

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный
медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

НОВИК

Алексей Викторович

**ПЕРСОНАЛИЗАЦИЯ СИСТЕМНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ
У БОЛЬНЫХ СОЛИДНЫМИ ОПУХОЛЯМИ
НА ОСНОВЕ ОЦЕНКИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ**

3.1.6 – онкология, лучевая терапия

3.2.7 – аллергология и иммунология

Диссертация
на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:
Доктор медицинских наук
Светлана Анатольевна Проценко
Доктор медицинских наук, доцент
Ирина Александровна Балдуева

Санкт-Петербург – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	8
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	19
1.1. Практические аспекты оценки состояния иммунной системы: гипотезы исследования	20
1.1.1. Определение тактики лечения с учётом состояния иммунной системы	20
1.1.2. Состояние иммунной системы как основа для оценки эффективности терапии	23
1.1.3. Состояние иммунной системы и безопасность терапии	26
1.2. Методы оценки состояния иммунной системы	29
1.2.1. Оценка системного и локального иммунного ответа	29
1.2.2. Параметры, определяющие состояние иммунной системы	31
1.2.3. Интерпретация результатов иммунологических исследований у отдельно взятого больного	35
1.2.4. Интерпретация результатов иммунологических тестов в клинических исследованиях	37
1.3. Воспроизводимость результатов исследований иммунологических биомаркеров	40
1.3.1. Использование оценки состояния иммунной системы у онкологических больных в качестве предиктивных и прогностических факторов: систематический обзор	42
1.3.2. Состояние клеток неспецифического звена иммунной системы как фактор прогноза при злокачественных опухолях	47
1.3.3. Клеточные маркеры системного воспаления как фактор прогноза при злокачественных опухолях	49
1.3.4. Состояние Т-клеток как фактор прогноза при злокачественных опухолях	54
1.3.5. Состояние В-клеток как фактор прогноза при злокачественных опухолях	60
1.3.6. Использование комплексных оценок иммунного статуса для определения клинической тактики	62
1.4. Возможные нарушения в работе иммунной системы при опухолевом росте и их отражение в состоянии иммунной системы	63
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	66
2.1. Дизайн исследования	66
2.2. Оцениваемые параметры	68
2.3. Характеристика больных	73
2.4. Методы статистической обработки данных	80

ГЛАВА 3. ОЦЕНКА РЕЛЕВАНТНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ДАННЫХ И ФАКТОРОВ ПРОГНОЗА У БОЛЬНЫХ, ВКЛЮЧЁННЫХ В ИССЛЕДОВАНИЕ (РЕПРИЗА)	82
3.1. Эффективность адъювантной терапии меланомы	85
3.2. Эффективность паллиативной терапии меланомы	93
3.3. Эффективность паллиативной терапии сарком мягких тканей	101
3.4. Эффективность адъювантной терапии рака почки	106
3.5. Эффективность паллиативной лекарственной терапии рака почки	108
3.6. Оценка эффективности терапии больных колоректальным раком в исследовании РЕПРИЗА	110
3.7. Характеристика наблюдений в исследовании РЕПРИЗА: важные аспекты дальнейшего анализа	111
ГЛАВА 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ ОЦЕНОК ИММУННОГО СТАТУСА МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ – ИССЛЕДОВАНИЕ ВАСИЛИСА	112
4.1. Дизайн исследования и характеристика больных	112
4.2. Влияние вариабельности измерений на результаты анализа иммунологических показателей	115
4.3. Оценка вариабельности иммунологических показателей	116
4.4. Прогнозирование вариабельности изменений иммунологических показателей	121
4.5. Воспроизводимость результатов иммунологических исследований	125
ГЛАВА 5. РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЯХ	130
5.1. Частота отклонений иммунологических показателей от референсных значений	130
5.2. Сравнение частот отклонений в показателях иммунного статуса при различных заболеваниях и стадиях	134
5.3. Характеристика иммунологических синдромов	142
5.4. Частота встречаемости иммунологических синдромов у больных с различными заболеваниями и стадиями	155
5.5. Изменение иммунологических синдромов в динамике при повторных обследованиях	156
5.6. Анализ соответствий отдельных групп иммунологических синдромов	163
ГЛАВА 6. РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ В КАЧЕСТВЕ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ И ПРЕДИКТИВНЫХ ФАКТОРОВ	166

6.1. Методика оценки иммунологических показателей как прогностических и предиктивных факторов	166
6.2. Прогностическое и предиктивное значение иммунологических показателей у больных меланомой	173
6.2.1. Прогностическое и предиктивное значение уровня лейкоцитов	173
6.2.2. Прогностическое и предиктивное значение уровня лимфоцитов	174
6.2.3. Прогностическое и предиктивное значение уровня моноцитов	176
6.2.4. Прогностическое и предиктивное значение уровня нейтрофилов и показателей фагоцитарной активности лейкоцитов	178
6.2.5. Прогностическое и предиктивное значение уровня базофилов и эозинофилов у больных меланомой	179
6.2.6. Прогностическое и предиктивное значение уровня НК	181
6.2.7. Прогностическое и предиктивное значение уровня Т-лимфоцитов	183
6.2.8. Прогностическое и предиктивное значение уровня Th	186
6.2.9. Прогностическое и предиктивное значение уровня цитотоксических лимфоцитов	188
6.2.10. Прогностическое и предиктивное значение НКТ-клеток	189
6.2.11. Прогностическое и предиктивное значение общей экспрессии маркеров активации	191
6.2.12. Прогностическое и предиктивное значение активированных Th	195
6.2.13. Прогностическое и предиктивное значение активированных цитотоксических лимфоцитов	199
6.2.14. Прогностическое и предиктивное значение регуляторных Т-лимфоцитов	201
6.2.15. Прогностическое и предиктивное значение двойных позитивных и двойных негативных Т-лимфоцитов	206
6.2.16. Прогностическое и предиктивное значение наивных Т-лимфоцитов и клеток памяти	208
6.2.17. Прогностическое и предиктивное значение тестов функциональной активности Т-лимфоцитов	209
6.2.18. Прогностическое и предиктивное значение соотношения показателей иммунной системы	210
6.2.19. Прогностическое и предиктивное значение показателей В-клеточного звена иммунной системы	214
6.3. Прогностическое и предиктивное значение иммунологических показателей у больных почечноклеточным раком	218

6.3.1. Прогностическое и предиктивное значение основных фракций лейкоцитов и их соотношения у больных почечноклеточным раком	218
6.3.2. Прогностическое и предиктивное значение естественных киллеров и показателей фагоцитарной активности у больных раком почки	221
6.3.3. Прогностическое и предиктивное значение основных субпопуляций Т-лимфоцитов и их соотношений	222
6.3.4. Прогностическое и предиктивное значение экспрессии маркеров активации и тестов функциональной активности у больных почечноклеточным раком	224
6.3.5. Прогностическое и предиктивное значение регуляторных субпопуляций лимфоцитов у больных почечноклеточным раком	226
6.3.6. Прогностическое и предиктивное значение показателей В-клеточного звена иммунной системы	227
6.4. Прогностическое и предиктивное значение иммунологических показателей у больных саркомами мягких тканей	228
6.4.1. Прогностическое и предиктивное значение уровня показателей врождённой иммунной системы у больных саркомами мягких тканей	228
6.4.2. Прогностическое и предиктивное значение уровня Т-лимфоцитов у больных саркомами мягких тканей	231
6.4.3. Прогностическое и предиктивное значение уровня Th	232
6.4.4. Прогностическое и предиктивное значение уровня цитотоксических лимфоцитов у больных саркомами мягких тканей	233
6.4.5. Прогностическое и предиктивное значение активированных Th	234
6.4.6. Прогностическое и предиктивное значение субпопуляций лимфоцитов с регуляторными свойствами у больных саркомами мягких тканей	235
6.4.7. Прогностическое и предиктивное значение показателей В-клеточного звена иммунной системы	237
6.4.8. Прогностическое и предиктивное значение тестов функциональной активности Т-лимфоцитов и соотношения показателей иммунной системы	238
6.5. Прогностическое и предиктивное значение иммунологических показателей у больных колоректальным раком	239
6.5.1. Прогностическое и предиктивное значение показателей врождённой иммунной системы	239
6.5.2. Прогностическое и предиктивное значение показателей адаптивной иммунной системы	240

6.6. Прогностическое и предиктивное значение отдельных иммунологических синдромов	241
6.6.1. Роль иммунологических синдромов у больных меланомой	242
6.6.2. Роль иммунологических синдромов у больных почечноклеточным раком	248
6.6.3. Роль иммунологических синдромов у больных саркомами мягких тканей	249
ГЛАВА 7. ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В НАЧАЛЕ ТЕРАПИИ В КАЧЕСТВЕ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ И ПРЕДИКТИВНЫХ ФАКТОРОВ (ИССЛЕДОВАНИЕ АИСТ)	251
7.1. Материалы и методы исследования АИСТ	251
7.2. Частота изменений иммунологических показателей под воздействием отдельных видов лечения	253
7.3. Прогностическая и предиктивная роль изменений иммунологических показателей	256
7.3.1. Прогностическое и предиктивное значение изменения показателей врождённой иммунной системы	256
7.3.2. Прогностическое и предиктивное значение Т-клеточного звена иммунной системы	257
7.3.3. Прогностическое и предиктивное значение соотношения показателей иммунной системы	261
7.3.4. Прогностическое и предиктивное значение показателей В-клеточного звена иммунной системы	261
ГЛАВА 8. КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПАРАМЕТРОВ ИММУННОГО СТАТУСА В КАЧЕСТВЕ ФАКТОРОВ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ В КОНТЕКСТЕ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУННОГО ОТВЕТА	262
8.1. Контуры управления иммунным ответом	262
8.2. Нарушение распознавания опухоли: точка приложения методов усиления презентации антигена	264
8.3. Роль механизмов контроля иммунного ответа в развитии противоопухолевого ответа.....	266
8.3.1. Роль моноцитов в противоопухолевом иммунном ответе	266
8.3.2. Общая оценка Th и маркеров активации: возможность использования для прогнозирования эффективности терапии	267
8.3.3. Роль Treg в качестве предиктора ответа на лечение	271
8.3.4. Роль НКТ-клеток в качестве предиктора ответа на лечение	273
8.3.5. Косвенные методы оценки иммуносупрессии: роль сниженного уровня Т-лимфоцитов	274

8.3.6. Косвенные методы оценки иммуносупрессии: созревание Т-лимфоцитов	275
8.4. Поляризация иммунного ответа – ключевой механизм выбора типа ответа	277
8.4.1. Роль основных эффекторов противоопухолевого иммунного ответа	277
8.4.2. Роль В-клеточного иммунного ответа и второго типа поляризации	279
8.4.3. Неспецифическая стимуляция и дезорганизация иммунной системы в противоопухолевом иммунном ответе	281
8.5. Противоречивое прогностическое значение иммунологических показателей: роль опухоли и терапии	283
8.6. Комплексная оценка состояния иммунной системы	287
ГЛАВА 9. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ НА ГОРИЗОНТЕ ТРЁХ МЕСЯЦЕВ НА ОСНОВАНИИ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ	290
9.1. Описание полученных прогностических моделей	292
9.2. Определение клинической значимости полученных моделей	297
9.2.1. Определение прогностической значимости модели	297
9.2.2. Оценка подбора терапии на основании результатов прогнозирования в модели	303
9.2.3. Оценка использования модели для определения нестандартных ответов на лечение	304
9.2.4. Определение возможности использования модели для раннего возобновления или смены терапии на фоне ответа на лечение	305
9.2.5. Оценка использования модели для определения возможности прекращения терапии	307
ГЛАВА 10. ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ	311
ВЫВОДЫ	323
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	325
ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	326
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	327
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	330

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Лечение злокачественных опухолей, особенно при распространённых стадиях заболевания, представляет труднорешаемую проблему. В настоящее время становится очевидным, что методы химиотерапии, равно как и воздействие на различные внутриклеточные сигнальные пути с помощью таргетных препаратов, не позволяют достигнуть длительного сохранения полученных лечебных эффектов и требуют постоянного продолжения лечения. Причиной такой ограниченной эффективности является гетерогенность и эволюция опухолевых процессов в организме человека [1]. Внутри одной нозологической формы могут быть выделены отдельные группы больных, характеризующиеся принципиально разным течением заболевания. Даже в пределах одного опухолевого очага существует высокая гетерогенность опухолевых клеток, характеризующихся различными генетическими нарушениями [2-4]. Развитие опухолевого процесса в динамике ещё более усложняет картину и усиливает разнообразие возможных нарушений, требующих коррекции.

В последнее время достигнуты существенные успехи в области иммунотерапии злокачественных новообразований [5-7]. Показана возможность увеличения продолжительности жизни больных различными солидными опухолями при применении клеточных технологий (противоопухолевые вакцины, клоны Т-лимфоцитов, НК-клеток), моноклональных антител (антитела к EGFR, HER2, VEGF, CD20, CTLA4, PD-1, PD-L1 и др.), цитокинов (интерферон-альфа, интерлейкин-2) [8]. Принципиально важными достижениями являются прорыв в лечении диссеминированной меланомы благодаря воздействию исключительно на клетки иммунной системы с помощью ипилимумаба и открытие анти-PD1-терапии, послужившее основанием для присуждения Нобелевской премии по медицине за 2018 год Д. Аллисону из США и представителю Японии Т. Хондзе. Применение данных видов лечения приводит к достижению длительных ответов у отдельных больных, что позволяет надеяться на излечение злокачественных опухолей даже на поздних стадиях болезни.

Однако новые подходы к лечению ставят ряд проблем, требующих разрешения для успешного проведения данных лечебных методов. В первую очередь это проблема отбора пациентов. Гетерогенность популяции больных, несмотря на, казалось бы, равные диагнозы и стадии болезни, очень велика, что обусловлено эволюцией опухоли с течением времени [1; 9]. Вместе с тем выявляемые изменения иммунной системы часто оказываются схожими при разных локализациях злокачественных новообразований [10]. Это позволяет предположить, что иммунологические нарушения могут не зависеть от локализации первичной опухоли, но

определяться дефектом в том или ином звене иммунной системы [10; 11]. Такие нарушения в конечном итоге могут определять эффективность разных видов лекарственной терапии.

Другим важным аспектом современной противоопухолевой иммунотерапии является адекватная оценка эффективности однотипно проводимого лечения как в целом в группе пациентов, так и у каждого конкретного больного. Применение современных средств иммунотерапии выявило возможность позднего развития эффекта лечения и наличие особых типов ответа на лечение [12]. Кроме того, феномен иммунологической памяти [13] позволяет предположить возможность длительного влияния иммунотерапевтических средств на контроль за течением опухолевого процесса. В настоящее время учёт таких результатов затруднителен, что может приводить к отмене высокоэффективной терапии. С другой стороны, известно много случаев повышения качества лечения при сочетанном использовании цитостатиков, лучевой терапии и иммунотерапии [14]. Описано влияние каждого из существующих на сегодняшний день методов лечения злокачественных опухолей на иммунную систему. Можно предположить, что учёт данных влияний позволит оптимизировать не только выбор метода или комбинации лечебных воздействий, но и адаптивно менять подходы к лечению в зависимости от ответа больного на терапию и вносить коррективы до формальной оценки эффекта на основании размеров опухолевых очагов [15].

Таким образом, использование оценки состояния иммунной системы для решения клинических задач назначения и проведения противоопухолевой терапии представляется важной научно-практической проблемой, не имеющей разработанного практического решения на сегодняшний день. Для решения этой проблемы и предполагается проведение данного диссертационного исследования.

Степень разработанности темы

Изучение взаимосвязи иммунной системы и злокачественной опухоли началось практически сразу после открытия самой иммунной системы [13; 16]. Несмотря на эффективность различных терапевтических подходов, могут быть выделены больные с первичной и вторичной резистентностью к лечению [17]. Кроме того, существенно изменились сами представления об ответе, позволяющие выделить феномены гиперпрогрессирования и псевдопрогрессирования [18]. Таким образом, очевидна необходимость определения биомаркеров, позволяющих индивидуализировать лечебную тактику у больных.

Несмотря на длительные поиски подобных решений и немалое число исследований, свидетельствующих о взаимосвязи изменений в иммунной системе практически с любым видом противоопухолевой терапии, оценка иммунологических параметров до сих пор не является

частью рекомендаций по ведению онкологических больных. Практическое использование накопленных знаний о взаимодействии опухоли и иммунной системы затрудняется обилием возможных параметров, характеризующих последнюю. Таким образом, необходим поиск новых решений для трансляции информации о состоянии иммунной системы в алгоритмы принятия решений при ведении конкретного пациента.

Цель

Улучшение результатов лечения больных солидными опухолями путём использования оценки состояния иммунной системы при планировании и проведении системной противоопухолевой терапии.

Задачи

1. Провести анализ релевантности включённых в исследование больных меланомой, саркомами мягких тканей, раком почки и колоректальным раком, получавших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России за тридцатилетний период, на основании оценки показателей эффективности противоопухолевого лечения.

2. Оценить роль иммунологического механизма действия препаратов, вида терапии, подтипа опухоли и достигнутого эффекта терапии в качестве динамических прогностических и предиктивных маркеров у больных меланомой, раком почки, саркомами мягких тканей.

3. Оценить состояние иммунной системы у больных различными типами солидных опухолей (меланома кожи, рак почки, саркомы мягких тканей, колоректальный рак).

4. Изучить вариабельность измерений основных субпопуляций лимфоцитов (Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, цитотоксических лимфоцитов, НК-клеток, НКТ-клеток, регуляторных Т-лимфоцитов) и её влияние на результаты статистического анализа.

5. Определить ключевые показатели иммунной системы, позволяющие формировать иммунологические синдромы у больных меланомой, раком почки, саркомами мягких тканей и колоректальным раком.

6. Установить предиктивное и прогностическое значение иммунологических показателей (фракций лейкоцитов, субпопуляций лимфоцитов, функциональных тестов активности иммунной системы, уровней иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов) и отдельных иммунологических синдромов при использовании различных видов терапии у больных меланомой, раком почки и саркомами мягких тканей.

7. Разработать способ индивидуализации противоопухолевого лечения с использованием иммунологических показателей.

Научная новизна исследования

Дана оценка эффективности различных методов лечения меланомы, сарком мягких тканей, рака почки и колоректального рака в условиях реальной клинической практики.

Показано влияние методов усиления презентации антигена на выживаемость больных раком почки при использовании их в качестве адъювантной терапии.

Впервые проведена оценка вариабельности измерений иммунологических параметров у онкологических больных и её значения для оценки результатов исследований. Определены факторы, влияющие на вариабельность. На основании полученных данных создан способ прогнозирования вариабельности измерений (патент на изобретение № 2720411, приоритет от 23.12.2019).

Установлена высокая распространённость иммунологических нарушений у онкологических больных и дана их характеристика. Определена частота отклонений в показателях иммунного статуса у больных злокачественными опухолями, в том числе у пациентов с первично-множественными опухолями.

Охарактеризована частота и значимость изменений показателей иммунной системы на разных этапах лечения больных меланомой, раком почки, колоректальным раком и саркомами мягких тканей.

Дана характеристика динамических маркеров выживаемости, отражающих текущее состояние иммунной системы (субпопуляции иммунных клеток и их соотношение, иммунологические синдромы) у больных меланомой, раком почки, саркомами мягких тканей. Показано, что динамические маркеры, оценённые на фоне терапии, могут иметь противоположное влияние на выживаемость по сравнению с теми же показателями, оценка которых была проведена до лечения. Доказана возможность разного прогностического значения абсолютных и относительных значений одного показателя в многофакторных моделях выживаемости, что требует их отдельного учёта и анализа в последующих исследованиях.

Подтверждена индивидуальность отклонений показателей иммунного статуса при комплексной оценке состояния иммунной системы у больных злокачественными опухолями.

Показаны качественные и количественные различия в показателях ИС в периферической крови между отдельными злокачественными опухолями, их влияние на течение заболевания и эффективность лечения.

Дана комплексная оценка состояний иммунной системы и выделены основные группы иммунологических синдромов при развитии злокачественной опухоли.

Создана модель прогнозирования течения заболевания на горизонте 3 мес. с учётом клинических и иммунологических факторов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Определены референсные параметры эффективности терапии для планирования будущих клинических исследований. Подтверждено ухудшение результатов лечения больных меланомой с применением адъювантной химиотерапии. Показаны преимущества комбинированной химиотерапии сарком мягких тканей перед монокимиотерапией в условиях реальной клинической практики при учёте значимых факторов прогноза.

Разработанная система прогнозирования variability иммунологических изменений представляет собой инструмент для оценки клинической значимости различий, выявленных при оценке иммунного статуса как у одного больного во время последовательно оцениваемых результатов лабораторного анализа в клинической практике, так и в анализируемых группах пациентов в клинических исследованиях и систематических обзорах.

Отклонения в иммунологических показателях и иммунологические синдромы, определённые в работе, демонстрируют различия в иммунном патогенезе злокачественных новообразований и их отличительные признаки в изменённом состоянии ИС не только при разных типах солидной опухоли, но и при разных стадиях заболевания, что отражает гетерогенность течения опухолевого процесса. Выявленные различия при использовании параметров иммунного статуса в качестве предиктивных факторов позволяют выделить группы больных с определёнными иммунологическими нарушениями и синдромами, получающих максимальную пользу от таргетного иммунологического воздействия, и определить направления дальнейшего поиска новых методов воздействия для пациентов с неблагоприятным прогнозом, определённым с учётом состояния их иммунной системы.

Проведённая в исследовании оценка различных классификаций иммунологических синдромов и их сопряжённости способствовала выявлению трёх основных классов подобных отклонений, что позволяет структурировать и детализировать их дальнейшее изучение, произвести оценку изменений в динамике и использовать для разработки адаптивных подходов к персонализированной терапии злокачественных опухолей. Определён минимальный перечень параметров, характеризующих состояние иммунной системы. Подтверждена важность учёта как абсолютных, так и относительных значений показателей при анализе состояния иммунной системы. Выявленная роль компонентов врождённой иммунной системы даёт основание для разработки таргетных методов воздействия на эти компоненты с целью создания новых методов противоопухолевого лекарственного лечения. Показана возможность использования динамических маркеров для определения тактики лечения в процессе терапии. Адаптивная система оценки состояния ИС в процессе лечения открывает новое направление использования технологий машинного обучения в разработке риск-адаптированных и комплексных стратегий

воздействия на иммунную систему для увеличения эффективности стандартной терапии, достижения стойкого и длительного безрецидивного периода, увеличения общей выживаемости онкологических больных. Разработанная в ходе работы модель прогнозирования прогрессирования процесса в течение 3 мес. позволяет эффективно и многократно оценивать прогноз у пациентов, получающих различные виды терапии и выделять группы больных с благоприятным и неблагоприятным прогнозом. Это способствует своевременному переходу на новый вид лечения, не дожидаясь клинического ухудшения, что может существенно увеличить эффективность последующей линии терапии. Также результаты системы прогнозирования предоставляют объективную информацию для принятия решения о завершении или продолжении лечения (прежде всего, иммунотерапии).

Методология и методы исследования

Объектом исследования было изучение состояния иммунной системы у больных меланомой, почечноклеточным раком, саркомами мягких тканей и колоректальным раком, проведённое до, во время и после окончания лекарственного лечения. Это результаты нескольких проспективных и наблюдательных программ. Изучались частота отклонений иммунологических параметров от референсных значений, её связь с заболеванием и его стадией, роль качественных (относительно референсных значений) и количественных оценок иммунологических параметров, как факторов прогноза эффективности терапии. Эффективность противоопухолевой терапии определялась путём оценки частоты объективного ответа на лечение по системе RECIST 1.1, показателей времени до прогрессирования и общей выживаемости. Для определения прогностической и предиктивной роли факторов использовались методы семейства Хи-квадрат и метод пропорциональных рисков Кокса. Изучалась связь между иммунологическими показателями методом кластерного анализа. Были проведены оценки различных классификаций и анализ соответствий для выявления основных синдромов иммунологических нарушений. Для использования полученных в исследовании результатов в клинической практике методами машинного обучения (Random Forest) была построена модель прогнозирования прогрессирования онкологического заболевания на горизонте 3 мес. Оценка влияния результатов модели на показатели выживаемости проводилась с использованием метода Каплана–Майера.

Положения, выносимые на защиту

1. Эффективность лекарственной терапии больных меланомой, раком почки, саркомами мягких тканей и колоректальным раком, получавших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии

им. Н.Н. Петрова» Минздрава России в период с 1998 по 2017 год, соответствует результатам реальной клинической практики и уступает результатам регистрационных исследований. Относительная эффективность методов остаётся неизменной.

2. При динамической оценке выживаемости особенности иммунологического действия препаратов являются важными независимыми параметрами в многофакторных моделях общей выживаемости и времени до прогрессирования наряду со стадией и прогностической группой заболевания, наличием мутаций, гистологическим подтипом опухоли, видом терапии и линией лечения.

3. Нарушения в работе иммунной системы – это частая проблема у онкологических больных, которая оказывает влияние на течение заболевания и эффективность терапии. Профили иммунологических нарушений и их значимость отличаются при различных типах злокачественных опухолей и стадиях заболевания.

4. Вариабельность измерений основных субпопуляций лимфоцитов влияет на результаты оценок состояния иммунной системы в динамике (зависимые наблюдения), но не оказывает существенного влияния на сравнения отдельных групп пациентов в один момент времени (независимые наблюдения). Вариабельность может быть спрогнозирована на основании размера популяции и характера оцениваемого показателя.

5. Отклонения лабораторных показателей иммунной системы онкологических пациентов могут быть объединены в отдельные иммунологические синдромы. Основными компонентами синдромов являются показатели активации и супрессии иммунной системы. Для их оценки достаточным является использование иммунологических тестов первого уровня (лимфоциты, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, NK-клетки, Th, цитотоксические лимфоциты).

6. Иммунологические параметры являются важными независимыми факторами прогнозирования выживаемости больных и эффективности терапии.

7. Совместное использование клинических и лабораторных иммунологических факторов позволяет прогнозировать прогрессирование в ближайшие 3 мес. с точностью в 80% и может быть использовано для определения лечебной тактики у больных меланомой кожи, саркомами мягких тканей и раком почки.

Степень достоверности и апробация результатов

Результаты диссертационного исследования достоверны и обоснованы, что обеспечивается достаточным объёмом материала (в исследовании использованы 3040 оценок состояния иммунной системы у 558 больных), проверкой гипотез с использованием различных методов анализа и конечных точек наблюдения, применения адекватных методов

статистического анализа данных. Результаты работы были представлены в докладах на различных форумах: VIII съезд онкологов и радиологов СНГ и Евразии (16–18 сентября 2014, Казань, РФ), Международная конференция «Perspectives in Melanoma XVIII» (19–20.09.2014, Дублин, Ирландия), XVIII Eurasian Oncopathology Seminar «Melanoma & Skin Tumors» (10–12.10.2014, Суздаль, РФ), Конференция «Современные взгляды на лечение больных меланомой кожи» (24.10.2014, Санкт-Петербург, РФ), XVIII Российский онкологический конгресс (11–13.11.2014, Москва, РФ), Научно-практическая конференция «Рациональная фармакотерапия в онкологии на современном этапе» (02.04.2015, Санкт-Петербург, РФ), Первый российский научно-образовательный форум с международным участием «Белые ночи – 2015» (08–10.06.2015, Санкт-Петербург, РФ), IV Eurasian Melanoma & Skin Tumors Forum (13.09.2015, Суздаль, РФ), 11th EADO Congress and 8th World meeting of interdisciplinary melanoma/skin cancer centers (28–31.10.2015, Marseille, France), V Eurasian Melanoma & Skin Tumors Forum (26.03.2016, Суздаль, РФ), II Петербургский онкологический форум «Белые ночи – 2016» (22–24.06.2016), BIT's Annual World Cancer Congress (15–16.05.2016, Шанхай, Китай), IX Съезд онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (15–17.06.2016, Минск, Беларусь), Международная научно-практическая конференция «Современные технологии в диагностике и лечении онкологических заболеваний» (13–14 сентября 2016, Иркутск, РФ), Научно-практическая школа «Меланома кожи: современная диагностика и лечение» (22–23.09.2016, Санкт-Петербург, РФ), Научно-практическая школа-конференция «Иммунология в клинической практике» (18.10.2016, Красноярск, РФ), XX Российский онкологический конгресс (16.11.2016, Москва, РФ), Конференция «Вузовская наука. Инновации. 2017» (06–07.02.2017, Москва, РФ), Конференция RUSSCO «Меланома» (08.04.2017, Москва, РФ), Научно-практическая конференция «Вопросы диагностики и лечения меланомы и опухолей кожи» (14–15.04.2017, Москва, РФ), Научно-практическая конференция «Вопросы диагностики и лечения меланомы и опухолей кожи» (14–15.04.2017, Москва, РФ), Научно-практическая школа «Современная лекарственная терапия меланомы кожи» (15.05.2017, Санкт-Петербург, РФ), III Петербургский международный онкологический форум «Белые ночи 2017» (23–25.06.2017, Санкт-Петербург, РФ), Конгресс ESMO (08–12.09.2017, Мадрид, Испания), Конференция «Актуальные вопросы иммунотерапии солидных опухолей» (22–23.09.2017, Санкт-Петербург, РФ), Конференция «Иммуноонкология – новая эра в терапии онкологических заболеваний» (23.03.2017, Челябинск, РФ), Конференция «Иммунология в клинической практике» (22.10.2017, Красноярск, РФ), Научно-практическая конференция «Комбинированное лечение меланомы кожи: современный взгляд» (26–27.04.2018, Санкт-Петербург), Научно-практическая школа «Современные подходы к иммунотерапии меланомы» (17.05.2018, Москва, РФ),

Конференция «Меланома и опухоли кожи» (18–19.05.2018, Москва, РФ), 8th European Post-Chicago Melanoma/Skin Cancer Meeting (28–29.06.2018, Мюнхен, Германия), Научно-практическая конференция «Актуальные вопросы иммунотерапии солидных опухолей» (22.09.2018, Санкт-Петербург, РФ), Конференция «Иммунология в клинической практике» (25.10–01.11.2018, Красноярск, РФ), VII межрегиональная научно-практическая конференция «Клеточные технологии – практическому здравоохранению» (06.12.2018, Екатеринбург, РФ), Конференция «Три кита клинической онкологии: химиотерапия, таргетная терапия, иммунотерапия...» (28.03.2019, Санкт-Петербург, РФ), Международная конференция «Progressing Individualized Treatment Strategies in Melanoma» (PRISM, 2019) (17.05.2019, Москва, РФ), Конгресс «Меланома и опухоли кожи» (17–18.05.2018, Москва, РФ), V Петербургский международный онкологический форум «Белые ночи 2019» (20–23.06.2019, Санкт-Петербург, РФ), Объединённый иммунологический форум (27.06.2019, Новосибирск, РФ), Научно-практический семинар «Актуальные вопросы иммунотерапии солидных опухолей» (20–21.09.2019, Санкт-Петербург, РФ), Пятая научно-практическая школа-конференция «Аллергология и клиническая иммунология для практикующих врачей» (1–6.10.2019, Сочи, РФ), Научно-практический семинар «Современные подходы к диагностике и лечению меланомы кожи» (20–21.02.2020, Санкт-Петербург, РФ), Всероссийский онкологический онлайн-марафон (27–29.05.2020, Москва, РФ), VI Петербургский международный онкологический форум «Белые ночи» (25–28.06.2020, Санкт-Петербург, РФ), Конференция RUSSCO «Иммуноонкология» (9–10.06.2020, Москва, РФ), Научно-практическая конференция «Три кита противоопухолевой терапии: принципы и лечение» (27–29.08.2020, Санкт-Петербург, РФ), Научно-практический семинар «Актуальные вопросы иммунотерапии солидных опухолей» (17–18.10.2020, Санкт-Петербург, РФ), Шестая научно-практическая конференция «Аллергология и клиническая иммунология» (01–06.10.2020, Сочи, РФ), Ежегодная конференция Ассоциации специалистов по проблемам меланомы «Меланома и опухоли кожи» (15.10.2020, Москва, РФ), Научно-практическая конференция «IV ежегодная конференция «Эволюция лекарственной терапии злокачественных опухолей: гормонотерапии, химиотерапии, таргетной терапии и иммунотерапии» с международным участием (03–04.12.2020, Санкт-Петербург, РФ), Научно-практическая конференция «Современные подходы к диагностике и лечению меланомы кожи» (01–02.04.2021, Санкт-Петербург, РФ), Научно-практическая конференция «Онкология будущего» (12–14.05.2021, Санкт-Петербург, РФ), Конференция RUSSCO «Иммуноонкология» (9–10.04.2021, Москва, РФ), Ежегодная конференция Ассоциации специалистов по проблемам меланомы «Меланома и опухоли кожи» с международным участием (21–22.05.2021, Санкт-Петербург, РФ), ASCO Annual Meeting (4–

6.06.2021, on-line). VII Петербургский международный онкологический форум «Белые ночи» (21–27.06.2021, Санкт-Петербург, РФ), Научно-практическая конференция «Три кита противоопухолевой терапии: принципы и лечение» (30.09–01.10.2021, Санкт-Петербург, РФ), Седьмая научно-практическая школа-конференция с трансляцией в интернет «Аллергология и клиническая иммунология» (1–7 октября 2021 года, Сочи, РФ), XXV Российский онкологический конгресс (09–11.11.2021, Москва, РФ), Научно-практическая конференция с международным участием «Современные аспекты реабилитации иммунной системы» (03.12.2021, Красноярск, РФ).

