

На правах рукописи

МАСЛЕННИКОВ

Владимир Валерьевич

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ PD-L1
В ОПУХОЛИ, sPD-1 И sPD-L1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ
БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика
(медицинские науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург - 2024

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

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

Официальные оппоненты:

Новик Алексей Викторович – доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научный отдел онкоиммунологии, старший научный сотрудник;

Великанова Людмила Иосифовна – доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научно-исследовательская лаборатория хроматографии, заведующий.

Ведущая организация:

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

Защита диссертации состоится «18» июня 2024 г. в 15.30 часов на заседании диссертационного совета 04.1.001.01 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 им. А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197345, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте: <https://www.nrcerm.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат медицинских наук доцент

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Одним из значимых направлений научных исследований в области клинической лабораторной диагностики является определение клинической и диагностической значимости биологических маркеров патологических состояний. Особенно актуально решение этой задачи при онкологических заболеваниях в связи с необходимостью прогноза течения заболевания, оценки эффективности терапии и разработки новых патогенетически обоснованных методов лечения.

Наиболее частой опухолью желудочно-кишечного тракта является колоректальный рак (КРР) (Заридзе Д.Г. и соавт., 2018; Барсуков Ю.А., 2019; Ferlay J. et al., 2015; Torre L.A. et al., 2015), который характеризуется агрессивным клиническим течением, низкой чувствительностью к химиотерапии и неблагоприятным прогнозом (Чиссов В.И. и соавт., 2017; Brenner H. et al., 2014).

Этиология и патогенез КРР практически не изучены, поэтому являются актуальной задачей онкологии и лабораторной диагностики (Кушлинский Н.Е. и соавт., 2017; Малихова О.А. и соавт., 2019; Tariq K., Ghias K., 2016; Gao Y. et al., 2019; de Kort S. et al., 2019).

Одним из перспективных направлений исследований в онкологии, в том числе и при КРР, является изучение роли контрольных точек иммунитета (КТИ) (immune checkpoints) (Волков Н.В., 2018; Koshkin V.S., 2016; Mataraza J.M. et al., 2016) и среди них PD-1/PD-L1 (Герштейн Е.С., и соавт., 2020; Cui C. et al., 2019; Wei F., 2019). Основная роль КТИ – регуляция иммунного ответа (Grünwald V., 2016; Lee J.Y. et al., 2016; Schmidinger M. et al., 2018).

Сигнальная система PD-1/PD-L1 обладает одновременно двойственным эффектом на иммунные клетки, с одной стороны – стимулирует апоптоз антиген-специфичных Т-клеток, а с другой – подавляет апоптоз регуляторных, супрессорных Т-клеток (Riella L.V. et al., 2012; Boussiotis V.A., 2016; Drakes M.L. et al., 2018), что использует опухоль для «ускользания» от иммунного ответа и это показано при многих злокачественных новообразованиях (Солопова А.Г. и соавт., 2021; Inaguma S. et al., 2017; Zhu X. et al., 2017; Piętak P. et al., 2018).

Таким образом, выявление возможности использования растворимых форм контрольных точек иммунитета в качестве биомаркеров течения и прогноза заболевания при колоректальном раке представляется актуальной проблемой клинической лабораторной диагностики.

Степень разработанности темы исследования

При КРР связь sPD-1 и sPD-L1 с лечением и основными клинимоρφологическими характеристиками заболевания можно найти в единичных работах, однако результаты их неоднозначны (Lee L.H. et al., 2016; Berntsson J. et al., 2018; Valentini A.M. et al., 2018).

Хотя, достаточно широко применяют моноклональные антитела для подавления взаимодействия PD-1 с его лигандами при лечении КРР (Piętak P. et al., 2018; Pietzner K. et al., 2018). При этом, уровень экспрессии PD-L1 при метастатических формах КРР может служить независимым фактором при

выборе иммунотерапии (Wang H.B. et al., 2017; Cantero-Cid R. et al., 2018; Payandeh Z. et al., 2020). Основной проблемой в клинике остается выбор препарата, выбор эпитопов антител к PD-L1 и нестандартизированный метод ИГХ, а также интерпретация полученных результатов (Lee L.H. et al., 2016; Topalian S.L. et al., 2016).

Однако в работе J. Verntsson et al. (2018) на большой когорте больных КРР показали, что высокая экспрессия PD-L1 на инфильтрирующих опухоль иммунных клетках может служить независимым фактором показателя продолжительной общей выживаемости.

Клинические исследования по исследованию sPD-1 и sPD-L1 при КРР малочисленны, хотя уже имеются фрагментарные данные о роли данных маркеров при опухолях различной локализации. Возможность определения растворимых форм контрольных точек иммунитета в сыворотке крови открывает перспективы более широкого их использования в клинической практике. Исследование sPD-L1 и sPD-1 при КРР требует дальнейшего изучения, особенно в их связи с механизмами иммунных нарушений (Камышов С.В. и соавт., 2018), ангиогенными факторами (Дайджест, 2015), протеолитическими системами (Кондакова, И.В. и соавт., 2017), генетическими нарушениями (Wieser V. et al., 2018), при комбинированной иммунохимиотерапии (Dosset M. et al., 2018; Wahba J. et al., 2018; Payandeh Z. et al., 2020).

Цель исследования

определить клинико-лабораторную значимость содержания растворимых форм sPD-1 и sPD-L1 контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 в сыворотке крови и показателей экспрессии PD-L1 в клетках опухоли и ее стромы у больных колоректальным раком и установить их связь с клиническими и морфологическими характеристиками заболевания.

Задачи исследования

1. Определить содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови группы пациентов с колоректальным раком и проанализировать их частоту выявления и распределения.
2. Провести сравнительный анализ содержания sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных колоректальным раком и доброкачественными новообразованиями толстой кишки до лечения, а также в группе здоровых лиц.
3. Проанализировать ассоциации сывороточных уровней sPD-1 и sPD-L1 у больных колоректальным раком с ключевыми клинико-морфологическими характеристиками опухоли.
4. С помощью иммуногистохимического метода изучить уровни экспрессии PD-L1 в клетках опухоли и окружающей ее строме больных колоректальным раком, показать их связь с уровнями sPD-1, sPD-L1, морфологическими особенностями колоректального рака и прогнозом.
5. Оценить влияние содержания sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови и уровня экспрессии PD-L1 в клетках опухоли и стромы на показатели общей выживаемости больных колоректальным раком.

Научная новизна исследования

Настоящее исследование sPD-1 и sPD-L1 у больных КРР проведено впервые в России.

Показано, у что здоровых людей медианы концентрации sPD-1 и sPD-L1 достоверно выше, чем у больных КРР.

Не выявили различий в концентрациях sPD-1 и sPD-L1 при доброкачественных и злокачественных опухолях толстой кишки.

Обнаружено, что в отличие от sPD-1, концентрации sPD-L1 связаны с полом здоровых и больных КРР и достоверно снижены у женщин по сравнению с мужчинами независимо от характера выявленной опухоли. При этом, выявлена положительная корреляционная связь уровней рецептора и лиганда в сыворотке крови с возрастом больных КРР прямой корреляционной зависимостью.

Исходные концентрации исследованных маркеров не связаны с морфологическим строением опухоли, степенью дифференцировки и ее локализацией в толстой кишке. Однако в отличие от sPD-1 обнаружено статистически значимое повышение медианы sPD-L1 при увеличении критерия T и при наличии метастазов.

