

На правах рукописи

КУЗЬМИН
Юрий Борисович

**РАСТВОРИМАЯ ФОРМА СУПРЕССОРА АКТИВАЦИИ Т-КЛЕТОК
VISTA В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КАК МАРКЕР
ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ КОСТЕЙ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург - 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

Научный руководитель:

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор
Кушлинский Николай Евгеньевич

Официальные оппоненты:

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, НИИ эндокринологии, научно-исследовательская лаборатория хроматографии, заведующий;

Балдуева Ирина Александровна – доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научный отдел онкоиммунологии, заведующий

Ведущая организация:

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

Защита диссертации состоится «27» «июня» 2023 г. в 12.30 часов на заседании диссертационного совета 04.1.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. 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: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте: <https://www.nrserm.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат медицинских наук, доцент

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования.

В последнее десятилетие в лечении больных онкологическими заболеваниями все чаще стали применяться препараты с ингибирующим действием на так называемые «контрольные точки иммунитета (immune checkpoint) в соответствии с известными данными о роли экспрессии контрольных точек иммунитета в феномене «ускользания» опухоли от иммунного ответа (Mataraza J.M. et al., 2016).

Особый интерес у исследователей вызывает новая отрицательная иммунная контрольная точка VISTA, которая подобна лиганду клеточной смерти 1 (PD-L1) и относится к семейству B7 (Wang L. et al., 2011).

Повышенная экспрессия VISTA отмечена на инфильтрирующих опухоль лейкоцитах, миелоидных клетках, таких как CD11b⁺ моноциты, CD11c⁺ дендритные клетки и, в меньшей степени, CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетках (Wang L. et al., 2011). Через сигнализацию VISTA эти иммунные клетки предотвращают эффективную презентацию антигена и косвенно способствуют росту опухоли.

Показано, что присутствие VISTA приводит к снижению активации и пролиферации Т-клеток. Механизм действия этого эффекта, до конца не исследован, при этом, считают, что VISTA может функционировать и как лиганд, и как рецептор. Как лиганд, VISTA экспрессируется на антигенпрезентирующих клетках и связывает неизвестный рецептор на Т-клетках, чтобы ингибировать последующую активацию Т-клеток (Wang L. et al., 2011; Le Mercier I. et al., 2014). Как рецептор, VISTA экспрессируется на Т-клетках и трансдуцирует внутриклеточные ингибирующие сигналы после связывания лиганда, чтобы ограничить активность Т-клеток (Flies D.B. et al., 2014, 2015). Предлагаемый лиганд для VISTA недавно был идентифицирован как V-set и Ig-домен 3 (VSIG3) (Yang W. et al., 2017).

Кроме того, обнаружена тесная связь VISTA с развитием некоторых злокачественных опухолей человека, включая меланому (Kakavand H. et al., 2017), рак простаты (Gao J. et al., 2017), поджелудочной железы (Liu J. et al., 2018), яичников (Mulati K. et al., 2019), эндометрия (Mulati K. et al., 2019), немелкоклеточный рак легкого (Kakavand H. et al., 2017).

Кроме того, впервые обнаружено, что уровни VISTA повышаются после лечения анти-CTLA-4 при раке простаты (Gao J. et al., 2017) и после лечения анти-PD-1 при метастатической меланоме (Kakavand H. et al., 2017). Основная гипотеза настоящего исследования - выделение уровней sVISTA в сыворотке крови как маркера характеризующего основные клинко-морфологические характеристики опухоли и ее прогноз, что позволяет использовать этот маркер как важную мишень иммунотерапии рака и стимулирует разработку новых лекарственных препаратов.

Степень разработанности темы исследования

Исследование клеточных сигнальных систем, связанных с ключевыми характеристиками опухолевого процесса, а именно, контрольных точек иммунитета, считают актуальным и современным направлением в клинической лабораторной диагностике онкологических заболеваний (Ковалева О.В. и соавт., 2021; Герштейн Е.С. и соавт., 2022; Shen J.K. et al., 2014). Мнение большинства исследователей совпадает в том, что контрольные точки иммунитета связаны со многими изменениями в первичной опухоли и ее микроокружении, способствуя прогрессированию онкологического процесса (Ковалева О.В. и соавт., 2021). Следовательно, контрольные точки иммунитета являются необходимыми факторами в опухолевой прогрессии, а именно, в инвазии и метастазировании (Fernández L. et al., 2017; McEachron T.A. et al., 2018).

Контрольные точки иммунитета выявлены относительно недавно и представляют различные молекулы, способные регулировать у человека развитие иммунной реакции (Mataraza J.M. et al., 2016).

Известно, что механизмы, связанные с экспрессией контрольных точек иммунитета, могут быть использованы опухолью для ускользания от иммунного ответа и стали понятными только в 2018 году, когда группа американских и японских исследователей были удостоены Нобелевской премии в области физиологии и медицины за открытие ингибиторов контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1.

В отличие от других негативных регуляторов Т-клеток, которые экспрессируются после их активации, VISTA экспрессируется на наивных Т-клетках для поддержания состояния покоя. Взаимодействие с VISTA может приводить к гибели наивных Т-клеток или к снижению активации сигнальных путей, активируемых Т-клеточным рецептором (TCR) и их пролиферации. Именно поэтому блокирование VISTA может способствовать увеличению числа Т-клеток, специфичных к опухолевым антигенам, а также повышению их активации в микроокружении опухоли.

Кроме того, показано, что VISTA тесно связана с развитием некоторых опухолей человека, включая меланому (Kakavand H. et al., 2017), рак простаты (Gao J. et al., 2017), поджелудочной железы (Liu J. et al., 2018), яичников (Mulati K. et al., 2019), эндометрия (Mulati K. et al., 2019) и немелкоклеточный рак легкого (Villarroel-Espindola F. et al., 2018). Кроме того, впервые обнаружено, что уровни VISTA повышаются после лечения ингибиторами иммунных контрольных точек анти-CTLA-4 при раке простаты (Gao J. et al., 2017) и анти-PD-1 – при метастатической меланоме (Kakavand H. et al., 2017).

Известно, что костеобразующие остеосаркомы экспрессируют VISTA и, полагают, что данный белок может участвовать в процессах инвазии и метастазирования этих опухолей. В настоящее время различные контрольные точки иммунитета рассматривают также как возможные маркеры прогноза злокачественных новообразований (Zhang M. et al., 2018; Zong L et al., 2020).

В современной литературе представлено мало клинических исследований по изучению sVISTA при опухолях костей. Однако, авторы полагают, что sVISTA у больных саркомами костей может стать перспективным маркером в оценке клинического течения заболевания и прогноза, а также может служить мишенью соответствующей целенаправленной иммунотерапии.

Цель исследования

Оценка эффективности лабораторной диагностики и возможности прогноза злокачественных новообразований костей на основании анализа частоты выявления и содержания растворимой формы супрессора активации Т клеток VISTA в сыворотке крови пациентов с опухолями костей, его связи с основными клиническими и морфологическими характеристиками опухолей.

Задачи исследования

1. Сравнить уровни растворимой формы супрессора активации Т клеток VISTA в крови лиц контрольной группы и пациентов с опухолями костей.

2. Оценить различия уровней супрессора активации Т клеток VISTA в группах больных новообразованиями костей в зависимости от морфологии и степени дифференцировки опухоли, распространенности опухолевого процесса.

3. Установить взаимосвязь исследованных показателей (sVISTA, sPD-1, sPD-L1, sRANKL) с основными клиническими и морфологическими особенностями новообразованиями костей в группе пациентов с пограничными и злокачественными опухолями костей.

4. Оценить прогностическую значимость уровней sVISTA в сыворотке крови на основе анализа их связи с показателями общей выживаемости больных первичными злокачественными опухолями костей.

Научная новизна исследования

Впервые у большой группы больных новообразованиями костей (125 пациентов злокачественными и пограничными опухолями костей) проведено комплексное сравнительное иммуноферментное исследование содержания sVISTA, рецептора программируемой гибели клеток sPD-1 и его лиганда sPD-L1, а также лиганда sRANKL рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора NF-κB в сыворотке крови с учетом их ассоциации с основными клиническими и морфологическими характеристиками заболевания, прогнозом выживаемости.

Получены новые данные о значимом снижении уровня супрессора активации Т клеток VISTA в сыворотке крови больных злокачественными и пограничными новообразованиями костей. При этом у большинства пациентов концентрация данного показателя была ниже 2,0 нг/мл.