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в клиническую и научную практику научного отдела онкоиммунологии и отделения противоопухолевого лекарственного лечения (ранее – отделения химиотерапии и инновационных технологий) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (акты о внедрении от 17.01.2020, 10.03.2020, 02.06.2020, 07.09.2020), лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера (акт о внедрении с 01.01.2021), института молекулярной биологии и генетики Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт о внедрении от 15.12.2021), клиники иммунологии Общества с ограниченной ответственностью «Институт клинической иммунологии» (акт о внедрении с 01.01.2021), Краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского» (акт о внедрении с 01.01.2021). Результаты диссертационной работы используются в образовательной деятельности кафедры онкологии, детской онкологии и лучевой терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт о внедрении от 06.05.2022).

Личное участие автора в получении результатов

Автором самостоятельно проведены основные этапы диссертационного исследования – сформулированы цель, задачи, проведено планирование исследования (включая разработку и выбор групп пациентов, определение метода анализа, перечня стандартных и изучаемых

параметров, разработаны протоколы клинических проспективных исследований). Получен патент на изобретение, связанный с методикой непосредственного анализа результатов иммунологических исследований – № RU 2720411 «Способ определения значимости различий результатов измерения субпопуляции лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии». Автор непосредственно участвовал в обследовании и лечении больных, оценивал состояние иммунной системы, контролировал эффективность терапии, планировал последовательные линии системного лечения, участвовал в долговременном наблюдении за больными, сборе клинических и иммунологических данных, необходимых в исследовании. Автором создана система регистрации данных и их валидации, получено свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2020612107 «Доступ к базе данных больных, биологических образцов и научных данных (ББОНД-Д)». Автором лично проведена статистическая обработка результатов исследований, анализ полученных результатов и их обобщение, подготовлен иллюстративный материал, описывающий результаты исследования. Самостоятельно проведён систематический обзор, анализ данных отечественной и зарубежной литературы.

Соответствие содержания исследования научным специальностям

Диссертация на тему «Персонализация системной лекарственной терапии у больных солидными опухолями на основе оценки иммунологических показателей», представленная на соискание учёной степени доктора медицинских наук, соответствует научным специальностям: 3.1.6 – онкология, лучевая терапия; 3.2.7 – аллергология и иммунология.

Публикации

Основное содержание работы изложено в 132 печатных работах, из них 47 статей в рецензируемых научных изданиях, в том числе 19 статей, входящих в международные базы данных. Получен один патент на изобретение РФ, два свидетельства о регистрации баз данных, одно свидетельство о регистрации программы для ЭВМ. Подготовлено пять учебных и учебно-методических пособий для обучающихся в системе высшего и дополнительного профессионального образования.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 366 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение, выводы, практические рекомендации, список литературы, который содержит 404 источника, в том числе 343 на английском языке. Диссертация иллюстрирована 76 рисунками и 22 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Иммунотерапия, являясь одним из самых старых методов системной противоопухолевой терапии, в последнее время переживает новый подъём, связанный с разработкой ряда новых и перспективных подходов к лечению злокачественных опухолей. Эти достижения во многом основаны на новом понимании работы как самой иммунной системы (ИС), так и влияния на неё различных терапевтических воздействий [19]. В настоящее время ИС рассматривается как одна из ведущих систем регуляции организма, никак не уступающая в этом отношении нервной и эндокринной системам [13]. Её взаимодействие с опухолью носит выраженный дуалистический характер. Согласно концепции иммуноредатирования злокачественного опухолевого процесса, описанного R.D. Schreiber с соавт. [20], предполагается три фазы развития взаимоотношений опухоли и иммунной системы: элиминация, равновесие и ускользание.

На первой фазе – фазе элиминации – ИС может уничтожить практически любую опухоль. Несмотря на происхождение опухоли из организма и общность многих антигенов, практически в любой опухоли присутствует значительное число неоантигенов. Даже в самой малоиммуногенной опухоли их обнаруживается около 100. В наиболее иммуногенных опухолях их число на несколько порядков выше [21]. Тем не менее изменчивость опухоли и селекция клонов под воздействием ИС позволяют злокачественным клеткам накапливать мутации и переходить к следующим фазам взаимодействия.

На второй фазе – фазе равновесия – ИС может сдерживать опухолевый рост, но не в силах уничтожить все злокачественные клетки. Такое состояние равновесия, которое может длиться годами, является фактически минимально необходимым для достижения противоопухолевого эффекта. Устойчивый переход к этому или предшествующему состоянию и является целью всей иммунотерапии.

На третьей фазе – фазе ускользания – опухоль приобретает механизмы эффективной защиты от ИС [14] и, соответственно, способность к неограниченному росту. Интересно отметить, что на этой фазе сама ИС может поддерживать опухолевый рост, что было показано в ряде экспериментальных работ. Таким образом, в фазе ускользания опухоль приобретает некоторый контроль над ИС и становится её регулятором, тогда как последняя подчас работает как необходимый фактор роста.

Подобный процесс происходит при любом онкологическом заболевании. Соответственно, при воздействии на него с целью смещения баланса в сторону элиминации опухоли эффект будет зависеть не столько от самой опухоли, сколько от характера иммунологических отношений между опухолью и ИС у конкретного больного. Трудно себе представить

изолированный эффект любого воздействия на противоопухолевый иммунный ответ. Однако результирующий эффект терапии может зависеть от точки приложения лечебного действия. Мы считаем целесообразным объединение общих по механизму противоопухолевого действия противоопухолевых препаратов в следующие группы [22]:

- методы усиления презентации антигена (вакцины, генотерапия);
- методы модуляции активности иммунного синапса (ингибиторы CTLA-4, PD-1, PD-L1);
- методы воздействия на кинетику иммунных процессов (цитокины, неспецифические иммуномодуляторы);
- адаптивная терапия (клеточная, гуморальная);
- методы устранения иммуносупрессирующих факторов (эфферентная терапия);
- методы воздействия на опухоль с последующей активацией/индукцией иммунного ответа (виротерапия, физические методы, локальная терапия).

1.1. Практические аспекты оценки состояния иммунной системы:

гипотезы исследования

1.1.1. Определение тактики лечения с учётом состояния иммунной системы

Накопленный опыт применения эффективной иммунотерапии при разных злокачественных опухолях позволяет выделить три варианта проявления эффекта такого подхода в сравнении с химиотерапевтическим лечением [17]. Первый вариант заключается в быстром развитии эффекта с последующим формированием плато на определённом уровне. При этом, несмотря на начальный эффект, значительная доля больных все-таки прогрессирует, тогда как другая часть может быть вылечена. Менее благоприятными сценариями являются ситуации, когда наблюдается только поздний эффект в виде плато, которое образуется за счёт длительного ответа на лечение, тогда как существенная доля пациентов ничего не выигрывает от иммунотерапии по сравнению со стандартным лечением. При наиболее спорном эффекте лечения иммунотерапия оказывает худший эффект на ранних сроках наблюдения, однако обладает существенными преимуществами в отсроченной перспективе [17].

В соответствии с наблюдаемыми закономерностями эффектов иммунотерапии, можно выделить три популяции больных: с первичной резистентностью, для которых применение иммунотерапии является не только не нужным, но, возможно, и вредным; со вторичной резистентностью, для которых целесообразно использование комбинированных подходов; и пациентов, для которых применение одного вида терапии приведёт к излечению.

На сегодняшний день не существует способов эффективного выделения этих групп пациентов [17]. Ведутся усиленные попытки выявления иммунологических маркеров в тканях,

например – экспрессия PD-L1. Тем не менее диагностическая ценность данного маркера оставляет желать лучшего [23]. Он не позволяет полностью разделить пациентов на вышеуказанные группы. Дополнительные параметры, которым придаётся большое значение, изучаются в нескольких направлениях. Это молекулярно-генетические профили экспрессии иммунных генов, микробиота кишечника, наличие и характер мутаций в опухоли [23; 24]. Однако все эти маркеры, с иммунологической точки зрения, описывают вероятность одного и того же события – успешного преодоления первого этапа развития противоопухолевого иммунного ответа. Ведь для модуляторов иммунного синапса (МИС) показано, что эффект зависит от количества и возможности образования новых клонов иммунных клеток на неоантигены [25]. Соответственно, речь идёт об индукции разнообразного адаптивного иммунного ответа на антигены, сходные с опухолевыми, который обеспечивается именно на этапе презентации антигена. Другие методы противоопухолевой терапии, например – вакцины, воздействующие именно на этот этап работы иммунной системы, напротив не эффективны при наличии предсуществующего иммунного ответа [26]. Таким образом, мы можем предположить, что разные состояния ИС будут требовать разных воздействий для достижения успеха терапии.

Исходя из описанных выше событий, при развитии противоопухолевого иммунного ответа могут быть выдвинуты предположения о различной иммунологической картине нарушений каждого из этапов развития противоопухолевого иммунного ответа. С учётом накопленного опыта проведения таргетной терапии (ТТ) известно, что наиболее эффективным является воздействие именно на наиболее повреждённую точку в работе сложной системы. Экстраполируя эти предположения на межклеточные взаимодействия и ИС в целом, можно предположить, что препараты с определённой точкой приложения будут наиболее эффективны при конкретном виде иммунологических нарушений. Эффективность терапии с применением каждого из классов средств в этом случае объяснятся характером иммунологических изменений в патогенезе того или иного заболевания, т.е. наличием определённого иммунологического синдрома.

Выше мы уже отмечали, что и опухоль, и ИС являются динамически изменяющимися сущностями. При этом некоторые исследования свидетельствуют о возможности значительного колебания показателей, особенно вторичных (различных отношений) в процессе наблюдения [27]. В таком случае вопрос состояний ИС приобретает дополнительный аспект. Если предположить наличие ряда стабильных состояний ИС, то встаёт вопрос, являются ли они постоянными у одного больного, т.е. отражающими особенности его реагирования в целом, или они являются функционально изменяющимися в процессе лечения. В первом случае достаточно однократной оценки состояния ИС, тогда как второй подход требует повторных измерений.

При этом важным становится момент оценки. Ведь известно, что на состояние ИС влияет масса параметров, которые могут внести определённые смещения и повлиять на результат анализа.

Определение самого эффекта и разделение пациентов на группы с благоприятным и неблагоприятным прогнозом также является существенным источником неопределённости [28]. Можно предположить возможность позднего развития эффекта, с одной стороны, и раннего проявления признаков прогрессирования заболевания, с другой. Казалось бы, данная проблема возникает исключительно при определении непосредственного эффекта терапии. Отчасти она может быть решена путём учёта наилучшего ответа за время лечения. При этом важным может оказаться не столько отбор пациентов с наибольшей вероятностью эффекта (т.е. разделение объективного ответа (ОО), представленного полным (ПР) и частичным регрессом (ЧР) опухоли, от стабилизации (СЗ) и прогрессирования (ПЗ) заболевания), сколько выделение группы больных с явным прогрессированием от всех остальных пациентов, т.е. анализ клинического эффекта терапии. Эта проблема оказывает влияние и на некоторые показатели выживаемости. Больные с псевдопрогрессированием характеризуются заведомо лучшими показателями продолжительности жизни [29]. При отсроченном ответе эффект может аккумулироваться лишь на следующей линии терапии [30]. Особые паттерны ответа на лечение также создают сложности в анализе, поскольку от выбранного статического показателя может зависеть не только наличие эффекта лечения, но и его знак. Методы, рассчитанные на анализ распределений дожития, также могут не дать точного ответа в случае пересечения кривых выживаемости.

Возможно несколько вариантов решения этой задачи. Во-первых, это прогнозирование статических показателей выживаемости. В этом случае необходимо рассчитывать вероятность пережить сразу несколько временных отрезков, отражающих ранний, средний и отдалённый (вероятнее всего – более 3 лет) период наблюдения. Трёхлетняя выживаемость является показательной потому, что сразу в нескольких исследованиях иммунотерапевтических средств был показан крайне низкий риск прогрессирования меланомы кожи и рака почки при достижении ответа на лечение после этой отметки [28; 31]. Второй вариант – прогнозирование выживаемости на относительно коротком горизонте событий (например, 3–6 мес.). Плюсом такого варианта является относительно одинаковая вероятность события на короткой перспективе и описанная ранее высокая изменчивость показателей ИС (по литературным данным), не позволяющая прогнозировать отдалённые события по текущему состоянию динамически изменяющихся показателей. Вместе с тем при подтверждении гипотез, выдвинутых нами ранее, данный аргумент можно будет считать необоснованным.

Самостоятельной ценностью является возможность разделения вышеописанных групп пациентов и, в особенности – крайних групп – т.е. пациентов, достигших плато и, собственно, вылечившихся, и пациентов с гиперпрогрессированием заболевания на фоне иммунотерапии, которым подобное лечение не показано. Однако единого и общепринятого определения этих самых групп нет [18]. Можно предположить, что к пациентам с гиперпрогрессированием можно отнести пациентов с очевидным ускорением роста опухоли на фоне лечения. К условно излеченным больным, вероятно, могут быть отнесены пациенты с длительно сохраняющимся ответом, не получающие противоопухолевого лечения, особенно если ответ – полный регресс. Возможным вариантом решения описанной выше задачи может быть оценка динамически изменяющегося состояния ИС и определение прогноза на ближайшем или отдалённом горизонте событий. Кроме того, это позволит прогнозировать развитие прогрессирования в процессе терапии, что может являться дополнительным сигналом для смены лечебной тактики.

Таким образом, для подтверждения возможности использования оценки ИС в качестве прогностического маркера необходимо показать возможность выделения группы пациентов на основании иммунного статуса с отличающейся от общей группы эффективностью лечения по одному из общепринятых параметров, с одной стороны, и возможность прогнозирования состояния или ответа опухоли при одном или ином варианте лечебной тактики, с другой.

1.1.2. Состояние иммунной системы как основа для оценки эффективности терапии

Исходя из концепции иммуноредактирования рака [20], можно предположить, как минимум, 5 состояний ИС: 3 устойчивых – соответствующих элиминации, равновесию и ускользанию опухоли от иммунного надзора, и 2 неустойчивых – отражающих переход из одного состояния в другое. Клинически фазе элиминации может соответствовать достигнутый ПР или длительная СЗ после завершившегося лечения (например, после завершения хирургического вмешательства и адъювантной терапии). Фазе равновесия может соответствовать длительная стабилизация или стойкий частичный регресс при сохраняющихся опухолевых очагах. Неуклонное прогрессирование заболевания может быть эквивалентом фазы ускользания опухоли от иммунного надзора. Однако само определение эффекта является сложной задачей. Противоопухолевое лечение направлено на уменьшение опухолевой массы и предотвращение дальнейшего роста опухоли. Таким образом, эффектом будет уменьшение, а отсутствием эффекта – рост количества опухолевых клеток.

Проблема заключается в том, что истинная опухолевая масса не может быть объективно измерена. Причина этому – наличие клинически неизмеряемых опухолевых очагов и субклинических очагов, с одной стороны, и образований (плевриты, метастазы в костях, кистозные очаги или очаги с некротическими изменениями), где количество опухолевых клеток не соответствует их линейным размерам, т.е. истинно неизмеряемых очагов, с другой. Вариабельность измерений отдельных очагов также вносит свой вклад в невозможность точной оценки опухолевой массы. Трудность оценки результатов лечения у больных с отсутствием либо полного регресса, либо бурного прогрессирования процесса, а также потребность в сравнении результатов исследований различных противоопухолевых препаратов привели к идее разработки унифицированной системы оценки эффекта [32].

Наиболее сложной частью оценки эффекта является зона отсутствия различий в результатах исследования. Действительно, измеряя один и тот же объект, мы можем получать не один и тот же результат, а диапазон значений. Такая вариабельность будет присутствовать и при измерении одним человеком, и при измерении различными исследователями. Целый ряд исследований, проведённых в данном направлении и обобщённых в работе S.H. Yoon с соавт. [32], показали, что ошибка измерений при использовании компьютерной томографии составляет от -30 до +25%. Исходя из подобных расчётов и их переложения на 2 измерения, были установлены границы стабилизации процесса, т.е. тех изменений, при которых нельзя отличить ошибку измерения от истинной динамики размеров очагов. Развитие систем оценки и стремление к однозначной интерпретации данных показало, что наиболее точная оценка возможна при уменьшении количества оцениваемых очагов до 5 и количества измерений до 1 [33].

Вместе с тем инертность ответа на иммунотерапию потребовала принципиального пересмотра некоторых положений данной оценки. В работе J. Wolchock с соавт. [12] были впервые описаны нестандартные паттерны ответа на лечение, когда у небольшой части пациентов после временного увеличения размера и количества очагов позже наступал выраженный эффект без изменения режима терапии или вовсе без всякого лечения. Такой феномен был назван псевдопрогрессированием. Предложенная авторами система irRC (критерии ответа, адаптированные для иммунотерапии – immune related Response Criteria) пыталась учесть этот феномен, добавляя новые очаги к ранее существующей массе и оценивая показатель опухолевой нагрузки. Новые мелкие очаги при этом не являлись достаточными для установления прогрессирования процесса. Такая система позволила успешно выявить группу больных среди пациентов с прогрессированием по системе RECIST, выживаемость которых приближалась к группе пациентов со стабилизацией процесса и значимо отличалась от больных

с прогрессированием. Дальнейшие исследования и развитие этой системы, равно как и адаптация системы RECIST к иммунотерапевтическим подходам, привели к независимому созданию нескольких новых систем оценки (рисунок 1) [34-37]. Необходимо отметить, что системы оценки частоты ответа на лечение созданы для единообразной оценки частоты объективных эффектов и обеспечения возможности непрямого сравнения разных исследований.

В клинической практике вопрос о наличии или отсутствии пользы от лечения гораздо более сложен. Практической разницы между увеличением опухолевой нагрузки на 19% или 21% не существует. Многим клиницистам известны случаи выраженного клинического прогрессирования, тогда как, по радиологическим данным, такого не случилось. В противоположность этому, иногда даже значительное увеличение размеров очагов не сопровождается клинической симптоматикой и отражает, скорее, замедленный рост опухоли на фоне лечения.

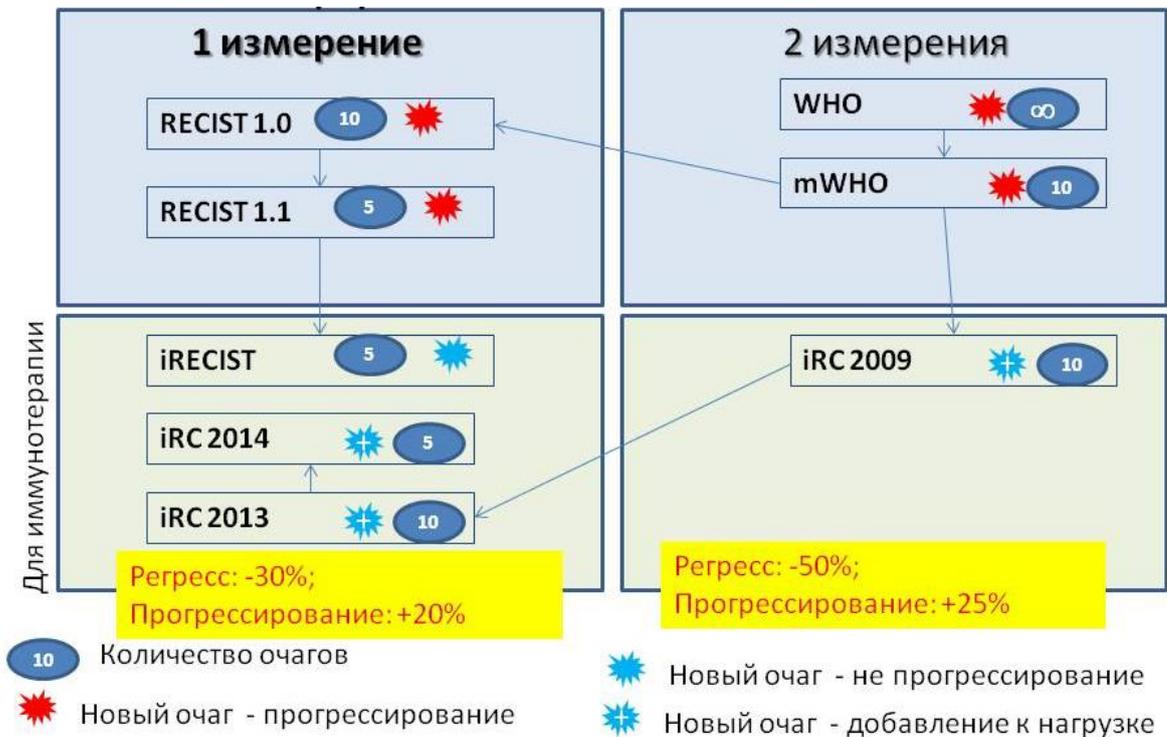


Рисунок 1 – Эволюция систем оценки эффективности лекарственного лечения

Таким образом, существующие методы оценки разнообразны и иногда противоречивы. Новые подходы к оценке эффективности лечения, предназначенные для иммунотерапии, разработаны на одной группе иммунотерапевтических средств. На сегодняшний день остаётся неясным, могут ли они быть экстраполированы на другие виды терапии. СЗ представляется серой зоной, не позволяющей однозначно прогнозировать увеличение продолжительности жизни пациента. Феномен псевдопрогрессирования, судить о котором при первой оценке

эффекта крайне сложно, с помощью имеющихся методов диагностики представляет ещё более сложную и нерешённую пока задачу. Кроме того, у ряда пациентов с достигнутым выраженным ответом на лечение всё равно наблюдается прогрессирование процесса. Прогнозирование этого момента, равно как и внесение ясности при оценке эффективности лечения, является необходимостью для клинической практики. Своевременное переключение на другой метод лечения или продолжение лечения в случае его эффективности являются очевидными правильными клиническими решениями в данной ситуации, критериев для принятия которых не существует. Нерешённой медицинской проблемой на данный момент остаётся выделение пациентов с пользой от проводимого лечения в случае подозрения на прогрессирование процесса или в случае стабилизации, когда наблюдается нумерическое увеличение размеров опухолевых очагов. Мы предполагаем, что такая задача может быть решена с помощью оценки состояния иммунной системы. Сравнение показателей ИС у ответивших и не ответивших пациентов, при выявлении определяемых различий между ними, может иметь практическую пользу в этих клинических ситуациях.

1.1.3. Состояние иммунной системы и безопасность терапии

Безопасность лечения является одним из ключевых аспектов любой терапии. Иммунотерапия, благодаря дуалистичности своего действия, может приводить к развитию иммуноопосредованных нежелательных явлений (иНЯ), под которыми понимаются нежелательные явления, обусловленные избыточной активацией иммунной системы и не являющиеся основной целью применения лечения. Феномен гиперпрогрессирования в подобном контексте обычно не рассматривается, но полностью соответствует данному определению.

Примеры гиперпрогрессирования при различных методах иммунотерапии известны давно. Нами были описаны примеры таких реакций в ответ на терапию интерлейкином-2 (ИЛ-2) у больного меланомой кожи [38]. В обзоре Q. Wang с соавт. суммированы данные по феномену гиперпрогрессирования при применении ингибиторов PD-1 и CTLA-4 [18]. Если рассматривать результаты всех современных исследований по иммунотерапии, то очевидно, что существует значительная группа больных, ускоренно прогрессирующих на иммунотерапевтическом лечении. Наиболее наглядно это наблюдается при применении PD-1 ингибиторов у больных уротелиальным раком, где в течение первых 3 мес. эффективность лечения значительно уступает химиотерапии (ХТ), а на фазе длительного наблюдения значительно её превосходит [39]. Несмотря на отдельные успешные попытки выделить группу больных с потенциальным гиперпрогрессированием на фоне терапии, этот вопрос до сих пор остаётся окончательно

не решённым и требует от врача большого внимания и учёта многочисленного количества факторов, таких как состояние больного, скорость роста опухоли, её агрессивность, распространённость процесса и многих других для принятия решения о начале терапии иммуноонкологическими препаратами.

Собственно, иНЯ иммуноонкологических препаратов могут затронуть практически любой орган и систему [40]. Однако наиболее частыми среди этих нежелательных явлений являются общие симптомы (лихорадка, слабость, миалгии), поражение кожи (сыпи), а также поражения кишечника (диарея, колит). На сегодняшний день считается общепризнанным тот факт, что многие подобные иНЯ не учитываются врачами, и их частота, даже в контролируемых исследованиях, существенно занижена [41]. Несомненно, что несвоевременное выявление иНЯ может привести к летальному исходу [42]. Появляется всё больше сообщений о различных редких иНЯ, малая частота возникновения которых затрудняет их изучение, тем более – разработку новых подходов к лечению с использованием принципов доказательной медицины [43-45]. При этом важно отметить, что значительная доля редких иНЯ являются тяжёлыми и требуют интенсивного и длительного лечения.

В клинических исследованиях всех препаратов в онкологии сегодня принято использовать шкалу токсичности, разрабатываемую национальным институтом рака США – СТС АЕ [46]. Эта шкала описывает тяжесть наиболее частых нежелательных явлений (НЯ). С одной стороны, это обеспечивает однотипность репортирования НЯ в клинических исследованиях и возможность сравнения исследований между собой. С другой – многие алгоритмы купирования НЯ, в том числе иммуноопосредованных, основываются именно на степени тяжести, соответствующей данной шкале [47]. Эти же подходы используются и в повседневной практике.

Таким образом, казалось бы, можно пользоваться уже разработанной системой и ориентироваться на риски, изложенные в ходе клинических исследований. Однако в рамках данной системы есть ряд проблем, существенных для оценки безопасности лечения. Наиболее важная из них – это возможность разнообразного репортирования одного и того же медицинского события. Так, повышение температуры до 38,1 °С с ознобом и артралгиями на фоне интерферона-альфа может быть отмечено как 3 нежелательных явления (лихорадка, озноб и артралгии 1 степени) или как 2 разных синдрома (гриппоподобный синдром 1 степени и синдром выброса цитокинов 1 степени). Все варианты при этом будут правильными. Подобную проблему описали А. Yang с соавт. [48]. Редкие иНЯ описываются чаще как случаи или серии случаев, что не позволяет судить даже об их частоте, не говоря уже о прогнозировании. Для практического применения такая гетерогенность имеет меньшее значение, чего нельзя сказать

об исследованиях по поиску предиктивных маркеров. Ведь большое разнообразие разных исходов потребует гигантских выборок, что практически крайне трудно осуществить. Вместе с тем объединение иНЯ по механизмам развития может решить эту проблему. Ведь прогнозироваться в таком случае будет ограниченный ряд различных нарушений.

Механизм развития иНЯ весьма различен. Однако благодаря универсальности действия иммунотерапии, клинические проявления отдельных нежелательных явлений весьма схожи при разных методах терапии. Если применить классификацию иНЯ, разработанную для вакцин [49], к иммуноонкологическим препаратам, можно выделить ряд схожих по механизму действия групп иНЯ:

- классические аутоиммунные болезни (ассоциированные с главным комплексом гистосовместимости (ГКГС) II класса);

- молекулярная мимикрия;

- болезни иммунных комплексов;

- гиперчувствительность немедленного типа (ассоциированная с IgE);

- гиперчувствительность немедленного типа (не ассоциированная с IgE);

- промежуточные (ассоциированные с ГКГС I класса);

- опосредованные преимущественно врождённой иммунной системой.

Существующие современные данные свидетельствуют о различной частоте, но не спектре иНЯ в зависимости не только от группы, но и от конкретного препарата [50]. Так, в работе R. Wanchoo с соавт. [51] показано, что анти-CTLA-4 средства чаще вызывают подоцитопатии и микроангиопатии при развитии нефротоксичности, тогда как при развитии подобных осложнений на фоне анти-PD-1 терапии такого не происходит. Сама частота регистрации иНЯ представляется не полной и заниженной [51]. Кроме того, перечень иНЯ с иммунологическим механизмом действия весьма широк [47]. Тем не менее сравнение различных терапевтических подходов по частоте как всех НЯ, так и наиболее тяжёлых (3–5 степени) является общепринятой методикой. С клинической точки зрения именно последние требуют наиболее активных действий и могут являться причиной остановки лечения. Таким образом, клинически обоснованным является прогнозирование именно иНЯ 3–5 степени.

Кроме того, иНЯ используют те же механизмы, что и сам противоопухолевый иммунный ответ. Ряд исследований показали увеличение эффективности лечения больных при выявлении отдельных иНЯ. Иммунологический механизм, лежащий в основе патогенеза выявленного иНЯ, может свидетельствовать в пользу большей или меньшей эффективности противоопухолевой иммунотерапии. Таким образом, наличие определённого иНЯ может быть не только целью прогнозирования, но и одним из факторов прогнозирования эффекта лечения [52], а оценка

патогенетического механизма развившегося иНЯ может служить дополнительной клинической информацией, характеризующей успешность развития противоопухолевого иммунного ответа.

1.2. Методы оценки состояния иммунной системы

В настоящее время существует множество методов и способов оценки состояния ИС. Выполнение подобных тестов не представляет особых сложностей. Однако обилие информации и сложности в её интерпретации [53] затрудняют широкое использование данных методов в онкологии. Общее утверждение, что опухоль является признаком иммунодефицита, и рекомендации не выносить отдельно в диагнозе характеристику иммунологических нарушений [54] не дают возможности подбирать и изучать патогенетически направленную терапию индивидуально для больного. При этом выделяют различные типы иммунодефицитных состояний [53]: иммунную недостаточность постоянного типа и транзиторную иммунную недостаточность. К первой относят собственно «вторичный иммунодефицит», сопровождающийся долговременными изменениями иммунных клеток, и нарушения взаимодействия между компонентами иммунной системы, которые не приводят к существенным структурным изменениям, но существенно сказываются на её функции и являются показаниями для иммунокоррекции. Транзиторная недостаточность является следствием истощения иммунной системы и перегрузки различных систем организма (синдром эндогенной интоксикации) и также требует терапевтического вмешательства.

Таким образом, нарушения в работе иммунной системы при злокачественной опухоли являются частью патогенеза заболевания и требуют патогенетически обоснованной терапии. Большое количество проведённых исследований в данном направлении сформировали ряд общих подходов к этой проблеме, которые требуют более подробного рассмотрения.

1.2.1. Оценка системного и локального иммунного ответа

Рассмотрение механизмов развития иммунного ответа в аспекте нашего исследования важно с двух ключевых позиций: для определения основного источника материала для анализа и для понимания механизмов действия иммуноонкологических препаратов.

Процесс развития иммунного ответа протекает в нескольких компартментах [13; 55]. Это сам опухолевый очаг, инвазивный край опухолевого очага, лимфа, лимфатические узлы, системный кровоток. В каждой из этих зон формируются относительно равные концентрации цитокинов, которые обеспечивают условия протекания иммунных процессов. Клеточные элементы перемещаются между зонами, проходя различные этапы развития в каждой из них.

Сейчас наиболее активно изучаются процессы, проходящие в опухолевом очаге [55; 56]. Для этого используются повторные биопсии очагов с последующей гистологической, иммуногистохимической и/или генетической («генетические подписи») оценкой экспрессии различных молекул и генов в опухолевых и иммунных клетках. Разработаны также эффективные системы учёта инфильтрации опухоли иммунными клетками [56]. Безусловным преимуществом такого подхода является прямое наблюдение результата развития противоопухолевого иммунного ответа и, следовательно, возможность точной оценки результата проводимого лечения. Однако биопсия является инвазивным вмешательством. Её проведение не представляет трудности при поверхностных локализациях опухолевых очагов, но при глубокой локализации частые, повторные биопсии сопряжены со значительным риском и могут не обеспечить врача необходимой информацией. Кроме того, выраженная гетерогенность опухоли может привести к искажению результатов исследования, поскольку в пределах одного очага разные локусы могут иметь разные характеристики [57]. Биопсия при этом будет случайным образом забирать образец, что неизбежно приведёт к недооценке клинической картины.

Второй активно изучаемый подход к оценке состояния ИС является определение субпопуляций клеток ИС и регуляторных молекул в периферической крови. Системный иммунный ответ, наряду с локальным, является важной частью иммунограммы злокачественной опухоли [10]. Кровь является основной транспортной системой, через которую активированные иммунные клетки попадают в ткани, где уже оказывают свои эффекторные функции. Таким образом, развитие системного иммунного ответа (а именно такой тип ответа защищает от развития системного опухолевого процесса, который является летальным) на опухоль может быть определено по образцу периферической крови. Кроме того, полученный образец, в силу своего происхождения, будет уже усреднённым и случайным. Явным недостатком такого подхода является невозможность непосредственно оценить финальный этап взаимодействия активированных в процессе противоопухолевого иммунного ответа эффекторов.

Большое количество участников иммунологических взаимодействий и производимых ими регуляторных молекул (цитокинов, хемокинов, поверхностных и растворимых рецепторов к различным факторам) делают практически невозможным выбор отдельного «ключевого», «независимого» фактора. С другой стороны, высокая взаимосвязь всех параметров ИС [58] облегчает определение отдельных состояний иммунной системы или иммунологического диагноза, поскольку будет позволять использовать различные наборы факторов для определения такого состояния, что существенно снизит проблему неполноты отдельных

наблюдений. В ряде исследований была продемонстрирована корреляция системных и локальных параметров иммунного ответа [59-62]. Эти данные подтверждают возможность использования периферической крови в качестве источника биоматериала для оценки состояния ИС и её взаимоотношений с опухолью.

Очевидно, что клеточные компоненты являются основой развития противоопухолевого иммунного ответа [13; 16], и вероятно, их состояние может отражать как особенности реагирования ИС пациента в целом, так и возможности и характеристики, связанные с системным противоопухолевым иммунным ответом. Необходимо учитывать тот факт, что большинство злокачественных опухолей являются системным процессом уже с самых ранних, доклинических стадий и, соответственно, успех иммунотерапевтических подходов потребует оценки именно системного противоопухолевого иммунного ответа, что крайне затруднительно сделать по отдельным образцам гетерогенной опухолевой ткани. С другой стороны, концентрации цитокинов подвержены существенным изменениям на очень коротких расстояниях, тем более – в разных компартментах организма, а также характеризуются намного более быстрыми изменениями по сравнению с уровнем клеток иммунной системы [13; 63]. Кроме того, описана высокая корреляционная связь между концентрацией отдельных цитокинов в крови и содержанием клеточных элементов ИС [58].