Коэффициент sPD-1/sPD-L1 не различался между здоровыми и больными опухолями толстой кишки всех групп. Однако выявлено статистически значимое снижение медианы коэффициента соотношения PD-1/PD-L1 с уменьшением степени дифференцировки КРР.

При КРР выявлена прямая корреляционная ассоциация между концентрациями sPD-1 и sPD-L1, которая ослабевала до незначимой величины при G-3, T4, N2, M1. В группе больных доброкачественными опухолями толстой кишки такая зависимость отсутствовала.

Иммуногистохимический анализ выявил экспрессию PD-L1 в 26% клеток опухоли больных КРР, уровни которой ассоциировали только со стадией новообразования. Высокая степень экспрессии PD-L1 в клетках стромы КРР обнаружена в 29% образцов, низкая - в 35% и не коррелировала с основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания, за исключением стадии опухолевого процесса.

Не обнаружили ассоциации сывороточных показателей sPD-1, sPD-L1 с уровнями экспрессии PD-L1 в клетках опухоли и стромы больных КРР.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные нами результаты свидетельствуют о важной роли лабораторных биохимических маркеров sPD-1, sPD-L1 в прогрессии КРР.

Изученные биомаркеры sPD-1 и sPD-L1 не могут быть использованы в качестве факторов оценки характера выявленного новообразования толстой кишки.

Анализ уровней сывороточных sPD-1 и sPD-L1 с клиническими и морфологическими характеристиками опухолей толстой кишки позволяет сделать заключение о связи sPD-L1 с агрессивным биологическим потенциалом КРР, а именно, с основными критериями распространенности опухолевого процесса согласно международной системе TNM и отдаленными результатами лечения.

Выделили группу больных КРР высокого риска с сывороточными уровнями sPD-L1 \Rightarrow 9,6 пг/мл, которые имеют крайне неблагоприятный прогноз выживаемости и нуждаются после хирургического удаления опухоли в адьювантной лекарственной терапии с последующим пристальным наблюдением.

Практическое значение полученных нами результатов определяется возможностью оптимизации процесса диагностики и терапии при опухолях толстой кишки на основе данных по содержанию растворимых форм рецептора PD-1 и его лиганда в крови больных, а также открытием перспектив новых направлений в клинической лабораторной диагностике.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационной работы является комплексное изучение растворимых форм ключевых компонентов (sPD-1 и sPD-L1) контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 в сыворотке крови здоровых людей, больных доброкачественными и злокачественными новообразованиями толстой кишки, а также уровней экспрессии PD-L1 в клетках опухоли и окружающей ее строме больных КРР с использованием современных высокочувствительных тест-систем, ИГХ метода, лабораторного оборудования и программ статистической обработки результатов исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Для пациентов с опухолями толстой кишки независимо от степени злокачественности характерно снижение содержания растворимых форм рецептора PD-1 и его лиганда - PD-L1 в сыворотке крови по сравнению с лицами контрольной группы. Уровни sPD-L1 зависят от пола и возраста пациентов и лиц контрольной группы.
2. Уровни контрольных точек иммунитета - sPD-1 и sPD-L1 не обладают значимостью в качестве маркеров оценки характера выявленной опухоли, но являются значимыми и независимыми факторами прогноза у больных злокачественными опухолями толстой кишки.
3. Уровни экспрессии PD-L1 в клетках опухоли ассоциированы со стадией новообразования. Высокая инфильтрация PD-L1+ клеток стромы опухоли не коррелирует с основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания. Уровни растворимых форм PD-1 и PD-L1 в сыворотке крови не связаны с уровнями экспрессии PD-L1 в первичной опухоли больных колоректальным раком.

Степень достоверности результатов

Достоверность данных, полученных в результате диссертационной работы, подтверждается большим объемом исследований на группе больных с опухолями толстой кишки – 145 человек и группе здоровых лиц. В работе использованы современные лабораторные методы исследования, обладающие приемлемыми аналитическими характеристиками. В процессе выполнения работы соблюдались принципы научной этики. Анализ результатов исследования был проведен с использованием адекватных поставленным задачам статистических методов, а интерпретация полученных данных обоснована анализом данных 172 источников отечественной и зарубежной

литературы. Выводы и практические рекомендации соответствуют поставленным задачам и цели исследования.

Апробация работы

Материалы диссертации представлены на: VII Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2021 г.); IV Всероссийской конференции: «Опухолевые маркеры: фундаментальные и клинические исследования (Республика Алтай, Майминский район, с. Майма, 2-6 августа 2022 г.); V Всероссийской конференции «Опухолевые маркеры»: молекулярно-генетические и клинические аспекты (Республика Алтай, Майминский район, с. Майма, 26-29 июля 2023 г.).

Внедрение результатов работы в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику лаборатории клиничко-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. 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».

Личный вклад автора

Автором самостоятельно выполнены все этапы диссертационной работы: провел анализ современной литературы по изучаемой проблеме, лично участвовал в заборе материала и проведении лабораторных исследований у больных первичными новообразованиями толстой кишки, осуществлял статистическую обработку, анализ и интерпретацию материалов, сформулировал выводы и практические рекомендации, оформил диссертационную работу.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 7 печатных работ, 3 из них в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки).

Структура и объем диссертации

По структуре диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследований», главы «Результатов собственных исследований», обсуждения полученных результатов, выводов практических рекомендаций и указателя цитируемой литературы. Объем диссертации – 123 листов машинописного текста, включает 20 таблиц и 32 рисунка. Указатель литературы содержит 226 источников, из них 41 работа отечественных и 185 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Характеристика обследованных больных новообразованиями толстой кишки и здоровых доноров.

В исследование включено 160 больных опухолями толстой кишки (из них 15 с доброкачественными новообразованиями (в 60% преобладала тубулярная аденома) и 145 с колоректальным раком – КРР; все опухоли представлены аденокарциномой) в возрасте от 27 до 85 лет и 52 практически здоровых донора (25 мужчин и 27 женщин), составивших группу контроля в возрасте от 19 до 82 лет.

Преобладали пациенты с опухолями прямой кишки (n=70/43,8%) и сигмовидной кишки (n=39/24,4%). В группе доброкачественных опухолей у 6 пациентов опухоль локализовалась в сигмовидной кишке, у 5 – в прямой кишке, у 2 – в поперечном отделе ободочной кишки, по 1 наблюдению опухоль локализовалась в селезеночном изгибе и восходящем отделе ободочной кишки.

На рисунке 1 представлено распределение больных КРР с учетом критериев системы TNM. Преобладали пациенты с распространенностью T3 (57,9%). У 62 (42,8%) больных выявлены метастазы в регионарных лимфоузлах, у 23 (15,9%) обнаружены отдаленные метастазы (рисунок 1).