Концентрации sVISTA не зависели от пола, как в группе контроля, так и в общей группе больных новообразованиями костей мужчин и женщин. Так например, медиана концентрации sVISTA в сыворотке крови больных

новообразованиями костей женщин была незначимо низкой (1,0 нг/мл) по сравнению с контролем (4,9 нг/мл; $p=0,2$). При этом, у больных саркомами костей отмечена обратная корреляционная зависимость между возрастом и концентрацией sVISTA в сыворотке крови.

Обнаружена связь сывороточных уровней sVISTA с гистологическим строением злокачественных новообразований костей и степенью их дифференцировки, локализацией опухоли в костях скелета, видом и типом пораженной кости и некоторыми критериями системы TNM.

Продемонстрированы разнонаправленные изменения уровней растворимых форм белков-мишеней таргетной иммунотерапии sPD-1 и sPD-L1, а также лиганда sRANKL рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора NF- κ B в периферической крови больных злокачественными и пограничными опухолями костей. В наибольшей степени они выражены при новообразованиях особой природы – пограничной гигантоклеточной опухоли кости и саркоме Юинга, имеющей нейроэктодермальное происхождение. Можно предположить, что именно эти заболевания являются наиболее вероятными кандидатами для иммунотерапии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Наиболее важный теоретический вывод, который необходимо сделать на основании данных представленного исследования, заключается в том, что выявлено статистически значимое снижение уровня маркера sVISTA в сыворотке крови пациентов с опухолями костей по сравнению группой здоровых доноров соответствующего возраста и пола.

Практическая значимость данной работы заключается в том, что отдаленные результаты лечения больных первичными саркомами костей статистически значимо определяет гистологический вариант строения опухоли. При этом следует отметить значимые различия в уровнях sVISTA между здоровыми донорами и больными хордомой кости, у последних концентрации маркера в сыворотке крови резко снижены, что может быть связано с их низкой чувствительностью при лечении ингибиторами контрольных точек иммунитета.

Наилучшие показатели 3-летней общей выживаемости отмечены у больных хордомой кости, а неблагоприятный прогноз общей выживаемости был характерен для больных типичной остеосаркомой кости.

В качестве дополнительного лабораторного маркера оценки прогноза общей выживаемости первичных больных хрящобразующей типичной хондросаркомой кости следует использовать исходные до лечения уровни растворимой формы супрессора активации Т-клеток sVISTA: концентрации маркера sVISTA $\leq 1,0$ нг/мл в сыворотке крови свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе 3-летней общей выживаемости.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационной работы является иммуноферментное исследование содержания растворимой формы отрицательной иммунной контрольной точки sVISTA и ее ассоциации с биохимическими маркерами: рецептором sPD-1, лигандами sPD-L1 и sRANKL, выполненной с использованием современного оборудования и высокочувствительных методик. Анализ полученных результатов был проведен в зависимости от клинико-морфологических характеристик опухолей костей. Сведения о прогностической способности исследованных показателей основаны на статистическом анализе с учетом данных общей выживаемости.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Растворимая форма отрицательной контрольной точки иммунитета sVISTA – новое направление клинических иммунологических исследований в онкоостеологии, тесно связано с развитием первичных злокачественных (мезенхимальные саркомы) опухолей костей, при этом у преобладающего числа больных содержание маркера снижено в сыворотке крови по сравнению со здоровыми донорами.

2. Сывороточные уровни sVISTA, sPD-1, sPD-L1, sRANKL могут быть использованы как дополнительные лабораторные маркеры при анализе клинических и морфологических характеристик у больных злокачественными опухолями костей, а также в оценке прогноза общей выживаемости больных злокачественными новообразованиями костей.

Степень достоверности результатов

Достоверность и обоснованность результатов исследования обеспечена достаточным количеством обследованных пациентов (112 больных первичными злокачественными и 13 пограничными опухолями костей) и лиц контрольной группы, корректным дизайном исследования, использованием современных клинических и лабораторных методов, адекватных поставленным цели и задачам. В процессе выполнения работы соблюдались общепринятые этические принципы. Анализ результатов, полученных в ходе исследования, был проведен с использованием современных методов вариационной статистики. Изучение 210 литературных источников позволило осуществить обоснованную интерпретацию результатов работы.

Выводы и практические рекомендации диссертационного исследования обоснованы, соответствуют цели и задачам исследований.

Апробация работы

Материалы диссертации представлены на: XXII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Теория и практика клинической лабораторной диагностики» (Москва, Крокус-Экспо, 21-23 марта 2017 г.); III Российском Конгрессе лабораторной медицины (Москва, 11-13 октября 2017 г.); IV Российском Конгрессе лабораторной медицины (Москва, 3-5 октября 2018 г.); VI Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 21-23 декабря 2021 г.); на XXVII

Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Клиническая лаборатория: вклад в борьбу с пандемией» (Москва, 4-6 апреля 2022 г.)

Внедрение результатов работы в практику

Полученные результаты исследования внедрены в клиническую практику лаборатории клинической биохимии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и отдела лабораторной диагностики ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России. Материалы диссертации используются на лекционных, семинарских занятиях с курсантами циклов повышения квалификации врачей на кафедре клинической биохимии и лабораторной диагностики ГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова МЗ РФ.

Личный вклад автора

Все этапы диссертационной работы выполнены при непосредственном участии автора. Автором самостоятельно проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Автор лично принимал участие в заборе материала, проводил биохимические исследования у больных первичными опухолями костей и здоровых доноров. Диссертантом осуществлены статистическая обработка, анализ и интерпретация собранных материалов, сформулированы выводы и практические рекомендации, оформлена диссертационная работа.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 13 печатных работ по теме диссертации, 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 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (биологические науки).

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследований», глав «Результатов собственных исследований», обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и указателя цитируемой литературы. Общий объем диссертации 138 листов машинописного текста, иллюстрирован 30 таблицами и 37 рисунками. Указатель литературы содержит 210 источников, из них 21 работа отечественных и 189 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Характеристика больных первичными опухолями костей

В исследование включено 125 больных первичными злокачественными и пограничными новообразованиями костей в возрасте от 6 до 73 лет: хордома (14), остеосаркома (52), хондросаркома (31), саркома Юинга (15), пограничная гигантоклеточная опухоль (13). Группу контроля составили 42 практически здоровых донора (19 мужчин, 23 женщины) в возрасте от 6 по

76 лет.

У всех больных клинико-рентгенологический диагноз новообразования кости подтвержден данными морфологического исследования опухоли, согласно «Международной гистологической классификации опухолей костей» (ВОЗ, 2014 г.).

Специальные лабораторные методы исследования

Концентрации маркеров исследовали в сыворотке крови ИФА наборами реактивов: sVISTA – «VISTA/B7-H5/PD-1H ELISA Kit» фирма «RayBiotech» (США), sPD-L1 – «Human sPD-L1 Platinum ELISA» и sPD-1 – «Human sPD-1 ELISA Kit» оба фирмы «Affimetrix, eBioscience» (США), sRANKL – фирма «Biomedica Medizinprodukte» (Австрия) на автоматическом иммуноферментном анализаторе «BEP 2000 Advance» (фирма «Siemens Healthcare Diagnostics», Германия).

Статистические методы анализа

Выбор основных характеристик и статистических критериев при их сравнении осуществляли после изучения распределения признака и сравнения его с распределением Гаусса по критерию Колмогорова-Смирнова. Для признаков с распределением, значительно отличающимся от нормального, рассчитывали медиану, квартили и применяли непараметрические методы сравнения несвязанных признаков (Kruskal-Wallis Anova & Median test при количестве сравниваемых групп более двух и Mann-Whitney при сопоставлении двух групп). При сравнении частот строили таблицы сопряженности признаков. Для расчета p использовали точный критерий Фишера (при небольших объемах групп) и непараметрический критерий χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Проводили корреляционный анализ рангов Спирмена с расчетом коэффициента корреляции и уровня его значимости. Также использовали регрессионную многофакторную модель Кокса. Все вычисления проводили на персональном компьютере с помощью математических пакетов «STATISTICA» и SPSS в отделе информационных технологий ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Содержание sVISTA в сыворотке крови больных новообразованиями костей и здоровых доноров. Распределение уровней sVISTA значительно отличалось от распределения Гаусса, поэтому в качестве центральной меры применяли медиану, в качестве меры разброса значений – квартили; сравнения выполняли непараметрическими критериями. Выявили статистически значимое увеличение медианы концентрации sVISTA в сыворотке здоровых доноров группы контроля (4,7 нг/мл) по сравнению с больными пограничными (0,7 нг/мл, $p=0,02$) и злокачественными (1,4 нг/мл, $p=0,03$) новообразованиями костей. Медианы концентрации sVISTA не различались между больными злокачественными и пограничными опухолями костей (таблица 1).

