами костей с патологическим переломом кости. Концентрации sPD-L1 не связаны с вышеуказанными осложнениями.

7. Установлено, что уровни рецептора sPD-1 $\geq 40,1$ пг/мл и лиганда sPD-L1 $\geq 14,2$ пг/мл в сыворотке крови до лечения являются независимыми факторами неблагоприятного прогноза общей выживаемости больных саркомами костей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Врачам клинической лабораторной диагностики, онкологам, травматологам и ортопедам, работающим в специализированных онкологических стационарах, рекомендуется:

Использовать определение растворимых форм рецептора sPD-1 и его лиганда sPD-L1 для оценки прогноза общей выживаемости больных саркомами костей, рассматривая концентрации в сыворотке крови до лечения рецептора sPD-1 $\geq 40,1$ пг/мл и лиганда sPD-L1 $\geq 14,2$ пг/мл как маркеры неблагоприятного прогноза течения заболевания.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшее изучение темы является перспективным направлением в диагностике и прогнозе опухолей костей. Наиболее перспективным путем разработки темы является сравнительный анализ сывороточных уровней sPD-L1 и уровня экспрессии PD-L1 в тканях опухоли у пациентов с первичными новообразованиями костей, а также анализ возможностей использования сывороточных уровней sPD-1 и sPD-L1 в качестве критериев при оценке эффективности лекарственной терапии (таргетной терапии, химиотерапии, иммунотерапии) опухолей костей.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) Минобрнауки РФ для опубликования основных результатов диссертационных работ по научной специальности диссертации:

1. Кушлинский, Н.Е. Сравнительный анализ уровней растворимых форм рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 в сыворотке крови больных типичными остеосаркомой и хондросаркомой кости / Н.Е. Кушлинский, А.А. Алферов, И.В. Булычева, Ю.С. Тимофеев, Е.А. Короткова, О.Т. Хван, Ю.Б. Кузьмин, И.Н. Кузнецов, А.В. Бондарев, М.Ю. Щупак, Н.Ю. Соколов, М.М. Ефимова, Е.С. Герштейн, Е.А. Сушенцов, М.Д. Алиев, Э.Р. Мусаев // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Том 65. № 11. С. 669-675.

2. Кушлинский Н.Е., Алферов А.А., Тимофеев Ю.С., Герштейн Е.С., Булычева И.В., Бондарев А.В., Щупак М.Ю., Соколов Н.Ю., Поликарпова С.Б., Ефимова М.М., Дзампаев А.А., Сушенцов Е.А., Алиев М.Д., Мусаев Э.Р. Ключевые компоненты сигнального пути контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 в сыворотке крови при опухолях костей // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020. Том 170. № 7. С. 79-83.

3. Алферов, А.А. Ключевые контрольные точки иммунитета и их ингибиторы в терапии опухолей костей. Часть 1. Сигнальная система белка программируемой клеточной гибели PD-1/PD-L / А.А. Алферов, М.М. Ефимова, Ю.Б. Кузьмин, И.Н. Кузнецов, Е.С. Герштейн, Н.Е. Кушлинский // Технологии живых систем. 2021. Том 18. № 1. С. 5-17.

4. Алферов А.А., Ефимова М.М., Кузьмин Ю.Б., Кузнецов И.Н., Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. Ключевые контрольные точки иммунитета и их ингибиторы в терапии опухолей костей. Часть 2. Дополнительные мишени иммунотерапии опухолей костей и маркеры для оценки ее эффективности / А.А. Алферов, М.М. Ефимова, Ю.Б. Кузьмин, И.Н. Кузнецов, Е.С. Герштейн, Н.Е. Кушлинский // Технологии живых систем. 2021. Том 18. № 1. С. 18-31.

Прочие научные публикации

5. Kushlinskii, N.E. IGF system in bone neoplasms / N.E. Kushlinskii, Yu.S. Timofeev, I.V. Boulytcheva, E.S. Gershtein, I.N. Kuznetsov, Yu.N. Solovyev, M.D. Aliev, E.A. Solovykh, A.A. Alferov // Book of abstracts of 27th Annual Meeting of the European Musculo-Skeletal Oncology Society (EMSOS) (May 21-23, 2014 - Vienna, Austria). 2014. P. 57.