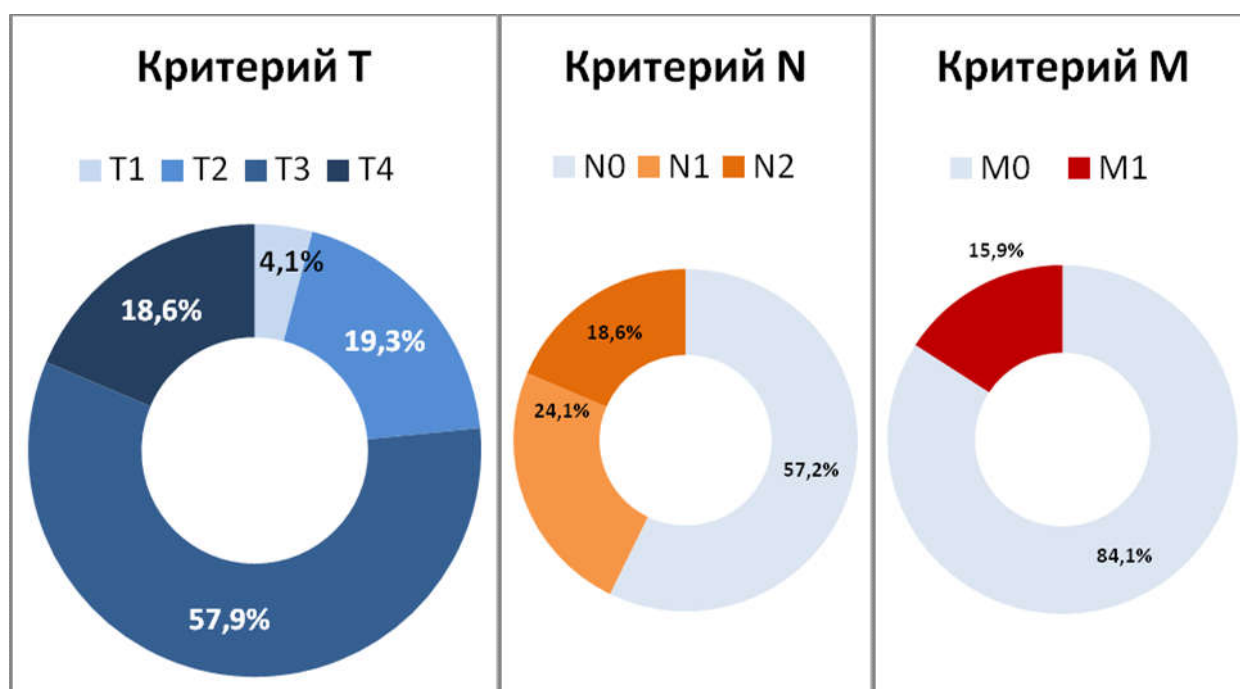


Рисунок 1. Распределение больных колоректальным раком по критериям системы TNM.

При этом только у 6 больных КРР выявлено наиболее благоприятное сочетание критериев T1N0M0 (4,1%). Преобладали пациенты с T3N0M0 (n=44/30,3%) и T2N0M0 (n=23/15,9%).

Отдаленные метастазы чаще локализовались в печени – 19 из 23 наблюдений (82,6%), еще у двух пациентов метастазы были выявлены одновременно в печени и легких, еще у двух – только в легких.

Преобладали больные КРР с умеренной степенью дифференцировки G-2 новообразования (74,5%).

Лечение. У 114 больных КРР выполнено хирургическое удаление опухоли, 32 пациентам провели химиотерапию, 1 больному – лучевое лечение. Неоадьювантную химиотерапию получали 32 больных КРР.

У всех 15 больных доброкачественными новообразованиями толстой кишки выполнено хирургическое удаление опухоли.

Специальные лабораторные методы исследования.

Концентрации sPD-1 и sPD-L1 определяли в образцах сыворотки крови здоровых доноров (группа контроля), больных доброкачественными и злокачественными опухолями толстой кишки до начала лечения.

Концентрацию sPD-L1 и sPD-1 определяли в сыворотке крови, полученной по стандартной методике с помощью стандартных наборов для прямого иммуноферментного анализа «Human PD-L1 Platinum ELISA» и «Human PD-1 ELISA kit» (Affimetrix, eBioscience, США). Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Измеряли оптическую плотность при 450 нм с коррекцией при 620 нм. Содержание маркеров выражали в пикограммах (пг) на 1 мл сыворотки крови.

Оценку уровня экспрессии PD-L1 в опухолях проводили методом иммуногистохимии (ИГХ) по стандартной методике с использованием антител к PD-L1 (клон 4E12; Р-Фарм, Россия). Экспрессию PD-L1 оценивали в опухолевых клетках и окружающей строме. В зависимости от экспрессии PD-L1 в опухолевых клетках образцы разделены на 2 группы: с наличием и отсутствием экспрессии. При оценке стромы образцы опухолей разделили на 3 группы с учетом количества PD-L1+ клеток: 0 – отсутствие PD-L1+ клеток, 1 – низкое содержание PD-L1+ клеток, 2 – высокое содержание PD-L1+ клеток.

Статистические методы анализа.

При анализе полученных результатов применяли однофакторный и многофакторный дисперсионный анализы (Мамаев А.Н. и соавт., 2021). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень статистической значимости $p < 0,05$. Средние выборочные значения количественных признаков приведены в тексте в виде: нижний квартиль (25% выборки) – медиана – верхний квартиль (75% выборки). Статистическую значимость различий 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. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Для расчетов и оформления работы использовали персональный компьютер с операционной системой Windows 7 и прикладными программными пакетами Statistica 7.0, MS Office XP: MS Word и MS Excel.

Результаты собственных исследований

Концентрации sPD-1 и sPD-L1 изучали в 3 группах – в контроле, у больных доброкачественными опухолями толстой кишки и в группе больных колоректальным раком, данные представлены в таблице 1.

Концентрации sPD-1 в сыворотке крови общей группы больных КРР колебались в широких пределах от 9,5 до 287 пг/мл. Так, у 9/6,2% больных выявлены значения sPD-1 менее 20 пг/мл. Наиболее часто выявляли значения маркера в диапазоне от 20 до 40 пг/мл – у 67/46,2%, и в диапазоне от 40 до 60 пг/мл – у 51/35,2% пациентов. Показатели белка от 60 до 80 пг/мл обнаружены у 12/8,3%, а значения маркера более 80 пг/мл выявлены у 6/4,1% пациентов. Показатель оценивали непараметрическими критериями.

Содержание sPD-L1 в сыворотке крови больных КРР колебались в пределах от 1,9 до 32,8 пг/мл. При этом, у 18/12,4% больных колоректальным раком выявлены значения sPD-L1 менее 5 пг/мл, наиболее часто выявляли значения в диапазоне от 5 до 10 пг/мл – у 79/54,5%, и в диапазоне от 10 до 15 пг/мл – у 37/25, 5%, показатели лиганда от 15 и более пг/мл обнаружены у 11/7,6%. Показатель оценивали непараметрическими критериями.