Таблица 1. Концентрации sVISTA в сыворотке крови больных новообразованиями костей и здоровых доноров группы контроля

Группа	N	Концентрация sVISTA, нг/мл			P
		Пределы колебания	Медиана; квантили	95% ДИ	
⁰ Контроль	42	0-99,7	4,7; 1,25-4,75	5,21-16,43	0vs1=0,01; 0vs2=0,02; 0vs3=0,03; 2vs3=0,30
¹ Больные новообразованиями костей (общая группа)	125	0-120	1,4; 0,4-7,0	0,1-64,8	
² Пограничные новообразования костей	13	0-11,8	0,7; 0,3-2,5	0-11,8	
³ Злокачественные новообразования костей	112	0-120	1,4; 0,5-8,0	0,1-81,3	

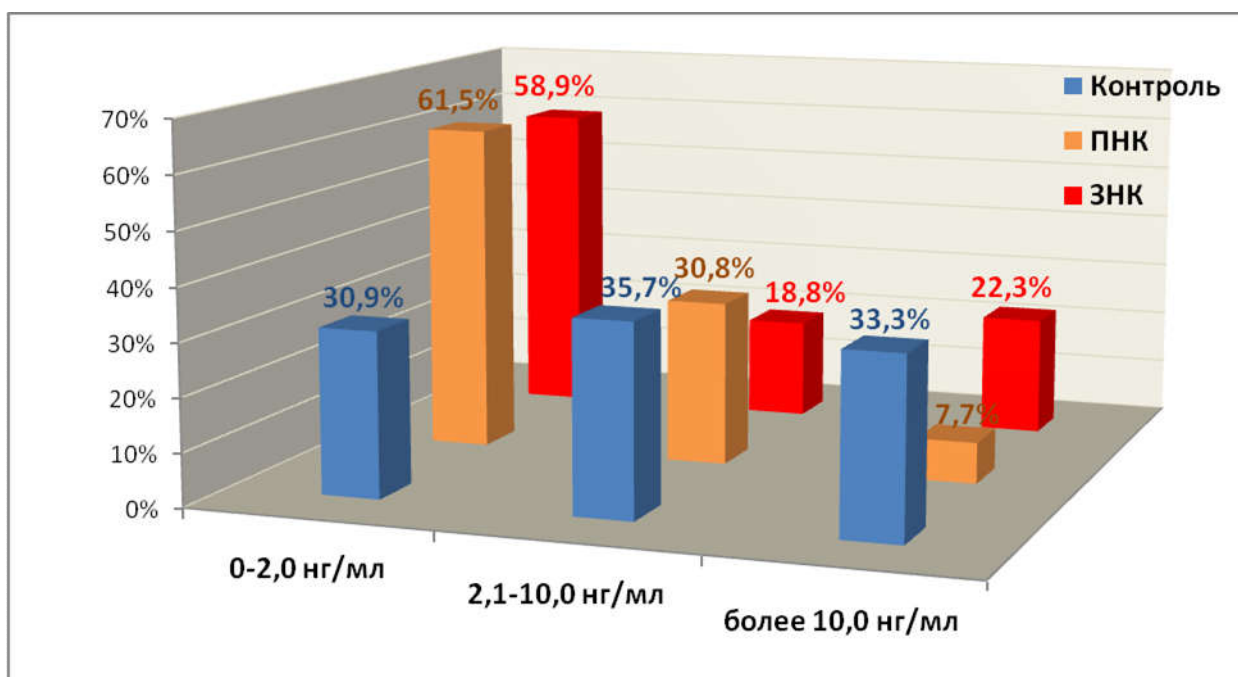


Рисунок 1. Распределение сывороточных концентраций sVISTA в контроле и в группах больных пограничными и злокачественными новообразованиями костей.

У 66 из 112 (58,9%) больных злокачественными новообразованиями костей уровни sVISTA не превышали 2,0 нг/мл, еще у 21 (18,8%) пациента концентрации показателя были в диапазоне от 2,1 до 10,0 нг/мл и у 25 (22,3%) больных находились в достаточно широком диапазоне колебаний от

10,1 до 120 нг/мл.

В группе больных пограничными новообразованиями костей частота обнаружения концентраций sVISTA не превышающих 2,0 нг/мл отмечена у 8 больных (61,5%), в диапазоне от 2,1 до 10,0 нг/мл обнаружена у 4 пациентов (30,8%) и у 1 больного этой группы значение маркера было выше 10,0 нг/мл.

В контроле частота выявления уровней sVISTA не превышающих 2,0 нг/мл обнаружена у 13 (30,9%); в диапазоне от 2,1 до 10,0 нг/мл выявлена у 15 (35,71%); у 14 (33,3%) обследованных здоровых доноров значение маркера было выше 10,0 нг/мл (рисунок 1).

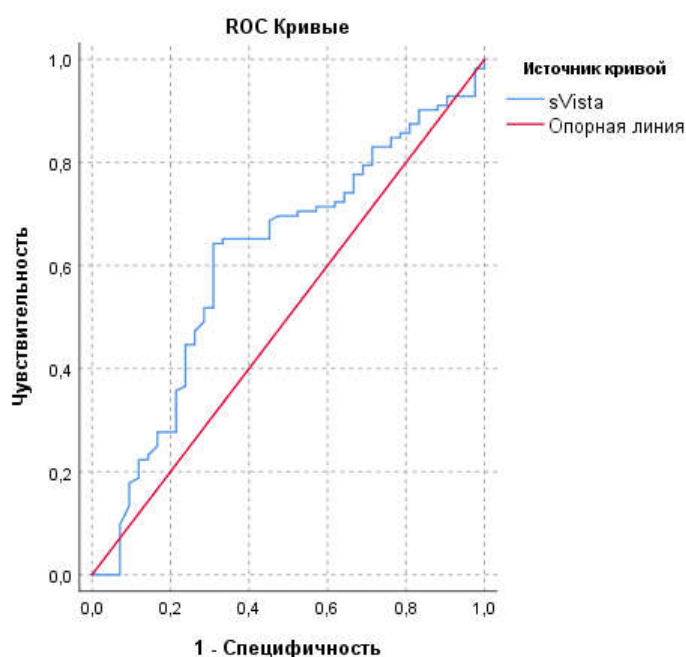


Рисунок 2. Пороговый уровень маркера sVISTA равнялся 2,83, площадь под ROC-кривой – 0,622, индекс Юдена – 0,333, чувствительность теста 65,6%, специфичность относительно контроля – 69%.

Следует отметить, что частота выявления значений sVISTA по порогу $\leq 2,0$ нг/мл в группе контроля и у больных новообразованиями костей статистически значимо различалась и составили 30,9% в группе контроля и 59,2% в общей группе больных новообразованиями костей ($p=0,016$) (таблица 10; рисунок 18). При этом частота значений sVISTA ≤ 2 нг/мл в группах больных пограничными и злокачественными новообразованиями костей была сопоставимой и составила 53,8% и 58,9% соответственно

Однако ROC-анализ не выявил порогового значения маркера sVISTA при разделении здоровых доноров группы контроля и больных новообразованиями костей (рисунок 2).

Содержание sVISTA в сыворотке крови больных новообразованиями костей и в контроле с учетом пола и возраста. Медианы концентраций sVISTA в группе контроля у мужчин и женщин не различались и составили соответственно 3,0 и 4,9 нг/мл ($p=0,9$). Однако,

следует отметить, что при сравнении концентраций sVISTA в сыворотке крови больных новообразованиями костей женщин получено недостоверное снижение медианы маркера (1,0 нг/мл) по сравнению с контролем (4,9 нг/мл; $p=0,17$) (рисунок 3).