Именно с учётом таких соображений, для решения поставленных задач источником биоматериала для проведения исследований нами выбраны образцы периферической крови. В нашем исследовании было принято решение сфокусироваться, прежде всего, на характеристиках клеток иммунной системы, циркулирующих в кровотоке, для оценки её состояния, принимая во внимание высокую взаимосвязь между их состоянием и активностью, с одной стороны, и уровнями регуляторных молекул (цитокинов, хемокинов, растворимых рецепторов), с другой. Для этого был использован метод иммунофлюоресценции и его современный вариант – метод проточной цитометрии [63].

1.2.2. Параметры, определяющие состояние иммунной системы

На данный момент нет единого представления о перечне необходимых исследований, требующихся конкретному больному со злокачественной опухолью. Требования по оценке состояния ИС у онкологических больных в целом отсутствуют в клинических рекомендациях. Несмотря на попытки оценивать состояние локального иммунного ответа в опухолевом очаге, оценка системного иммунного ответа, особенно в аспекте проведения иммунотерапии, остаётся нерешённой практической задачей [56]. Использование системных иммунологических

параметров в качестве биомаркеров при лечении злокачественных опухолей именно сейчас выходит на новый этап разработки проблемы [15; 64].

Несмотря на крайне высокое количество различных субпопуляций иммунных клеток, они имеют чёткую структурную организацию (рисунок 2).

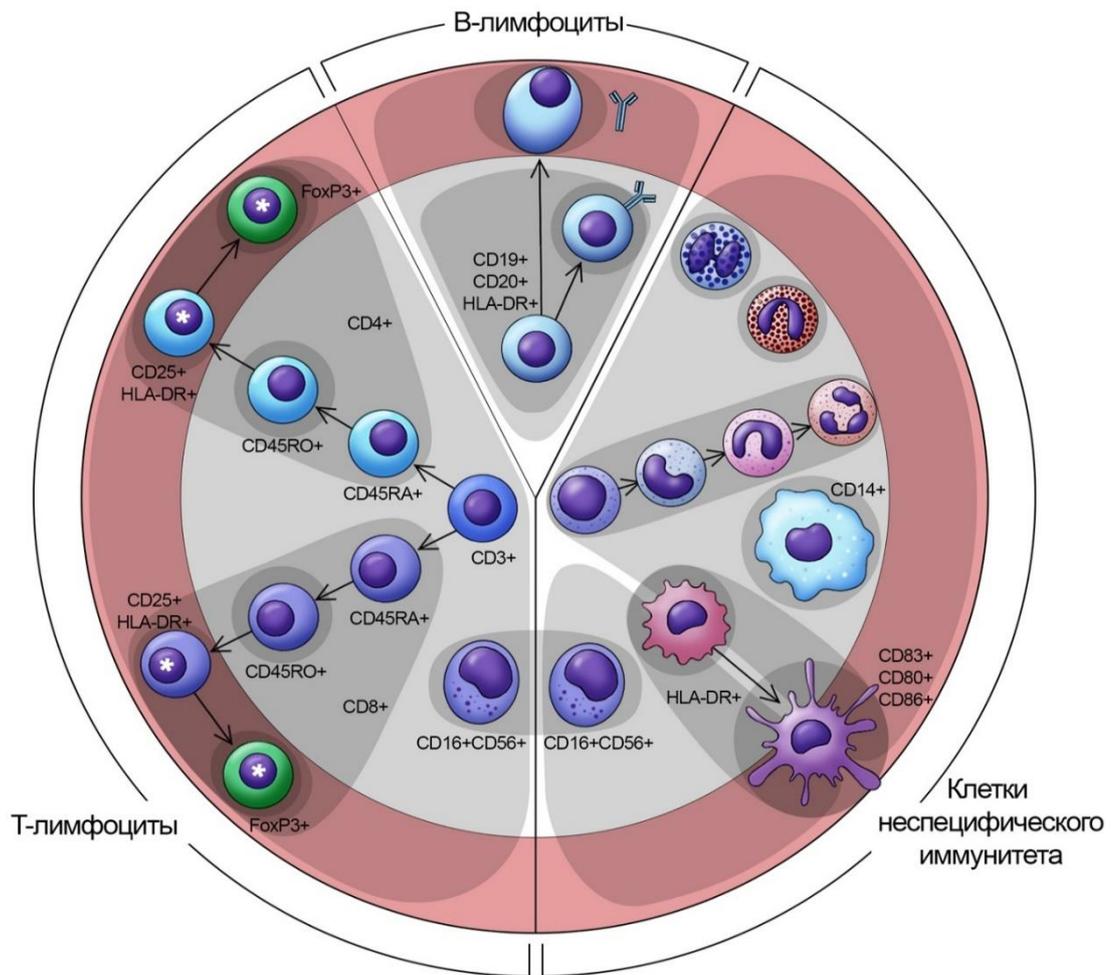


Рисунок 2 – Субпопуляции лимфоцитов и экспрессируемые ими маркеры

Прежде всего, выделяют врождённую и адаптивную части иммунной системы [13; 63; 65]. Эффекторы врождённого иммунного ответа относительно неспецифичны и обеспечивают преимущественно защиту от патогенов. К ним могут быть отнесены гранулоциты, моноциты, макрофаги, естественные киллеры (НК). Адаптивная ИС представлена двумя звеньями – Т- и В-клеточным звеном. Первое отвечает за механизмы регулирования иммунной системы в целом и обеспечивает клеточный иммунный ответ, тогда как второе обеспечивает гуморальный

иммунный ответ. Необходимо отметить, что регуляторные субпопуляции присутствуют во всех звеньях ИС. В каждом из звеньев могут быть выделены группы клеток, находящихся на том или ином этапе развития, созревания и активации.

В соответствии с рекомендациями, разработанными иммунологами, принято выделять несколько уровней иммунологических тестов [53; 54], при которых тесты первого уровня дают наиболее общую информацию о состоянии иммунной системы, тогда как тесты 2 уровня детализируют эту информацию в зависимости от клинической картины заболевания. Однако этот подход применяется преимущественно при аутоиммунных заболеваниях в аллергологии и ревматологии. Выделение различных уровней детализации состояния ИС позволяет также предположить наличие наиболее обобщённого представления о её состоянии по данным клинического анализа крови (КАК).

В последнее время уделяется значительное внимание маркерам системного воспаления и их влияния на прогноз онкологических заболеваний [66-68]. В начальных исследованиях была показана роль лимфопении как независимого фактора неблагоприятного прогноза [69]. В дальнейшем в качестве таких факторов анализировались также моноцитоз, тромбоцитоз, сдвиг влево лейкоцитарной формулы и ряд биохимических показателей. Изучение соотношения указанных показателей клинического анализа крови привело к созданию индексов, рассчитанных на определение прогноза заболевания: нейтрофильно-лимфоцитарного (NLR), лимфоцитарно-моноцитарного (LMR) и тромбоцитарно-моноцитарного (PLR) [66]. Были созданы также производные индексы и балльные системы оценки для оценки признаков системного воспалительного ответа в целом: dNLR – соотношение нейтрофилов и разницы между лейкоцитами и нейтрофилами (т.е. фактически к мононуклеарам периферической крови (МНПК)) [70], соотношение суммы нейтрофилов, тромбоцитов и моноцитов к лимфоцитам, отношение суммы нейтрофилов и моноцитов к лимфоцитам [71], отношение тромбоцитов к моноцитам (PMR) [72] и нейтрофилов к моноцитам (NMR) [73], прогностический индекс тромбоцитов и нейтрофилов (NPS) и ряд других [71; 74-77]. Использование этих и других параметров в качестве прогностических маркеров будет описано ниже (см. раздел 6.4).

Тесты первого уровня включают в себя оценку содержания Т-лимфоцитов, Т-хелперов (Th), цитотоксических Т-клеток (ЦТЛ), NK- и В-лимфоцитов. Реже применяется маркер CD14 для оценки содержания зрелых моноцитов. Эти тесты в разных модификациях используют в большинстве лабораторий [63].

Существует мнение о том, что функциональные тесты активности лимфоцитов имеют большее практическое значение [13; 53], однако являются более трудоёмкими. К ним могут быть отнесены оценки спонтанной и стимулированной миграции, фагоцитарного числа

(т.е. доли фагоцитирующих клеток) и фагоцитарного индекса (т.е. среднее количество стандартных частиц, поглощённых одной клеткой). Об активности фагоцитарно-макрофагального звена ИС свидетельствует также содержание циркулирующих иммунных комплексов в крови (ЦИК) [54]. Однако дополнительное значение функциональных тестов у онкологических больных детально не изучалось. На сегодняшний день оценка функциональной активности субпопуляций Т-лимфоцитов не входит в программу лабораторного обследования больных [54; 63]. Функциональную активность В-лимфоцитов можно оценить по продукции ими иммуноглобулинов (Ig) различных классов.

Отдельно следует коснуться маркеров активации клеток иммунной системы [13; 63]. Они занимают промежуточное положение между тестами первого и второго уровня, так как могут быть использованы на каждом из них. К подобным маркерам может быть отнесён CD25, экспрессирующийся на активированных Т-, В-, НК-клетках и моноцитах (т.е. на всех мононуклеарах периферической крови) и являющийся показателем ранней активации этих клеток. Его определение может проводиться как в целом на мононуклеарах, так и на отдельных субпопуляциях клеток, прежде всего – на Th. Маркер поздней активации – HLA-DR – также может определяться как в целом, так и на отдельных клеточных субпопуляциях. Другими маркерами поздней активации, проявляющимися ранее HLA-DR на Т-клетках, является CD71 [13]. NKG2D – рецептор стрессорных молекул MICA на клетках – является маркером активации Т- и НК-клеток. В практике получили также распространение маркеры метаболической активности МНПК (CD38).

К тестам второго уровня могут быть отнесены определение субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, таких как клетки центральной (T_{cm}, CD3⁺CD45RA⁻CD62L⁺) и эффекторной (T_{em}, CD3⁺CD45RA⁻CD62L) памяти, двойные положительные Т-лимфоциты (DP, CD3⁺CD4⁺CD8⁺) и двойные отрицательные Т-лимфоциты (DN, CD3⁺CD4⁻CD8⁻), Т-лимфоциты с маркерами NK (NKT). Определяют также маркеры созревания Т-лимфоцитов CD27 и CD28, наивные Т-лимфоциты (T_{naiv}, CD3⁺CD45RA⁺CD62L⁺), субпопуляции супрессорных клеток (T_{reg} – Th, экспрессирующие CD25 и FoxP3 и слабо или не экспрессирующие CD127), экспрессия CTLA4 на лимфоцитах, прежде всего, регуляторных (CD3⁺CD4⁺CTLA4⁺), количество аутореактивных CD1d⁺ лимфоцитов [63].

Ещё более детальную информацию о развитии специфического ответа на конкретные антигены несут тесты, оценивающие активацию отдельных клонов Т- и В-лимфоцитов – ELISpot-анализ, определение клонов с помощью тетраметров и клеточная ELISA [78; 79]. Несмотря на существенную клиническую значимость, их постановка требует наличия

антигенного материала или специфических пептидов, что затруднительно в широкой клинической практике.

Количество минорных популяций весьма велико и лишь увеличивается с ходом фундаментальных иммунологических исследований. Изучаются различные субпопуляции моноцитов, нейтрофилов, дендритных клеток в периферической крови и их функциональные состояния [55; 63; 80]. Фактически даже клоны специфических лимфоцитов могут анализироваться с учётом всех фенотипических субпопуляций Т- и В-клеток. Детализация знаний о состоянии иммунной системы в конкретный момент времени существенно утяжеляет интерпретацию результатов, поскольку требует учёта множества возможных взаимодействий. Ввиду этого в нашей работе мы ограничимся только отдельными тестами 2–3 уровня.

Существует также ряд индексов, отражающих соотношение различных (как правило, эффекторных и регуляторных) субпопуляций клеток. Наиболее изученным является иммунорегуляторный индекс (ИРИ) – соотношение $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток [54; 81]. В ряде исследований использовалось определение соотношения NK и NKT с ЦТЛ, отношение общего содержания Т-клеток к Th (что по смыслу должно быть близко к ИРИ), отношение Treg к ЦТЛ [82] и некоторые другие индексы [82-88].

1.2.3. Интерпретация результатов иммунологических исследований у отдельно взятого больного

Интерпретация показателей подразумевает их сопоставление с референсными значениями и оценку динамики изменений. Трудности при таком подходе возникают с оценкой степени нарушений и их клинической значимости, с одной стороны, и с отсутствием референсных значений отдельных минорных субпопуляций, с другой. Кроме того, даже нахождение показателя в пределах референсных значений не говорит о нормальном состоянии иммунной системы, и в некоторых случаях является отражением довольно тяжёлого нарушения её работы [54; 65].

Для оценки степени тяжести состояния может использоваться международная шкала СТС АЕ [46], которая позволяет выделить лёгкие, умеренные, тяжёлые и жизнеугрожающие изменения, т.е. четыре степени нарушений. Однако в этой системе даны определения лишь некоторых иммунологических показателей, таких как лимфоциты и Th. Учебные издания [89; 90] предполагают выделение 3 степеней нарушений иммунологических показателей – лёгкую, умеренную и тяжёлую. При этом такое деление может относиться как к оценке иммунологических показателей в целом, так и к отдельному показателю. Лишь в последнем случае могут быть установлены границы изменений: лёгкая степень – до 33,3%, умеренная –

до 66,7, тяжёлая – выше этого показателя [90]. Для отправной точки отсчёта может быть использован соответствующий показатель верхней или нижней границы референсных значений. Существует также представление о том, что лишь значительные сдвиги в показателях иммунного статуса у отдельного больного (более чем на 20–40%) несут реальную клиническую информацию [53].

Комплексная оценка состояния ИС представляется более оправданной и информативной. Для этого предложено несколько подходов. Первый заключается в применении различных индексов, отражающих взаимоотношения клеток иммунной системы [82-88]. Могут использоваться как наиболее общие показатели – такие как NLR или dLNR, LMR, PLR, так и соотношения отдельных клеток иммунной системы. К наиболее востребованным соотношениям подобного рода относится ИРИ. Роль общих индексов в качестве независимых факторов прогноза выживаемости была показана в ряде метаанализов при операбельных опухолях [91], раке предстательной железы [67], колоректальном раке (КРР) [92; 93], плоскоклеточном раке головы и шеи [94], глиомах [66] и опухолях желудочно-кишечного тракта [95]. Учёт большого количества различных индексов и взаимоотношений субпопуляций иммунных клеток может отражать как активность ИС, так и стадию процесса. Практическое применение подобных индексов ограничено, поскольку референсные значения разработаны только для ИРИ [63]. Во многих исследованиях проводилось шкалирование показателей на 2 категории с использованием разных точек отсечения, что существенно затрудняет применение результатов на практике [96-100].

Обилие показателей, характеризующих ИС, требует разработки подходов к учёту сразу нескольких подобных факторов. К наиболее простому способу оценки нескольких показателей является применение балльных систем оценки, определяющих просто сумму неблагоприятных факторов [76; 87] или использование более сложных индексов и балльных систем для расчёта единого интегрального показателя [82-87].

Другим подходом является выделение определенных состояний ИС или симптомокомплексов иммунологических нарушений на основании нескольких показателей. К таким подходам могут быть отнесены «иммунные часы» [89] и оценки нарушений ИС, разрабатывавшиеся разными исследовательскими коллективами [65; 101; 102]. Преимуществом таких оценок является выделение отдельных состояний, т.е. переход к иммунологическому диагнозу. При этом сами характеристики иммунологических нарушений являются весьма схожими: выделяется состояние с нормальными показателями иммунного статуса, активацией ИС или отдельных её частей и различными степенями иммуносупрессии. Кроме того, иммунологический диагноз позволяет определять либо эффективность терапевтического

воздействия [101], либо использоваться для определения необходимого вида иммунокорректирующей терапии [65]. В соответствии с предложенной ранее концепцией «иммунологических мобилей» [89] именно такой подход позволяет обобщить результаты различных тестов в понятную для интерпретации систему, позволяющую таргетировать иммунологические воздействия на пациента. Важно отметить, что в работах вышеуказанных коллективов была показана разная роль, подчас противоположная, при применении одинакового воздействия на фоне разного состояния ИС.

1.2.4. Интерпретация результатов иммунологических тестов в клинических исследованиях

В отличие от оценки иммунного статуса у отдельного больного для определения лечебной тактики, в клинических исследованиях требуется обобщённая оценка группы пациентов. Многопараметрический анализ состояния ИС вносит ряд существенных ограничений в подобные исследования.

Наиболее простым способом описания популяций является определение частоты отклонений от заданных параметров. При этом результаты анализов больных могут сопоставляться либо с референсными значениями, полученными на больших группах обследованных условно здоровых лиц, либо сравниваться напрямую с контрольной группой пациентов без изучаемой патологии [103]. Первый подход более прост, однако имеет ряд ограничений. Они связаны, прежде всего, с определением референсных значений и границ клинической значимости отклонений показателей, которые не всегда очевидны и могут варьировать от лаборатории к лаборатории. При сравнении с контрольной группой могут быть использованы критериальные методы сравнения и вычисление отклонений, в том числе учитывающие параметры распределения показателя (например, среднеквадратичное отклонение или доверительный интервал – ДИ). Однако такой подход препятствует перенесению результатов анализа в практику обследования единичного больного.

Удобство интерпретации и практического применения результата можно достигнуть путём шкалирования непрерывной переменной с выделением двух и более групп, обладающих различными свойствами. Для точек отсечения могут использоваться как медианы или средние значения показателей, так и квартили [104] или терцили [105]. При изучении прогноза больных, на основании результатов иммунологического обследования или при попытке разделения пациентов на известные группы с помощью теста, могут быть использованы методы дискриминантного анализа, построения деревьев решений или ROC-кривых для выделения

оптимальных точек отсечения [106]. Однако разные исследования могут давать разные точки отсечения в одних и тех же параметрах (как это происходит, например, с NLR).

Значимой в этом случае является проблема множественных сравнений [107]. Использование каждого параметра по отдельности приводит к необходимости проводить большое число тестов, что может повлиять на уровень ошибки первого рода и требует более строгого отношения к подобным результатам, с приведением скорректированного уровня значимости. Кроме того, комплексный характер нарушений ИС подчас не позволяет выделить один из ведущих параметров в качестве ключевого фактора. Многие показатели взаимодействуют между собой прямо или опосредованно. Оценить данные связи можно с помощью разработанных методов оценки парных или частных корреляций, с одной стороны, и более обобщённых моделей определения связей (например, канонический линейный корреляционный анализ, который позволяет взглянуть на части ИС как единое целое), с другой [108]. Существуют методики графического отображения состояния ИС в виде кривой с последующим анализом образов [109] или площади под полученной кривой [90], или применения методов кластерного анализа для определения отдельных неочевидных групп наблюдений и показателей. Именно на основании такого подхода могут быть выделены отдельные иммунологические синдромы, описанные выше.

Для выявления и оценки взаимоотношений показателей ИС предложены ряд индексов, позволяющих оценивать количество корреляционных связей: коэффициент сопряжённости (КоС – отношение количества имеющихся статистически значимых корреляционных связей к количеству возможных связей) и коэффициент тесноты связей (отношение суммы статистически значимых корреляционных связей к сумме статистически незначимых) [90]. Практическое применение данных подходов представляется сомнительным ввиду недоучёта упоминавшейся ранее проблемы множественных сравнений и сложностей в воспроизводимости исследований при применении различных наборов иммунологических и клинических параметров.

Выделение ключевых переменных для анализа может проводиться различными методами. Некоторые авторы предлагают использовать коэффициент диагностической ценности и коэффициент вариабельности показателя, которые описывают степень отклонения показателя от нормы и степень дисперсии результатов измерений [89]. При этом малоизменённые показатели и показатели с большой долей дисперсии предлагается игнорировать или придавать им наименьшее значение. Могут быть также применены методы многофакторного анализа для снижения размерности данных и выделения ключевых составляющих [110], что согласуется с описанной выше концепцией мобилей. Вместе с тем построение подобных моделей

накладывает существенные предположения и требования к изучаемым переменным, которые не всегда могут быть строго соблюдены. Важной является нелинейность многих взаимоотношений. Результаты таких исследований подчас сложно использовать для решения практических задач.

Шкалированные данные могут использоваться для построения балльных систем оценки иммунологических показателей. Ряд исследований и рекомендаций подтверждают возможность и эффективность такого применения показателей [68; 74; 76; 99; 111]. Вместе с тем определение точек отсечения и вес отклонения в общем прогнозе могут быть источником значительных смещений при использовании таких систем и влиять на результат исследования [112].

Построение многомерных моделей и шкалирование показателей требует использования определённого, предпочтительно бинарного исхода. Однако в исследованиях могут оцениваться разные конечные точки. Так, можно оценивать связь иммунологических параметров с известными прогностическими системами (например, стадией заболевания), изучать роль у больных, переживших определённый временной рубеж без какого-либо важного события [103] или достигших определённого эффекта лечения. При этом под важным событием может пониматься смерть больного вообще (общая выживаемость (ОВ)), смерть от заболевания (бессобытийная выживаемость), прогрессирование (время до прогрессирования (ВДП)), развитие отдалённых метастазов или время до начала следующего лечения. Эффект терапии может оцениваться как с использованием радиологических систем оценки, описанных выше (например, RECIST), так и с учётом влияния на отдельные иммунологические показатели. Для анализа последних может использоваться доля пациентов, достигших нормализации изменённых показателей или целевых значений отдельного показателя [90], а также количество больных с изменившейся степенью иммунологических нарушений. Однако с позиций доказательной медицины иммунологические эффекты, равно как и оценка объективного ответа опухоли на терапию, являются лишь суррогатными маркерами истинных конечных точек лечения, и, прежде всего, ОВ больных. Выбор отклика подчас является не менее сложной задачей, чем отбор изучаемых параметров. Лишь несколько методик позволяют использовать наборы ответов.

Оценка непосредственного иммунологического эффекта отдельного метода лечения часто также затруднительна ввиду отсутствия общепринятых систем оценки и многогранного влияния различных параметров (заболевания, состояния пациента, различных лечебных воздействий в составе комплексного лечения) на ИС. Для решения этой задачи предлагают оценивать различия в относительных изменениях показателя в группах с вмешательством и/или без или сочетать данную оценку с другими иммунологическими индексами [90]. Возможна

также балльная или ранговая оценка эффективности терапии, которая учитывает количество больных с изменениями изучаемого показателя или относительно предполагаемых благоприятных или неблагоприятных значений, или определения рейтинга наиболее изменившихся показателей [90]. Однако такой подход требует валидированного представления о степени и направлении позитивных изменений, что может быть препятствием при изучении новых биомаркеров. С другой стороны, такой подход сам по себе требует валидации изучаемого маркера в отношении его связи с истинными конечными точками.

Упомянутые выше методы многофакторного анализа не учитывают известную структуру и иерархию иммунологических показателей. Вместе с тем, как видно из рисунка 2, многие маркеры экспрессируются на разных субпопуляциях. Таким образом, сами показатели не только связаны функциональными связями, но и в совокупности дают представление о других частях иммунной системы. С одной стороны, это свойство может эффективно использоваться для восполнения пропущенных данных и их проверки. С другой, лишь немногие методы способны учитывать подобную иерархию при построении многомерных моделей. Поэтому для учёта подобных взаимоотношений может потребоваться многоэтапный анализ с отдельным учётом разных подгрупп пациентов, разделённых по клиническим или иммунологическим признакам [113].

Анализ последовательных наблюдений, помимо дополнительной информации о динамике показателей, вносит ряд методологических вопросов, требующих учёта при интерпретации результатов. С одной стороны, последовательных наблюдений может быть несколько. В таком случае при учёте динамики требуется использовать какую-то меру срединной тенденции [114], либо наиболее изменённое измерение по сравнению с предыдущим или референсным значением. Между тем очевидно, что степень изменения во многом будет зависеть от самого показателя. Для учёта этих особенностей может быть использована методика Бленда–Альтмана [115].

1.3. Воспроизводимость результатов исследований иммунологических биомаркеров

Параметры иммунного статуса, особенно определяемые в динамике, подвержены существенным колебаниям. Описана связь данных показателей с сезоном, возрастом, полом, стрессом, физической активностью, образом жизни и питанием [116-120]. Однако размер этой связи не столь велик, и её клиническое значение остается неясным [121].

При проведении измерений субпопуляций лимфоцитов стандартным подходом в настоящее время является применение метода проточной цитометрии. Для него разработан

комплекс мер и операционных процедур для обеспечения стандартизации и точности анализа [63]. Проточная цитометрия является стандартом в мониторинге течения вируса иммунодефицита человека (ВИЧ)-инфекции и в диагностике гемобластозов [63]. Именно в этих направлениях развиваются программы по оценке воспроизводимости тестов и контролю качества выполняемых исследований. При этом в опубликованных исследованиях встречаются преимущественно тесты первого уровня. Редко проводится оценка вариабельности специфических субпопуляций лимфоцитов. Вместе с тем долговременные наблюдения свидетельствуют о существенной доле вариабельности даже самых общих показателей [27]. При этом основной метод выделения субпопуляций – с помощью ручного гейтирования, до сих пор остаётся стандартом в данном подходе, несмотря на внесение таким образом определённой доли субъективности в анализ данных [63]. Методы автоматического гейтирования не всегда превосходят, а чаще – сопоставимы с мануальным гейтированием, хотя и характеризуются меньшей вариабельностью [122; 123].

Проблема особенно ощутима при последовательных наблюдениях у одного больного. Иммунологические показатели в динамике колеблются в определённых пределах. Эти колебания складываются из биологической и аналитической вариабельности показателей и являются относительно постоянными [116]. При оценке их взаимоотношений, особенно с учётом разных популяций, результаты могут отличаться более чем на 1 порядок [27]. В этих условиях оценка изменений показателя у пациентов, особенно в малочисленных группах, может быть весьма затруднительна. Несмотря на такую вариабельность, авторам всё равно удаётся выделить важные факторы прогноза на основе анализа иммунологических параметров. Возможно, это является причиной крайне низкой воспроизводимости исследований биомаркеров [64; 124].

Существует несколько способов устранения данного смещения. С одной стороны, созданы рекомендации по проведению биомаркерных исследований, которые определяют необходимые стандарты качества при изучении биомаркеров на разных этапах работы и устанавливают правила для их валидации [64]. Их соблюдение признано улучшить воспроизводимость результатов, однако не позволяет оценивать и исключать влияние случайной вариабельности измерений, присущей конкретному методу, на результат анализа.

Использование централизованных лабораторий для анализа биомаркеров способно устранить значительную часть вариабельности, связанной с процессингом образцов [125]. Несмотря на такой подход, биологическая вариабельность всё равно остаётся довольно высокой [116]. При этом логистические сложности сами по себе могут внести существенный вклад в результат исследования. С другой стороны, интерпретация результатов в клинической практике

с использованием различных, подчас менее квалифицированных, лабораторий может быть затруднена или менее эффективна.

Некоторые авторы предлагают рассчитывать коэффициент вариабельности показателя и исключать из исследования таковые с существенными колебаниями [89; 126]. Такой подход позволяет избежать части ошибок, но может исключить и важную информацию или препятствовать оценке взаимодействия показателей.

В работах ряда авторов предлагается учитывать размер изменений показателя: одни исследователи [127] считают неизменными показатели в пределах 27% от исходного, а другие рекомендуют учитывать лишь изменения, превышающие 30–33% от исходного значения [90]. Аналогичной проблемой является сравнение текущего измерения с референсными значениями, особенно если они близки.

Интересен подход к подобной проблеме вариабельности визуального анализа результатов исследования в радиологии. Фактически описанные выше системы оценки радиологической эффективности являются полуколичественными и пытаются выделить пациентов с плохим и хорошим ответом на лечение. Между тем состояние стабилизации описывает изменения, которые могут быть следствием, как истинных изменений размера очага, так и просто являться следствием погрешности измерений [32].

Нам не встретилось работ, которые оценивали бы влияние вариабельности показателей на результаты анализа иммунологических данных. Несмотря на существующие исследования по оценке воспроизводимости данных проточной цитометрии, способов практического применения, данной информации мы не нашли. Ввиду этого необходимо проведение оценки вариабельности иммунологических показателей и её влияния на результаты анализа в рамках текущего исследования.

1.3.1. Использование оценки состояния иммунной системы

у онкологических больных в качестве предиктивных и прогностических факторов: систематический обзор

Оценка состояния ИС в клинических исследованиях проводилась для решения трёх основных задач: использования иммунологических параметров в качестве факторов прогнозирования эффективности терапии или течения заболевания, для оценки механизмов действия препаратов и для определения фармакодинамических параметров воздействия препарата на организм [128]. Для клинического применения в повседневной практике оценка состояния иммунной системы может использоваться только для решения первой задачи.

Для оценки известной информации о прогностической или предиктивной роли показателей иммунной системы и возможности их использования для выделения отдельных групп пациентов с разными иммунологическими характеристиками или различной вероятностью ответа на лечение нами был проведён систематический обзор [128; 129]. Для этого проведён поиск публикаций в системах PubMed и ELIBRARY на английском и русском языках, соответственно.

Критериями включения публикаций в обзор были [128; 129]:

- Клинические исследования.
- Наличие злокачественной солидной опухоли у включённых пациентов.
- Возраст пациентов от 18 лет и старше.
- Более 20 объектов наблюдения в одной группе.
- Отсутствие у больных изменённого состояния ИС, включая:
 - ВИЧ-инфекцию и ассоциированные с ней заболевания;
 - активную инфекцию вирусами гепатита В или С;
 - состояние на фоне или после трансплантации костного мозга или гемопоэтических стволовых клеток.
- Оценка одного или нескольких используемых в нашей работе иммунологических параметров в соответствии с указанными в таблице 1.
- Определение прогностической или предиктивной роли параметра, в том числе связи иммунологических показателей:
 - со стадией заболевания;
 - с ВДП;
 - с частотой ОО;
 - с ОВ.

Таблица 1 – Показатели иммунного статуса, оцениваемые в исследовании

Оцениваемый показатель	Уровень оценки*	Единицы измерения	Набор показателей			
			ИСШ	ИСIV	ИСI	ИСII
1	2	3	4	5	6	7
Врождённая иммунная система						
Лейкоциты	1	10 ⁹ /л	Да	Да	Да	Да
Моноциты	1	10 ⁹ /л, % от лейкоцитов	Да	Да	Да	Да
Базофилы	1	10 ⁹ /л, % от лейкоцитов	Да	Да	Да	Да
Эозинофилы	1	10 ⁹ /л, % от лейкоцитов	Да	Да	Да	Да

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7
Нейтрофилы	1	10 ⁹ /л, % от лейкоцитов	Да	Да	Да	Да
Лимфоциты	1	10 ⁹ /л, % от лейкоцитов	Да	Да	Да	Да
CD14	1	10 ⁹ /л, % от LY	Нет	Нет	Да	Нет
CD3-CD16 ⁺ CD56 ⁺ /CD8 ⁺	1	–	Да	Да	Нет	Нет
НК	1	10 ⁹ /л, % от LY	Да	Да	Да	Да
НСТ спонтанная	2	%	Нет	Нет	Да	Да
Фагоцитарное число моноцитов	2	%	Нет	Нет	Да	Да
Фагоцитарное число нейтрофилов	2	%	Нет	Нет	Да	Да
Фагоцитарный индекс моноцитов	2	Ед.	Нет	Нет	Да	Да
Фагоцитарный индекс нейтрофилов	2	Ед.	Нет	Нет	Да	Да
Адаптивная иммунная система						
Т-клеточное звено						
Т-лимфоциты	1	10 ⁹ /л, % от LY	Да	Да	Да	Да
Th	1	10 ⁹ /л, % от LY	Да	Да	Да	Да
ЦТЛ	1	10 ⁹ /л, % от LY	Да	Да	Да	Да
CD25	2	10 ⁹ /л, % от МНПК	Нет	Нет	Да	Да
CD38	2	10 ⁹ /л, % от МНПК	Нет	Нет	Да	Нет
CD71	2	10 ⁹ /л, % от LY	Нет	Нет	Да	Нет
CD95	2	10 ⁹ /л, % от МНПК	Нет	Нет	Да	Нет
HLA-DR	2	10 ⁹ /л, % от МНПК	Нет	Нет	Да	Да
HLA-DR ⁺ ЦТЛ	2	10 ⁹ /л, % от LY, % от ЦТЛ	Да	Да	Нет	Нет
CD25 ⁺ Th	2	10 ⁹ /л, % от Th, % от LY	Да	Да	Нет	Нет
HLA-DR ⁺ Th	2	10 ⁹ /л, % от Th, % от LY	Да	Да	Нет	Нет
NKG2D ⁺ ЦТЛ	2	10 ⁹ /л, % от LY, % от ЦТЛ	Нет	Да	Нет	Нет
Миграция с Кон-А	2	%	Нет	Нет	Да	Да
Миграция с ФГА	2	%	Нет	Нет	Да	Да
Спонтанная миграция	2	у.е.	Нет	Нет	Да	Да
НКТ	3	10 ⁹ /л, % от LY	Да	Да	Нет	Да
CD1d ⁺ лимфоциты	3	10 ⁹ /л, % от LY	Нет	Да	Нет	Нет
Тem	3	10 ⁹ /л, % от Т-лимфоцитов	Нет	Да	Нет	Нет
Тcm	3	10 ⁹ /л, % от Т-лимфоцитов	Нет	Да	Нет	Нет
CD38 ⁺ Th	3	10 ⁹ /л, % от LY	Нет	Да	Нет	Нет
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CTLA4 ⁺	3	10 ⁹ /л, % от Th	Нет	Да	Нет	Нет
NKG2D ⁺ НК	3	10 ⁹ /л, % от LY	Нет	Да	Нет	Нет

1	2	3	4	5	6	7
CD127 ^{low} Treg	3	10 ⁹ /л, % от Th	Да	Да	Нет	Нет
FOXP3 ⁺ Treg	3	10 ⁹ /л, % от Th	Нет	Нет	Нет	Нет
DP	3	10 ⁹ /л, % от LY	Да	Да	Нет	Да
DN	3	10 ⁹ /л, % от LY	Да	Да	Нет	Нет
Tnaiv	3	10 ⁹ /л, % от LY	Нет	Да	Нет	Нет
Tcm	3	10 ⁹ /л, % от LY	Нет	Да	Нет	Нет
Tem	3	10 ⁹ /л, % от LY	Нет	Да	Нет	Нет
В-клеточное звено						
В-лимфоциты	1	10 ⁹ /л, % от LY	Да	Да	Да	Да
IgA	2	г/л	Нет	Нет	Да	Да
IgG	2	г/л	Нет	Нет	Да	Да
IgM	2	г/л	Нет	Нет	Да	Да
ЦИК	2	Ед.	Нет	Нет	Да	Да
Соотношение показателей иммунного статуса						
ЦТЛ/CD127 ^{low} Treg	3	–	Да	Да	Нет	Нет
ЦТЛ/FOXP3 ⁺ Treg	3	–	Да	Да	Нет	Нет
NK/ЦТЛ	1	–	Да	Да	Нет	Нет
NKT/ЦТЛ	3	–	Да	Да	Нет	Нет
CD3/CD4	1	–	Да	Да	Да	Да
ИРИ	1	–	Да	Да	Да	Да
NLR, dNLR	1	–	Да	Да	Да	Да
LMR	1	–	Да	Да	Да	Да
NMR	1	–	Да	Да	Да	Да
PLR	1	–	Да	Да	Да	Да
PMR	1	–	Да	Да	Да	Да
NPS	1	–	Да	Да	Да	Да
NMLR	1	–	Да	Да	Да	Да

Примечание: * – 1 – базовый уровень оценки; 2 – показатели активации соответствующего звена ИС; 3 – дополнительные субпопуляции лимфоцитов. ИС1, ИС2, ИС3, ИС4 – первый, второй, третий, четвёртый набор показателей иммунного статуса соответственно; LY – лимфоциты; NKT – Т-лимфоциты с маркерами естественных киллеров CD3⁺CD16⁺CD56⁺; NMLR – отношение нейтрофилов и моноцитов к лимфоцитам; CD25⁺Th – CD25 активированные Th (CD3⁺CD4⁺CD25⁺), HLA-DR⁺Th – HLA-DR активированные Th (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺), CD38⁺Th – CD38 активированные Th (CD3⁺CD4⁺CD38⁺), CD38⁺ЦТЛ – CD38 активированные ЦТЛ (CD3⁺CD8⁺CD38⁺), HLA-DR⁺ЦТЛ – HLA-DR активированные ЦТЛ (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺), NKG2D⁺ЦТЛ – NKG2D активированные ЦТЛ (CD3⁺CD8⁺NKG2D⁺); Кон-А – конконовалин-А; ФГА – фитогемагглютинин.