Таблица 1. Содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови здоровых доноров, больных доброкачественными опухолями толстой кишки и колоректальным раком

Группа	N	sPD-L1, пг/мл		sPD-1, пг/мл	
		Пределы; 95% ДИ	Медиана; квартили	Пределы; 95% ДИ	Медиана; квартили
Контроль ⁰	52	0,28-56,6; 10,1-15,7	9,2; 6,7-17,4	11,4-138; 47,7-60,2	51,9; 39,1-61,9
Опухоли толстой кишки (общая группа) ¹	160	0,3-32,8; 4,3-17,4	8,3; 6,4-10,4	9,5-287; 19,0-91,7	37,0; 29,7-51,0
Mann-Whitney U test		p0vs1=0,023		p0vs1=0,00006	
Доброкачественные новообразования толстой кишки ¹¹	15	0,3-12,0; 0,3-11,9	8,1; 6,3-9,7	19,0-58,3 18,9-55,0	32,8; 27,9-46,9
Колоректальный рак ¹²	145	1,9-32,8; 4,4-17,8	8,3; 6,4-10,4	9,5-287; 19,1-86,5	38,0; 29,9-51,6
P		Kruskal-Wallis p=0,28; p0vs11=0,1 M-W; p0vs12=0,03 M-W; p11vs12>0,05 M-W		Kruskal-Wallis p=0,0015; p0vs11=0,0005 M-W; p0vs12=0,00019 M-W; p11vs12>0,05 M-W	

Как следует из данных таблицы 1, медиана концентрации sPD-L1 в группе контроля была статистически значимо выше, чем в общей группе больных опухолями толстой кишки (9,9 и 8,3 пг/мл соответственно; p=0,023), как и sPD-1 (51,3 и 37,0 пг/мл соответственно; p=0,00006). При этом не установлено достоверных различий в уровнях обоих белков (sPD-1, sPD-L1) у больных

доброкачественными новообразованиями толстой кишки и КРР ($p>0,05$), однако каждый из маркеров в группе доброкачественных опухолей толстой кишки и КРР статистически значимо отличался от контроля.

В то же время нами не найдены пороговые значения для обоих белков, разделяющих здоровых доноров и больных опухолями толстой кишки с приемлемой точностью. Таким образом, изучаемые белки sPD-1 и sPD-L1 не обладают диагностической ценностью при новообразованиях толстой кишки.

Рассчитанное нами соотношение sPD-1/sPD-L1 не различалось статистически значимо в группе контроля и больных доброкачественными и злокачественными новообразованиями толстой кишки (медианы равнялись 4,2; 3,3-6,0 – в контроле; 4,2; 3,2-4,9 – у больных доброкачественными опухолями толстой кишки и 4,8; 3,6-6,5 – у больных КРР).

Провели анализ сывороточных уровней sPD-1, sPD-L1 у здоровых доноров и больных опухолями толстой кишки с учетом их пола и возраста. Концентрации sPD-L1 в сыворотке крови обследованных женщин ниже, как в группе контроля, так и в группах пациенток с опухолями толстой кишки независимо от характера выявленного новообразования (статистически значимо только в общей группе и группе КРР) (рисунок 2).

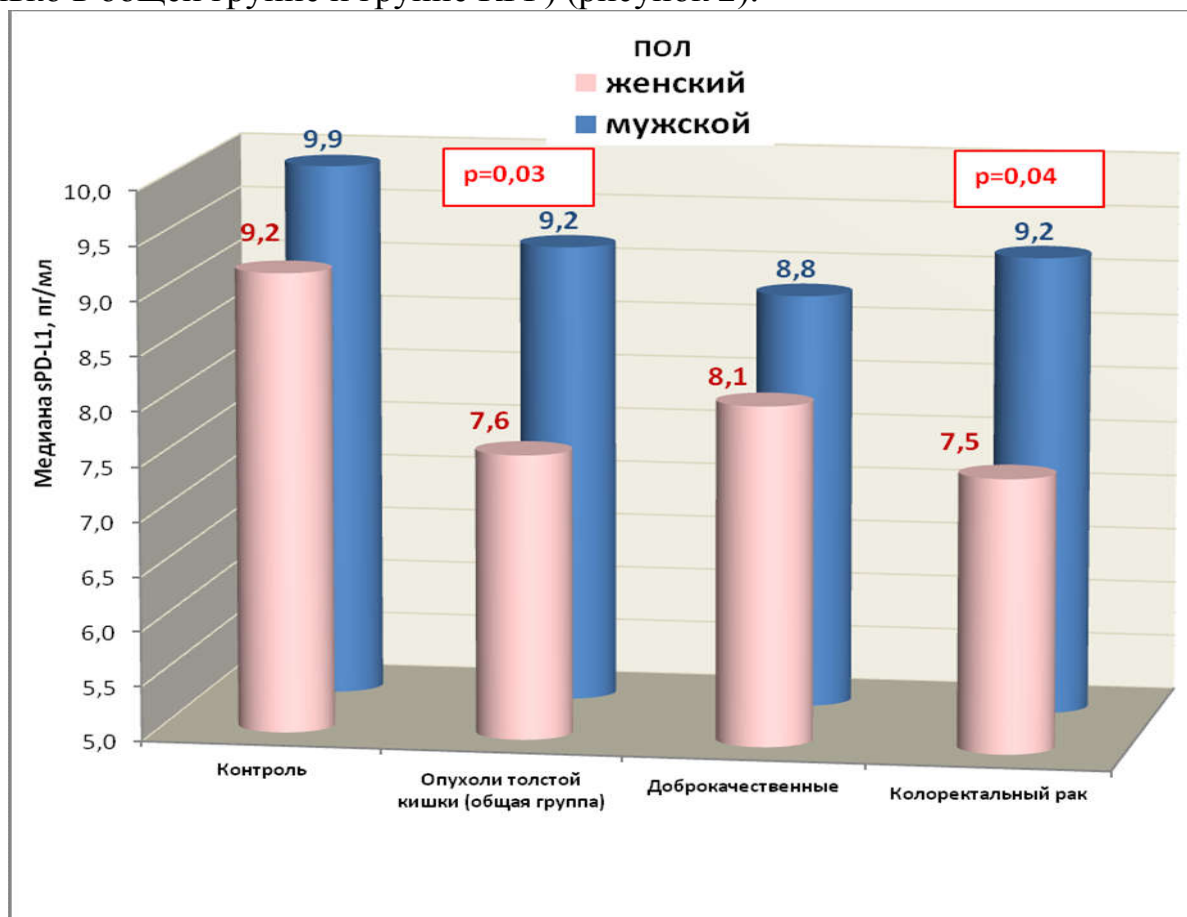


Рисунок 2. Медианы содержания sPD-L1 в сыворотке крови обследованных здоровых доноров и больных опухолями толстой кишки разных групп в зависимости от их пола.

Также следует отметить, что в группе обследованных мужчин различия медиан sPD-1 в контроле и у больных опухолями толстой кишки были более

выраженными (медианы различались в 1,4 раза, $p=0,27$), чем в группе обследованных женщин - только в 1,3 раза, $p=0,02$).

При этом в группе обследованных мужчин чувствительность порогового значения sPD-L1 <10 пг/мл (верхняя квартиль в контроле) равнялась 59,0% (49 из 83) при специфичности 66,7% (8 из 12), то есть также была недостаточной. В группе обследованных женщин чувствительность и специфичность этого теста равнялись 79,2% и 33,3%, то есть 2/3 женщин контрольной группы могут быть ошибочно приняты за больных опухолями толстой кишки.

Такую же закономерность наблюдали и для концентраций sPD-1, однако различия не были статистически значимыми.

Рассчитали корреляционную зависимость между концентрациями sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови доноров группы контроля, больных доброкачественными опухолями и КРР с их возрастом. Так, концентрации sPD-1 и sPD-L1 связаны с возрастом обследованных слабой прямой корреляционной зависимостью.