При этом, частота обнаружения низких концентраций маркера (≤ 2 нг/мл) у больных и здоровых женщин статистически значимо различалась и составила: 61,8% - в группе больных новообразованиями костей и 26,7% - в контроле ($p=0,015$). В то же время, при сравнении групп больных и здоровых мужчин различия в частоте выявления низких уровней VISTA в сыворотке крови (≤ 2 нг/мл) были незначимы и составили соответственно 57,1% против 36,8% ($p=0,33$).

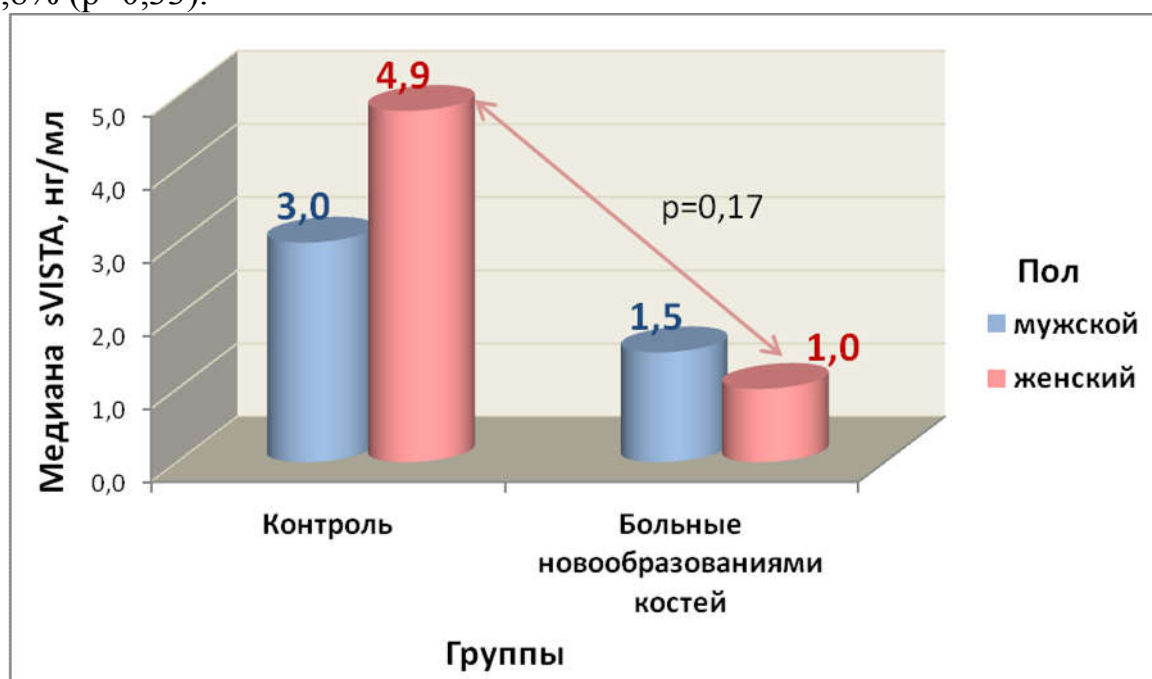


Рисунок 3. Медианы концентраций sVISTA в группе контроля и общей группы больных новообразованиями костей с учетом пола обследованных.

Таблица 2. Концентрации sVISTA в сыворотке крови группы контроля и больных новообразованиями костей в зависимости от их пола

Группы	Пол	N	sVISTA, нг/мл медиана; квартили	P	Частота выявления sVISTA $\leq 2,0$ нг/мл	P
Контроль	Муж.	19	3,0; 1,2-17,4	0,9	7 (36,8%)	0,36
	Жен.	23	4,9; 0,7-11,9		6 (26,1%)	
ПНК	Муж.	7	0,7; 0,1-4,9	0,9	5 (71,4%)	0,4
	Жен.	6	1,3; 0,3-2,5		3 (50,0%)	
ЗНК	Муж.	63	1,8; 0,8-9,1	0,12	35 (55,6%)	0,4
	Жен.	49	1,0; 0,3-7,0		31 (63,3%)	

Концентрации sVISTA в группе женщин, и мужчин, больных злокачественными новообразованиями костей не различались (медианы 1,0 и 1,8 нг/мл соответственно; $p=0,12$) (таблица 2). Также не установлено значимой связи между частотой выявления низких (≤ 2 нг/мл) концентраций sVISTA и полом больных злокачественными новообразованиями костей ($p=0,4$). Не выявлено корреляционной зависимости между возрастом здоровых доноров и уровнями sVISTA в сыворотке крови ($r_s=0,1$; $p>0,05$). В группе больных злокачественными новообразованиями костей эта зависимость была отрицательной и статистически значимой ($r_s= -0,21$; $p<0,05$). Данные концентраций sVISTA в сыворотке крови групп контроля и больных злокачественными новообразованиями костей с учетом возраста представлены в таблице 3.

Таблица 3. Сывороточные концентрации sVISTA в контроле и у больных опухолями костей с учетом возраста

Группа	Возраст, лет	N	sVISTA нг/мл, медиана; квартили	P	Частота выявления sVISTA $\leq 2,0$ нг/мл	P
Контроль	<18	13	5,3; 1,0-11,3	-	3 (23,0%)	-
	≥ 18	29	4,4; 1,0-12,3	-	10 (34,5%)	-
Пограничные новообразования костей	≥ 18	13	0,7; 0,3-2,5	-	8 (61,5%)	-
Злокачественные новообразования костей	<18	28	2,2; 0,9-12,0	0,03	14 (50,0%)	0,26
	≥ 18	84	1,3; 0,4-6,8	0,15	52 (61,9%)	

Медианы концентрации sVISTA в сыворотке крови здоровых доноров и больных злокачественными новообразованиями костей в возрасте ≥ 18 лет показали незначимое различие медиан концентрации маркера в группе контроля и у больных злокачественными опухолями костей 4,4 и 1,3 нг/мл соответственно ($p=0,15$). У больных саркомами костей в возрасте <18 лет выявили статистически значимо низкие концентрации sVISTA по сравнению с группой контроля (соответственно 2,2 и 5,3 нг/мл; $p=0,03$) (таблица 3).

Анализ уровней sVISTA по декадам жизни как в контроле, так и в общей группе больных опухолями костей подтвердил снижение концентрации маркера в сыворотке крови с увеличением возраста.

Содержание sVISTA у больных опухолями костей с учетом клинических и морфологических характеристик заболевания. Выявили незначимую связь концентраций sVISTA в сыворотке крови больных новообразованиями костей с учетом гистологическим строением опухоли ($p=0,06$ Kruskal-Wallis Test). Наименьшие медианы концентрации маркера обнаружены при хордоме кости (0,5 нг/мл), а наибольшие - при саркоме

Юинга (2,6 нг/мл) ($p=0,0068$) (рисунок 4).

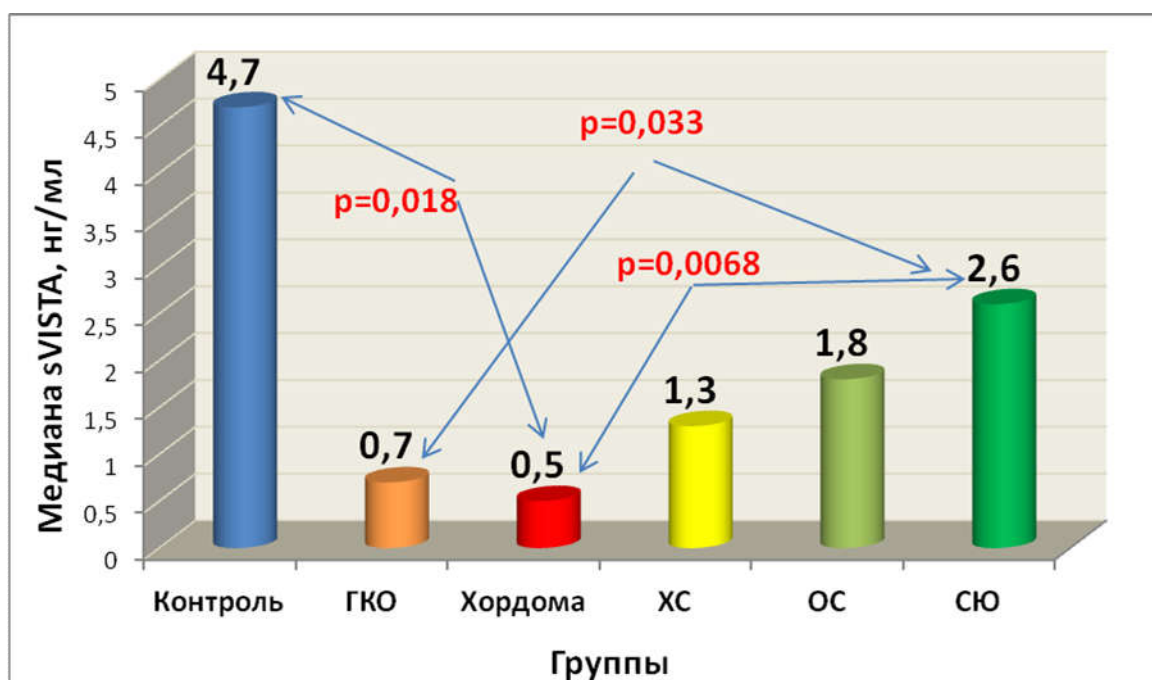


Рисунок 4. Медианы концентрации sVISTA в контроле и у больных новообразованиями костей с учетом гистологического строения опухоли.