Поскольку в системе ELIBRARY в значительной части публикаций отсутствовали аннотации, дополнительно был произведён поиск по фамилиям авторов – членов (и, прежде всего, руководителей) научных коллективов, занимающихся изучением иммунологических

показателей у больных злокачественными опухолями. Схема обработки публикаций представлена на рисунке 3 [128; 129].

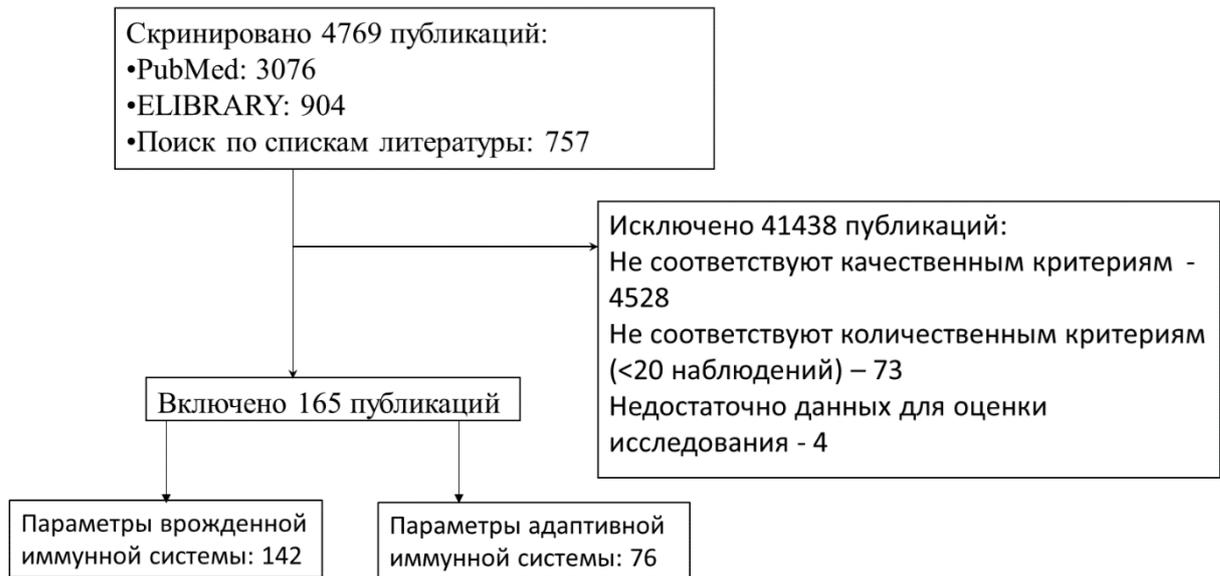


Рисунок 3 – Диаграмма отбора публикаций для систематического обзора

Как известно [130-132], под прогностическими понимают биомаркеры, которые влияют на вероятность наступления анализируемого исхода заболевания. Под предиктивными маркерами понимаются факторы, влияние которых на анализируемый исход зависит от проводимого лечения. Таким образом, предиктивные маркеры являются вариантом прогностических, поскольку определяют исходы заболевания при применении конкретных видов лечения [130-132].

В соответствии с этими определениями мы рассматривали параметры ИС как прогностические в том случае, если их влияние на эффект терапии оценивалось без учёта вида лечения в общей группе или оказывало одинаковое по направлению влияние на исход заболевания во всех проанализированных терапевтических подгруппах. В тех случаях, когда связь маркера с эффектом регистрировалась лишь при отдельных вариантах лечения, но не в общей популяции больных, а также при разнонаправленном влиянии показателей, маркер расценивался как предиктивный. При снижении риска ПЗ или смерти больного, а также при увеличении вероятности ОО при определённом значении параметра или при увеличении значения показателя на единицу маркер считался благоприятным. В прочих случаях, т.е. при повышении риска ПЗ или смерти и снижении вероятности ОО при определённом значении параметра или по мере увеличения значения на единицу, маркер расценивался как неблагоприятный.

1.3.2. Состояние клеток неспецифического звена иммунной системы как фактор прогноза при злокачественных опухолях

Лейкоциты, лимфоциты, нейтрофилы, базофилы и эозинофилы изучались в качестве факторов прогноза при злокачественных опухолях (рисунок 4). В ходе проведения систематического обзора была выявлена 151 группа пациентов со злокачественными солидными опухолями, включающая 32 789 больных [129].

Большинство найденных нами исследований отмечали негативное прогностическое значение повышения уровня лейкоцитов, нейтрофилов, моноцитов на показатели общей выживаемости. Ассоциации концентраций эозинофилов и базофилов с показателями выживаемости, эффективности или стадии заболевания выявлено не было [129]. Уровень лимфоцитов, наоборот, ассоциировался с повышенной эффективностью терапии и увеличенными показателями продолжительности жизни. Единственным исключением из этого правила стало исследование M. Stotz с соавт. [133], в котором было отмечено снижение ОВ и ВДП у больных гастроинтестинальными стромальными опухолями при повышенном уровне лимфоцитов во время постановки первичного диагноза. По данным нашего систематического обзора, создаётся впечатление, что локализация первичной опухоли не определяет значимость изменений показателей клеток крови.

Вместе с тем в целом ряде исследований не было выявлено статистически значимых ассоциаций изучаемых клеток крови с показателями выживаемости, эффективности и стадией заболевания [99; 114; 134; 135]. Анализируемые нами исследования свидетельствуют о небольшом изменении риска смерти или прогрессирования заболевания, ассоциированного с изучаемыми показателями крови. Следует отметить, что во всех исследованиях использовались различные точки разделения больных, что затрудняет использование результатов этих исследований в клинической практике [129].

Более детальное изучение факторов врождённого звена иммунной системы позволило также выявить ряд возможных прогностических и предиктивных биомаркеров [129]. Анализ эффективности терапии анти-PD-1/PD-L1 препаратами показал, что содержание активированных моноцитов в периферической крови пациентов до лечения было ассоциировано с более высокой частотой объективного ответа на лечение [24].

В другом исследовании выявление в периферической крови миелоидных супрессорных клеток (часть из которых являются N2 нейтрофилами) и промежуточных (CD14⁺CD16⁺) моноцитов чаще наблюдалось при распространённых (III и IV) стадиях рака молочной железы, вне зависимости от рецепторного статуса [136].

Заболевание	Исследование	ОВ	ВДП	КЭ	Стадия	Заболевание	Исследование	ОВ	ВДП	КЭ	Стадия
Лейкоциты, x10⁹/л						Базофилы x10⁹/л					
ГЛИОБЛАСТОМА	Quillen V., 2019					ЗЛОКАЧЕСТВЕННАЯ СОЛИДНАЯ ОПУХОЛЬ	Montori M., 1997				
ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНАЯ СТРОМАЛЬНАЯ ОПУХОЛЬ	Stutz M., 2016					КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Udoek M., 2016				
ЗЛОКАЧЕСТВЕННАЯ СОЛИДНАЯ ОПУХОЛЬ	Montori M., 1997					ПРАКТОРТАНИШ	Milrod C.R., 2012				
КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Neal C., 2015					РАК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Yokota M., 2020				
	Vardy J.L., 2018										
	Udoek M., 2016										
МЕЛАНОМА	Kirwood J.M., 2002					Моноциты x10⁹/л					
НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Саломон А.А., 2005					ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНАЯ СТРОМАЛЬНАЯ ОПУХОЛЬ	Stutz M., 2016				
ОСТЕОГЕННАЯ	Sears H.F., 1980					ГЛИОБЛАСТОМА	Quillen V., 2019				
ПРАКТОРТАНИШ	Milrod C.R., 2012					ЗЛОКАЧЕСТВЕННАЯ СОЛИДНАЯ ОПУХОЛЬ	Montori M., 1997				
РАК ГОРТАНИ	Виноградов Ю.А., 2007										
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Борозин Я.В., 2013										
	Webster D.J., 1979										
	Webster D.J., 1979					КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Song A., 2015				
РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ САРКОМАТАТЬК	Qi Q., 2015										
РАК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Yokota M., 2020										
РАК ЭНДОМЕТРИЯ	Ео W.K., 2016						Udoek M., 2016				
РАК ЯИЧНИКОВ	Ео W., 2016					НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Hu P., 2014				
Лимфоциты, x10⁹/л						Эозинофилы x10⁹/л					
ГЛИОБЛАСТОМА	Jan C.T., 2018					ЗЛОКАЧЕСТВЕННАЯ СОЛИДНАЯ ОПУХОЛЬ	Montori M., 1997				
ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНАЯ СТРОМАЛЬНАЯ ОПУХОЛЬ	Stutz M., 2016					КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Udoek M., 2016				
ЗЛОКАЧЕСТВЕННАЯ СОЛИДНАЯ ОПУХОЛЬ	Montori M., 1997					ПРАКТОРТАНИШ	Milrod C.R., 2012				
КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Song A., 2015					РАК ПИЩЕВОДА	Liu X., 2017				
	Neal C., 2015					ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Mano R., 2019				
	Vardy J.L., 2018					РАК ВУЛЬВЫ	Цероко Г.А., 2012				
	Udoek M., 2016					РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ САРКОМАТАТЬК	Qi Q., 2015				
МЕЛАНОМА	Kirwood J.M., 2002					РАК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Yokota M., 2020				
	Цооис А.В., 2019					РАК ЭНДОМЕТРИЯ	Ео W.K., 2016				
НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Hu P., 2014					РАК ЯИЧНИКОВ	Ео W.K., 2016				
ОСТЕОГЕННАЯ	Mitchel P., 2015					Нейтрофилы, x10⁹/л					
РАК ПИЩЕВОДА	Shayda R.Z., 2011					ГЛИОБЛАСТОМА	Quillen V., 2019				
	Liu X., 2017					ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНАЯ СТРОМАЛЬНАЯ ОПУХОЛЬ	Stutz M., 2016				
	Венди О.Н., 1996					ЗЛОКАЧЕСТВЕННАЯ СОЛИДНАЯ ОПУХОЛЬ	Montori M., 1997				
ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Fox P., 2013					КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Vardy J.L., 2018				
	Mano R., 2019							Udoek M., 2016			
ПРАКТОРТАНИШ	Milrod C.R., 2012					РАК ПИЩЕВОДА	Shayda R.Z., 2011				
РАК ВУЛЬВЫ	Цероко Г.А., 2012						Liu X., 2017				
РАК ЯЗЫКА	Ong H.S., 2017					ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Fox P., 2013				
РАК ГОРТАНИ	Виноградов Ю.А., 2007					ПРАКТОРТАНИШ	Milrod C.R., 2012				
РАК ЖЕЛУДКА	Соловьев И.Г., 2006					РАК ЯЗЫКА	Ong H.S., 2017				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Cho U., 2018					РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ САРКОМАТАТЬК	Qi Q., 2015				
	Борозин Я.В., 2013					РАК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Yokota M., 2020				
	Webster D.J., 1979					РАК ЭНДОМЕТРИЯ	Ео W.K., 2016				
	Webster D.J., 1979					РАК ЯИЧНИКОВ	Ео W.K., 2016				
	Nicklin A., 2014										
РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ САРКОМАТАТЬК	Saminadayar S.J., 2012										
РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ САРКОМАТАТЬК	Qi Q., 2015										
РАК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Yokota M., 2020										
РАК ЭНДОМЕТРИЯ	Ео W.K., 2016										
РАК ЯИЧНИКОВ	Ео W.K., 2016										

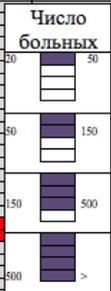


Рисунок 4 – Предиктивная и прогностическая значимость лейкоцитов крови по результатам систематического обзора

Примечание к рисунку 4: Каждая строка представляет одно исследование. Обозначено влияние повышенного уровня показателя. *Красный цвет* – повышение уровня ОВ, ВДП, КЭ и стадии процесса, подтверждённое в многофакторном анализе или клинически значимое; *оранжевый* – повышение, не подтверждённое в многофакторном анализе; *белый* – отсутствие статистически значимой связи с результатом; *зелёный* – снижение показателя, не подтверждённое в многофакторном анализе; *синий* – снижение соответствующего показателя, подтверждённое в многофакторном анализе.

При этом важно отметить, что ХТ не влияла на содержание этих клеток. Уровень моноцитарных миелоидных супрессорных клеток ($CD11b^+/CD14^+/HLA-DR^-/CD15^-$), которые подавляют преимущественно антиген-независимые реакции Т-лимфоцитов, имел обратную корреляционную связь с уровнем ОВ у больных меланомой, получавших ниволумаб [64].

Изучение НК показало противоречивую связь данного показателя с ОВ. В исследовании М.Н. Стахеевой с соавт. [137] было показано, что более высокие значения данного показателя на фоне терапии больных раком гортани ассоциированы с развитием ОО. Напротив, в исследовании З.Г. Кадагидзе с соавт. [103] снижение этого показателя в динамике ассоциировалось с большей продолжительностью жизни у больных меланомой кожи, получавших ипилимумаб. Этот же коллектив в другом исследовании показал обратную корреляцию уровня НК-клеток и стадии рака молочной железы. В исследованиях по адьювантной терапии меланомы кожи II–III стадии связи уровня НК-клеток с ВДП выявлено не было [134]. В ходе обобщения результатов систематического обзора нами не было выявлено убедительных признаков ассоциации изучаемых факторов с какой-либо локализацией злокачественных опухолей.

1.3.3. Клеточные маркеры системного воспаления как фактор прогноза при злокачественных опухолях

Прогностическая роль маркеров системного воспаления изучается до настоящего времени [129]. К маркерам системного воспаления относят лейкоцитоз, повышение нейтрофилов со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, повышение уровня тромбоцитов, белков острой фазы воспаления (например, С-реактивный белок) и различных цитокинов. Среди клеточных маркеров, на которых в большей степени сконцентрировано наше исследование, чаще всего анализировались различные индексы (NLR, LMR, TLR). В ряде исследований были изучены также уровни тромбоцитов и сложные индексы или системы подсчёта баллов (рисунки 5–6). В наш систематический обзор вошло 215 групп пациентов со злокачественными солидными опухолями, включавших 74 320 больных [129]. Тромбоцитоз является давно известным фактором неблагоприятного прогноза [112; 138]. Однако его исследование в контексте

с другими маркерами системного воспаления часто не позволяло рассматривать его как независимый фактор [114; 139].

Заболевание	Исследование	ОВ	ВДП	КЭ	Стадия
Отношение нейтрофилов к разнице между лейкоцитами и нейтрофилами (dNLR)					
КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Wood G., 2017				
	Neal C., 2015				
	Ying H.Q., 2014				
РАК ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ	Grenader T., 2016				
	Grenader T., 2015				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Cho U., 2018				
НК-клетки					
ГБ	Gousias K., et al. (2010)				
ГБ	Минина С.В., 2013				
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Leskinen M.P., 2013				
	Wang, H., et al. (2015)				
МЕЛАНОМА	Kirkwood J.M., 2002				
	Neagu M., 2013				
	Кавацкая З.Г., 2017				
МЕЛАНОМА	Кавацкая З.Г., 2014				
Насобаренгельский рак	Ня Е. J., 2012				
НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Савченко А.А., 2005				
	Skachkova O. V., et al. (2013)				
РАК ПИЩЕВОДА	Riemann D., et al. (2019)				
	Mazzaschi G., 2019				
ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Bendal O.H., 1996				
ПРГШ	Гринов А.М., 2009				
РАК ЛЕГКОГО	Farace F., 1994				
	Milinski C. R. 2012				
РАК ВУЛЬВЫ	Nakatani T., 2000				
РГ	Нерода Г.А., 2012				
	Нерода Г.А., 2013				
	Витковский Ю.А., 2007				
	Wolf G.T., 2002				
РЖ	Славская М.Н., 2018				
	Славская М.Н., 2013				
	Yu Q. M., 2012				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Соловьева И.Г., 2006				
	Кавацова Н.Н., 2009				
	Кухарев Я.В.				
	Барсукова В.Ю., 2007				
	Кавацкая З.Г., 2014				
РАК ПРОСТАТЫ	Murta E. F., 2000				
	Nicolini A., et al. (2014)				
УРЕТРИАЛЬНЫЙ РАК	Santekeres S. J., 2012				
	Sozdyk T., 1999				
	Sozdyk T., 1999				
Отношение лимфоцитов к моноцитам (LMR)					
КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Dolan D.R., 2018				
	Vardy J.L., 2018				
МЕЛАНОМА	Leontovich A.A., 2017				
Отношение нейтрофилов к моноцитам (NMR)					
КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Vardy J.L., 2018				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Peng Y., 2020				
	Losada B., 2019				
Отношение лимфоцитов к моноцитам (LMR)					
КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Dolan D.R., 2018				
	Vardy J.L., 2018				
МЕЛАНОМА	Leontovich A.A., 2017				

Рисунок 5 – Предикивная и прогностическая значимость содержания НК-клеток и отдельных соотношений клеток иммунной системы по результатам систематического обзора

Примечание к рисунку 5: Каждая строка представляет одно исследование. Обозначено влияние повышенного уровня показателя. *Красный цвет* – повышение уровня ОВ, ВДП, клинического эффекта (КЭ) и стадии процесса, подтверждённое в многофакторном анализе или клинически значимое; *белый* – отсутствие статистически значимой связи с результатом; *синий* – снижение соответствующего показателя, подтверждённое в многофакторном анализе.

По результатам проведённого нами систематического обзора [129] было выявлено, что соотношение нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и тромбоцитов между собой несёт достаточно информации о наличии системного воспаления (см. рисунок 6). При этом повышенное содержание лимфоцитов на фоне снижения всех остальных перечисленных показателей являлось благоприятным фактором прогноза выживаемости и эффективности любого лечения при всех изученных видах опухоли.

Связь соотношений указанных параметров – NLR, LMR, TLR индексов – и ряда сходных по сути соотношений изучались преимущественно в связи с показателями выживаемости и крайне редко – со стадией или эффектом терапии. Результаты их оценки объединены в ряд метаанализов [24; 66; 67; 92; 94; 95].

В исследовании J. Zang с соавт. был проведён анализ 22 исследований, включавших 12 829 больных с опухолями желудочно-кишечного тракта (рак пищевода – 892 пациента, рак желудка – 1741, КРР – 8707, рак печени – 660, рак поджелудочной железы – 829) [95]. Исследование показало, что при всех заболеваниях повышение LMR до операции снижало риск смерти и прогрессирования процесса. Tham T. с соавт. показали прогностическую роль LMR при метаанализе исследований, включавших 4260 больных раком головы и шеи в отношении ОВ [94]. Аналогичные результаты были получены в метаанализе, проведённом Y.H. Guo с соавт. [92]. В данный анализ было включено 15 404 больных в 33 исследованиях. Помимо схожих результатов в отношении ОВ и ВДП, исследователи показали, что повышение PLR также связано с худшим прогнозом для указанных показателей.

Ещё более интенсивные исследования велись в отношении NLR [129]. Так, в метаанализ H. Peng с соавт. [67] было включено 32 исследования, включавших 21 949 больных раком предстательной железы. Повышение NLR до начала лечения так же, как и повышение уровня нейтрофилов и снижение LMR, являлось неблагоприятным фактором прогноза ОВ.

В данном исследовании только NLR позволял прогнозировать ВДП. NLR оказался эффективным и при прогнозировании пониженной эффективности пембролизумаба у больных меланомой, причём размер эффекта почти в 2 раза превосходил влияние этого индекса на выживаемость первичных больных, описанных в других метаанализах [24]. Роль NLR была также подтверждена для глиом, при этом метаанализ учитывал 3261 случай этого редкого заболевания [66].

Примечание к рисунку 6: Каждая строка представляет одно исследование. Обозначено влияние повышенного уровня показателя. *Красный цвет* – повышение уровня ОВ, ВДП, КЭ и стадии процесса, подтверждённое в многофакторном анализе или клинически значимое; *оранжевый* – повышение, не подтверждённое в многофакторном анализе; *белый* – отсутствие статистически значимой связи с результатом; *зелёный* – снижение показателя, не подтверждённое в многофакторном анализе; *синий* – снижение соответствующего показателя, подтверждённое в многофакторном анализе.

Схожие результаты были получены при анализе лечения больных с метастазами в печени [140]. Важно отметить, что в указанном исследовании была продемонстрирована связь данного показателя с уровнем основных цитокинов в крови пациентов. Некоторые исследования, помимо ассоциации показателя с уровнем ИЛ-4, продемонстрировали его влияние на параметры качества жизни в процессе лечения, оценённые с помощью стандартизованных инструментов [141].

В исследовании G. Kimyon Comert с соавт. [71] проведена оценка нескольких сложных индексов, сравнивающих отношение суммы нейтрофилов и моноцитов с добавлением тромбоцитов или без него к уровню лимфоцитов в качестве маркеров системного воспаления. Было показано, что повышение показателей не связано со стадией заболевания. Лишь наиболее полный индекс позволял прогнозировать продолжительность жизни пациентов. Другие соотношения, такие как отношение нейтрофилов к моноцитам [73] и тромбоцитов к моноцитам [72] оказались менее информативными в качестве прогностических факторов.

R.D. Dollan с соавт. [91] обобщили в метаанализе результаты 244 исследований у пациентов с операбельным раком. Все описанные выше индексы (NLR, PLR, LMR) показали свою высокую прогностическую значимость при исследовании ОВ и ВДП.

На основании данных нашего систематического обзора [129] и результатов метаанализов, можно сделать вывод о значимости маркеров системного воспаления в качестве независимых факторов прогноза выживаемости больных, не связанных с типом злокачественной опухоли. Очевиден взаимозависимый характер этих маркеров. Выбрать единственный универсальный параметр оказывается затруднительным. Оправданным представляется подход, где использована информация, состоящая из всего комплекса анализируемых нами показателей. В представленных исследованиях подходы направлены на бинарное разделение каждого показателя. Вместе с тем представляется очевидным, что такое разделение, особенно при использовании нескольких показателей, может быть неоптимальным. Ввиду этого необходимы дополнительные исследования для прояснения характеристик синдрома системной воспалительной реакции и их использования в дальнейшем для индивидуализации лечения.

Более углублённое изучение параметров иммунной системы представляется целесообразным у больных с одинаковым статусом системного воспаления.

1.3.4. Состояние Т-клеток как фактор прогноза при злокачественных опухолях

При анализе роли Т-лимфоцитов в качестве биомаркеров нами были использованы четыре основных направления поиска: анализ содержания Т-клеток и соотношение их субпопуляций – ИРИ, анализ маркеров активации Т-лимфоцитов (прежде всего, CD25 и HLA-DR), оценка супрессорных субпопуляций Т-лимфоцитов и оценка специфических клонов Т-лимфоцитов (рисунки 7 и 8). В систематический обзор было включено 292 группы больных, состоящие из 26 204 пациентов [128].

Общее содержание Т-клеток оказалось значимым фактором при прогнозировании рецидивов КРР [142] и оценке эффективности терапии ипилимумабом у больных меланомой кожи [103]. В противовес этим данным, при терапии меланомы кожи интерфероном-альфа в адьювантном режиме [134] или ипилимумабом при неоперабельном распространённом процессе таких закономерностей выявлено не было [143]. В других исследованиях при раке молочной железы [144] и различных солидных опухолях [145; 146] связи с эффективностью лечения обнаружено не было. Значительная часть исследований не показала взаимосвязи этого показателя со стадией заболевания.

Общее содержание Т-хелперов в периферической крови изучалось в ряде исследований [128]. В одних [103] было показано, что более низкий уровень этих клеток в периферической крови у больных меланомой кожи, получавших ипилимумаб, был ассоциирован с худшими показателями общей выживаемости. В других исследованиях связи содержания CD4⁺ лимфоцитов в периферической крови с эффектом ХТ у больных раком молочной железы [144] или применения фактора некроза-альфа у больных меланомой кожи [145-147] обнаружено не было.

В некоторых исследованиях изучались субпопуляции Т-хелперов. В исследовании S.J. Sante с соавт. [148] было показано, что повышение уровня наивных Т-хелперов (CD4⁺CD45R0⁻) и снижение клеток эффекторной памяти (CD4⁺CD45R0⁺) было ассоциировано с повышением ОБ у больных кастрационно-резистентным раком предстательной железы, получавших вакцилотерапию в сочетании с ипилимумабом.

Заболевание	Исследование	ОВ	ВДП	КЭ	Стадия	Заболевание	Исследование	ОВ	ВДП	КЭ	Стадия
αβ-T – клетки (CD3+CD19-)						T-хелперы (CD3+CD4+)					
ГИМОБЛАСТОМА	Савина, К. 2012					ГИМОБЛАСТОМА	Савина, К. 2010 Liu C. I., 2012				
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Джонсон М.Р., 2013					ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Джонсон М.Р., 2013 Tang C., 2017				
КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Джонсон Е.А., 2017					КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Wang, H., 2015				
МЕЛАНОМА	Kirkwood J.M., 2002					МЕЛАНОМА	Kirkwood J.M., 2002 Джонс, М., 2013				
	de Groot Y.P., 2017						Косович В.Г., 2017				
	Косович В.Г., 2017						Косович В.Г., 2017				
НЕМЕЛАНОМАКОСКЕЛЕТОННЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Савина А.А., 2009					НЕМЕЛАНОМАКОСКЕЛЕТОННЫЙ РАК ЛЕГКОГО	de Groot Y.P., 2017 Савина А.А., 2017				
	Rietman, D., 2019						Савина А.А., 2009				
ОСТЕОГЕННАЯ САРКОМА РАК ПИЩЕВОДА	Васильев О.Н., 1996					РАК ПИЩЕВОДА	Васильев О.Н., 1996				
ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Браун А.М., 2009					ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Браун А.М., 2009				
ПРОСТЕОГЕННАЯ РАК ЛЕГКОГО	Белый Г., 1994					ПРОСТЕОГЕННЫЙ РАК ГОЛОВЫ И ШЕИ	Майков С.В., 2012				
РАК ВУЛЬВЫ	Царик Г.А., 2012					РАК ЛЕГКОГО	Майков С.В., 2012				
РАК ГОРТАНИ	Царик Г.А., 2013					РАК ГОРТАНИ	Володарский Ю.А., 2007 Wang G.T., 2002				
	Володарский Ю.А., 2007						Yu Q. M., 2012				
РАК ЖЕЛУДКА	Wang G.T., 2002					РАК ЖЕЛУДКА	Соловьев И.Г., 2006				
	Yu Q. M., 2012						Калашова Н.Н., 2009				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Косович В.В., 2006					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Володарский Ю.А., 2007				
	Косович Н.Н., 2009						Соловьев И.Г., 2006				
	Косович В.В., 2009						Мана Г. 2000				
РАК ПРОСТАТЫ	Белый В.Ю., 2007					РАК ПРОСТАТЫ	Ио, F. J., 2012				
	Царик А.И., 2015						Савина С. J., 2012				
РАК НОСОГЛОТКИ	Мана Е. Г. 2000					РАК ВИРШОВИИ	Новак М., 2018				
РАК ПРОСТАТЫ	Хи, Т., 2014					УРЕГИНАЛЬНЫЙ РАК	Боник Т., 1999				
	Ио, F. J., 2012						Немеланомакоскелетонный рак легкого	Rietman, D., 2019			
УРЕГИНАЛЬНЫЙ РАК	Савина С. J., 2012					Простеогенная саркомакоскелетонный рак головы и шеи	Васильев, 2010				
CD25+ лимфоциты						Наивные T-хелперы (CD4+CD45RA+)					
РАК НОСОГЛОТКИ	Ио, F. J., 2012					Немеланомакоскелетонный рак легкого	Васильев, 2010				
ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Браун А.М., 2009					Простеогенная саркомакоскелетонный рак головы и шеи	Васильев, 2010				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Белый Г., 1994					T-хелперы – клетки центральной памяти					
	Yu Q. M., 2012					МЕЛАНОМА	de Groot Y.P., 2017				
РАК ПРОСТАТЫ	Косович В.В., 2006					НЕМЕЛАНОМАКОСКЕЛЕТОННЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Мана Г., 2010				
	Мана Е. Г. 2000					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Кли, М., 2018				
T-регуляторные клетки (T-reg, CD4+CD25+CD127low)						T-хелперы – клетки эффекторной памяти					
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Мана Е. Г. 2000					МЕЛАНОМА	de Groot Y.P., 2017				
НЕМЕЛАНОМАКОСКЕЛЕТОННЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Мана Е. Г. 2000					НЕМЕЛАНОМАКОСКЕЛЕТОННЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Мана Г., 2010				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Мана Е. Г. 2000					РАК ПИЩЕВОДА	Кли, М., 2018				
РАК ПРОСТАТЫ	Мана Е. Г. 2000					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Кли, М., 2018				
NKT-клетки (CD3+CD16+CD56+)						T-регуляторные клетки (T-reg, CD4+CD25+ FoxP3+ CD127low)					
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Джонсон М.Р., 2013					РАК ПРОСТАТЫ	Савина С. J., 2012				
МЕЛАНОМА	Косович В.Г., 2014					ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Танг С., 2017				
ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Браун А.М., 2009					КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Васильев, В., 2019				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Косович В.Г., 2014					CD3+CD38+					
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Савина Е. Г. 2016					ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Джонсон М.Р., 2013				
						CD8+CTLA4+					
						РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Чертова А.И., 2015				
						РАК ПРОСТАТЫ	Савина С. J., 2012				
						РАК ПРОСТАТЫ	Боник М.Р., 2016				

Рисунок 7 – Предииктивная и прогностическая значимость клеток T-клеточного звена адаптивной ИС

Примечание к рисунку 7: Каждая строка представляет одно исследование. Обозначено влияние повышенного уровня показателя. Красный цвет – повышение уровня ОВ, ВДП, КЭ и стадии процесса, подтвержденное в многофакторном анализе или клинически значимое; оранжевый – повышение, не подтвержденное в многофакторном анализе; белый – отсутствие статистически значимой связи с результатом; зеленый – снижение показателя, не подтвержденное в многофакторном анализе; синий – снижение соответствующего показателя, подтвержденное в многофакторном анализе.