6. Герштейн, Е.С. Рецептор-активатор ядерного транскрипционного фактора NF-κB (RANK), его лиганд (RANKL) и природный ингибитор остеопротегерин (OPG) в сыворотке крови больных опухолями костей / Е.С. Герштейн, Ю.С. Тимофеев, Е.А. Короткова, А.В. Бондарев, И.Н. Кузнецов, М.Ю. Щупак, А.А. Алферов, И.В. Булычева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. № 10. С. 43-48.

7. Bondarev, A.V. IL-16 and VEGF in the blood serum of patients with bone tumors / A.V. Bondarev, Yu.S. Timofeev, M.Yu. Schupak, I.N. Kuznetsov, I.V. Babkina, A.A. Alferov, I.V. Boulytcheva // Proceedings of 21th International Charles Heidelberger Symposium (Moscow, May 25-27, 2016). 2016. P. 43-44.

8. Бабкина, И.В. Клинический анализ сывороточных уровней интерлейкина-16 и фактора роста эндотелия сосудов с учетом морфологических характеристик новообразований и отдаленных результатов лечения больных опухолями костей / И.В. Бабкина, А.А. Алферов, А.В. Бондарев, М.Ю. Щупак, И.Н. Кузнецов, И.В. Булычева, Ю.Н. Соловьев, М.Д. Алиев, Н.Е. Кушлинский // Альманах клинической медицины. 2016. Том 44. № 5 (июнь-июль). С. 606-612.

9. Filipenko, M.L. Study of diagnostic significance of microRNAs in the plasma of patients with osteosarcoma / M.L. Filipenko, A.N. Shirshova, D.A. Shamovskaya, A.A. Alferov, I.V. Boulytcheva, Yu.N. Soloviev, M.D. Aliyev, N.E. Kushlinskii // Abstracts in VI International

Symposium «Interactions of the nervous and immune systems in health and disease» (June 20-23, 2017, Saint Petersburg, Russia). 2017. P. 18-19.

10. Бабкина, И.В. Компоненты лиганд-рецепторной системы RANK/RANKL, интерлейкин-6 и кальцитонин в сыворотке крови при гигантоклеточной опухоли кости / И.В. Бабкина, Е.С. Герштейн, А.А. Алферов, Ю.Н. Соловьев, А.В. Бондарев, М.Ю. Щупак, И.В. Булычева, Н.А. Огнерубов, М.Д. Алиев, Н.Е. Кушлинский // Вестник ТГУ. 2017. Том 22. Вып. 6. С. 1416-1421.

11. Kushlinskii, N.E. Soluble Ligand of the Immune Checkpoint Receptor (sPD-L1) in Blood Serum of Patients with Renal Cell Carcinoma / N.E. Kushlinskii, E.S. Gershtein, A.A. Morozov, I.O. Goryacheva, M.L. Filipenko, A.A. Alferov, S.D. Bezhanova, V.V. Bazaev, I.A. Kazantseva // Bull. Exp. Biol. Med. 2019. Vol. 166. N 3. P. 373-376.

12. Кушлинский, Н.Е. Растворимые формы рецептора контрольной точки иммунитета PD-1 и его лиганда PD-L1 в сыворотке крови больных почечно-клеточным раком: клинико-морфологические корреляции / Н.Е. Кушлинский, Е.С. Герштейн, И.О. Горячева, А.А. Морозов, А.А. Алферов, С.Д. Бежанова, И.А. Казанцева, В.В. Базаев, В.Б. Матвеев // Онкоурология. 2019. Том. 15. № 1. С. 15-22.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДОК – доброкачественные опухоли костей

ЗОК – злокачественные опухоли костей

ОС – остеосаркома

ПОК – пограничные опухоли костей

СЮ – саркома Юинга

ХС – хондросаркома