Таблица 4. Сывороточные концентрации sVISTA в контроле и у больных новообразованиями костей с учетом локализации опухоли в костях скелета

Группа	Локализация опухоли	N	sVISTA, нг/мл медиана; квантили	P	Частота выявления sVISTA $\leq 2,0$ нг/мл	P
⁰ Контроль	-	42	4,7; 1,2-12,3		13 (30,9%)	-
Больные новообразованиями костей	¹ Кости таза	38	1,2; 0,52-7,4	*0,02; 1vs4=0,01; 2vs4=0,01; 3vs4=0,29; 0vs1=0,15; 0vs2=0,04; 0vs3=0,21; 0vs4=0,34	26 (68,4%)	0,001
	² Нижняя конечность	61	1,1; 0,4-3,5		39 (63,9%)	
	³ Кости грудной клетки	8	1,3; 0,3-4,5		5 (62,5%)	
	⁴ Верхняя конечность	17	9,1; 2,4-12,8		3 (17,7%)	
	Кости головы	1	0,18		1	

Уровни sVISTA в сыворотке крови больных при некоторых новообразованиях костей значимо связаны с локализацией опухоли в костях

скелета (* $p=0,02$ Kruskal-Wallis Test) (таблица 4). Так, выявили статистически значимое различие медиан концентрации маркера у пациентов с локализацией опухоли в костях таза и верхних конечностей (соответственно 1,2 и 9,1 нг/мл; $p=0,01$), с локализацией опухоли в нижних и верхних конечностях (соответственно 1,1 и 9,1 нг/мл; $p=0,01$). Также выявлены статистически значимые различия между медианами концентраций sVISTA в контроле (4,7 нг/мл) и у больных с локализацией опухоли в нижних конечностях (1,1 нг/мл; $p=0,04$). Эти данные подтверждаются анализом частоты выявления концентраций sVISTA ≤ 2 нг/мл в группах с различной локализацией опухоли в костях скелета ($p=0,001$).

В таблице 5 представлены сравнительные данные уровней sVISTA в контроле и у больных в зависимости от вида пораженной опухолью кости (малочисленные группы больных от 3-х и менее наблюдений не приводим).

Таблица 5. Концентрации sVISTA в сыворотке крови здоровых доноров и больных новообразованиями костей в зависимости от вида пораженной кости

Группа	Кость	N	sVISTA нг/мл, медиана; квартили	P	Частота выявления sVISTA $\leq 2,0$ нг/мл	P
⁰ Контроль	-	42	4,7; 1,2-12,3	-	13 (30,9%)	-
Больные новообра- зованиями Костей	¹ Крестец	16	0,54; 0,3-1,5	*0,01; $_{1vs6}=0,02$; $_{2vs6}=0,01$; $_{3vs6}=0,01$; $_{4vs6}=0,05$; $_{5vs6}=0,12$; $_{0vs1}=0,01$; $_{0vs2}=0,06$; $_{0vs3}=0,01$; $_{0vs4,5}=0,28$; $_{0vs6}=0,6$	13 (81,3%)	0,01
	² Большеберцовая	16	0,9; 0,2-2,3		13 (81,3%)	
	³ Бедренная	42	1,1; 0,6-3,7		25 (61,9%)	
	⁴ Подвздошная	16	1,4; 0,7-5,6		10 (62,0%)	
	⁵ Ребро	7	1,4; 0,1-6,2		4 (57,1%)	
	⁶ Плечевая	14	9,7; 2,0-12,7		3 (21,4%)	

Примечание: *контроль vs больные $p=0,01$.

Концентрации sVISTA в сыворотке крови больных новообразованиями костей были статистически значимо связаны с видом кости, пораженной опухолью ($p=0,013$). Так, медиана маркера была наименьшей при поражении опухолью большеберцовой кости (0,9 нг/мл) и крестца (0,54 нг/мл) и наибольшей при поражении плечевой кости (9,7 нг/мл; таблица 5). Концентрация sVISTA в сыворотке крови больных при поражении плечевой кости была статистически значимо выше, чем при поражении большеберцовой ($p=0,001$) и бедренной ($p=0,01$) костей. Сывороточные концентрации sVISTA в сыворотке крови доноров были статистически

значимо выше по сравнению с таковыми в группах больных новообразованиями крестца ($p=0,01$) и бедренной ($p=0,01$) костей, но не отличались от показателей маркера у пациентов с поражением плечевой кости ($p=0,6$).

Установлено, что медианы sVISTA достоверно различались между уровнями маркера в контроле и у больных с поражением саркомой губчатой кости ($p=0,015$), а также в контроле и у пациентов с поражением гигантоклеточной опухолью трубчатой кости ($p>0,027$).

Содержание sVISTA у больных злокачественными опухолями костей с учетом критериев системы TNM. Установлено значимая связь концентраций исследованного маркера с критерием T. Так, медиана концентрации sVISTA была достоверно ниже в группе больных саркомами костей с критерием T2 по сравнению с таковой в группе контроля ($p=0,041$). Не проводили сравнения концентраций sVISTA в сыворотке крови больных злокачественными новообразованиями костей с учетом критерия N из-за малого количества наблюдений с N1 ($n=3$). Не установлено значимой связи концентраций маркера с критерием M. Однако медиана концентрации sVISTA была статистически значимо ниже в группе больных злокачественными новообразованиями со степенью дифференцировки опухоли G2 по сравнению с таковой в контроле ($p=0,049$).

Ассоциация концентраций sVISTA и биохимических маркеров sPD-1, sPD-L1, sRANKL в сыворотке крови больных новообразованиями костей. Показано, что медианы концентраций sPD-1 в сыворотке крови между группой контроля и общей группой больных опухолями костей не различались и составили 48,7 и 50,1 пг/мл соответственно. В то же время, в группе больных пограничными новообразованиями концентрации рецептора sPD-1 в сыворотке крови были статистически значимо выше (67,8 пг/мл) как по сравнению с контролем (48,7 пг/мл, $p=0,0006$), так и с больными саркомами костей (47,5 пг/мл, $p=0,013$).

В то же время концентрации sPD-L1 были значимо ниже в контроле (7,61 пг/мл) по сравнению с больными пограничными (23,0 пг/мл, $p=0,022$) и злокачественными (21,9 пг/мл, $p=0,0001$) новообразованиями костей (рисунок 5).

Наиболее низкие уровни sRANKL выявлены в контроле (0,18 пмоль/л). Медиана концентрации sRANKL была статистически значимо ниже в сыворотке крови больных саркомами костей (0,3 пмоль/л) по сравнению с пограничными опухолями (0,7 пмоль/л; $p=0,015$).