Заболевание	Исследование	ОВ	ВДП	КЭ	Стадия	Заболевание	Исследование	ОВ	ВДП	КЭ	Стадия
Цитотоксические лимфоциты (ПТЛ, CD3+CD8+)						Активированные CD25 Т-хелперы (CD3+CD4+CD25+)					
ГЛИОБЛАСТОМА	Quillen V, 2019					ГЛИОБЛАСТОМА	Quillen V, 2019				
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Джонсон М.Р., 2013					ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Джонсон М.Р., 2013				
КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Wang, H., 2015					КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Wang, H., 2015				
МЕЛАНОМА	Kirkwood J.M., 2002					МЕЛАНОМА	Джонсон М., 2013				
	Копкин А.В., 2019						Копкин А.В., 2019				
	de Groot Y.P., 2017						de Groot Y.P., 2017				
НЕМЕЛАНОМАКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Салехено А.А., 2009					ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Брицкий А.М., 2009				
	van Bekkum-De Van Der Schueren M. A., 2001						Салехено А.А., 2009				
РАК ПИЩЕВОДА	Матко Р., 2018					ПЛОСТЕОГЕННАЯ САРКОМАКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ГОЛОВЫ И ШЕИ	Салехено М.С., 2017				
ПЛОСТЕОГЕННАЯ	Като Р., 2018					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин А.И., 2015				
РАК ЛЕГКОГО	Салехено А.А., 2009					РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ САРКОМАТАТЬЖ	Салехено Е.Г., 2016				
РАК ГОРТАНИ	Виталицкий Ю.А., 2007					РАК ЯИЧНИКОВ	Wei S., 2007				
	Walz G.T., 2009					Иммунорегуляторный индекс (CD4/CD8)	Салехено Е.Г., 2016				
	Салехено М.И., 2013						Николай А., 2014				
Yu Q. M., 2012					Матко Р., 2018						
РАК ЖЕЛУДКА	Салехено И.Г., 2006					РАК ЖЕЛУДКА	Wei S., 2007				
	Виталицкий Я.В.					ГЛИОБЛАСТОМА	Салехено Е., 2010				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Березин В.Ю., 2007					ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Джонсон М.Р., 2013				
	Копкин А.И., 2015					ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Джонсон М.Р., 2013				
	Матко Р., 2018					ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Танг С., 2017				
	Николай А., 2014					КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Wang, H., 2015				
	Ха Т., 2014					МЕЛАНОМА	Kirkwood J.M., 2002				
РАК НОСОГЛОТКИ	Ха Т., 2014					МЕЛАНОМА	Николай А., 2014				
НЕМЕЛАНОМАКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Салехено А.А., 2005					РАК НОСОГЛОТКИ	Ха Т., 2014				
НЕМЕЛАНОМАКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Салехено А.А., 2005					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Березин В.Ю., 2007				
РАК ПИЩЕВОДА	Салехено А.А., 2005					УРЕТЕЛИАЛЬНЫЙ РАК	Копкин А.И., 2015				
ПЛОСТЕОГЕННАЯ САРКОМАКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Салехено А.А., 2005					РАК ЖЕЛУДКА	Салехено И.Г., 2006				
РАК ЛЕГКОГО	Салехено А.А., 2005					РАК ЖЕЛУДКА	Салехено И.Г., 2006				
РАК ГОРТАНИ	Walz G.T., 2009					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Копкин А.И., 2015				
РАК ГОРТАНИ	Yu Q. M., 2012						Виталицкий Я.В., 2013				
РАК ЖЕЛУДКА	Салехено И.Г., 2006					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Березин В.Ю., 2007				
Наивные CD8+ клетки						CD95					
НЕМЕЛАНОМАКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Rietman, D., 2019					ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Джонсон М.Р., 2013				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Като Р., 2018					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Виталицкий Я.В.				
МЕЛАНОМА	de Groot Y.P., 2017					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Копкин И.Г., 2013				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Като Р., 2018					ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Брицкий А.М., 2009				
РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ	Салехено С. J., 2012					РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ САРКОМАТАТЬЖ	Финес М.Р., 2016				
РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ	Салехено С. J., 2012					Спонтанная миграция					
МЕЛАНОМА	de Groot Y.P., 2017					РАК ВУЛЬВЫ	Урочин Г.А., 2012				
МЕЛАНОМА	de Groot Y.P., 2017					РАК ВУЛЬВЫ	Урочин Г.А., 2013				
РАК ПИЩЕВОДА	Като Р., 2018					Миграция с ФГА					
РАК ПИЩЕВОДА	Като Р., 2018					РАК ВУЛЬВЫ	Урочин Г.А., 2012				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Като Р., 2018					РАК ВУЛЬВЫ	Урочин Г.А., 2013				
РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ	Салехено С. J., 2012					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ	Салехено С. J., 2012					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
CD3+HLADR+						Миграция с ФГА					
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ	Джонсон М.Р., 2013					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
МЕЛАНОМА	Kirkwood J.M., 2002					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
	Копкин А.В., 2019					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
	de Groot Y.P., 2017					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
НЕМЕЛАНОМАКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Салехено А.А., 2005					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
РАК ПИЩЕВОДА	van Bekkum-De Van Der Schueren M. A., 2001					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
РАК ЛЕГКОГО	Салехено А.А., 2005					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
РАК ЖЕЛУДКА	Салехено И.Г., 2006					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
РАК ЖЕЛУДКА	Салехено И.Г., 2004					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
РАК ЖЕЛУДКА	Виталицкий И.П., 2009					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин А.И., 2015					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ	Салехено С. J., 2012					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
Миграция с Кон-А						Миграция с ФГА					
РАК ЖЕЛУДКА	Салехено И.Г., 2006					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				
УРЕТЕЛИАЛЬНЫЙ РАК	Копкин А.И., 2015					РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Урочин Г.А., 2012				

Рисунок 8 – Предиктивная и прогностическая значимость клеток Т-клеточного звена адаптивной ИС – продолжение

Примечание к рисунку 8: Каждая строка представляет одно исследование. Обозначено влияние повышенного уровня показателя. Красный цвет – повышение уровня ОВ, ВДП, КЭ и стадии процесса, подтвержденное в многофакторном анализе или клинически значимое; оранжевый – повышение, не подтвержденное в многофакторном анализе; белый – отсутствие статистически значимой связи с результатом; синий – снижение соответствующего показателя, подтвержденное в многофакторном анализе.

Интересно отметить, что в этом же исследовании повышенный уровень Т-лимфоцитов, экспрессирующих CTLA4, до начала лечения был связан с повышением ОБ. Важно подчеркнуть, что CTLA4, являющийся мишенью для воздействия ипилимумаба, является антагонистом ко-стимулирующего рецептора CD28, практически постоянно экспрессирующегося на наивных Т-лимфоцитах [63]. Таким образом, можно предположить, что иммунный ответ в данном исследовании был пропорционален количеству наивных Т-лимфоцитов, которые можно было специфически активировать в процессе терапии [128].

В других исследованиях у больных меланомой кожи, получавших ипилимумаб, подобные различия были статистически незначимы [143]. При применении ниволумаба наблюдалось увеличение уровня клеток эффекторной памяти на фоне лечения у больных, достигших объективного ответа на лечение [149].

Одной из наиболее значимых для развития злокачественного процесса субпопуляций Th являются Treg, имеющие выраженную конститутивную экспрессию CD25, FoxP3 и слабо или не экспрессирующие CD127 [128]. Их предиктивная роль при проведении терапии анти-PD1 препаратами была показана в ряде исследований [11]. Однако в некоторых исследованиях роль этих клеток оказывается противоречивой. Если при глиобластоме повышение данной субпопуляции до лечения повышало риск смерти [96], то при применении ипилимумаба у больных меланомой кожи, наоборот, наблюдалось повышение уровня этих клеток относительно доноров у пациентов с наибольшей продолжительностью жизни [103].

Уровень ЦТЛ теоретически может иметь особое значение для прогноза, поскольку именно эти клетки реализуют противоопухолевый специфический иммунный ответ. Ряд клинических исследований [137; 150] подтверждают такое предположение, тогда как в других исследованиях [144-146] такой связи обнаружено не было. Интересно отметить, что повышение уровня ЦТЛ оказалось связано с повышением качества жизни пациентов, а именно – с улучшением когнитивных/физиологических функций [141] у больных раком молочной железы.

Повышение пролиферативной активности Т-лимфоцитов сразу после начала терапии анти-PD-1 препаратами у больных меланомой кожи наблюдалось у пациентов, ответивших на лечение, что подтверждает наше предположение о значимости этой популяции Т-лимфоцитов для развития эффективного ответа на лечение [24]. У больных раком лёгкого было отмечено, что подобная популяция клеток была больше у ответивших на лечение больных и состояла из клеток, экспрессирующих CD27 и CD28, что говорит о «наивном» характере этих клеток [11]. О значимости анализа популяций клеток памяти среди эффекторных лимфоцитов свидетельствуют исследования Y.P. Соана с соавт. [143], в которых было показано повышение

уровня таких клеток при увеличении ОБ. Похожие закономерности с клетками эффекторной памяти были выявлены в ранее упоминавшемся исследовании S.J. Santegoets с соавт. [148].

Функциональные показатели активности Т-клеток исследовались в качестве прогностических факторов в небольших исследованиях. Было установлено, что более низкие уровни спонтанной миграции лимфоцитов и повышенные уровни стимулированной ФГА миграции наблюдались у больных раком вульвы I–IV стадии без рецидива после проведённого лечения [151]. Связи показателей с эффективностью ХТ или гормонотерапии при раке молочной железы установлено не было [152].

Уровень маркеров активации Т-лимфоцитов может также быть важным фактором, свидетельствующим о функциональном состоянии ИС. Выделяют несколько маркеров активации: ранней – CD25, и поздней – CD71 и HLA-DR, последовательно экспрессирующихся на поверхности Т-лимфоцитов в процессе развития иммунного ответа [13]. Важным показателем активности Т-клеток также является уровень CD95, являющийся маркером апоптоза.

Содержание активированных Т-лимфоцитов, и особенно их супрессорных популяций, активно изучалось различными коллективами авторов [128]. В ходе исследований были получены данные о нарастании содержания CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов, что может свидетельствовать об истощении иммунного ответа, по мере повышения стадии раннего рака молочной железы [153]. Напротив, в наших исследованиях большее содержание данных клеток наблюдалось у больных меланомой кожи с развившимся клиническим ответом на терапию дакарбазином [150]. Более высокое содержание регуляторных Т-лимфоцитов отмечено в группе больных глиальными опухолями с более высокими показателями ОБ [154]. В целом можно предположить негативное влияние данных субпопуляций на показатели выживаемости и эффективности и ассоциацию их с повышенной стадией опухолевого процесса.

Оценка уровня экспрессии CD71 не позволила выявить его предиктивной ценности [145; 146]. Более значимыми оказались изменения уровня HLA-DR антигена. Изменения данного маркера наблюдались у больных меланомой IV стадии, при этом связи с прогнозом или изменений показателя в динамике выявлено не было [103]. В отдельных исследованиях была выявлена связь уровня экспрессии HLA-DR со стадией заболевания при раке желудка [155] и при немелкоклеточном раке лёгкого [156]. В других исследованиях связи уровня HLA-DR⁺ клеток с известными прогностическими факторами или показателями выживаемости выявлено не было [134; 157].

Содержание CD38⁺ и CD95⁺ клеток изучалось в небольшом числе исследований, однако их прогностическая и предиктивная значимость не была показана [144-146]. В отдельных

исследованиях было показано повышение CD95⁺ клеток с ростом стадии Т (по TNM) у больных первичным раком молочной железы [153] и снижение содержания этих клеток у пациентов из группы неблагоприятного прогноза при раке яичников [158].

Ещё одной популяцией, обладающей регуляторными свойствами, являются НКТ, т.е. Т-лимфоциты, экспрессирующие маркеры НК-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺). В исследованиях их роль оказалась двоякой [128]. С одной стороны, было выявлено повышение уровня этих клеток относительно доноров при начальных, но не при местно-распространённых стадиях рака молочной железы [159]. При меланоме [159] и раке почки [147], напротив, наблюдалось более частое прогрессирование и худшие показатели ОВ при увеличении содержания этих клеток в крови. Важно отметить, что при раке почки уровень НКТ-клеток был независимым от критериев MSKCC фактором прогноза.

Соотношение Th и ЦТЛ – иммунорегуляторный индекс – вероятно, лучше отражает возможности ИС по подавлению опухолевого роста, поскольку отражает соотношение эффекторных и тормозных сигналов в Т-клеточном звене. Это подтверждается наблюдавшимся ростом данного индекса по мере увеличения стадии раннего рака молочной железы [160], однако в других исследованиях прогностического значения данного индекса выявлено не было [134]. Возможно, причиной являлось схожее изменение показателя на различных стадиях опухолевого процесса [156].

Баланс Th и поляризация иммунного ответа в сторону Т- или В-лимфоцитов могут иметь практическое значение при прогнозировании нежелательных явлений. Так, при изучении фебрильной нейтропении данный фактор был единственным, позволившим предсказывать данное состояние [161].

Таким образом, по результатам систематического обзора, можно предположить, что высокое содержание эффекторных субпопуляций является благоприятным фактором, способствующим увеличению эффективности лечения и продолжительности жизни, тогда как содержание регуляторных клеток играет отрицательную роль [128]. Многие параметры отражают, вероятно, сходные процессы, происходящие в иммунной системе. Противоречивость результатов некоторых исследований требует комплексной оценки указанных показателей в рамках одного анализа для выявления клинически значимых ассоциаций показателей, которые позволяют индивидуализировать терапию или использовать выявленный иммунологический синдром как основание для проведения лечебных воздействий [128]. Ограниченная доступная информация о малых субпопуляциях Т-лимфоцитов требует проведения их отдельного анализа, с учётом выделенных иммунологических синдромов.

1.3.5. Состояние В-клеток как фактор прогноза при злокачественных опухолях

В наш систематический обзор вошло 54 группы больных, включавшие 4997 пациентов со злокачественными солидными опухолями, в которых оценивалось состояние В-клеточного звена иммунной системы [128]. Его результаты суммированы на рисунке 9.

Несмотря на то, что В-лимфоциты не являются основными эффекторами противоопухолевого иммунного ответа, их повышенное содержание может рассматриваться как фактор прогноза эффективности лечения [103; 150]. Однако это взаимодействие разнонаправлено и может быть нелинейным [103]. Интересно отметить, что была обнаружена связь между улучшением качества жизни по гастроинтестинальной шкале и содержанием В-клеток в крови больных первичным раком молочной железы на фоне комплексного лечения [141]. Возможно, большую значимость будут играть субпопуляции В-регуляторных лимфоцитов, повышение которых приводило к ухудшению показателей выживаемости больных раком желудка, получавших ХТ по схеме XELOX [162].

Важно отметить, что высокие уровни этих лимфоцитов имели благоприятное прогностическое и предиктивное значение во всех исследованиях, несмотря на отсутствие статистически значимых различий в некоторых из них [147].

Уровни иммуноглобулинов также могут иметь разностороннее значение в прогнозе заболевания. В исследованиях показана связь уровней иммуноглобулинов класса А (IgA), G (IgG) и М (IgM) с прогнозом в отдельных когортах пациентов [163-165]. При этом значение отклонений в уровнях иммуноглобулинов подчас носило противоречивый характер.

Ещё одним фактором комплексной оценки, как В-клеточного звена, так и эндогенной интоксикации, является оценка содержания циркулирующих иммунных комплексов в крови [128]. В отдельных исследованиях пониженное содержание данных структур наблюдалось у больных без рецидива рака вульвы после проведённого лечения [166].

Заболевание	Исследование	ОВ	ВДП	КЭ	Стадия
В-лимфоциты					
ГЛИОБЛАСТОМА	Савкина, К., 2010				
КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК	Wang, H., 2015				
МЕЛАНОМА	Kirkwood J.M., 2002				
	Novak, M., 2013				
	Беленький, Э.Г., 2017				
	Цылик, А.В., 2019				
	Цылик, А.В., 2019				
РАК ПОСТЕОГЕННАЯ САРКОМА ОГУЛТКИ	Xu, T., 2014				
	Yu, F. J., 2012				
НЕМЕЛАНОМА КЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Rietman, D., 2019				
НЕМЕЛАНОМА КЛЕТОЧНЫЙ РАК ПИЩЕВОДА	Малышев, С., 2019				
ПЛОСТЕОГЕННАЯ САРКОМА КЛЕТОЧНЫЙ РАК ГОРТАНИ	Васильев, П.Н., 1996				
РАК ЖЕЛУДКА	Васильев, Ю.А., 2007				
	Wolf G.T., 2002				
	Yu Q. M., 2012				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Савкина, И.Г., 2006				
РАК ПРОСТЕОГЕННАЯ САРКОМА ТАТЫ	Li W., 2017				
РАК ЯИЧНИКОВ	Мана, Е.Ф., 2009				
УРОТЕЛИАЛЬНЫЙ РАК	Гришин, А.М., 2009				
	Novak, M., 2013				
	Беленький, П.Н., 1999				
	Беленький, П.Н., 1999				
Иммуноглобулины А (IgA)					
НЕМЕЛАНОМА КЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Савкина, А.А., 2009				
ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Гришин, А.М., 2009				
РАК ГОРТАНИ	Васильев, Ю.А., 2007				
	Савкина, М.П., 2013				
РАК ЖЕЛУДКА	Беленький, П.Н., 2009				
РАК ЖЕЛУДКА	Савкина, М.П., 2013				
Иммуноглобулины М (IgM)					
НЕМЕЛАНОМА КЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Савкина, А.А., 2009				
ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Гришин, А.М., 2009				
РАК ГОРТАНИ	Васильев, Ю.А., 2007				
	Савкина, М.П., 2013				
РАК ЖЕЛУДКА	Беленький, П.Н., 2009				
РАК ЖЕЛУДКА	Савкина, М.П., 2013				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Whitton D. J., 1979				
РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Whitton D. J., 1979				
Иммуноглобулины G (IgG)					
НЕМЕЛАНОМА КЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО	Савкина, А.А., 2009				
ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫЙ РАК	Гришин, А.М., 2009				
РАК ВУЛЬВЫ	Цылик, Г.А., 2013				

Рисунок 9 – Предиктивная и прогностическая значимость показателей В-клеточного звена адаптивной ИС

Примечание к рисунку 9: Каждая строка представляет одно исследование. Обозначено влияние повышенного уровня показателя. *Красный цвет* – повышение уровня ОВ, ВДП, КЭ и стадии процесса, подтвержденное в многофакторном анализе или клинически значимое; *белый* – отсутствие статистически значимой связи с результатом; *синий* – снижение соответствующего показателя, подтвержденное в многофакторном анализе.

1.3.6. Использование комплексных оценок иммунного статуса для определения клинической тактики

Возможность оценки множественных характеристик ИС приводит к необходимости введения комплексных оценок показателей. Одним из вариантов решения данной проблемы является создание сложных прогностических индексов или номограмм, учитывающих сразу несколько факторов [128]. К одному из таких решений относится неаполитанский прогностический индекс, учитывающий одновременно NLR, LMR, уровень альбумина и холестерина. Оценка роли такого индекса у больных раком желудка показала, что повышение данного индекса системного воспаления существенно снижало показатели ОВ у больных КРР, получающих первую линию ХТ [68].

Результаты кластеризации пациентов по основным показателям ИС, выполненные преимущественно у больных раком почки [66; 103], позволили выделить следующие варианты иммунного реагирования пациентов на злокачественную опухоль: активация адаптивного иммунного ответа, активация врождённого иммунного ответа, подавление всех звеньев ИС и отсутствие реакции ИС. Реже могут наблюдаться ещё два варианта: дисрегуляторное состояние и гиперактивация адаптивной иммунной системы. В исследованиях этого коллектива авторов вариант иммунного реагирования был связан с прогнозом пациентов.

Похожие результаты были получены другим коллективом при изучении местнораспространённой и метастатической меланомы кожи [127]. В этих исследованиях также выделялось четыре варианта иммунного реагирования ИС на заболевание: умеренная супрессия, нормальная реакция, активация и гиперактивация. При сравнении с ранее описанной системой вариантов иммунного реагирования можно утверждать, что активация эквивалентна повышению активности адаптивной иммунной системы (повышение уровня $CD8^+$ лимфоцитов, сопоставимый с ними уровень $CD38^+$ клеток при уровне моноцитов и $CD4^+$ клеток в пределах референсных значений), нормореакция соответствует отсутствию реакции ИС на опухоль, умеренная супрессия отражает состояние дисрегуляции (повышенное содержание HLA-DR клеток и моноцитов при лимфопении за счёт как $CD8^+$, так и $CD4^+$ клеток; уровень $CD38^+$ клеток при этом также понижен и сопоставим с уровнем ЦТЛ). Гиперактивация иммунного ответа при этом отражает избыточную активность как эффекторов врождённой иммунной системы (повышение моноцитов и лимфоцитов, LMR около 1, повышение HLA-DR⁺ клеток), так и высокую активность $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток. При этом уровень $CD38^+$ лимфоцитов значительно превышает уровень $CD8^+$ клеток. Важно отметить, что в исследованиях этого коллектива авторов была показана наиболее неблагоприятная прогностическая значимость именно варианта гиперактивации иммунной системы.

1.4. Возможные нарушения в работе иммунной системы при опухолевом росте и их отражение в состоянии иммунной системы

Несмотря на большое количество исследований и пациентов, включённых в наш систематический обзор, применение его результатов на практике затруднено. Многие исследования имели разное определение высокого и низкого уровня показателей. В некоторых случаях преимущество было отдано одному из показателей в прогностической модели не из-за отсутствия его связи с анализируемым исходом, а из-за выраженного взаимодействия анализируемых параметров. В нескольких исследованиях было выявлено противоречивое влияние одних и тех же изменений на прогноз заболевания. Это может быть связано как с разными по заболеваниям когортами пациентов, так и с разными методами лечения. Некоторые метаанализы просто исключали такие наблюдения из расчётов [91]. Значительная доля исследований фокусировалась исключительно на определении прогноза у операбельных первичных больных, тогда как задача нашей работы предполагает определение тактики, прежде всего, системного лечения. Кроме того, использование более детальной информации о состоянии ИС в этих исследованиях не учитывалось. Несмотря на это, можно предположить наличие ряда типовых нарушений состояния иммунной системы и некоторую последовательность в их развитии.

Слабость и недостаточность опухоль-ассоциированных антигенов является давно известной проблемой в развитии противоопухолевого иммунного ответа [167]. Недавние исследования механизмов анти-PD-1 терапии также подтверждают идею о наличии опухолей, при которых иммунный ответ просто не развивается [26]. Исходя из данных, полученных в ходе нашего систематического обзора, и учитывая этапы развития противоопухолевого иммунного ответа, можно предположить, что при анализе ИС не будет выявлено каких-либо изменений в этом случае, т.е. будет наблюдаться ареактивность.

Второй вариант развития процесса – индукция толерантности организма хозяина к опухоли. Она имеет много общего с механизмами, обеспечивающими толерантность при беременности: переключение на M2 макрофаги, повышение NKT и Treg, увеличение маркеров апоптоза (CD95) на лимфоцитах [168]. Иммунный ответ как таковой при таком варианте практически не развивается. Фактически речь идёт об индукции комплексных (клеточных и гуморальных) механизмов иммуносупрессии, влияние на которые является одним из важных факторов действия противоопухолевой иммунотерапии. В частности, такой механизм был описан при воздействии сунитиниба на больных раком почки [169]. Однако охарактеризовать изменения в других субпопуляциях иммунных клеток, возникающие при этом, затруднительно.

Важным этапом развития иммунного ответа является выбор основных эффекторов адаптивного ответа: клеточного или гуморального. При первом, наиболее важном для противоопухолевого ответа, варианте в ИС можно ожидать рост популяций ЦТЛ и повышение ИРИ, при этом активность В-клеточного звена и НК-клеток может не изменяться. При гуморальном ответе ожидается повышение активности не только В-клеток, но и макрофагов (включая НК) при подавлении или низкой активности Т-клеточного звена.

Оценка иммунного статуса в динамике свидетельствует о постепенном изменении состояния ИС после проведённого лечения и ассоциации этого сдвига с прогрессированием процесса [170]. Такое постепенное истощение сил ИС может происходить при успешной защите опухоли от её воздействия при помощи индукции различных защитных механизмов и усиления естественных процессов торможения. В иммунном статусе при этом можно ожидать роста регуляторных популяций клеток и подавления количества и активности эффекторных популяций. При этом дифференцировка и созревание наивных клеток может тормозиться и количество самих наивных клеток увеличиваться. Можно также предположить снижение клеток памяти при подобном варианте развития событий.

Эволюционируя, опухоль часто утрачивает значительное количество антигенов и теряет способность представлять их на своей поверхности [171]. Противоопухолевый ответ в таких случаях может переключиться вновь на эффекторы врождённой ИС, которые обладают другими, независимыми от системы HLA механизмами распознавания. Проявлениями такого процесса в ИС может быть рост НК-клеток, и, возможно, других эффекторов врождённой ИС. И, наконец, крайней степенью неэффективности противоопухолевого ответа может быть генерализация малоуправляемого системного воспаления.

Таким образом, теоретически может быть предположен ряд состояний, открывающих возможности или препятствующих развитию эффектов разных методов терапии. Ранее приведённые примеры исследований позволяют предположить разную роль таких состояний при разных заболеваниях и разнонаправленное влияние на эффективность отличных по механизму действия терапевтических подходов. Кроме того, мы можем предполагать наличие чётких иммунологических сигналов, свидетельствующих о наличии и отсутствии эффекта проводимого лечения.

На основании имеющихся литературных данных затруднительно сформулировать чёткие критерии и последовательность развития подобных состояний. Для уточнения этих определений, с одной стороны, необходим повторный систематический анализ литературных данных о прогностической и предиктивной роли иммунологических маркеров и их комплексной оценки для определения оптимального пути решения поставленных в нашем

исследовании задач. С другой стороны, требуется комплексный анализ иммунологических показателей для определения особенностей состояния разных компонентов иммунной системы при всех выявленных состояниях, определения профилей иммунологической реактивности при «иммуночувствительных» и «не чувствительных» к иммунологическим воздействиям опухолей и влияния этих профилей на эффективность лечебных подходов [128].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования

Данное исследование представляет собой пулированный анализ результатов ряда проспективных клинических исследований первой-второй или четвертой фазы, в которых пациенты с диссеминированными солидными опухолями получали противоопухолевое лечение. В состав этих исследований входили следующие научно-исследовательские работы (НИР):

- Работы в рамках государственного задания отделения химиотерапии и инновационных технологий и научного отдела онкоиммунологии за 1998–2017 гг.

- Научно-технической программы «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний» в 2004–2012 гг.:

- Программа расширенного доступа к ипилимумабу CA184-EAP.
- Программа расширенного доступа к ниволумабу CA209 – EAP.
- Оценка эффективности использования рекомбинантного интерлейкина-2 у больных диссеминированной меланомой кожи и распространённым раком почки.
- Оценка токсичности и эффективности аутологичной дендритноклеточной вакцины у больных саркомой мягких тканей.

В ходе каждой НИР у пациентов проводилась оценка состояния иммунной системы до лечения, во время терапии и после лечения в период наблюдения за пациентами. Данные оценки являлись дополнительными конечными точками в каждом из этих исследований.

Критериями включения пациентов в данный пулированный анализ были:

- наличие информированного согласия на участие в одной из вышеперечисленных НИР;
- морфологически подтверждённый диагноз злокачественной солидной опухоли;
- в основное исследование включались только больные с меланомой, раком почки/почечноклеточным раком (ПКР), колоректальным раком, саркомами мягких тканей (СМТ) и первично-множественными опухолями (ПМО).

Для оценки вариабельности использовали данные по всем включённым в исследование пациентам со злокачественными солидными опухолями:

- наличие информации о проведённой терапии;
- наличие информации о прогностической подгруппе (критерии благоприятного и неблагоприятного прогноза) заболевания;

– наличие информации о прогностической подгруппе (критерии благоприятного и неблагоприятного прогноза) заболевания;

– наличие не менее одного иммунного статуса, выполненного до 31.12.2016 года (за исключением исследования по оценке вариабельности измерений иммунологических показателей, который проводился в марте – мае 2017 года);

– наблюдение за пациентом до летального исхода или не менее 6 мес. после оценки первого иммунного статуса.

В качестве объекта наблюдения в исследовании использовалась единичная оценка состояния иммунной системы у одного больного – иммунный статус). Для участия в исследовании было скринировано 4716 пациентов. В исследовании допускалось повторное включение пациента с отличающимся от ранее использованного иммунным статусом. Схема включения больных в исследование представлена на рисунке 10.



Рисунок 10 – Схема включения больных в исследование

Общее исследование было разделено на ряд подисследований для решения отдельных задач. Такое разделение было необходимо ввиду использования разных наборов данных и разных объектов наблюдения.

Исследование ВАСИЛИСА проводилось для оценки вариабельности показателей иммунного статуса при повторных измерениях. В него включались последовательно собранные оценки состояния иммунной системы, и впоследствии проводилась их многократная повторная оценка.

В исследование ПОЗИИС включались иммунные статусы больных меланомой, саркомами мягких тканей, КРР и ПКР. Большая часть больных из исследования ВАСИЛИСА была включена в это исследование. Не было включено в исследование 30 больных с диагнозами, отличными от перечисленных выше.

Для подтверждения релевантности выборки было проведено исследование РЕПРИЗА. В нём объектами наблюдения были пациенты, получавшие определённый вид лечения. Нами проводилось сравнение параметров эффективности терапии у пациентов, включённых в исследование ПОЗИИС, таких как частота ОО, ВДП и ОВ. Для получения воспроизводимых оценок эффективности анализ был ограничен только группами пациентов с однотипным лечением, в которые входило более 15 пациентов. Исключения были сделаны только для групп пациентов, которые получали монотерапию ингибиторами BRAF и монотерапию интерфероном-альфа у больных диссеминированной меланомой (было включено меньшее количество наблюдений).

Исследование АИСТ проводилось для оценки краткосрочной динамики изменений иммунного статуса на фоне лечения. В него были включены только больные меланомой, СМТ и ПКР, у которых иммунный статус был оценен до лечения и на фоне первых 6 недель терапии, т.е. до плановой оценки эффективности лечения по системе RECIST.

2.2. Оцениваемые параметры

Проводилась оценка следующих параметров у каждого включённого в исследование больного:

Демографические характеристики:

- пол;
- возраст;
- общая выживаемость.

Характеристики заболевания:

- группа заболеваний;
- подгруппа заболевания;
- динамика опухоли на момент оценки иммунного статуса;
- стадия заболевания.

Характеристики лечения:

- режим лечения;
- тип лечения;
- количество этапов предшествующего системного лечения;
- наличие в момент оценки иммунного статуса иНЯ определённого типа и механизма развития;
- эффект терапии по системе RECIST;
- эффект терапии по системе irRC;
- время до прогрессирования;

Характеристики иммунного статуса:

- уровень показателей иммунного статуса;
- наличие иммунологических нарушений определённого типа;
- наличие отклонений от референсных значений;
- время до события.

Тип лечения учитывал, с одной стороны, адъювантный или паллиативный характер системной терапии. Хирургические методы лечения кодировались как отсутствие адъювантной системной терапии и использовались в качестве контраста для построения прогностических моделей.

Также в ходе работы использовалась классификация методов лечения по типам воздействий (хирургическое лечение, лучевая терапия, химиотерапия, иммунотерапия, эфферентная терапия, фотодинамическая терапия (видимый свет), таргетная терапия, гормонотерапия) и по иммунологическому действию. Для последней классификации использовался перечень методов иммунотерапии (см. в разделе 6.1). Кроме указанных в данной классификации методов (методы усиления презентации антигена, модуляторы иммунного синапса, методы воздействия на кинетику иммунных процессов, адаптивная клеточная и гуморальная терапия, антиблокирующая терапия, методы воздействия на опухоль с последующей активацией иммунной системы, методы с выраженным иммуносупрессивным действием), дополнительно были добавлены градации для учёта методик лечения, не обладающих явным и выраженным воздействием на иммунную систему (без значительного иммуномодулирующего действия – хирургическое лечение, с выраженным иммуносупрессивным действием – все режимы полихимиотерапии (ПХТ), с потенциальным иммуномодулирующим действием – все режимы монохимиотерапии (МХТ) и метронормная терапия, а также методы, иммунологическая роль которых не вполне ясна.

Под ОВ в ходе исследования принималось время от выполнения иммунного статуса до летального исхода по любой причине. В исследованиях АИСТ и РЕПРИЗА этот показатель рассчитывался от начала этапа лечения. Под последним термином были объединены все лечебные воздействия, проводимые в запланированной последовательности по поводу одного прогрессирования заболевания. За начало этапа принимали первое лечебное воздействие, за окончание – прогрессирование заболевания, из-за которого требовалось изменить план лечения (например, ввести новый метод лечения или изменить существующий режим терапии). Интенсификация лечения без признаков прогрессирования процесса, равно как и смена режима терапии без этих признаков, не расценивалась как начало нового этапа терапии.

Под ВДП понимали время от оценки иммунного статуса (ПОЗИИС) или от начала этапа лечения (АИСТ, РЕПРИЗА) до появления первых признаков прогрессирования заболевания, приведшего в дальнейшем к смене этапа лечения. В случае летального исхода пациента, не связанного с прогрессированием опухолевого процесса, показатель оставался цензурированным. В исследовании ПОЗИИС пациенты с оценкой иммунного статуса на момент или в течение двух недель от прогрессирования опухолевого процесса исключались из анализа этого показателя (считались пропущенными), ввиду отсутствия практической пользы от оценки иммунологических параметров при наличии клинической картины прогрессирования процесса.

При оценке диагнозов учитывалась как группа заболеваний (например, меланома), так и подтип заболевания (например, меланома слизистых). Для больных с первично-множественной опухолью учитывалась та опухоль, по поводу которой проводилось текущее лечение. В качестве группы заболеваний у таких пациентов указывалась «первично-множественная опухоль».

В нашем исследовании использовалось стадирование по классификации UICC TNM 8 (2017) [172]. В связи с включением больных с разными локализациями процесса единственной обобщающей классификацией из системы TNM была сама стадия заболевания. Именно она использовалась при построении многомерных статистических моделей.