Рассчитали концентрации изучаемых маркеров в сыворотке крови обследованных групп с учетом их возраста. Дисперсионным анализом выявлена тенденция к повышению концентраций sPD-L1 в сыворотке крови с увеличением возраста обследованных здоровых доноров, больных КРР и доброкачественными новообразованиями толстой кишки. Концентрации sPD-1 в сыворотке крови больных опухолями толстой кишки независимо от характера опухоли также незначимо повышались при увеличении возраста пациентов.

Так, в группе контроля медиана sPD-L1 у больных в возрасте до 30 лет и 30-39 лет равнялась 9,0 и 15,0 пг/мл соответственно, в группе больных КРР 30-39 лет и у пациентов от 80 лет и более составила 7,1 и 9,4 пг/мл соответственно.

Рассчитали корреляционные зависимости между концентрациями изучаемых маркеров и размером первичной опухоли толстой кишки: наименьшим, и наибольшим (таблица 2). Зависимости между выше указанными показателями были положительными, но слабыми.

Таблица 2. Корреляционные зависимости между сывороточными уровнями sPD-1, sPD-L1 минимальным и наибольшим размером опухоли толстой кишки

Показатели	N	r Spearman
sPD-L1 & наименьший размер опухоли (см)	41	0,32; $p=0,04$
sPD-L1 & наибольший размер опухоли (см)	56	0,31; $p=0,02$
sPD-1 & наименьший размер опухоли (см)	41	0,21; $p=0,20$
sPD-1 & наибольший размер опухоли (см)	56	0,21; $p=0,12$

Следует указать, что только в группе больных КРР мужчин обнаружена статистически значимая связь между уровнями sPD-L1 в сыворотке крови с минимальным и максимальным размером опухоли: для sPD-L1 и наименьшим размером опухоли ($r_s=0,44$; $p=0,04$); для sPD-L1 и наибольшим размером опухоли ($r_s=0,46$; $p=0,007$). В группе больных КРР женщин указанные связи были слабыми и незначимыми и равнялись соответственно (при наименьшем размере опухоли - $r_s=0,28$; $p>0,05$) и (при наибольшем размере опухоли - $r_s=0,16$; $p>0,05$).

Содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных злокачественными и доброкачественными опухолями толстой кишки с учетом клинико-морфологических характеристик опухоли.

Рассчитали концентрации sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови больных опухолями толстой кишки в зависимости от их гистологического строения; данные представлены в таблице 3. Статистически значимых различий между группами не выявили.

Провели анализ концентраций sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови больных аденокарциномой толстой кишки в зависимости от ее анатомической локализации в пораженном органе. Статистически значимых различий между группами также не выявили. Наименьшие концентрации sPD-L1 выявлены у 7 больных с локализацией опухоли в ректосигмоидном отделе толстой кишки (медиана 4,9 пг/мл), а наибольшие – у 15 больных с локализацией опухоли в восходящем отделе ободочной кишки (медиана 9,9 пг/мл). Медиана концентрации sPD-1 у 4 больных с локализацией опухоли в поперечном отделе ободочной кишки составила 28,8 пг/мл, а у 5 больных с локализацией опухоли в области селезеночного изгиба ободочной кишки - 61,9 пг/мл.

Таблица 3. Содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных опухолями толстой кишки с учетом их гистологического строения

Гистологический вариант	N	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл
		Медиана; квартили	Медиана; квартили
Тубулярная аденома	9	8,6; 8,1-9,7	32,2; 29,0-46,9
Зубчатая аденома	1	0,3*	58,3*
Тубуло-ворсинчатая аденома	5	7,7; 6,7-8,8	32,8; 27,9-33,4
Аденокарцинома	145	8,3; 6,4-10,4	38,0; 30,0-51,3
P		>0,05	>0,05

Примечание: *- абсолютное значение.

Провели анализ концентраций sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови больных аденокарциномой толстой кишки в зависимости от ее анатомической локализации в пораженном органе. Статистически значимых различий между группами также не выявили. Наименьшие концентрации sPD-L1 выявлены у 7 больных с локализацией опухоли в ректосигмоидном отделе толстой кишки (медиана 4,9 пг/мл), а наибольшие – у 15 больных с локализацией опухоли в восходящем отделе ободочной кишки (медиана 9,9 пг/мл). Медиана концентрации sPD-1 у 4 больных с локализацией опухоли в поперечном отделе ободочной кишки составила 28,8 пг/мл, а у 5 больных с локализацией опухоли в области селезеночного изгиба ободочной кишки - 61,9 пг/мл.

Содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных колоректальным раком в зависимости от клинико-морфологических характеристик заболевания.

Рассчитали концентрации sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови больных КРР с учетом критериев системы TNM. Концентрации sPD-L1 у больных КРР статистически значимо отражали критерий T (p=0,022). Так, медианы показателя при распространенности T1 равнялись 7,1 пг/мл, повышались при

распространенности T3 до 8,1 пг/мл и были наибольшими при распространенности T4 (9,7 пг/мл). Аналогичная тенденция в показателях sPD-L1 в сыворотке крови выявлена и при обнаружении метастазов в регионарных лимфоузлах: при N0 - 7,6 пг/мл (n=83), при N1 - 9,2 пг/мл (n=35), при N2 - 9,3 пг/мл (n=27) (p=0,11). Такая же закономерность выявлена и при обнаружении отдаленных метастазов КРР. Уровни sPD-L1 в сыворотке крови больных КРР составили 8,1 пг/мл - при отсутствии отдаленных метастазов (n=122, M0) и 9,4 пг/мл - при их выявлении (n=23, M1) (p=0,19). При сопоставлении концентраций sPD-L1 в сыворотке крови больных без метастазов (n=76) и с таковыми (n=69) выявлено статистически значимое различие (7,5 пг/мл против 9,4 пг/мл соответственно; p=0,011). Следует отметить, что в группе из 9 больных КРР с наименьшей распространенностью опухолевого процесса T1-T2N0M0 выявлена наиболее низкая медиана концентрации лиганда sPD-L1 (7,1 пг/мл), а наибольшая медиана концентрации маркера обнаружены в многочисленной группе (n=72) пациентов с большими размерами опухоли (T4), либо с наличием метастазов в регионарных лимфоузлах (N1-N2), либо с наличием метастазов в отдаленных органах.

Таким образом, высокие концентрации sPD-L1 в сыворотке крови больных КРР свидетельствуют о распространенности опухолевого процесса и, стало быть, их следует считать неблагоприятными показателями.

Анализ связи концентраций sPD-1 у больных КРР с показателями распространенности опухолевого процесса согласно критериям системы TNM не показал значимых различий, однако отмечена только тенденция к большим значениям маркера при выявлении метастазов в регионарных лимфоузлах. Так, медиана концентрации sPD-1 в сыворотке крови пациентов составила 35,5 пг/мл – при N0 против 44,2 и 43,2 пг/мл, соответственно при N1 и N2 (p=0,1). Представленные нами данные свидетельствуют о том, что уровни sPD-1 в сыворотке крови больных КРР не отражали критерии T и M системы TNM.

Рассчитали концентрации sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови больных КРР в зависимости от клинической стадии заболевания. Анализ результатов обнаружил постепенное повышение уровней sPD-L1 при I стадии с 7,1 пг/мл до 10,9 пг/мл – при IV стадии (p=0,1). Нами не выявлено связи концентраций sPD-1 в сыворотке крови больных КРР со стадией заболевания. У больных КРР с IIIa и IVa стадиями обнаружены наиболее низкие уровни sPD-L1 в сыворотке крови (соответственно 7,0 и 6,4 пг/мл). Тогда как при большей распространенности опухолевого процесса с наличием метастазов концентрации маркера заметно увеличивались. В то же время концентрации sPD-1 были наибольшими в группе больных КРР с IIIb и IIIc стадиями, но вновь снижались у пациентов с IV стадией.