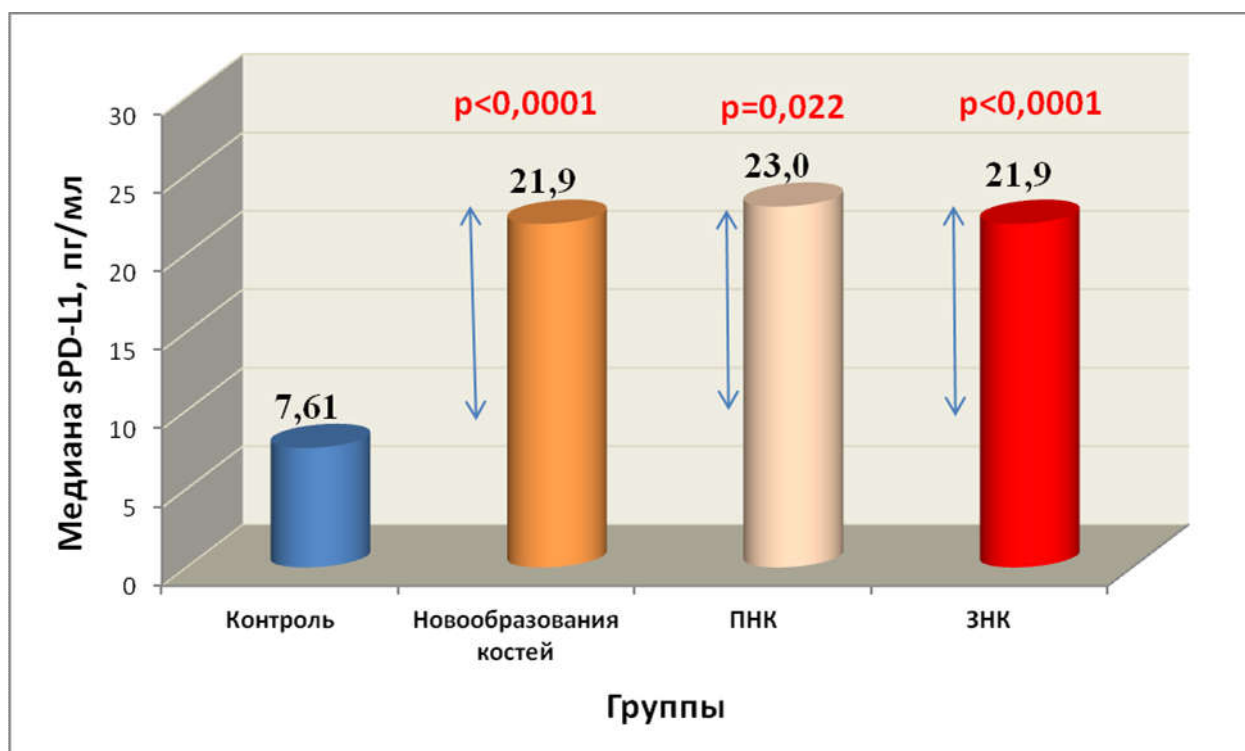


Рисунок 5. Медианы концентрации sPD-L1 в группах больных новообразованиями костей и в контроле.

В группе больных новообразованиями костей установлена слабая прямая корреляционная зависимость между концентрациями sVISTA и sPD-1 в сыворотке крови ($r_s=0,22$; $p < 0,0$). У больных злокачественными опухолями костей указанная зависимость равнялась ($r_s=0,24$; $p < 0,05$). При этом, концентрации sVISTA не были связаны с уровнями sPD-L1 и sRANKL у больных саркомами костей. В группе больных злокачественными новообразованиями костей концентрации sPD-1 были связаны с уровнями sRANKL прямой корреляционной зависимостью ($r_s=0,48$; $p < 0,05$). Корреляционная связь между уровнями sPD-1 и sRANKL была обратной и незначимой в группе пациентов с пограничными опухолями костей ($r_s= -0,6$; $p > 0,05$).

Выявлено, что корреляционная связь между концентрациями sVISTA и sPD-1 в сыворотке крови больных саркомами костей в возрасте до 40 лет отсутствовала, но достигала значимого уровня ($r_s=0,41$; $p < 0,05$) у пациентов старше 40 лет. Зависимость между концентрациями sVISTA и sPD-1 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей усиливалась при поражении губчатых костей ($r_s=0,59$; $p < 0,05$), отсутствовала при поражении трубчатых костей ($r=0$), усиливалась при поражении костей крестца и ребер до значения ($r_s=0,65$; $p < 0,05$).

Рассчитали концентрации sPD-1, sPD-L1 и sRANKL в основных группах с учетом уровней sVISTA менее и более 2,0 нг/мл (таблица 6).

Таблица 6. Сывороточные концентрации sPD-1, sPD-L1, sRANKL при уровнях sVISTA менее и более 2,0 нг/мл у больных опухолями костей

Группы	sVISTA, нг/мл	sPD-1	sPD-L1	sRANKL
		пг/мл	пг/мл	пмоль/л
¹ Новообразования костей (общая группа)	<2	46,4; 26,3-58,1	19,6; 15,4-26,2	0,47; 0,2-0,7
	≥2	57,1; 34,7-81,0	25,8; 18,5-34,2	0,4; 0,3-0,6
	P	0,051	<0,05	0,9
¹¹ Пограничные опухоли костей	<2	55,8; 53,2-67,0	18,1; 11,9-20,9	0,8; 0,7-1,3
	≥2	76,1; 65,6-84,6	25,2; 15,0-39,3	0,7; 0,5-1,0
	P	0,063	0,5	0,6
¹² Злокачественные опухоли костей	<2	43,8; 25,5-57,4	19,8; 16,1-26,2	0,4; 0,2-0,5
	≥2	50,8; 31,2-76,8	26,2; 18,5-34,2	0,3; 0,3-0,4
	P	0,1	0,08	0,9

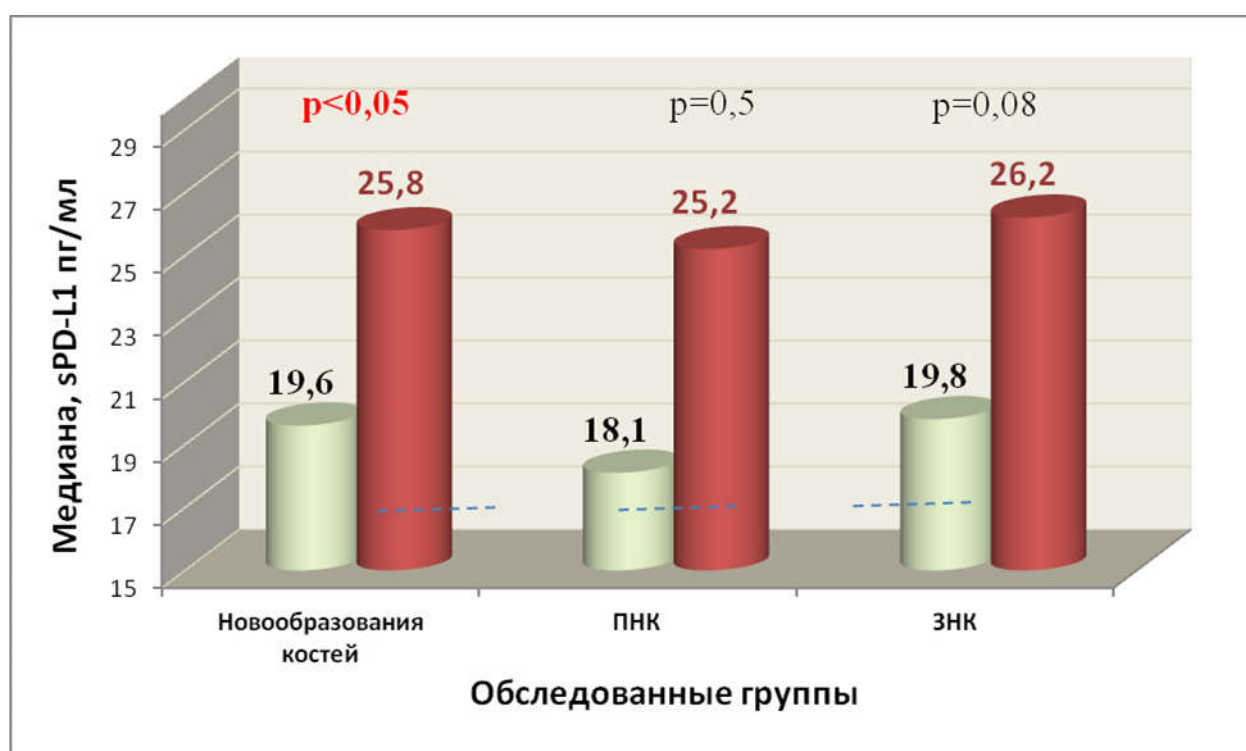


Рисунок 6. Медианы sPD-L1 в группах больных новообразованиями костей, разделенных по порогу sVISTA менее и более 2,0 нг/мл.