При описании лечения использовался режим лечения и группа методов лечения. Мы объединяли различные режимы, руководствуясь общностью механизмов влияния на иммунную систему (например, цитостатики) и отсутствием известных различий в эффективности лечения при определённом типе опухоли. Так, пациенты, получавшие различные виды ХТ при меланоме кожи, были объединены в одну группу, тогда как химиоиммунотерапия (ХИТ) анализировалась отдельно из-за прямого влияния входивших в её состав цитокинов на ИС.

В качестве шкал оценки эффективности лечения использовалась наилучшая оценка эффекта терапии по шкале RECIST [173]. Использовались стандартные категории ответов

на лечение: полный регресс, частичный регресс, стабилизация заболевания, прогрессирование заболевания. Под объективным ответом по этим системам подразумевалась сумма ЧР и ПР, под клиническим эффектом – сумма ОО и СЗ. Однако значительная часть иммунных статусов выполнялась не в момент такой оценки. Ряд иммунных статусов были определены у больных на фоне развивающегося эффекта лечения или развивающегося прогрессирования опухолевого процесса. Кроме того, выше мы уже описывали возможные противоречия при оценке эффекта по разным системам. Поэтому нами была дополнительно введена переменная «динамика опухоли», определение уровня которой представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Определение динамики опухоли в исследовании

Код	Определение	Обобщённая группа
1	Бурное прогрессирование, в том числе прогрессирование при внеплановых оценках из-за быстрого роста или ухудшения состояния больного, симптоматическое прогрессирование, признаки ускорения роста опухоли на лечении	Прогрессирование
2	ПЗ, одинаково определяемое по 2 системам, без признаков гиперпрогрессирования	Прогрессирование
3	Опухолевые очаги в пределах СЗ с симптомами ухудшения со стороны клинической картины заболевания, противоречивые (СЗ и ПЗ по разным системам) оценки эффекта	Рост опухоли
4	СЗ без изменения клинической картины, одинаково определяемое по разным системам	Стабилизация
5	СЗ с улучшением клинических симптомов заболевания или уменьшением размеров очагов, недостаточным для квалификации как эффект; противоречивые оценки эффекта по разным системам (ЧР и ПЗ)	Уменьшение опухоли
6	Минимальный регресс – уменьшение измеримых очагов от 30 до 50%), не подтверждённый ЧР, ЧР – по одной системе и СЗ – по другой	Объективный ответ
7	ЧР по двум системам	Объективный ответ
8	Состояние после полной циторедукции	Объективный ответ
9	Полный регресс	Объективный ответ
10	Прогрессирование после ОО на фоне лечения	Рост опухоли
11	Прогрессирование после стабилизации на фоне лечения	Рост опухоли
12	СЗ после ПЗ на фоне лечения	Стабилизация
13	ОО после ПЗ на фоне лечения	Регресс опухоли
14	ОО после СЗ на фоне терапии	Регресс опухоли
255	Оценка невозможна	Пропущенные значения

Нами проводилась оценка НЯ на фоне терапии, прежде всего, являющихся иНЯ [47]. Степень тяжести этих реакций оценивалась нами в соответствии с критериями СТС АЕ v5 [174]. Ввиду редкости отдельных видов иНЯ они были сгруппированы по механизмам развития и преобладающей в патогенезе данных состояний части ИС. Кодирование осуществлялось в соответствии с таблицей 3.

Таблица 3 – Кодирование иНЯ по механизму действия и преобладающей части иммунной системы в его реализации

Механизм развития иНЯ	Виды иНЯ в данном механизме	Преобладающий тип ИС *
Классические аутоиммунные болезни (ассоциированные с ГКГС II класса)	Аутоиммунный тиреоидит, аутоиммунный гепатит, миастения гравис, гемолитическая анемия	А
Молекулярная мимикрия	Ревматическая лихорадка, синдром Гиена-Баре, полинейропатии, витилиго, нефриты	А
Болезни иммунных комплексов Параметр «иНЯ БИК»	Синдром Стивенса-Джонсона и синдром Лайела, многоформная эритема (только этот вариант сыпи) сывороточная болезнь	А
Гиперчувствительность немедленного типа (ассоциированная с IgE)	Анафилаксия, астма + любая немедленная аллергическая реакция Повышение эозинофилов	АВ
Гиперчувствительность немедленного типа (не ссоциированная с IgE) Параметр «иНЯ не IgE»	Анафилактоидные реакции, крапивница	АВ
Промежуточные (ассоциированные с ГКГС I класса) Параметр «иНЯ ГКГС I»	Реактивный артрит (установленный диагноз), псориаз, болезнь Крона, язвенный колит	АВ
Опосредованные преимущественно врождённой иммунной системой Параметр «иНЯ ВИС»	Лихорадка (только в контексте цитокинового шторма), миалгия, артралгия (в сочетании с другими), синдром выброса цитокинов, гипотония	В
Не установленный механизм:	Изолированная лихорадка (сомнения в цитокиновой природе), сыпь неуточнённая, зуд, повышение базофилов, повышение креатинина, мочевины, пульмонит	АВ
Симптомы возможных иНЯ	Слабость (необъяснимая), болевой синдром, прочие реакции, которые могут быть связаны с реакциями ИС	–

Примечание: * – А – активация адаптивного звена ИС; В – активация врождённого звена ИС; БИК – болезни иммунных комплексов; ВИС – врождённая иммунная система.

К ранее описанной классификации иНЯ были добавлены 2 категории: 1) иНЯ с неустановленным механизмом действия и 2) симптомы возможных иНЯ. К первым были отнесены состояния, относительно которых нет чёткого описания механизма развития в доступной нам литературе. Во вторую группу были отнесены те состояния, которые могут

быть связаны как с прогрессированием опухолевого процесса, так и с развитием какого-либо процесса, опосредованного ИС. Этот вид симптомов всегда учитывался отдельно. Для каждого из прочих типов иНЯ были установлены компартменты иммунной системы, принимающие значительное участие в соответствующем патогенетическом механизме.

В качестве характеристик иммунного статуса использовались ряд показателей иммунной системы (см. таблицу 1). Для оценки прогностической и предиктивной значимости маркеров использовались те же определения, что и в систематическом обзоре. Мы рассматривали параметры ИС как прогностические в том случае, если их влияние на эффект терапии оценивалось без учёта вида лечения в общей группе или оказывало одинаковое по направлению влияние на исход заболевания во всех изученных терапевтических подгруппах. В тех случаях, когда связь маркера с эффектом регистрировалась лишь при отдельных вариантах лечения, но не в общей популяции больных, а также при разнонаправленном влиянии показателей, маркер расценивался как предиктивный. При снижении риска ПЗ или летального исхода больного, а также при увеличении вероятности ОО при определённом значении параметра или при увеличении значения показателя на единицу маркер считался благоприятным. В прочих случаях, т.е. при повышении риска ПЗ или летального исхода и снижении вероятности ОО при определённом значении параметра, или по мере увеличения значения на единицу, маркер расценивался как неблагоприятный.

Нами проводилась комплексная оценка как врождённой ИС, так и звеньев адаптивной иммунной системы. В разных исследовательских составах использовался разный перечень показателей. При этом общим во всех составах являлись тесты 1 уровня. Именно эти тесты использовались в дальнейшем при построении прогностических моделей. Все остальные тесты мы использовали для описания иммунологического состояния пациента в момент определения иммунного статуса и комплексной качественной оценки такого состояния. Также нами проведено сопоставление уровней показателей с референсными значениями (РЗ) у тех показателей, для которых РЗ были определены. При этом выделялись значения в пределах референсных, выше референсных и ниже референсных (снижение до и более 50%). Сами РЗ определялись на основании данных лаборатории, в которой проводился анализ.

2.3. Характеристика больных

Общая характеристика больных, включённых в исследование, представлена в таблице 4. Поскольку в отдельные подисследования включалась только часть пациентов из общего числа больных со специфическими характеристиками, которые не могут быть обобщены

на всех участников исследования, дополнительная информация о них будет представлена в соответствующих главах.

Таблица 4 – Характеристика больных, включённых в исследование

Характеристика	Количество включённых больных (полицевой учёт)		Количество пациентов с разными видами лечения		Количество пациентов с разными иммунными статусами	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Всего больных	558	100,0	939	100,0	3041	100,0
Пол:						
Мужской	271	46,1	504	53,7	1413	46,5
Женский	317	52,5	435	46,3	1628	53,5
Медиана возраста, лет	54		53		53	
Диапазон	20–86		20–86		20–86	
Локализация первичной опухоли						
Меланома	348	59,2	576	61,3	1891	62,2
Рак почки	88	15,0	105	11,2	483	15,9
Саркома мягких тканей	53	9,0	113	12,0	334	11,0
Колоректальный рак	33	5,6	46	4,9	77	2,5
Первично-множественная опухоль	34	5,8	67	7,1	224	7,4
Прочие	32	5,4	32	3,4	32	1,1
Стадия заболевания						
I	28	4,8	32	3,4	125	4,1
II	54	9,1	62	6,6	249	8,2
III	123	21,0	188	20,0	841	27,7
IV	383	65,1	657	70,0	1826	60,0
Лечение на момент оценки состояния ИС *						
Хирургическое лечение	118	21,1	114	12,4	199	6,6
Химиотерапия	127	23,2	130	14	241	8,1
Химиоиммунотерапия	55	9,9	58	6,2	87	2,9
Ингибиторы тирозинкиназ (ТТ)	25	4,6	29	2,8	51	1,7
Иммунотерапия: вакцины	307	55,1	320	36,2	1768	58,3
Иммунотерапия: цитокины	81	14,5	83	9,1	140	4,5
Иммунотерапия: модуляторы иммунного синапса	114	20,4	119	13,1	476	15,5
Прочие	41	7,4	56	6,2	79	2,6
Характер проводимого лечения						
Самостоятельная системная терапия	453	77	699	74,4	1896	62,3
Адьювантная терапия	136	20,7	240	25,6	1145	37,7
Линии предшествующего системного лечения						
0	296 **	50,3	372	39,6	1174	38,6
1	78 **	13,3	133	14,2	734	24,1
2	51 **	8,7	87	9,3	587	19,3
3 и более	163 **	27,7	347	37,0	546	18,0

Примечание: * – некоторые пациенты получали комбинированное и комплексное лечение, ** – указана линия лечения при первом включении больного в исследование.

В среднем на одного включённого в исследование больного приходилось более пяти иммунных статусов. Это позволяло оценивать состояние иммунной системы при различных состояниях опухоли. Распределение пациентов по этому параметру представлено на рисунке 11.



Рисунок 11 – Состояние опухоли на момент оценки иммунного статуса

Оценка состояния иммунной системы проводилась как до лечения, так и на фоне проводимой терапии, что учитывалось отдельно при построении прогностических моделей. Распределение больных по данному параметру представлено на рисунке 12. Наибольшее количество оценок было получено уже в процессе лечения, что затрудняет оценку динамических параметров изменения иммунного статуса. Именно это стало одной из причин выделения такой оценки в отдельное подисследование (АИСТ). Вместе с тем актуальным и возможным является определение эффективности терапии с учётом иммунологических параметров.

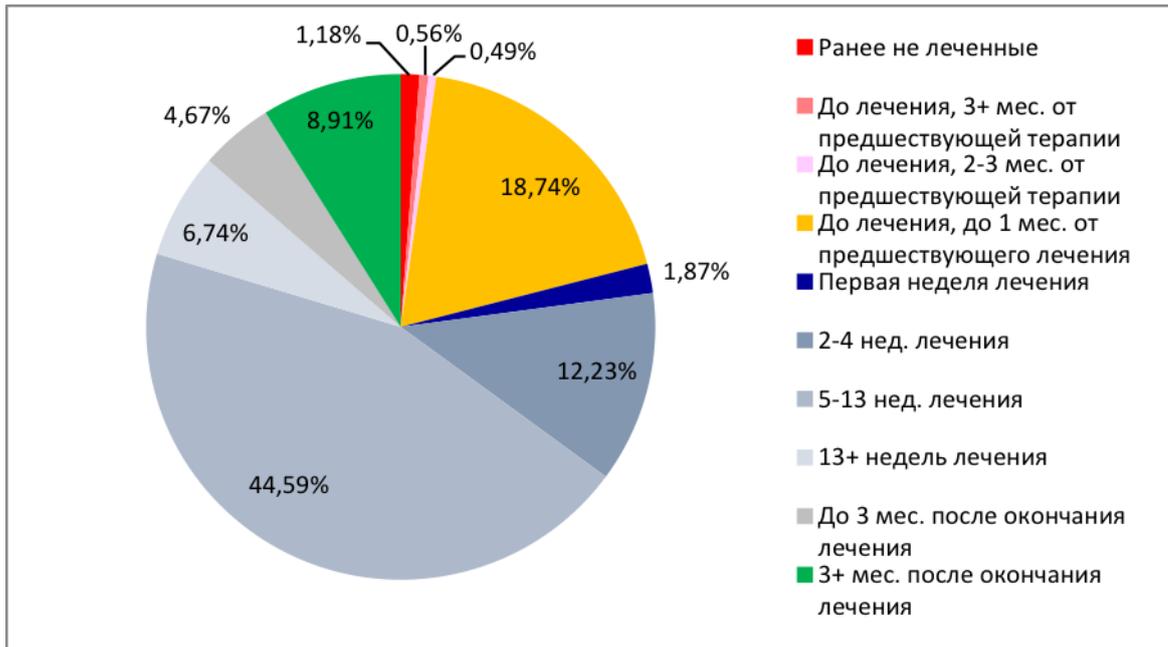


Рисунок 12 – Время оценки иммунного статуса относительно проводимого лечения

Большинство больных, включённых в исследование, получали различные варианты иммунотерапии (рисунок 13). При этом основная доля иммунных статусов была получена у больных, получавших аутологичные вакцины (54%), ипилимумаб (14%) либо цитокины (13%).

Методы лечения пациентов были классифицированы в соответствии с предложенной нами ранее классификацией методов иммунотерапии. К указанной классификации были добавлены несколько категорий: методы без выраженного системного действия (к которым были отнесены хирургические воздействия), методы с выраженным иммуносупрессивным действием, к которым были отнесены все схемы ПХТ или монотерапии с высокой гематологической токсичностью. К методам лекарственного лечения с возможным иммуномодулирующим действием мы отнесли использование малотоксичных режимов ХТ или монотерапии с применением одного цитостатика, для которых имелись данные о неравнозначном влиянии на отдельные субпопуляции лимфоцитов.

В спорных случаях, для лечения с неочевидным иммунологическим механизмом действия, пациенты кодировались в соответствующую группу.

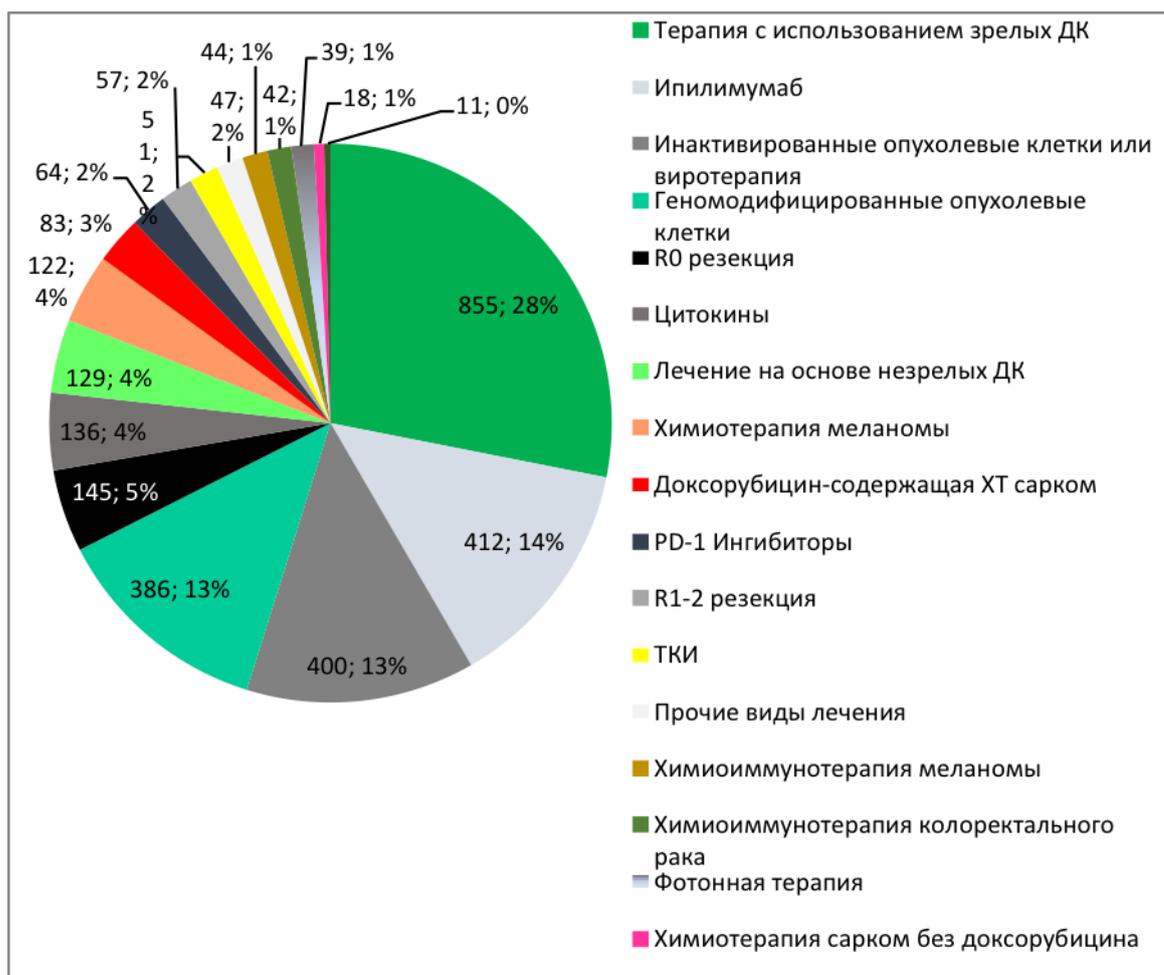


Рисунок 13 – Распределение оценок иммунного статуса по группам лечения

По результатам классификации 1820 иммунных статусов (59,9%) было оценено на фоне применения методов усиления презентации антигена, что отражает особенности использованных для пулированного анализа исследований. Оценка 484 (15,9%) иммунных статусов проводилась на фоне терапии модуляторами иммунного синапса. Для оценки методов усиления кинетики иммунных реакций использовали 336 (11,2%) иммунных статусов. В 286 (8,9%) случаях иммунный статус оценивался при применении методов воздействия на опухоль, приводящих к активации противоопухолевого иммунного ответа. У пациентов, получавших химиотерапию, иммунный статус при использовании схем с возможным иммуномодулирующим действием оценен в 267 (8,9%) случаях, а при выраженном иммуносупрессивном действии – в 182 (6%) случаях. В 17,4% (528) наблюдений противоопухолевого лечения на момент оценки состояния ИС и в течение 1 мес. после оценки не проводилось.

При анализе иммунных статусов оказалось, что лишь их минорная часть – не более 4% – была определена на фоне развития иНЯ (рисунок 14). Доля иммунных статусов, оцененных при иНЯ 3–4 степени, не превышала 1%. Это сделало невозможным прогнозирование данных редких событий на имеющимся материале. Причиной такого распределения является редкость иНЯ. Так, при анализе иммунотерапевтического лечения, проведённого у включённых в исследование больных (таблица 5), иНЯ 3–4 степени были зарегистрированы лишь в 4% циклов проведённого лечения. Поэтому в нашем исследовании наличие иНЯ в момент оценки иммунного статуса использовалось только в качестве кофактора для прогнозирования эффективности терапии.

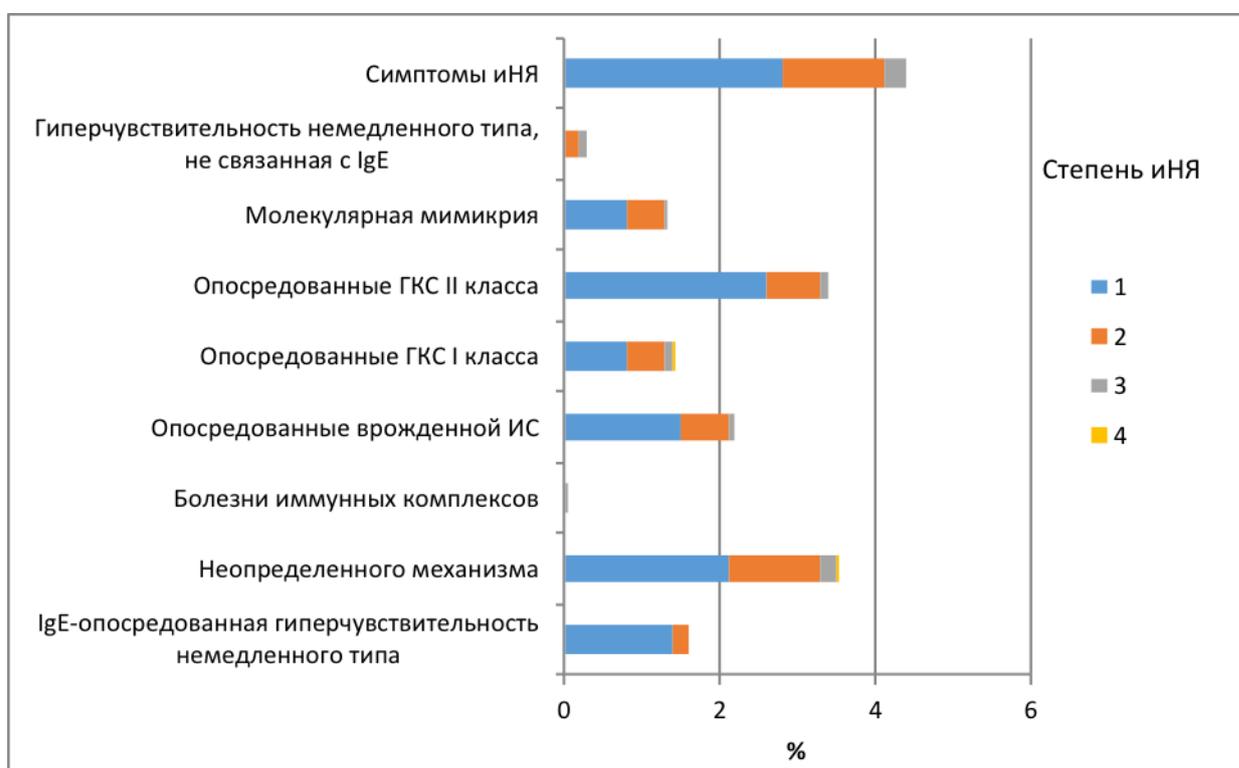


Рисунок 14 – Распределение иммунных статусов по типам иНЯ

В нашем исследовании проводилась отдельная оценка больных с первично-множественными опухолями. Мы предположили, что иммунный статус у больных с таким типом патологического процесса может отличаться от пациентов, имеющих лишь одну первичную опухоль. Для подтверждения этой гипотезы для всех больных с ПМО регистрировался как тип опухоли, по поводу которого проводилось лечение, так и первично-множественный характер опухоли. В таблице 4 все пациенты с ПМО учтены отдельно. Для ВДП конкретной опухоли появление новой опухоли не рассматривалось как признак прогрессирования процесса.

Окончание таблицы 6

1	2	3	4	5	6	7	8	9
<15	1	>=15	-	-	-	-	-	0 (при ВДС >90) или 1
<15	1	-30-14	-	-	-	<=28	СЛ	По ВДП от СЛ
<15	1	-30-0	-	-	-	>28	БЛ	1
<15	1	1-14	-	-	-	>28	БЛ	1
15-90	1	<=0	-	-	-	нет	-	1
<15	1	>ВДП и 1-14	-	-	-	нет	-	1
<15	1	<=ВДП или <=0	-	>=15	-	нет	БЛ	1
<15	1	<=ВДП или <=0	-	<15	-	нет	-	Искл.

Примечание: ВДО – время до окончания лечения; ВДС – время до следующего лечения; БЛ – без лечения; СЛ – следующее лечение; Искл. – исключение из анализа; «-» – не учитывается/не изменяется.

2.4. Методы статистической обработки данных

Статистический анализ и визуализация результатов выполнялись с использованием статистических пакетов SPSS v22, R v.3.5.3 и Microsoft Excel 2010.

Все использованные в анализе переменные анализировались на предмет наличия выпадающих значений с использованием границ Тьюки [176]. Все выявленные таким образом значения анализировались на предмет возможных ошибок. Все устранимые ошибки исправлялись. Наблюдения, содержащие неустраняемые ошибки, хотя бы в одном показателе, полностью исключались из анализа. Они учтены на рисунке 10 в составе пациентов с невозможностью полной проверки информации. Подтверждённые выпадающие значения анализировались вместе с остальными, в случае отсутствия значительного влияния на результаты исследований.

Для описания изучаемых переменных, входящих в состав иммунного статуса, использовались методы описательной статистики. Для сравнения частот отклонений показателей иммунного статуса от РЗ использовали критерий Хи-квадрат Пирсона, в котором в качестве тестов статистической значимости использовался тест отношения правдоподобия (Likelihood ratio test – LRT). Для определения мер связи использовали также направленные меры связи – коэффициент сопряжённости (Кос) для оценки симметричных связей, коэффициент неопределённости (U) для оценки ассиметричных связей и эта (η) для оценки связи

между номинальными и порядковыми переменными, поскольку известный нелинейный характер изменений показателей иммунного статуса позволял трактовать их и как количественные, и как порядковые. Анализ выживаемости проводили с использованием метода Каплана–Майера и модели пропорциональных рисков Кокса. Для оценки динамики изменений и воспроизводимости результатов измерения показателей иммунного статуса применялось обобщение методики, предложенной Д.М. Блендом и Д. Альтманом [177]. Вместо определения среднего и доверительных границ (limits of agreement, LOA; по своей сути являющихся границами 95% ДИ для среднего), а также их 95% ДИ вычислялись: медиана, 2,5% и 97,5% перцентили и их ДИ на основе базового бутстрэпа (basic bootstrap) [178].

Для выявления отдельных иммунопатологических состояний нами был применён последовательный подход. Показатели были разбиты на несколько этапов в соответствии с уровнем анализа и имеющимися в литературе данными о прогностической значимости показателя (см. таблицу 1). Для определения последней был проведён систематический обзор литературы. На каждом этапе проводился кластерный анализ для определения оптимального разбиения изучаемых переменных на группы. Все наблюдения затем классифицировались на основании полученных данных. На следующем этапе анализ проводился после разбиения всех наблюдений с учётом выделенных групп. На третьем этапе использовалось описание отдельных переменных, не вошедших в предыдущие этапы анализа с учётом ранее выделенных подгрупп состояний. Полученные в результате такого анализа группы характеризовались с помощью описательных методов. Их частоты сравнивались у больных с разными заболеваниями и стадиями процесса. Клиническая значимость выделенных групп оценивалась при анализе эффективности лечения пациентов.

ГЛАВА 3. ОЦЕНКА РЕЛЕВАНТНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ДАННЫХ И ФАКТОРОВ ПРОГНОЗА У БОЛЬНЫХ, ВКЛЮЧЁННЫХ В ИССЛЕДОВАНИЕ (РЕПРИЗА)

Для оценки возможных смещений, связанных с одноцентровым характером исследования, перед началом клинической валидации иммунологических биомаркеров нами проведено подисследование по оценке эффективности различных методов терапии у больных, включённых в наше исследование [179; 180]. Его задачами были оценка параметров эффективности лечения, проведённого у включённых в основное исследование больных, и определение оптимального перечня клинических факторов, отражающих прогноз заболевания. К последним относились способы и глубина учёта стадии заболевания, необходимые и достаточные характеристики предшествующего лечения в соответствии с видами лечебного воздействия и видами воздействия на иммунную систему.

Ввиду необходимости проведения статистических оценок параметров эффективности лечения (ОО, ВДП, ОВ) в анализе использованы лишь группы пациентов, содержащие не менее 10 человек. К ним относились лечение противоопухолевыми вакцинами (немодифицированные инактивированные аутологичные опухолевые клетки (НМВ), геномодифицированные геном *Tag-7* аутологичные опухолевые клетки (ГМВ), дендритноклеточные вакцины (ДКВ), ингибиторами BRAF (вемурафениб и дабрафениб в монотерапии или в сочетании с кобиметинибом или траметинибом соответственно), анти-PD1 (ниволумаб, пембролизумаб), анти-CTLA-4 (ипилимумаб, тремелимумаб) препаратами, химиотерапией (с включением дакарбазина, препаратов платины, паклитаксела, производных нитрозомочевины в монотерапии или в комбинациях), цитокинами (интерферон-альфа, ИЛ-2, фактор некроза опухолей – тимозин альфа в монотерапии или в сочетании с ХТ – химиоиммунотерапия), стереотаксическая лучевая терапия, фотодинамическая терапия и хирургическое лечение (т.е. случаи без применения системного противоопухолевого лечения) при меланоме; применение химиотерапии (доксорубицин, эпирубицин, ифосфамид, дакарбазин, доцетаксел, гемцитабин, циклофосфамид, метотрексат в монотерапии или комбинациях) и ДКВ при саркомах мягких тканей; лечение антиангиогенными препаратами (сорафениб, сунитиниб, пазопаниб, акситиниб), интерфероном-альфа, НМВ и хирургическими методами при раке почки, проведение химиотерапии (фторурацил, капецитабин, оксалиплатин, иринотекан в монотерапии или в комбинациях) с или без бевацизумаба или цетуксимаба при КРР.

Критериями включения в исследование были:

- участие пациентов в основном исследовании;

– наличие полной информации об этапе лечения и методах терапии, использованных на этапе;

– проведение лечения, соответствующего одной из анализируемых в исследовании групп.

В данном исследовании допускалось повторное включение пациентов, получавших разные виды лечения (одно включение на каждый из видов лечения) [179; 180]. Характеристика больных, включённых в исследование, представлена в таблице 7.

Таблица 7 – Характеристика больных, включённых в исследование РЕПРИЗА

Показатель	Меланома		СМТ	ПКР		КРР
	А	П		А	П	
Цель	А	П	П	А	П	П
1	2	3	4	5	6	7
Количество больных, абс.	606	769	123	45	47	62
Возраст, лет						
Медиана	50	51	47	58	50	59
Диапазон	20–85	18–79	21–79	39–79	34–74	29–75
Пол						
Мужской, абс.	295	372	31	24	34	32
Мужской, %	48,8	48,4	25,2	53,3	72,3	51,6
Женский, абс.	311	397	92	21	13	30
Женский, %	51,3	51,6	74,8	46,7	27,7	48,4
Предшествующее системное лечение						
0, абс.	292	48	16	39	12	14
1, абс.	190	164	26	5	17	23
2, абс.	61	196	28	1	7	15
>3, абс.	63	362	53	0	11	10
0, %	48,3	6,2	13,0	86,7	25,5	22,6
1, %	31,4	21,3	21,1	11,1	36,2	37,1
2, %	10,1	25,5	22,8	2,2	14,9	24,2
>3, %	10,4	47	43,1	0	23,4	16,1
Стадия						
I, абс.	41	0	0	13	0	0
II, абс.	214	0	9	11	0	0
III, абс.	235	56	7	7	0	0
IV, абс.	116	713	107	14	47	62
I, %	6,8	0	0	28,9	0	0
II, %	35,3	0	7,3	24,4	0	0
III, %	38,8	7,3	5,7	15,6	0	0

Окончание таблицы 7

1	2	3	4	5	6	7
IV, %	19,2	92,7	87,0	31,1	100	100
Проведённое лечение, абс. (%)						
Ингибиторы тирозинкиназ монотерапия	0	39 (5,1)	0	0	20 (42,6)	0
МХТ	29 (4,8)	209 (27,1)	20 (16,3)	0	0	27 (43,5)
ПХТ		46 (6,0)	65 (52,8)	0	0	
ДКВ	64 (10,6)	50 (6,5)	38 (30,9)	0	0	0
ГМВ	24 (4,0)	41 (5,3)	0	0	0	0
НМВ	10 (1,7)	21 (2,7)	0	29 (64,4)	17 (36,2)	0
ХИТ	0	75 (9,7)	0	0	0	35 (56,5)
ИФН	61 (10,1%)	48 (6,2)	0	0	10 (21,3)	0
Анти-CTLA4	0	99 (12,9)	0	0	0	0
Анти-PD1	0	33 (4,3)	0	0	0	0
Интерлейкин-2	0	50 (6,5)	0	0	0	0
ТТ	0	18 (2,3)	0	0	0	0
Виротерапия	0	10 (1,3)	0	0	0	0
Стереотаксическая лучевая терапия	0	31 (4,0)	0	0	0	0
Полная циторедукция	417 (25,2)	0	0	16 (35,6)	0	0
Наблюдение за больными						
Медиана длительности, мес.	38,1	10,2	16,6	39,4	13,19	15,3
Мин, мес.	1	0,1	1	2,8	1	1,4
Макс., мес.	385	153	86,9	190	125,9	51,7
Цензурированные по ОВ, %	38,4	22,9	40,7	68,9	55,3	69,4
Цензурированные по ВДП, %	11,9	9,6	12,2	60,0	10,6	25,8
Потерины для наблюдения, %	16,0	17,0	37,4	28,9	29,8	19,4

Примечание: А – адъювантная терапия; П – паллиативная терапия.