Не обнаружено статистически значимой зависимости исходных концентраций изучаемых маркеров со степенью дифференцировки рака толстой кишки. В то же время обнаружено статистически значимое снижение медианы коэффициента соотношения маркеров sPD-1/sPD-L1 с 5,6 (4,7-7,5) в группе из 29 пациентов со степенью дифференцировки первичной опухоли G-1 до значения с 4,5 (3,4-5,9) в группе из 108 пациентов с G-2, а также в группе из 8 пациентов с G-3 до 4,4 (2,8-5,3) (p=0,013). Следовательно, при снижении

степени дифференцировки аденокарциномы толстой кишки отмечается постепенное повышение концентрации рецептора sPD-1 и снижение уровня лиганда sPD-L1, что отражается на показателях коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1.

Провели анализ корреляционной зависимости между концентрациями sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови обследованных нами групп: здоровых доноров, больных доброкачественными опухолями и КРР. В группе контроля выявлена слабая положительная зависимость между концентрациями изученных маркеров sPD-1 и sPD-L1 ($r_s=0,35$; $p=0,07$). В группе больных доброкачественными опухолями толстой кишки не выявлено корреляционной зависимости между уровнями sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови. В группе больных КРР обнаружена прямая статистически значимая корреляционная зависимость между уровнями sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови. Особенностью данной связи является заметное ее ослабление по мере снижения степени дифференцировки опухоли со значения ($r_s=0,58$; $p=0,001$) до незначимого уровня ($r_s=0,14$; $p>0,05$). Корреляционная зависимость между уровнями sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови отсутствовала в группе больных КРР в возрасте до 50 лет. Кроме того, эта корреляционная зависимость между маркерами sPD-1 и sPD-L1 заметно ослабевала при критериях T4 и N2 (системы TNM), а также была незначимой при критерии M1. Анализ полученных нами результатов у больных при прогрессировании КРР показал, что корреляционная связь между уровнями сывороточных sPD-1 и sPD-L1 ослабевает до незначимой величины.

Отдаленные результаты лечения больных колоректальным раком.

Провели анализ общей выживаемости у 103 больных КРР с учетом исходных уровней sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови. Данные представлены на рисунках 3 и 4.

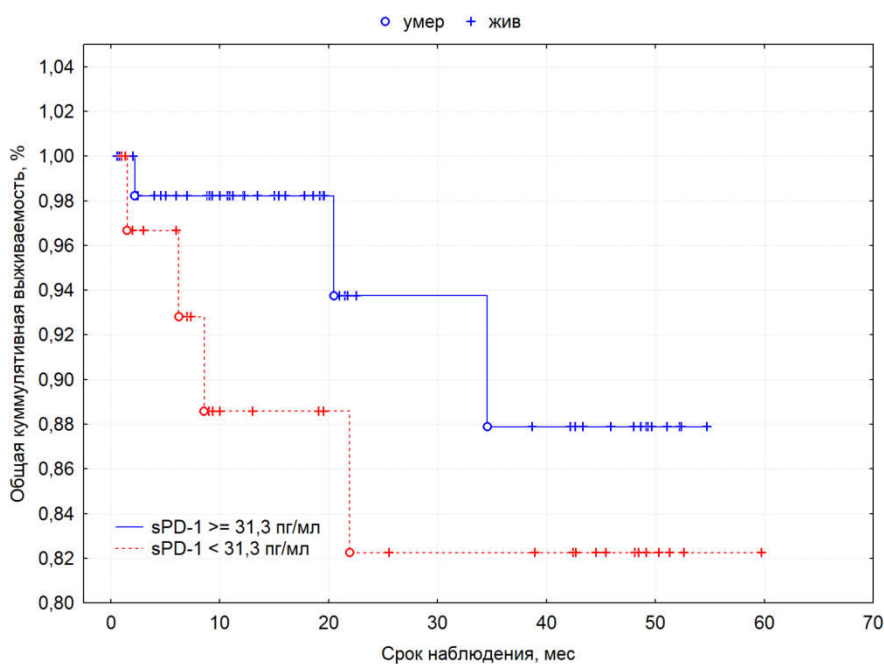


Рисунок 3. Общая выживаемость больных колоректальным раком с учетом порогового уровня sPD-1 (31,3 нг/мл) в сыворотке крови (различия $p=0,24$).

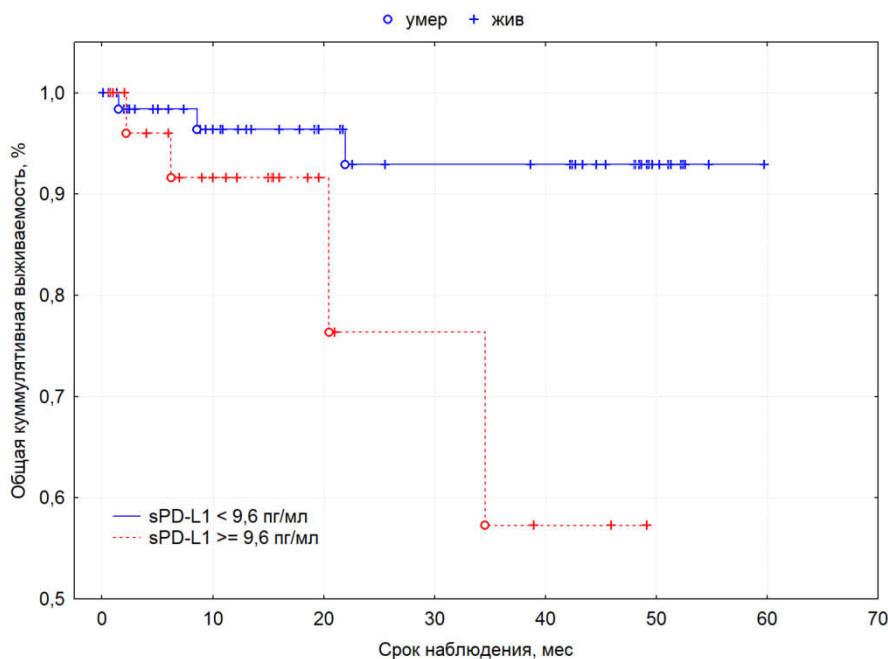


Рисунок 4. Общая выживаемость больных колоректальным раком с учетом порогового уровня sPD-L1 (9,6 пг/мл) в сыворотке крови (различия $p < 0,05$).

Нами не выявлено статистически значимой зависимости показателей общей выживаемости больных КРР при учете исходного порогового уровня растворимой формы рецептора программируемой гибели клеток sPD-1 ($< 31,3$ пг/мл и $\geq 31,3$ пг/мл; $p > 0,24$) в сыворотке крови обследованных пациентов (рисунок 3). В то же время у больных КРР при пороговом уровне концентрации лиганда sPD-L1 в сыворотке крови $\geq 9,6$ пг/мл отмечено статистически значимое снижение показателей общей выживаемости по сравнению с пациентами, у которых выявлены концентрации sPD-L1 $< 9,6$ пг/мл ($p < 0,05$). Данные этого вывода представлены на рисунке 4.