В общей группе больных злокачественными опухолями костей не выявили достоверных различий медиан концентраций sPD-1 у пациентов с уровнями sVISTA в сыворотке крови < и ≥ 2,0 нг/мл (соответственно 46,4 и

57,1 пг/мл; $p=0,051$) (таблица 6). Эта закономерность была характерна как для пограничных, так и для сарком костей.

В общей группе больных злокачественными опухолями костей выявлено статистически значимое различие медиан концентраций sPD-L1 у пациентов с уровнями sVISTA $<$ и $\geq 2,0$ нг/мл (соответственно 19,6 и 25,8 пг/мл; $p<0,05$), данные представлены на рисунке 6.

Эта закономерность была характерна как для пограничных, так и для злокачественных новообразований костей.

Концентрации sRANKL не зависели от уровней sVISTA менее и более 2,0 нг/мл, исследованных в сыворотке крови больных новообразованиями костей.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют об определенных связях маркера sVISTA сыворотки крови с основными клинико-морфологическими характеристика новообразований костей, а также с уровнями sPD-1, sPD-L1 и sRANKL.

Выживаемость больных злокачественными опухолями костей в зависимости от клинико-морфологических факторов.

Отдаленные результаты лечения больных злокачественными новообразованиями костей анализировали у 81 пациента (прослеженность 72,4%). Максимальный период наблюдения равнялся 55,2 месяца, при этом 16 больных умерли в сроки от 3 до 32,1 месяцев после начала лечения. У 21 больного саркомой кости выявлено прогрессирование заболевания.

Показатель 1-летней общей выживаемости пациентов в общей группе составил $89,7\pm 4,0\%$, 2-летней – $81,3\pm 5,4\%$, 3-летней – $63,5\pm 7,9\%$. Медиана срока жизни не была достигнута на 3-летнем сроке наблюдения.

Проанализировали общую выживаемость в группах больных злокачественными новообразованиями костей с учетом гистологического строения опухоли (таблица 7).

Таблица 7. Общая выживаемость больных злокачественными новообразованиями костей в зависимости от гистологического строения опухоли

Группы	N	Умерло	Прогрессирование	Общая выживаемость (%)		
				1-летняя	2-летняя	3-летняя
Хордома	11	-	3 (27,3%)	100	100	100
ХС типичная	30	3 (10,0%)	5 (16,7%)	100	$87,2\pm 8,6$	$76,3\pm 12,7$
ОС типичная	30	12 (40,0%)	12 (40,0%)	$72,1\pm 9,7$	$55,2\pm 11,4$	$34,5\pm 11,8$
СЮ	8	1 (12,5%)	2 (25,0%)	100	100	$50,0\pm 35,3$
ХС нетипичная	1	-	-	Жив на сроке 12,2 мес.		
ОС нетипичная	1	-	-	Жив на сроке 30,7 мес.		
P	0,001					

Общая выживаемость больных злокачественными новообразованиями костей значимо зависела от гистологического строения опухоли ($p=0,001$) (таблица 7). Наилучший показатель 3-летней общей выживаемости выявлен в группе больных хордомой (100%), а наихудший – в группе больных типичной остеосаркомой кости ($34,5\pm 11,8\%$), медиана срока жизни составила всего 25,3 месяца от начала лечения. Показатель 3-летней общей выживаемости больных саркомой Юинга также был низким и составил $50,0\pm 35,3\%$, однако следует отметить, что группа была малочисленна, а срок прослеженности в этой группе был наименьшим. Показатель 3-летней общей выживаемости больных типичной хондросаркомой составил $76,3\pm 12,7\%$.

Таким образом, морфологический вариант опухоли кости является определяющим фактором в прогнозе длительности жизни больных злокачественными новообразованиями костей.

Частота прогрессирования опухолевого процесса при указанном сроке наблюдения была наибольшей в группе пациентов с типичной остеосаркомой (40,0%) и наименьшей в группе больных типичной хондросаркомой (16,7%). В группе больных хордомой кости частота прогрессирования составила 27,3%, в группе больных саркомой Юинга – 25,0%.

Другие клинические факторы не влияли значимо на отдаленные результаты лечения больных злокачественными новообразованиями костей.

Ранее нами было указано, что неблагоприятная G3 степень дифференцировки опухоли преобладала у большинства обследованных больных злокачественными опухолями костей, что не позволяло проанализировать ее связь с отдаленными результатами лечения в отдельных группах. В то же время, в группе больных типичной остеосаркомой кости при G1 степени дифференцировки опухоли показателей общей 3-летней выживаемости составил 100%, при G2 и G3 он не превышал 75% ($p>0,05$).

Кроме того, в группе больных типичной хондросаркомой кости при критерии распространенности T1 показатель 3-летней общей выживаемости составил 100%, при критерии T2 – $90,9\pm 8,7\%$, при критерии T3 – снижался до $33,3\pm 27,2\%$, (различия из-за малочисленности групп незначимы, $p=0,4$).

Не установлено связи отдаленных результатов лечения с типом пораженной опухолью кости скелета.

Общая выживаемость больных злокачественными новообразованиями костей с учетом концентрации sVISTA. В группе больных хордомой не установлено связи отдаленных результатов лечения с уровнями sVISTA в сыворотке крови, так как все пациенты были живы на этапе проведения исследования.

Только в группе больных типичной хондросаркомой кости статистически значимо худшие отдаленные результаты лечения отмечены при концентрациях sVISTA в сыворотке крови менее 1,0 нг/мл ($p=0,033$) (таблица 8). Следовательно, определение уровня sVISTA в сыворотке крови больных типичной хондросаркомой кости может уточнить общий прогноз заболевания.

Таблица 8. Общая выживаемость больных типичной хондросаркомой кости в зависимости от уровня sVISTA в сыворотке крови

sVISTA нг/мл	N	Умерло	Прогрес- сирование	Общая выживаемость (%)		
				1-летняя	2-летняя	3-летняя
≤1,0	13	3 (23,1%)	4 (30,8%)	100	66,7±19,2	44,4±22,2
>1,0	17	-	1 (5,9%)	100	100	100
P	p=0,033					

Подводя итоги анализа концентраций sVISTA в сыворотке крови здоровых доноров и больных новообразованиями костей выявили статистически значимо высокие исходные концентрации маркера у здоровых доноров по сравнению с общей группой больных новообразованиями костей. При этом, заметно низкие концентрации маркера обнаружены в общей группе больных новообразованиями костей женщин по сравнению с мужчинами. Кроме того, у больных опухолями костей выявлено снижение уровней маркера с увеличением возраста. Выявлена связь концентраций sVISTA с гистологическим строением опухоли: наименьшая медиана уровня маркера обнаружена у больных хордовой кости, наибольшая – у больных саркомой Юинга; различия медиан маркера в контроле и у больных хордовой кости были статистически значимы; медиана уровня sVISTA у пациентов с гигантоклеточной опухолью была статистически значимо ниже, чем у больных саркомой Юинга. Большой интерес для нас представлял анализ связи уровней sVISTA с основными компонентами контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1, растворимыми формами рецептора sPD-1 и его лиганда sPD-L1, а также лигандом sRANKL рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора NF-κB. При этом, у больных саркомами костей концентрации sVISTA не были связаны с уровнями sPD-L1 и sRANKL. Однако ассоциация sVISTA с sPD-1 в группе больных саркомой Юинга и хордовой кости, при поражении губчатых костей, а также крестца и ребер была значимой. Показано, что отдаленные результаты лечения больных саркомами костей связаны с гистологическим строением опухоли и только в группе больных хондросаркомой кости определение уровня sVISTA в сыворотке крови может уточнить общий прогноз заболевания.

ВЫВОДЫ

1. У всех обследованных больных злокачественными, пограничными опухолями костей и здоровых доноров (группа контроля) выявлена sVISTA в сыворотке крови, при этом медиана концентрации маркера была достоверно выше в контроле, чем у больных опухолями костей.

2. Обнаружена ассоциация уровней sVISTA с возрастом у здоровых доноров и больных опухолями костей, которая характеризовалась снижением концентрации маркера с увеличением возраста.

3. Сывороточные уровни sVISTA статистически значимо связаны с гистологическим строением, локализацией и типом опухоли: наименьшие уровни маркера обнаружены у больных хордовой кости, при опухолях большеберцовой и бедренной костей, крестца, при поражении губчатых костей скелета по сравнению с контролем, наибольшие – у пациентов с саркомой Юинга и злокачественными новообразованиями плечевой кости.