В анализ вошли все этапы лечения пациентов, которые проводились до, во время и после участия в НИР [179]. Большая часть этих этапов проводилась в условиях реальной клинической практики в региональных онкологических учреждениях. В ходе исследования проводился анализ ОО по системе RECIST 1.1, ВДП и ОВ от начала соответствующего лечения. Эффективность терапии переоценивалась на основе имеющихся медицинских данных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Для сравнения методов лечения и определения важных прогностических параметров использовался метод пропорциональных рисков Кокса. Для этого анализа все переменные были разделены на три блока. В первый блок включались переменные с известным прогностическим значением, такие как стадия TNM, мутационный статус. Использовался метод условного включения. Во второй блок методом условного включения – переменные, которые могут иметь предиктивное и прогностическое значение: пол, возраст, наличие первично-множественной опухоли и характеристики предшествующего лечения [180]. К последним относили количество этапов лечения, количество линий системного лекарственного лечения, количество этапов по видам лечения (химиотерапия, иммунотерапия, гормонотерапия, хирургическое). В третий блок включались характеристики типа текущего лечения, классификация иммунологического действия препаратов и собственно основной метод проводимого лечения. Ввиду разных генетических механизмов развития меланом отдельно были выделены меланомы кожи и меланомы редких локализаций (меланома слизистых – 10 больных, подногтевая меланома – 2 больных, увеальная меланома – 4 больных, акральная меланома – 9 больных). Поскольку многие из анализируемых переменных были взаимосвязаны (например, общая стадия и характеристики подстадий T, N и M), для выбора оптимального кодирования оценивалась дополнительная польза от включения более детальных характеристик по отношению к более общим [179; 180]. Для параметров, отражающих предшествующее лечение, учитывалась только качественная (было или нет) характеристика.

Расчёты осуществлялись с использованием программы SPSS методами Каплана–Майера (использовался Log-rank критерий) и Кокса. В прогностические модели Кокса переменные добавлялись методом последовательного включения при $p < 0,05$, исключались из модели $p > 0,1$.

3.1. Эффективность адъювантной терапии меланомы

В ходе исследования проведён анализ всех фактически применявшихся в клинической практике в течение 30 лет методов адъювантной терапии у включённых в исследование больных, вне зависимости от корректности их проведения и наличия показаний к их применению. Показатели ОВ и ВДП больных меланомой представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Показатели выживаемости больных меланомой кожи, получающих адъювантную терапию

Группа	Показатель	Медиана, мес.	Выживаемость, %		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
Химиотерапия	ОВ 95% ДИ	32,5 20,3–44,6	82,8 69–96,5	38,2 19,9–56,6	7,6 0–17,8
	ВДП 95% ДИ	5 3,6–6,5	21 5,9–35,4	3 0–10,1	0
ДКВ	ОВ 95% ДИ	83,5 54,5–112,4	93,5 87,4–99,7	68,7 56,7–80,8	59,2 45,6–72,9
	ВДП 95% ДИ	12,2 5,6–18,7	51,2 38,9–63,5	35 22,8–46,5	32 20,3–44,2
ГМВ	ОВ 95% ДИ	НД	90,9 78,9–100,0	63 41,0–85,1	63 41,0–85,1
	ВДП 95% ДИ	40,5 –	56,5 36,3–76,8	45,7 24,4–66,9	45,7 24,4–66,9
НМВ	ОВ 95% ДИ	32,1 0,0–77,9	90 71,4–100,0	50 19,0–81,0	30 1,6–58,4
	ВДП 95% ДИ	18,2 0–41,6	60 29,6–90,4	40 9,6–70,4	20 0–44,8
ИФН	ОВ 95% ДИ	69,7 32,5–106,9	91,6 84,5–98,6	64,8 51,9–77,7	51,4 37,4–65,4
	ВДП 95% ДИ	9,2 4,4–14	44,3 31,8–56,7	9,9 1,9–18,0	2 0–7,2
Полная циторедукция	ОВ 95% ДИ	50,3 42,0–58,6	91 88,2–93,7	60,5 55,6–65,3	44,9 39,8–50,0
	ВДП 95% ДИ	7,7 6,3–9,0	40,1 35,4–44,9	19,8 15,9–23,7	10,6 7,5–13,8

Примечание: НД – не достигнута; «–» – невозможно рассчитать.

Как видно из данных, представленных в таблице 8, эффективность адъювантной лекарственной терапии существенно отличалась у больных меланомой ($p=8 \times 10^{-5}$) [179]. При этом наихудшие результаты были достигнуты с использованием адъювантной ХТ в реальной клинической практике, т.е. при лечении с нарушением рекомендаций. Наилучшие результаты были достигнуты при применении ГМВ, где медиана общей выживаемости достигнута не была. Функции дожития представлены на рисунке 15.

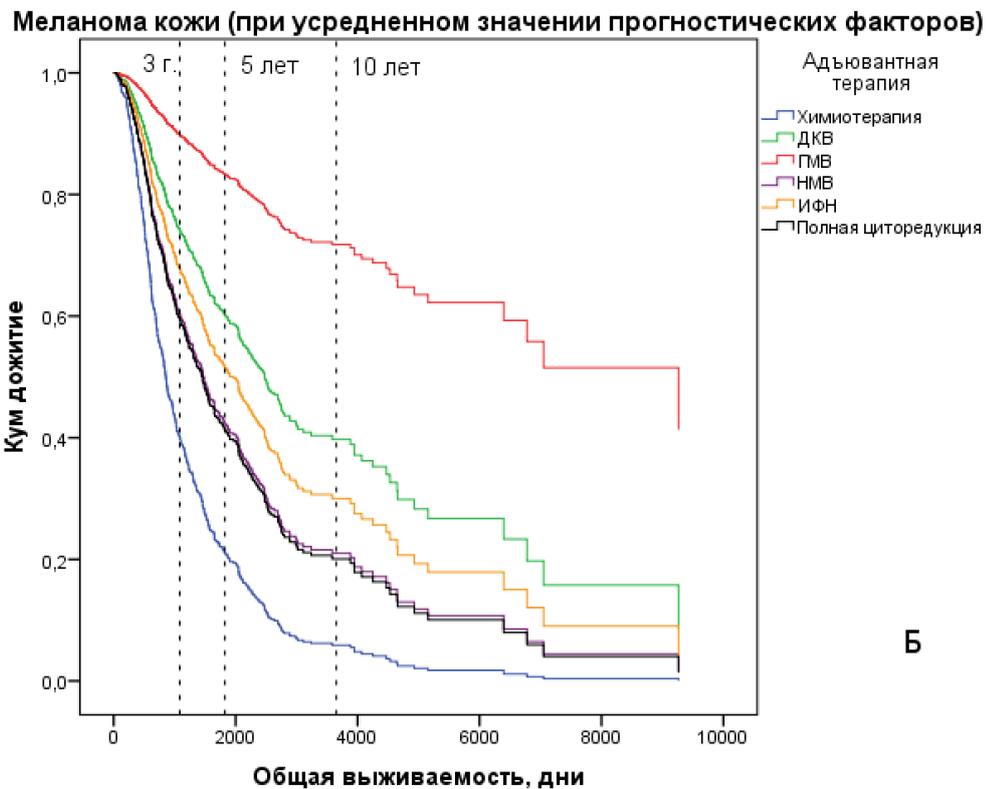
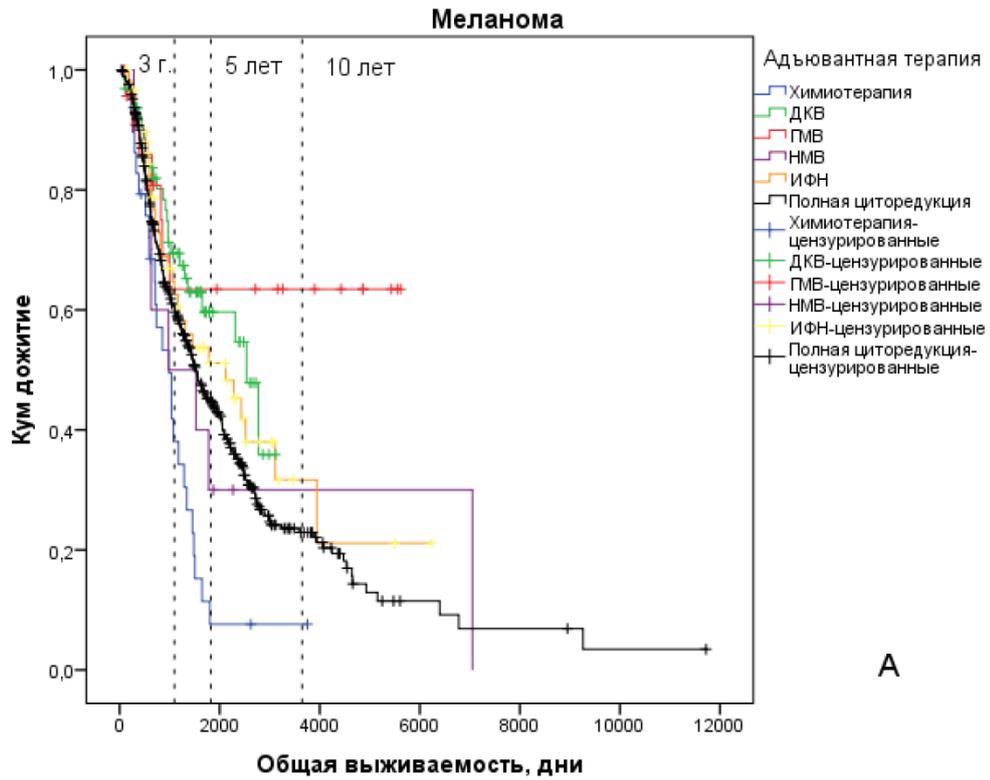


Рисунок 15 – Общая выживаемость больных меланомой, получавших адъювантную терапию:

А – кривые выживаемости, полученные методом Каплана–Майера;

Б – кривые выживаемости с учётом основных прогностических факторов, полученных методом пропорциональных рисков Кокса

При построении модели пропорциональных рисков Кокса важными факторами для прогнозирования общей выживаемости были стадия, наличие первично-множественной опухоли и проведённое лечение [179]. Относительный риск (ОР) смерти снижался на 69,6, 55,3 и 40% при I, II, III стадиях заболевания соответственно, по сравнению с IV стадией ($p=1,9\times 10^{-8}$). Среди методов лечения химиотерапия в адъювантном режиме обладала негативным прогностическим значением, повышая риск смерти на 47%, но не достигая при этом статистически значимого уровня (95% ДИ 0,969–2,23; $p=0,07$) по сравнению с хирургическим лечением. Применение ИФН-альфа в нашем исследовании, как и немодифицированных вакцин, не влияло на риск смерти ($p=0,834$ и $0,194$ соответственно). Применение ДКВ значимо снижало риск смерти на 49,1% ОР 0,509 (95% ДИ 0,333–0,88; $p=0,006$) [179]. Ещё более активным вариантом лечения являлась ГМВ, снижавшая риск смерти на 76,9% ОР 0,231 (95% ДИ 0,108–0,498; $p=1,9\times 10^{-4}$).

Детальный учёт стадий T, N и M не был включён в модель из-за нарушения предположения об их независимости от стадии заболевания. Изъязвление первичной опухоли также не являлось значимым прогностическим фактором в нашем исследовании. В ходе однофакторного анализа пол, уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ), количество методов лечения на одном этапе и использование методов иммунотерапии в лечении оказывались значимыми на уровне $p<0,05$, однако эта значимость не подтвердилась при учёте других факторов [179]. Учёт вида предшествующего лечения и характера иммунологического действия проведённых ранее лечебных процедур не позволял улучшить прогностическую модель. Частично причиной этому было малое количество пациентов, получавших конкретные виды предшествующего лечения до проведения адъювантной терапии или хирургического лечения. Нами не выявлено ухудшения выживаемости у больных редкими формами меланомы, возможно, ввиду относительно малого количества подобных пациентов [179].

Кривые времени до прогрессирования представлены на рисунке 16. Анализ времени до прогрессирования показал схожие результаты с анализом общей выживаемости. Прогностическими факторами, помимо стадии заболевания (ОР прогрессирования 0,268 (95% ДИ 0,176–0,407), 0,472 (95% ДИ 0,362–0,617) и 0,767 (95% ДИ 0,588–1,001) при I, II, III стадиях заболевания соответственно, по сравнению с IV стадией; $p=1,4\times 10^{-12}$), являлись уровень ЛДГ, вид лекарственного лечения и количество применённых методов лекарственного воздействия [179]. При уровне ЛДГ выше верхней границы нормы (ВГН) риск прогрессирования был 0,613 (95% ДИ 0,385–0,977). У больных, получавших адъювантную химиотерапию, риск прогрессирования был в 2,15 раза выше (95% ДИ 1,358–3,408) по сравнению с хирургическим лечением.

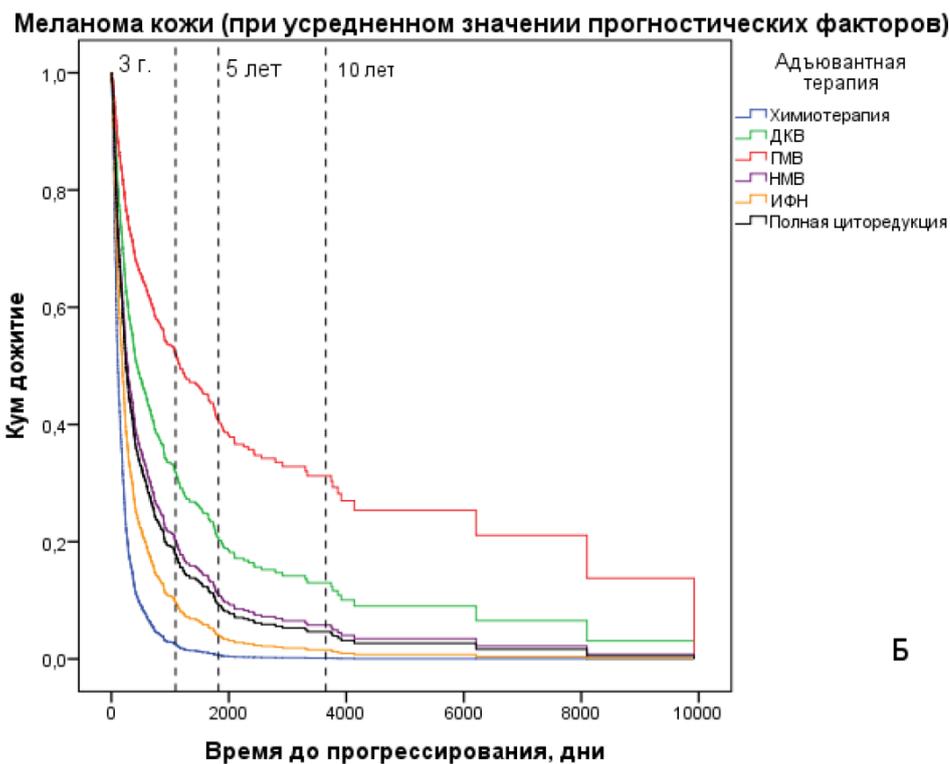
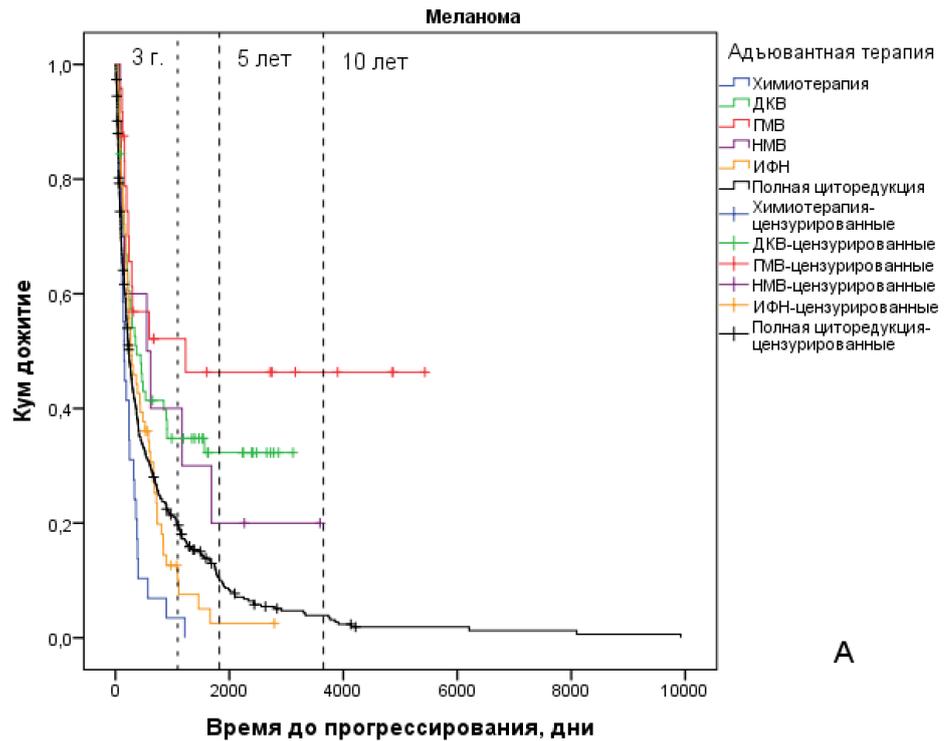


Рисунок 16 – Время до прогрессирования у больных меланомой, получавших адьювантную терапию: А – кривые выживаемости, полученные методом Каплана–Майера; Б – кривые выживаемости с учётом основных прогностических факторов, полученных методом пропорциональных рисков Кокса

ИФН и НМВ не имели статистически значимого влияния на показатели ВДП ($p > 0,1$). Проведение терапии ДКВ при учёте прочих значимых прогностических факторов не позволяло добиться снижения ОР прогрессирования до 0,665 (95% ДИ 0,433–1,021), однако уровень значимости составил 0,062. ГМВ показала наилучшие показатели ВДП, снижая ОР прогрессирования до 0,379 (95% ДИ 0,198–0,727; $p = 0,004$). Использование комбинированного подхода в лечении, сочетающем лекарственную терапию и различные методы локального лечения, снижало на 38,7% (95% ДИ 22,9–51,8%) риск прогрессирования с каждым добавленным методом терапии [179].

При сравнении результатов, полученных в нашем исследовании, с литературными данными, следует, прежде всего, обратить внимание на высокую предпочтительность пациентов. Так, более 40% больных получали одну или несколько линий системного лечения. Таким образом, результаты, полученные у таких пациентов, должны быть ожидаемо хуже литературных данных. С другой стороны, около трети больных имели стадии заболевания, которые не включались в рандомизированные исследования по адьювантной терапии меланомы кожи.

В нашем исследовании [179] хирургическое лечение использовалось в качестве референсного метода, поскольку у этой группы больных не проводилась адьювантная терапия после полной циторедукции. Полученные нами результаты оказались хуже, чем в исследовании COMBI-AD [181], где у 56% больных III стадии не наблюдалось прогрессирование в течение 1 года, а у 46% – в течение 3 лет. Сходные результаты были получены в исследовании KeyNote-054 [182], где показатели однолетней ВДП составили 61% (95% ДИ 56,5–65,1%). В более ранних исследованиях однолетнее время до прогрессирования при использовании хирургического лечения или терапии интерфероном в любых дозах составляло около 60% [134], что также превышает полученные нами результаты.

Мы предположили, что причиной таких расхождений может быть включение значительного количества ранее предпочтенных больных в наше исследование [179]. В связи с этим мы провели поданализ пациентов, не получавших ранее системного лечения. Его результаты представлены в таблице 9.

Как видно из таблиц 8 и 9, показатели нашего исследования не претерпели значимых изменений. Эти результаты подтверждаются данными, полученными в анализе пропорциональных рисков Кокса, где ранее проведённое лечение не оказывало какого-либо влияния на показатели ОВ и ВДП.

Таблица 9 – Показатели выживаемости больных меланомой кожи, получающих адъювантную терапию в качестве первого этапа системного лечения

Группа	Показатель	Медиана, мес.	Выживаемость, %		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
ХТ	ОВ	32,5	83,3	33,1	4,7
	95% ДИ	21,6–43,3	64,8–98,2	13,3–52,8	0–13,7
	ВДП	4,6	16,7	4,2	0
	95% ДИ	2,8–6,3	1,8–31,6	0–12,2	
ДКВ	ОВ	91,3	92,2	69	65,1
	95% ДИ	–	84,9–99,5	55,8–82,1	50,7–79,5
	ВДП	14,7	50,5	36,8	36,8
	95% ДИ	4,6–24,7	37,0–64,0	23,6–49,9	23,6–49,9
ГМВ	ОВ	НД	88,2	54,7	54,7
	95% ДИ		72,9–100	29,6–79,7	29,6–79,7
	ВДП	9,8	46,8	42,1	42
	95% ДИ	0–25,5	25,2–72,0	18,6–65,6	18,6–65,6
НМВ	ОВ	20,7	80	40	20
	95% ДИ	12,1–29,2	44,9–100,0	0–82,9	0–55,1
	ВДП	20,2	60	40	20
	95% ДИ	0–52,6	17,1–100,0	0–82,9	0–55,1
ИФН	ОВ	38,4	89,5	54,3	41,2
	95% ДИ	17,3–59,5	79,7–99,2	37,7–71,0	24,3–58,1
	ВДП	7,3	35,9	3,3	0
	95% ДИ	6–8,7	20,8–51,0	0–9,6	0
Полная циторедукция	ОВ	35,8	83,3	49,4	35,8
	95% ДИ	27,1–44,4	77,8–88,9	41,7–57,2	28,0–43,6
	ВДП	3,9	22,1	11,4	7,1
	95% ДИ	2,5–5,3	15,9–28,2	6,4–16,3	2,8–11,4

Примечание: НД – не достигнута; «←» – невозможно рассчитать.

Мы предположили, что причиной сниженных показателей выживаемости может быть включение значительной доли пациентов с IV стадией заболевания [179]. Мы сопоставили наши результаты с данными, полученными в ходе исследования IMMUNED [183], проводившегося у больных с отдалёнными метастазами после выполнения полной циторедукции. В первом исследовании однолетнее ВДП при хирургическом лечении составило 32%, 3-летнее – 14%. Трёхлетние результаты наблюдения соответствовали полученным нами результатам, тогда как результаты однолетней ВДП были несколько ниже. Такое снижение может соответствовать условиям реальной клинической практики. В исследование E4697 [184] также были включены пациенты с IV стадией заболевания. Медиана ОВ в данном исследовании не отличалась от полученных нами результатов, однако результаты 5-летней общей выживаемости в нашем исследовании оказались ниже. Таким образом, оцениваемая в нашем исследовании когорта больных по своим характеристикам более соответствует группам пациентов с меланомой крайне высокого риска.

Несмотря на рекомендации последних 20 лет, в рутинной практике всё ещё проводилась адьювантная ХТ, эффект которой мы оценили в исследовании РЕПРИЗА. При оценке относительных рисков наступления прогрессирования или смерти в нашем исследовании установлено, что проведение ХТ статистически значимо увеличивает риск наступления этого события. При анализе литературных данных нами не выявлено исследований, получивших подобные результаты. Напротив, в исследованиях Н.Н. Трапезникова с соавт. [185] показано увеличение ОВ больных, получавших химиотерапию. В исследованиях E.F. McClay с соавт. [186] продемонстрировано увеличение ВДП, но не ОВ в адьювантной терапии меланомы. В более поздних исследованиях [187-189] не было продемонстрировано пользы от применения ХТ в адьювантном режиме. На сегодняшний день проведение адьювантной ХТ не рекомендовано [190]. Таким образом, результаты нашего исследования впервые подтверждают возможное ухудшение результатов лечения больных меланомой с применением ХТ и обеспечивают дополнительную доказательную базу для существующих клинических рекомендаций [179].

В нашем исследовании не показана прогностическая значимость применения адьювантной терапии ИФН или НМВ. Полученные результаты согласуются с крупным метаанализом по адьювантной терапии интерфероном-альфа [191], в котором статистически значимые преимущества в выживаемости были достигнуты лишь у больных с изъязвлением первичной опухоли. Однако в нашем исследовании данный фактор не имел прогностической значимости. Тем не менее полученные нами результаты 5-летней выживаемости сопоставимы с результатами этого метаанализа, что подтверждает релевантность популяции больных, включённых в наше исследование. Адьювантная терапия НМВ не показала очевидных преимуществ в нескольких крупных рандомизированных исследованиях [189; 192], что соответствует полученным нами данным.

Наши результаты свидетельствуют об увеличении ОВ и ВДП при использовании ГМВ или ДКВ [179]. При построении модели пропорциональных рисков Кокса применение ДКВ оказывало влияние только на ОВ, при этом воздействие на ВДП было статистически незначимым. Можно предположить, что применение ДКВ повышало эффективность последующего лечения, как это было показано в ряде исследований [193-195]. Важно отметить, что относительные риски прогрессирования процесса в случае ГМВ и ДКВ были менее 0,77. По данным исследования, проведённого Suciú S.C. с соавт. [196], подобный уровень эффекта при адьювантной терапии позволяет рассчитывать на увеличение ОВ, что подтвердилось и в нашем исследовании.

Мы сравнили результаты нашего исследования с данными CheckMate 238 [197], в котором изучалась эффективность адъювантной терапии ниволумабом и ипилимумабом, и ранее упомянутым исследованием IMMUNED [183]. Однолетнее время до прогрессирования при применении вакцин было сопоставимо с монотерапией ипилимумабом или ниволумабом. Результаты, полученные при комбинированной терапии анти-PD1 и анти-CTLA-4, выходили за пределы ДИ статических показателей ВДП в нашем исследовании и превышали результаты применения вакцин. Тем не менее при применении ДКВ и ГМВ наблюдалось чёткое формирование плато, что свидетельствует о стабильности достигнутого после окончания лечения эффекта.

Нами выявлено значительное позитивное прогностическое значение первично-множественного характера опухоли [179]. При этом данный фактор не оказывал влияния на ВДП. Прогностическая значимость подобного факта анализировалась в исследовании С. J. Rowe с соавт. [198]. В этом исследовании проводился анализ меланом I–II стадии. Авторы показали негативную роль первично-множественного характера опухоли только при отсчёте от последнего выявленного первичного очага.

Комплексное лечение позволяло добиться лучших непосредственных результатов, не меняя при этом продолжительности жизни больных. Особенности кодирования и учёта методов лечения в нашем исследовании, с учётом полученного результата, свидетельствуют о необходимости использования различных механизмов воздействия на опухоль для улучшения результатов терапии, при этом каждый дополнительный метод снижал риск прогрессирования на 37,8%. Полученные результаты являются ожидаемыми и оправдывают поиск оптимальных комбинаций методов адъювантной терапии, локальных воздействий и сопроводительной терапии.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о соответствии результатов адъювантной терапии наших пациентов имеющимся литературным данным об эффективности подобных подходов у больных меланомой кожи. Помимо вида терапии, необходим учёт стадии заболевания. Пациенты с первично-множественными опухолями требуют отдельного анализа ввиду лучших показателей ОВ.

3.2. Эффективность паллиативной терапии меланомы

Показатели ОВ и ВДП больных меланомой представлены в таблице 10. Кривые времени до прогрессирования и общей выживаемости представлены на рисунках 17 и 18 [179]. Современные методы терапии (анти-PD1 терапия, ТТ, ипилимумаб) оказались наиболее эффективными стратегиями у наших больных. Применение препаратов, блокирующих PD-1,

в нашем исследовании оказалось наиболее эффективной стратегией лечения. При этом применение ПХТ, ХИТ или ДКВ не позволяло улучшить результаты терапии.

Таблица 10 – Показатели эффективности лечения больных меланомой кожи, получающих паллиативную терапию

Группа	ОО, %	Показатель	Медиана, мес.	Выживаемость, %		
	95% ДИ			1-летняя	3-летняя	5-летняя
1	2	3	4	5	6	7
МХТ	3,7	ОВ	12,9	55,3	16,8	11,6
	1,35–6,21	95% ДИ	11,1–14,6	48,3–62,3	11,1–22,5	6,5–16,7
ПХТ	28,6	ВДП	2,4	8,1	2,4	1,6
	15,3–41,3	95% ДИ	2,0–2,9	4,4–11,9	0–5,0	0–3,8
НМВ	4,76	ОВ	11,8	51,2	12	6
	0–17,7	95% ДИ	10,0–13,6	36,2–66,1	0,1–24,0	0–16,3
ГМВ	0	ВДП	2,8	21,8	0	–
	0–2,3	95% ДИ	1,5–4,2	9,6–34,1		
ДКВ	6	ОВ	18,1	70,7	12,2	12,2
	1,2–14,2	95% ДИ	4,4–31,8	51,0–90,4	0–28,0	0–28,0
ХИТ	18,7	ВДП	3,2	12,2	0	–
	10,7–28,2	95% ДИ	1,8–4,6	0–26,4		
ИФН	8	ОВ	5,6	26,6	8	4
	2,3–17,7	95% ДИ	2,0–9,1	12,8–40,4	0–18,0	0–11,4
Интерлейкин-2	8	ВДП	2,7	3	0	–
	2,18–17	95% ДИ	1,9–3,4	0–6,0		
Анти-CTLA4	13,1	ОВ	11,4	45,8	12	12
	7,23–20,5	95% ДИ	9,4–13,4	31,7–59,9	2,0–22,0	2,0–22,0
Анти-PD1	33,3	ВДП	2,9	7,1	4,7	2,4
	17,3–49,4	95% ДИ	1,8–4,6	0–14,2	0–10,8	0–6,8
BRAF ингибиторы	43,6	ОВ	12,4	54,6	14,8	9,9
	17,3–49,4	95% ДИ	11,3–13,5	43,0–66,2	5,2–24,4	1,4–18,4
ИФН	8,3	ВДП	7,7	14,9	2,5	2,4
	2,3–17,7	95% ДИ	6,3–9,0	6,6–23,2	0–7,1	0–7,1
Анти-CTLA4	13,1	ОВ	16	62,1	22,1	16,2
	7,23–20,5	95% ДИ	10,1–21,8	48,3–75,9	9,9–34,3	4,8–27,5
Анти-PD1	33,3	ВДП	2	16,1	0	–
	17,3–49,4	95% ДИ	1,4–2,5	5,6–26,7		
BRAF ингибиторы	43,6	ОВ	9,1	40,2	6,6	6,6
	17,3–49,4	95% ДИ	7,9–10,3	26,4–54,0	0–14,3	0–14,3
BRAF ингибиторы	43,6	ВДП	1,8	8,2	2,7	2,7
	17,3–49,4	95% ДИ	1,5–2,2	0,5–15,8	0–7,8	0–7,8
BRAF ингибиторы	43,6	ОВ	12,2	51,3	23	20,5
	17,3–49,4	95% ДИ	8,7–15,7	41,4–61,1	14,6–31,5	12,3–28,7
BRAF ингибиторы	43,6	ВДП	3,7	15,6	10,4	9
	17,3–49,4	95% ДИ	3,0–4,3	8,4–22,9	4,0–16,8	2,9–15,1
BRAF ингибиторы	43,6	ОВ	25,5	63,3	42,5	42,5
	17,3–49,4	95% ДИ	3,6–47,4	46,1–80,6	21,7–63,2	21,7–63,2
BRAF ингибиторы	43,6	ВДП	5,1	39,7	24,7	16,5
	17,3–49,4	95% ДИ	0–11,3	22,6–56,8	7,4–42,0	0–34,0
BRAF ингибиторы	43,6	ОВ	14,6	65,7	19,9	11,4
	17,3–49,4	95% ДИ	10,9–18,3	50,0–81,4	5,3–34,5	0–23,7

1	2	3	4	5	6	7
	28–59,2	ВДП 95% ДИ	5,5 3,9–7,0	23,3 9,6–37,0	0	–
BRAF ингибиторы в сочетании с MEK ингибиторами	55,6	ОВ 95% ДИ	19,3 16–27	88,9 74,4–100,0	16,3 0–38,6	0
	32,6–78,51	ВДП 95% ДИ	7,3 6,9–7,7	25,7 5,2–46,2	6,4 0–18,5	–
Виротерапия	0	ОВ 95% ДИ	8,3 4,4–12,2	20 0–44,8	20 0–44,8	–
	0–9,3	ВДП 95% ДИ	2 0,3–3,8	–	–	–
Стереотаксическая лучевая терапия	–	ОВ 95% ДИ	8,7 2,4–15,0	39 21,4–56,6	9,6 0–21,4	0
	–	ВДП 95% ДИ	2,2 1,8–2,6	10 0–20,7	–	–

Примечание: ОО – объективный ответ по RECIST 1.1; НД – не достигнута, «–» – невозможно рассчитать.

При проведении многофакторного анализа в модели Кокса [179] важными факторами прогноза выживаемости оказались распространённость метастатического процесса (категории подстадии М по TNM8; $p=9,6 \times 10^{-7}$) и уровень ЛДГ ($p=3,9 \times 10^{-12}$). Полученные данные соответствуют прогностическому значению клинических факторов, включённых в классификацию TNM [199]. «Грубые» показатели стадии также позволяли прогнозировать ОВ и ВДП ($p<0,05$), однако для лечебных режимов они не добавляли информативности модели в случае учёта подстадии М. Неопределённый статус мутации в гене BRAF статистически значимо повышал риск смерти пациентов, что, вероятно, отражает негативное влияние данной мутации в отсутствие ингибиторов BRAF, о чем уже сообщалось ранее [200]. Среди клинических факторов положительное влияние на ОВ оказывали первично-множественный характер опухоли (ОР 0,222; $p=1,8 \times 10^{-4}$) и применение в анамнезе модуляторов иммунного синапса (анти-CTLA4 или анти-PD1 терапия; ОР 0,782; $p=0,097$).

Напротив, использование в качестве предшествующего лечения методов с выраженным иммуносупрессивным действием (т.е. ПХТ; ОР 1,346; $p=0,1$), методов устранения иммуносупрессирующих факторов (преимущественно эфферентная терапия, ОР 2,246; $p=0,001$), методов воздействия на опухоль с вторичной активацией иммунной системы (ингибиторы тирозинкиназ, фотодинамическая терапия, виротерапия; ОР 1,542; $p=4,9 \times 10^{-4}$). Количество линий предшествующего системного лечения или проведение лечения при редких типах меланомы кожи являлись прогностическими только в моделях, не учитывающих конкретный вид проведённой терапии, что свидетельствует о взаимодействии этих параметров [179].