Иммуногистохимический анализ экспрессии PD-L1 в опухоли и строме больных колоректальным раком.

Данный раздел работы посвящен иммуногистохимическому исследованию экспрессии PD-L1 в клетках опухоли и микроокружении (строме) опухоли у больных аденокарциномой толстой кишки.

Обнаружено, что в опухолевых клетках PD-L1 экспрессируется в 26% случаев (22 из 85). Экспрессию PD-L1 в микроокружении (в стромальных клетках) опухоли наблюдали в 64,7% образцов (55 из 85). Следует отметить, что данные образцы отличались по содержанию PD-L1+ клеток в строме: 35,3% образцов (30 из 85) составили группу с низкой экспрессией PD-L1+ на клетках стромы и 29,4% образцов (25 из 85) составили группу с высокой экспрессией PD-L1+ на клетках стромы. Показано, что 35,3% образцов (30 из 85) не содержали PD-L1+ клеток в опухолевой строме.

Провели анализ ассоциации уровней экспрессии PD-L1 в опухолях больных КРР с учетом основных клинических и морфологических характеристик заболевания. Результаты представлены в таблице 6. Нами выявлено, что только содержание PD-L1+ клеток в строме опухоли ассоциировалось со стадией КРР. На начальных I-II стадиях заболевания чаще

наблюдали высокую инфильтрацию стромы опухоли PD-L1+ клетками по сравнению с поздними III-IV стадиями.

Корреляционные связи между растворимыми формами sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови больных колоректальным раком и экспрессией PD-L1 в клетках опухоли и строме.

Провели корреляционный анализ экспрессии исследуемых белков sPD-1 и sPD-L1 с помощью определения коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Результаты представлены в таблице 4. Как следует из представленных данных на рисунке 5, концентрации растворимых форм исследованных нами маркеров в сыворотке крови (sPD-1 и sPD-L1) статистически значимо коррелировали между собой ($r=0,34$; $p=0,001$).

Таблица 4. Ассоциация уровня экспрессии PD-L1 в клетках опухоли и строме опухоли больных колоректальным раком с учетом клиничко-морфологических характеристик заболевания

Факторы	PD-L1 (опухоль)			PD-L1 (stroma)		
	низкий	высокий	P	низкий	высокий	P
Возраст						
≤60	24	6	0,44	12	18	0,63
>60	39	16		18	37	
Пол						
мужской	34	12	>0,99	16	30	>0,99
женский	29	10		14	25	
Стадия						
I-II	41	16	0,66	16	41	<0,05
III-IV	22	6		14	14	
Критерий T						
T1-T2	8	19	0,60	8	19	0,63
T3-T4	14	44		22	36	
Критерий N						
No	44	18	0,40	19	43	0,20
N+	19	4		11	12	
Критерий M						
Mo	55	18	0,49	23	50	0,10
M+	8	4		7	5	
Степень дифференцировки опухоли						
G-1	15	6	0,78	19	43	0,20
G-2-3	48	16		11	12	
Локализация опухоли:						
прямая кишка	23	8	>0,99	10	21	0,81
ободочная кишка	40	14		20	34	

Корреляционных зависимостей между концентрациями sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови больных КРР и уровнями экспрессии маркера PD-L1 в первичной опухоли нами не было выявлено. Полученные данные указывают на необходимость дополнительных исследований с целью определения их клинической роли у данной категории пациентов.

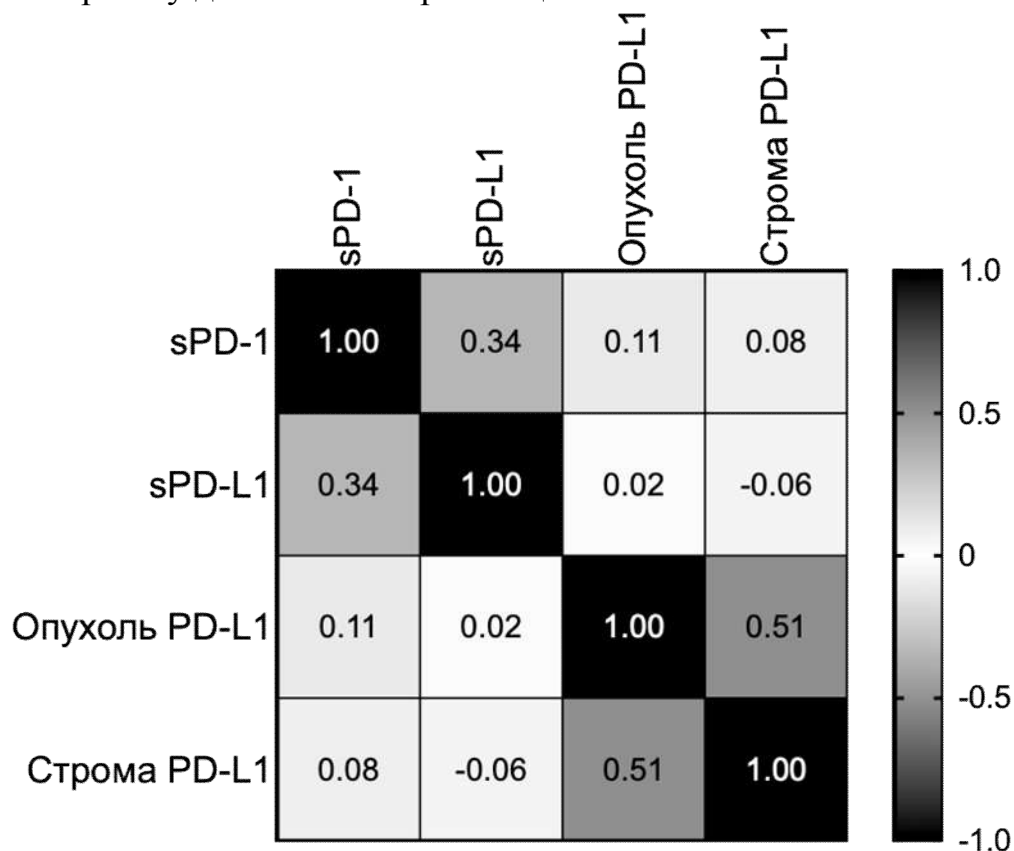


Рисунок 5. Корреляционный анализ экспрессии sPD-1 и sPD-L1 в опухоли и строме у больных колоректальным раком с помощью определения коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Таким образом, данные иммуногистохимического исследования экспрессии PD-L1 в клетках опухоли и стромы у больных КРР, а также корреляционный анализ между концентрациями sPD-1, sPD-L1 в сыворотке крови и уровнями экспрессии PD-L1 в первичной опухоли и ее строме выявил определенные закономерности.

Прежде всего, следует отметить, что экспрессия PD-L1 клетками аденокарциномы толстой кишки выявлена только в 26% наблюдений (22 из 85 опухолей). В тоже время экспрессия PD-L1+ клеток обнаружена в микроокружении (в стромальных клетках) КРР в 64,7% образцов (55 из 85 образцов опухоли). При этом отмечена разная способность аденокарцином толстой кишки экспрессировать PD-L1 клетками стромы. Обнаружено, что 35,3% образцов (30 из 85) составили группу с низкой экспрессией PD-L1+ на клетках стромы, 29,4% образцов (25 из 85) составили группу с высокой экспрессией PD-L1+ клетками стромы и 35,3% образцов (30 из 85) не содержали PD-L1+ клеток в опухолевом микроокружении.