4. Выявлены статистически значимо высокие концентрации sVISTA в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей при IIb стадии, при критерии T2 и степени дифференцировки опухоли G2 по сравнению с контролем.

5. Статистически значимая зависимость выявлена между уровнями sVISTA и sPD-L1, sRANKL у больных саркомами костей в возрасте старше 40 лет, при хордоме, саркоме Юинга и поражении губчатых костей. При этом обнаружено статистически значимое различие концентраций sPD-L1 в группах больных опухолями костей с уровнями sVISTA менее и более 2 нг/мл.

6. Отдаленные результаты лечения больных саркомами костей определяют преимущественно морфологический вариант опухоли: наилучшая 3-летняя выживаемость отмечена при хрящобразующих опухолях – хордоме (100%) и типичной хондросаркоме ($76,3 \pm 12,7\%$), а наихудшая – при костеобразующей типичной остеосаркоме ($34,5 \pm 11,8\%$). Наиболее низкие показатели 3-летней общей выживаемости обнаружены при локализации опухоли в костях таза и нижних конечностей.

7. В группе больных типичной хондросаркомой кости обнаружено статистически значимое снижение общей 3-летней выживаемости при концентрации sVISTA $\leq 1,0$ нг/мл в сыворотке крови.

Практические рекомендации врачам

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

1. Определение уровня растворимой формы VISTA для прогноза выживаемости пациентов с типичной хондросаркомой. При значении концентрации sVISTA $\leq 1,0$ нг/мл 3-летняя общая выживаемость составляет $44,4 \pm 22,2\%$, а при уровнях маркера $> 1,0$ нг/мл 3-летняя общая выживаемость составляет 100%.

2. Целесообразно включить в программы повышения квалификации специалистов клинической лабораторной диагностики цикл лекций по проблеме диагностической и прогностической значимости сывороточных маркеров – ключевых точек иммунитета (sVISTA, sPD-L1, sRANKL).

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 sVISTA и уровня экспрессии VISTA в тканях опухоли у пациентов с первичными новообразованиями костей, а также анализ возможностей использования сывороточных уровней sVISTA 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. Герштейн, Е.С. Сравнительное исследование растворимых форм белков контрольных точек иммунитета VISTA, PD-1, PD-L1 и регулятора костного гомеостаза RANKL у больных опухолями костей / Е.С. Герштейн, Ю.Б. Кузьмин, А.А. Алферов, Е.А. Короткова, П.В. Царапаев, Н.Ю. Соколов, И.Н. Кузнецов, О.И. Вашкетова, Е.В. Козлова, О.О. Янушевич, И.В. Булычева, И.С. Стилиди, Н.Е. Кушлинский // Молекулярная медицина. – 2022. – Том 20. – № 6. – С. 25-32.

2. Кузьмин Ю.Б. Галектин-3 и белок контрольной точки иммунитета sVISTA в сыворотке крови больных опухолями костей / Ю.Б. Кузьмин, А.А. Алферов, П.Л. Прищеп, Е.А. Короткова, О.В. Ковалева, П.В. Царапаев, И.Н. Кузнецов, Н.Ю. Соколов, И.В. Булычева, Е.С. Герштейн, С.Р. Варфоломеева, И.С. Стилиди, Н.Е. Кушлинский // Клиническая лабораторная диагностика. – 2023. – Том 68. – № 2. – С. 74-80

3. Кушлинский, Н.Е. Клиническая и прогностическая значимость растворимой формы контрольной точки иммунитета VISTA у больных первичными опухолями костей / Н.Е. Кушлинский, О.В. Ковалева, Ю.Б. Кузьмин, Е.А. Короткова, Е.С. Герштейн, И.В. Булычева, Е.В. Козлова, Д.А. Кудлай, П.А. Подлесная, А.Н. Грачев, И.Н. Кузнецов, Е.А. Сушенцов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2021. – Том 66. – № 9. – С. 533-538.

4. 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.

Другие научные публикации

5. 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.

6. Алферов, А.А. 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.

7. Кузьмин, Ю.Б. Значимость растворимой формы контрольной точки иммунитета sVISTA у больных первичными опухолями костей в прогнозе заболевания / Ю.Б. Кузьмин, Е.А. Короткова, П.В. Царапаев, О.В. Ковалева, Е.А. Сушенцов, Н.Е. Кушлинский / В материалах научно-практических конференций в рамках VIII Российского конгресса лабораторной медицины (Москва, 6-8 октября 2022 г.) // М. – 2022. – С. 67.

8. Кузьмин, Ю.Б. Оценка прогностического потенциала sVISTA при первичных опухолях костей / Ю.Б. Кузьмин, О.В. Ковалева, А.Н. Грачев, Е.А. Сушенцов, И.В. Булычева / В материалах XXVII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «ЛАБОРАТОРНАЯ МЕДИЦИНА: ВКЛАД В БОРЬБУ С ПАНДЕМИЕЙ» (Москва, 4-6 апреля 2022 г.) Под редакцией профессора В.В. Долгова // М. – 2022. – С. 71.

9. Кузьмин, Ю.Б. Оценка уровней растворимой формы контрольной точки иммунитета VISTA в сыворотке крови больных новообразованиями костей с учетом пола / Ю.Б. Кузьмин, Е.А. Короткова, А.А. Алферов, П.В. Царапаев, О.В. Ковалева, Е.А. Сушенцов / В материалах конференции: «Опухолевые маркеры: фундаментальные и клинические исследования (2-6 августа 2022 г.) // Республика Алтай, Майминский район, с. Майма. – 2022. – С. 71-73.

10. Кузьмин, Ю.Б. Растворимая форма контрольной точки иммунитета VISTA у больных саркомами костей / Ю.Б. Кузьмин, Е.А. Короткова, О.В. Ковалева, И.Н. Кузнецов, Н.Ю. Соколов, Н.Е. Кушлинский / В материалах VI Всероссийской конференции по молекулярной онкологии

(Москва, 21-23 декабря 2021 г.) // Успехи молекулярной онкологии. – 2021. – С. 94-95.

11. Кузьмин, Ю.Б. Растворимая форма супрессора активации Т-клеток VISTA в сыворотке крови больных новообразованиями костей / Материалы научно-практических конференций в рамках VII Российского конгресса лабораторной медицины (19-21 октября 2021г. Москва) : сборник тезисов / Ю.Б. Кузьмин, Е.А. Короткова, Е.С. Герштейн, И.В. Булычева, Е.А. Сушенцов, Н.Е. Кушлинский, О.В. Ковалева // М.: Издательство «У Никитских ворот». – 2021. – С. 64-65.

12. Кушлинский Н.Е., Клиническая значимость растворимой формы контрольной точки иммунитета VISTA у больных первичными опухолями костей / Н.Е. Кушлинский, О.В. Ковалева, Ю.Б. Кузьмин, Е.А. Короткова, И.В. Булычева, Е.В. Козлова, Д.А. Кудлай, А.Н. Грачев, И.Н. Кузнецов, Е.А. Сушенцов // Материалы научно-практических конференций в рамках VII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2021). Сборник тезисов. 2021. С. 64-65.

13. Кушлинский, Н.Е. Растворимые формы рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 у больных первичными опухолями костей / Н.Е. Кушлинский, А.А. Алферов, Е.В. Козлова, И.Н. Кузнецов, И.В. Булычева, Ю.Б. Кузьмин, Н.Ю. Соколов, Е.А. Сушенцов / В материалах XXVI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Клиническая лаборатория: от аналитики к диагнозу» (Москва, 12-14 мая 2021 г.) // Клиническая лабораторная диагностика (приложение). – 2021. – Том 66. – № 4. – С. 36.

Список условных сокращений

- ВКМ – внеклеточный матрикс
- ГКО – гигантоклеточная опухоль кости
- ДОК, ДНК – доброкачественные опухоли костей
- ЗОК, ЗНК – злокачественные опухоли костей
- ОС – остеосаркома
- ПОК, ПНК – пограничные опухоли костей
- СЮ – саркома Юинга
- ХС – хондросаркома
- sRANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора NF-κB
- sPD-1 – растворимая форма рецептора программируемой клеточной гибели
- sPD-L1 – растворимая форма лиганда рецептора программируемой клеточной гибели