Кроме того, нами не обнаружено связи между уровнями экспрессии PD-L1 в клетках опухоли и концентрациями sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных КРР и клинико-морфологическими характеристиками заболевания. Исключение составила только выявленная нами связь экспрессии PD-L1+ клеток в строме опухоли со стадией КРР. При начальных I-II стадиях КРР чаще наблюдали высокую экспрессию PD-L1 в клетках стромы опухоли по сравнению с поздними III-IV стадиями.

ВЫВОДЫ

1. Концентрации sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови здоровых людей достоверно выше, по сравнению с больными колоректальным раком и не отличались при доброкачественных и злокачественных опухолях толстой кишки.

2. Выявлено, что концентрации sPD-L1 были достоверно ниже у женщин, по сравнению с мужчинами, как в контроле, так и у больных новообразованиями толстой кишки независимо от характера выявленной опухоли.

3. Показано, что уровни sPD-L1 связаны прямой корреляционной зависимостью с возрастом пациентов и размером опухоли, не отражали гистологическое строение и степень дифференцировки колоректального рака, не были связаны с критериями N и M, однако достоверно повышались при выявлении метастазов, что позволяет заключить о неблагоприятном значении высоких уровней сывороточного маркера sPD-L1.

4. Концентрации sPD-1 не зависели от пола во всех обследованных группах пациентов и здоровых доноров, но были связаны прямой корреляционной зависимостью с возрастом больных опухолями толстой кишки, не отражали ее морфологию и степень дифференцировки, а также критерии системы TNM и ее локализацию в толстой кишке.

5. Обнаружена прямая статистически значимая ассоциация между концентрациями sPD-1 и sPD-L1, которая ослабевала до незначимой величины при G-3, T4, N2, M1 в группе больных колоректальным раком.

6. Выявлена экспрессия PD-L1 в 26% клеток опухоли больных колоректальным раком, уровни которой ассоциировали только со стадией новообразования. Высокая инфильтрация PD-L1+ клеток стромы опухоли обнаружена в 29% образцов и низкая - в 35% и коррелировали только со стадией заболевания: при начальных I-II стадиях колоректального рака чаще наблюдали высокую экспрессию PD-L1 в клетках стромы опухоли по сравнению с поздними III-IV стадиями.

7. Не обнаружено достоверной ассоциации между концентрациями sPD-L1 и уровнями экспрессии PD-L1 в опухоли больных колоректальным раком.

8. Установлено, что с неблагоприятным прогнозом общей выживаемости больных КРР связаны высокие ($\geq 9,6$ пг/мл) до лечения уровни лиганда sPD-L1.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

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

1. Использовать значение содержания sPD-L1 в сыворотке крови пациентов с колоректальным раком до лечения $\geq 9,6$ пг/мл в качестве маркера оценки прогноза общей выживаемости, так как это значение является независимым фактором неблагоприятного прогноза.

2. Включить в программы аспирантуры и ординатуры по специальности «Клиническая лабораторная диагностика» курс лекций и семинары, посвященных клиническому значению определения контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 и ее растворимых форм при онкологических заболеваниях, в том числе у больных колоректальным раком.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшее изучение темы является перспективным направлением в диагностике и оценке прогноза больных колоректальным раком. Наиболее перспективным путем разработки темы является сравнительный анализ сывороточных уровней sPD-L1, sPD-1 и уровня экспрессии PD-L1 и PD-1 в тканях опухоли у пациентов с первичными злокачественными новообразованиями толстой кишки, 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 толстой кишки.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для опубликования основных результатов диссертационных исследований по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

1. Ковалева, О.В. Клиническая значимость ключевой точки иммунитета PD-1/PD-L1 при колоректальном раке / О.В. Ковалева, В.В. Масленников, Н.Ю. Соколов, М.М. Конторщиков, А.С. Мочалова, Н.Е. Кушлинский // Технологии живых систем. – 2021. – Том 18. – № 3. – С. 5–17.

2. 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, В.В. Делекторская, Е.С. Герштейн, Н.Н. Зыбина, А.А. Алферов, Т.Н. Заботина, З.З. Мамедли, И.С. Стилиди // Технологии живых систем. – 2022. – Том 19. – № 2. – С. 5–13.

3. Ковалева, О.В. Растворимая форма V7-N3 при колоректальном раке / О.В. Ковалева, А.Н. Грачев, Н.Ю. Соколов, В.В. Масленников, Ю.Б. Кузьмин, Е.С. Герштейн, А.А. Алферов, З.З. Мамедли, И.С. Стилиди, Н.Е. Кушлинский // Бюлл. Экспер. Биол. Мед. – 2023. – Том 176. – № 7. – С. 101–105.

Статьи, тезисы докладов в материалах конференций

4. Ковалева, О.В. Факторы иммуносупрессии PD-1, PD-L1, IDO1 и колоректальный рак / О.В. Ковалева, М.А. Рашидова, А.Н. Грачев, В.В. Масленников, И.В. Булычева, Е.С. Герштейн, Е.А. Короткова, Н.Ю. Соколов, З.З. Мамедли, Кушлинский Н.Е. // Доклады Российской Академии Наук. Науки о жизни. – 2021. Том – 497. – С. 160–164.

5. Масленников, В.В. Растворимые формы рецептора программируемой гибели клетки (sPD-1), его лиганда (sPD-L1) в сыворотке крови и экспрессия PD-L1 в опухоли больных колоректальным раком / В.В. Масленников, О.В. Ковалева, А.Н. Грачев, Н.Ю. Соколов, Д.А. Кудлай, З.З. Мамедли // Материалы научно-практических конференций в рамках VII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2021) (19-21 тьября 2021г.) : сборник тезисов. М.: Издательство «У Никитских ворот», 2021. – С. 13.

6. Масленников, В.В. Растворимые формы рецептора программируемой гибели клетки sPD-1 и его лиганда sPD-L1 в сыворотке крови больных колоректальным раком / В.В. Масленников, Е.А. Короткова, В.В. Делекторская, Д.А. Кудлай, З.З. Мамедли // В материалах конференции: «Опухолевые маркеры: фундаментальные и клинические исследования» (Республика Алтай, Майминский район, с. Майма, 2-6 августа 2022 г.). Москва : Блок-Принт. – 2022. – С. 82–84.

7. Масленников, В.В. Колоректальный рак и факторы иммуносупрессии (sPD-1, sPD-L1) / В.В. Масленников, О.В. Ковалева, Н.Ю. Соколов, Е.С. Герштейн, Е.А. Короткова, Ю.Б. Кузьмин, Е.Л. Никонов, З.З. Мамедли, И.С. Стилиди // В материалах V Всероссийской конференции «Опухолевые маркеры: молекулярно-генетические и клинические аспекты» (Республика Алтай, Майминский район, с. Майма, 26-29 июля 2023 г.). Москва : Блок-Принт. – 2023. – С. 57–59.

Список условных сокращений

KPP – колоректальный рак

sPD-1 – растворимая форма рецептора программируемой клеточной гибели

sPD-L1 – растворимая форма лиганда рецептора программируемой клеточной гибели