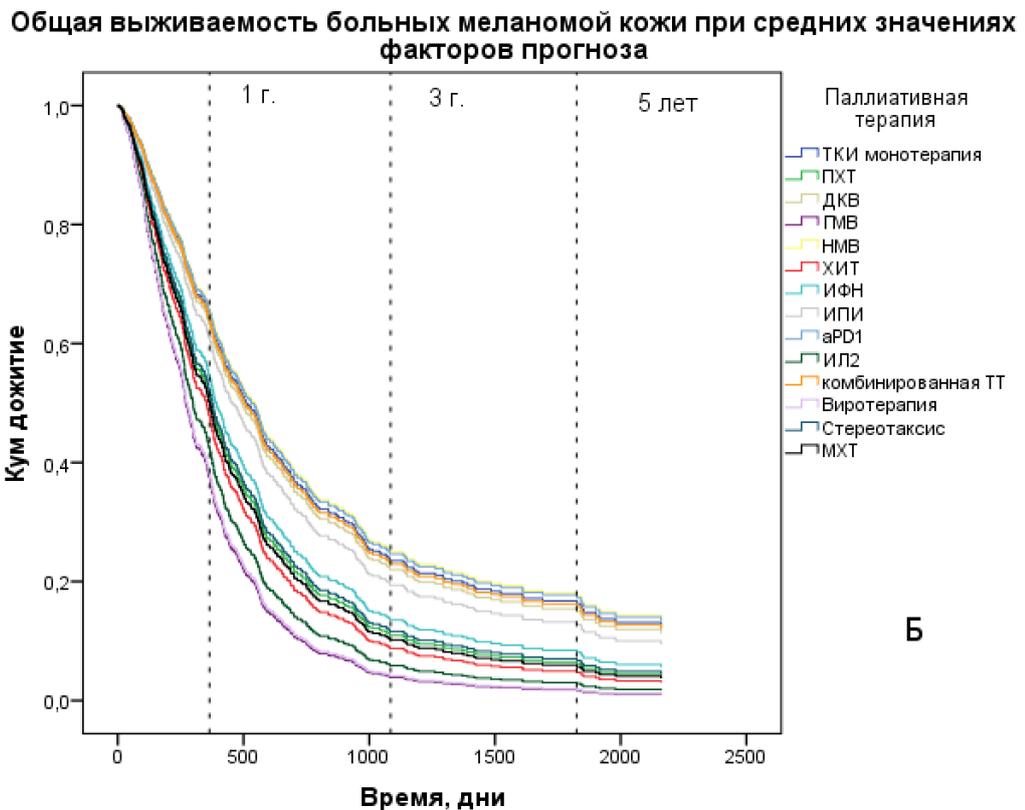
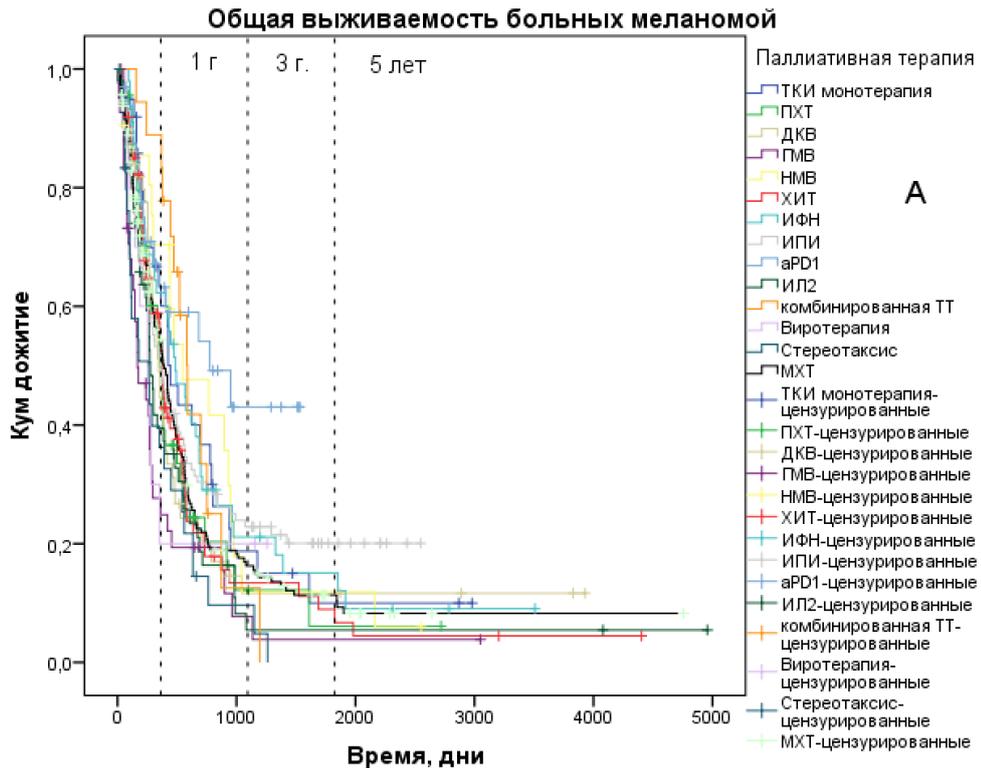
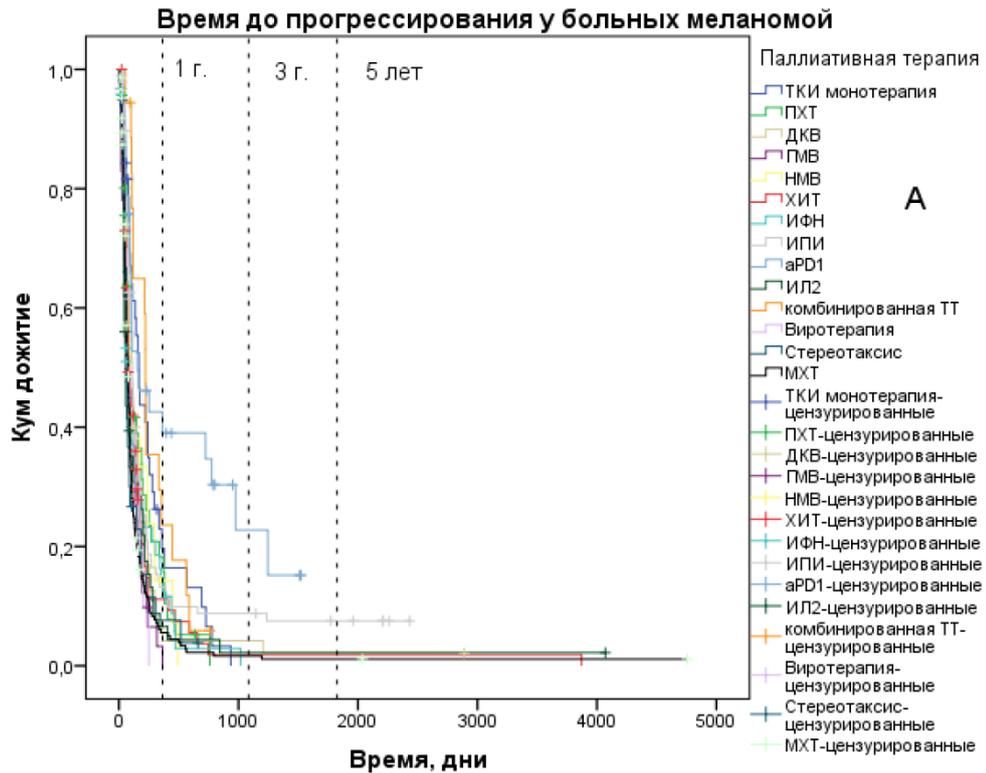


Рисунок 17 – Общая выживаемость больных, получающих паллиативную терапию меланомы:

А – без учёта факторов прогноза;

Б – в сопоставимых по прогностическим факторам группах



Время до прогрессирования у больных меланомой при среднем значении прогностических факторов

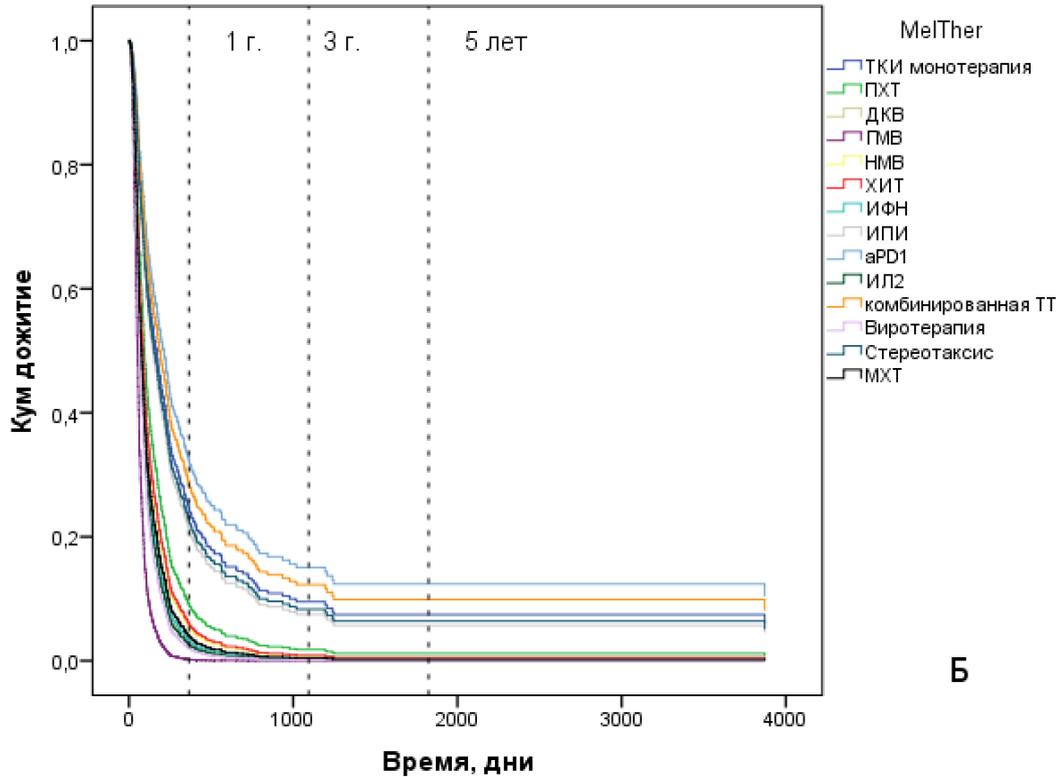


Рисунок 18 – Общая выживаемость больных, получающих паллиативную терапию меланомы: А – без учёта факторов прогноза; Б – в сопоставимых по прогностическим факторам группах

Тем не менее риск смерти увеличивался на 5,8% с каждой новой линией системного лечения. Неожиданным явился тот факт, что больные с редкими локализациями меланом (меланомы слизистых, увеальная меланома, акральная меланома, подногтевая меланома) характеризовались несколько лучшей ОВ в модели, не учитывающей конкретные виды проведённого лечения (ОР 0,863; $p=1,4 \times 10^{-7}$). Литературные данные предполагают худший прогноз при меланоме слизистых [201]. Эффективность большинства средств терапии метастатической увеальной меланомы остаётся на сегодняшний день низкой [202], что также причисляет её к факторам неблагоприятного прогноза.

В нашем исследовании [179] современные методы терапии (ингибиторы BRAF, анти-PD1, анти-CTLA4) статистически значимо снижали риски прогрессирования и смерти. Относительные риски прогрессирования для терапии анти-PD1 препаратами, по сравнению с МХТ, составили 0,351 (95% ДИ 0,215–0,513), для ипилимумаба – 0,481 (95% ДИ 0,367–0,573), для монотерапии ингибиторами BRAF – 0,436 (95% ДИ 0,299–0,636), для комбинированной ТТ – 0,389 (0,231–0,655). Размер влияния на ОВ в указанных методах лечения был ниже, и лишь для ипилимумаба и вемурафениба достиг определённого в нашем исследовании уровня статистической значимости (ОР 0,718 и ОР 0,634 соответственно). При этом суммарный учёт характера иммунологического действия данных методов позволял выявить выраженное влияние современных методов лечения на ОВ. При применении методов с вторичной активацией иммунной системы (преимущественно представленной терапией с включением ингибиторов BRAF) ОР смерти составил 0,716 (95% ДИ 0,571–0,899), тогда как для модуляторов иммунного синапса ОР был 0,684 (95% ДИ 0,535–0,874). Полученные нами результаты совпадали с результатами проведённого в 2018 году сетевого метаанализа рандомизированных исследований [203], который показал преимущества как модуляторов иммунного синапса, так и ТТ над химиотерапией и отсутствие преимуществ ХИТ или ПХТ.

Нумерически, параметры эффективности лечения в нашем исследовании [179] были хуже таковых в регистрационных исследованиях ингибиторов BRAF [204]. Однако, при сравнении с данными из реальной клинической практики [205], мы получили сопоставимые результаты, что подтверждает наличие существенного селекционного смещения, обусловленного строгими критериями отбора в клинические исследования. Для анти-PD-1 полученные нами результаты превосходили параметры эффективности монотерапии ниволумабом при второй и последующих линиях лекарственного лечения [206] и были сопоставимы с применением анти-PD1 терапии первой линии [206; 207], что, вероятно, отражает более раннее применение данных препаратов в процессе лечения у нашей когорты пациентов. Эффективность терапии

ипилимумабом в нашем исследовании была несколько ниже, чем в исследовании J. Schachter с соавт. [207], однако соответствовала исследованию P.A. Ascierto с соавт. [208].

Некоторые виды лечения в наших моделях прогнозирования ОВ и ВДП оказывали противоречивое влияние на риск наступления соответствующих событий [179]. Так, стереотаксическая лучевая терапия, при выделении её как отдельного и самостоятельного метода лечения без сопутствующей терапии, показывала однозначный тренд к снижению риска прогрессирования и смерти, по сравнению с химиотерапией, примерно на 30–60% (в зависимости от выбора метода учёта характеристик проведённого лечения), что, однако, не трансформировалось в преимущества по ОВ. Вакциноterapia показывала противоположные тренды в отношении ВДП и ОВ. Так, НМВ, равно как и ДКВ, значимо не влияли на изучаемые показатели и имели общий тренд к улучшению результатов терапии по сравнению с ХТ. ГМВ, напротив, демонстрировали повышение риска прогрессирования или смерти пациентов, достигавшего в отдельных моделях уровня статистической значимости $p < 0,05$. Причины такого противоречивого действия ГМВ, которые оказались лучшим средством терапии при использовании в качестве метода адъювантного лечения, требуют отдельного изучения. Возможно, причиной этого являются особенности продукции опухолевыми клетками иммуносупрессирующих факторов, выявленные нами [209].

Наше исследование продемонстрировало важность комбинированного подхода в лечении пациентов [179]. Добавление каждого дополнительного метода лечения снижало риск прогрессирования на 48,2% ($p = 6,6 \times 10^{-12}$) и риск смерти больного – на 29% ($p = 1,6 \times 10^{-4}$). Проведение циторедуктивных вмешательств, не оказывающих, казалось бы, значимого и долгосрочного иммунологического действия, являлось независимым фактором прогноза ОВ (ОР 0,564; 95% ДИ 0,468–0,679; $p = 1,4 \times 10^{-9}$), но не ВДП. Литературные данные свидетельствуют о важности учёта взаимодействий локальных и системных методов воздействия, при этом значимыми могут оказаться последовательность и сроки их назначения [210].

В ходе оценки прогностических факторов мы проанализировали роль характеристик предшествующего и текущего лечения по видам оказываемого лекарственного воздействия и характеру влияния на иммунную систему [179]. Именно последняя характеристика оказалась наиболее значимой. Предшествующее применение модуляторов иммунного синапса снижало риск прогрессирования до 0,78 (95% ДИ 0,619–0,983; $p = 0,035$), но не риск смерти в многофакторном анализе. Применение цитокинов в анамнезе улучшало показатели ОВ (ОР 0,757; 95% ДИ 0,637–0,900; $p = 0,002$), но не влияло на достижение эффекта от текущего лечения. Применение препаратов с выраженным иммуносупрессивным действием (преимущественно – ПХТ) и методов с вторичной активацией иммунной системы

(таргетная терапия, фотодинамическая терапия) в анамнезе оказывало негативное влияние на показатели ОВ в моделях, учитывавших виды проведённого лечения (ОР 1,346; 95% ДИ 1,074–1,687 и ОР 1,542; 95% ДИ 1,209–1,967 соответственно).

Применение методов устранения иммуносупрессирующих факторов в анамнезе снижало показатели как ВДП (ОР 1,750; 95% ДИ 1,148–2,668), так и ОВ (ОР 2,264; 95% ДИ 1,415–3,621). Однако такие результаты могут быть обусловлены применением негативных факторов прогноза в более ранние временные периоды, т.е. в условиях отсутствия эффективных методов лечения и, как правило, после проведения не одного этапа стандартной терапии, что могло вызвать смещение относительного риска, выявленного в нашем исследовании.

В ходе исследования нами также показано благоприятное прогностическое значение предшествующей анти-PD-1 терапии и тренд к негативному значению предшествующей ТТ [179]. Подобные результаты противоречат выводам, полученным в исследовании D.V. Johnson с соавт. [211], где был сделан вывод о большей эффективности комбинированной терапии BRAF ингибиторами в первой линии лечения. Вместе с тем более поздние исследования и мнения экспертного сообщества подтверждают приоритет применения модуляторов иммунного синапса в начале лечения [205; 212].

При учёте исключительно механизмов противоопухолевого действия без спецификации конкретного метода лечения [179] нами было выявлено негативное прогностическое значение мужского пола при оценке ОВ (ОР 1,222; 95% ДИ 1,08–1,382). Данный фактор не позволял улучшить модель прогнозирования при учёте конкретных методов лечения, что позволяет сделать вывод о наличии взаимодействия между полом и отдельными методами, прежде всего, иммунотерапии.

Такие выводы подтверждаются результатами метаанализа рандомизированных исследований, проведённого F. Conforti с соавт. [213], где было показано, что у женщин размер ответа на применение модуляторов иммунного синапса меньше, чем у мужчин. В более ранних исследованиях, базировавшихся исключительно на применении химиотерапии и/или цитокинов, женский пол являлся фактором, влиявшим на ВДП, но не на ОВ [214]. Важно отметить, что влияние пола выявлялось нами только при совместном учёте методов лечения на основании механизма действия и типа применяемого лечения. Это позволяет предположить связь данного фактора именно с иммунологическими характеристиками лечения и требует учёта в последующей части исследования.

При учёте методов иммунологического действия были также выявлены ряд дополнительных факторов, отражающих роль сочетанного использования разных подходов

к лечению [179]. Само количество использованных методов являлось благоприятным фактором, снижая риск смерти от 10 до 30% (в зависимости от перечня используемых факторов).

При учёте прочих прогностических факторов, применение фотодинамической терапии оказывало негативное влияние на показатели ОВ (ОР 1,739; 95% ДИ 1,201–2,517), но не влияло на ВДП. Выше мы уже упоминали роль модуляторов иммунного синапса и методов с вторичным иммуномодулирующим действием. Интересно отметить, что циторедуктивные вмешательства оказывали значимый позитивный эффект на ОВ (ОР 0,564; 95% ДИ 0,468–0,679; $p=1,4 \times 10^{-9}$), но не влияли на ВДП.

Применение вакцин, напротив, имело тенденцию к снижению ВДП, однако это влияние не транслировалось в изменения показателей ОВ и было обусловлено, как уже упоминалось ранее, включением значительной доли пациентов, не имевших возможности получать современные методы терапии. Интересно отметить, что применение адаптивной клеточной терапии, хоть и не достигло заданного в нашем исследовании уровня значимости [179], но обеспечивало наибольшее снижение относительного риска смерти больных (ОР 0,167).

3.3. Эффективность паллиативной терапии сарком мягких тканей

Нами проведена оценка эффективности лекарственной терапии сарком мягких тканей у больных, получавших лечение с 2008 по 2018 год [180]. Показатели ОО, ОВ и ВДП у этих больных представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Показатели эффективности лечения больных саркомами мягких тканей, получающих паллиативную терапию

Группа	ОО, %	Показатель	Медиана, мес.	Выживаемость, %		
	95% ДИ			1-летняя	3-летняя	5-летняя
МХТ	0	ОВ 95% ДИ	12,4 5,6–19,2	60 37,0–83,0	7,5 0–21,5	0
	0–4,73	ВДП 95% ДИ	2 1,2–2,8	–	–	–
ПХТ	20	ОВ 95% ДИ	29,6 23,2–35,9	88 79,4–96,4	42,2 27,8–56,5	31,1 17,0–45,3
	11,3–30,5	ВДП 95% ДИ	6 3,2–8,7	25,8 14,9–36,7	7,9 0,6–15,2	4 0–9,3
ДКВ	2,6	ОВ 95% ДИ	20,9 13,2–28,6	71 55,9–86,2	32 13,9–50,2	12 0–31,2
	0–10	ВДП 95% ДИ	4,3 2,2–6,5	23,3 9,6–37,0	0	–

Примечание: ОО – объективный ответ по RECIST 1.1; «–» – невозможно рассчитать.

На рисунках 19 и 20 отражены кривые ВДП и ОВ больных саркомами мягких тканей. При оценке эффективности методов лечения в целом ПХТ оказалась наиболее эффективной опцией, как по частоте объективного ответа, так и по показателям ОВ и ВДП [180]. Терапия ДКВ при этом, несмотря на низкую частоту ОО, обладала сопоставимыми показателями выживаемости. В модели пропорциональных рисков Кокса стадия являлась независимым фактором прогноза ОВ ($p=0,035$), но не ВДП, где она не позволяла улучшить прогнозирование прогрессирования процесса.

Для ВДП важным фактором оказалось проведение монокимиотерапии или малотоксичных комбинированных режимов химиотерапии в анамнезе (например, метрономной терапии циклофосамидом и метотрексатом) либо вакцинотерапии – т.е. методов с возможными иммуномодулирующими свойствами – и проведение комплексного лечения [180]. ОР прогрессирования увеличивался на 82,9% (ОР 1,829; 95% ДИ 1,26–2,65) на каждый дополнительный этап малотоксичного лечения. ОР смерти при этом рос на 93,8% (ОР 1,938; 95% ДИ 1,291–2,91%; $p=0,01$). Комплексное лечение снижало вероятность прогрессирования процесса (ОР 0,519 для каждого дополнительного метода лечения; 95% ДИ 0,388–0,694). При анализе ОВ [180] проведённое ранее малотоксичное лечение увеличивало риск смерти пациентов (ОР 1,938; $p=0,01$).

Противоопухольная лекарственная терапия являлась важным фактором, определяющим ОВ и ВДП ($p=0,02$ и $p=0,13$ соответственно) [180]. При этом ПХТ в многофакторном анализе обладала наибольшим эффектом, по сравнению с монокимиотерапией: ОР для ВДП составил 0,33 (95% ДИ 0,173–0,631), для ОВ – ОР 0,51 (95% ДИ 0,29–0,896). Применение ДКВ также приводило к снижению риска прогрессирования (ОР 0,406; 95% ДИ 0,22–0,742), что, однако, не трансформировалось в статистически значимые преимущества в ОВ (ОР 0,592; 95% ДИ 0,3–1,169).

При анализе в модели учитывалось количество линий системной терапии, а также пол, возраст, первично-множественный характер опухоли [180]. Лишь последняя переменная влияла на ОР прогрессирования процесса ($p=0,046$), однако не позволяла увеличить прогностическую значимость модели при учёте других факторов.

При сопоставлении полученных в нашем исследовании результатов с литературными данным следует в первую очередь обратить внимание на характер включённых в исследование пациентов. Лишь 13% из них ранее не получали системного лечения. В нашем исследовании комбинированная химиотерапия оказалась наиболее эффективным подходом к лечению сарком мягких тканей [180]. В метаанализе рандомизированных исследований А. Comandone с соавт. [215] изучали эффективность второй и последующих линий терапии сарком мягких тканей.

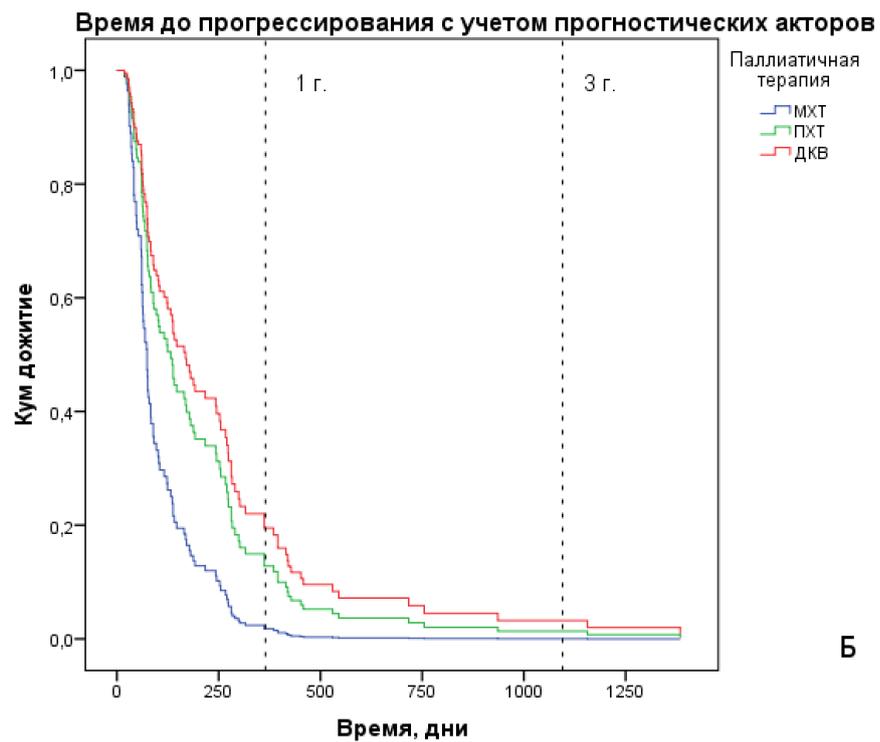
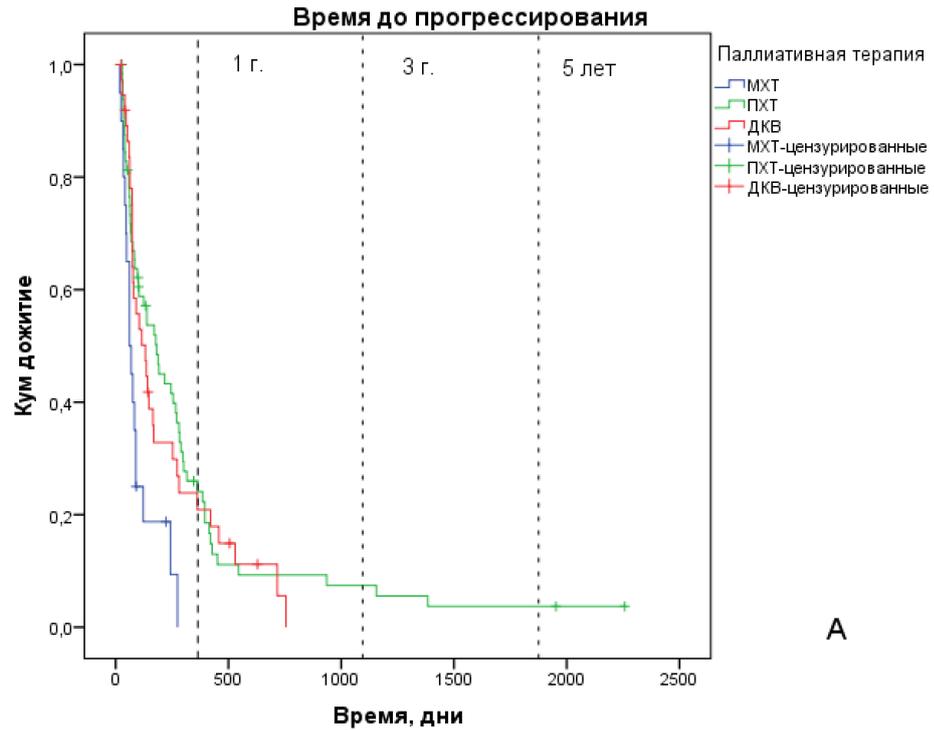


Рисунок 19 – Время до прогрессирования у больных саркомами мягких тканей:

А – без учёта факторов прогноза;

Б – в сопоставимых по прогностическим факторам группах

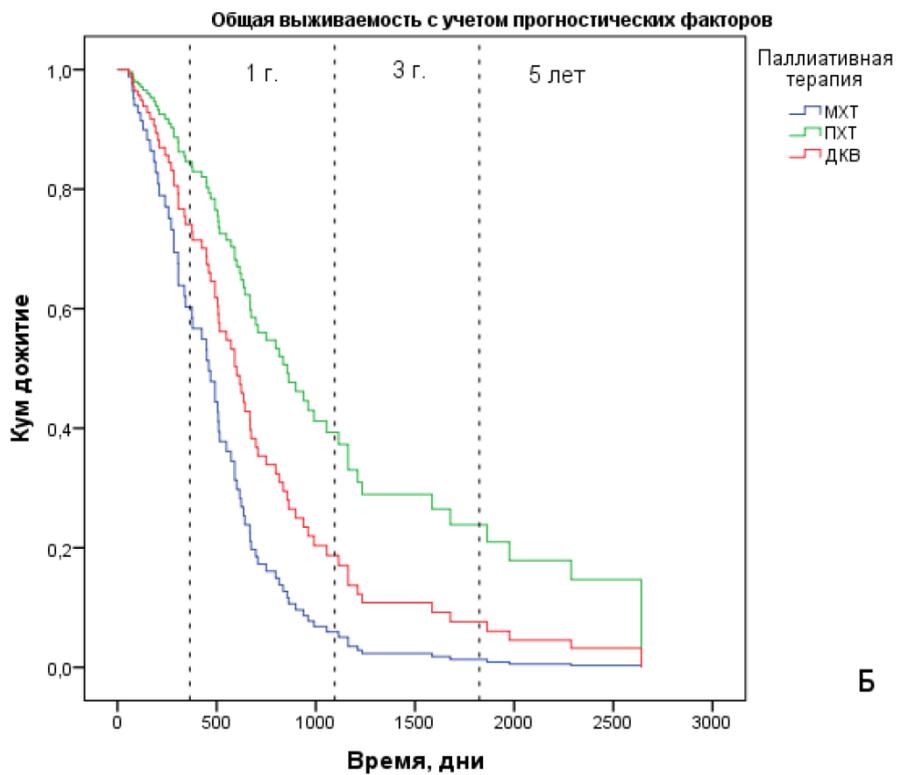
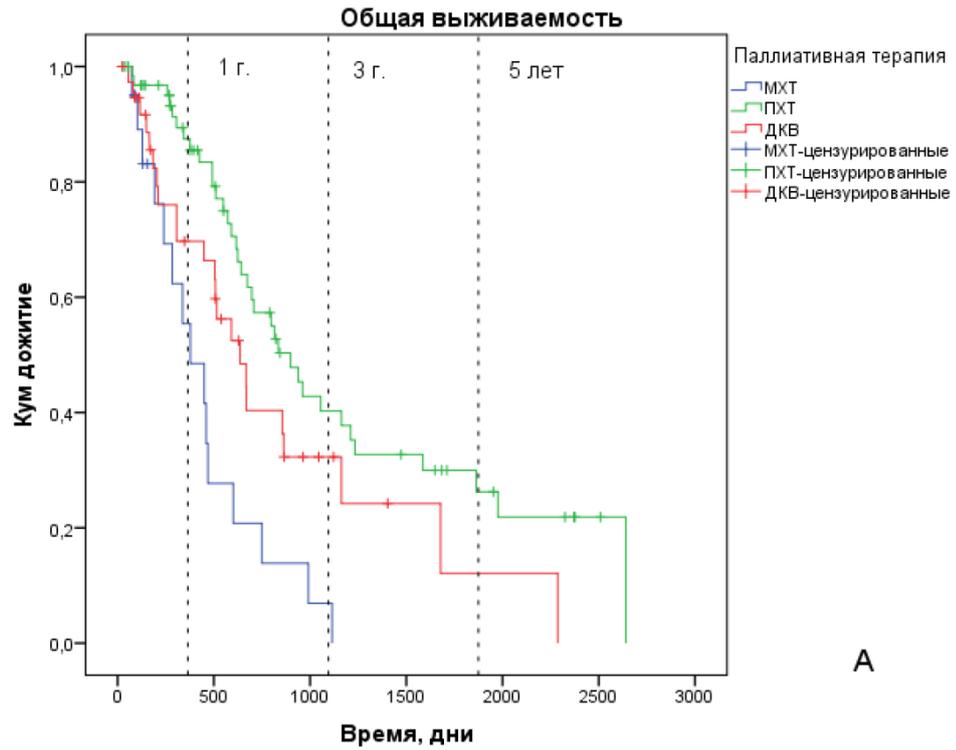


Рисунок 20 – Общая выживаемость у больных саркомами мягких тканей:

А – без учёта факторов прогноза;

Б – в сопоставимых по прогностическим факторам группах

Данный метаанализ показал, что применение комбинированного лечения имеет преимущества по ОВ и ВДП, при этом ОР смерти составлял 0,81, а ОР прогрессирования – 0,51. Похожие результаты, но с меньшим размером эффекта, были получены в более позднем исследовании [216]. Эти результаты не отличаются от полученных в нашем исследовании показателей. Абсолютное увеличение ВДП в нашем исследовании было аналогично результатам указанных метаанализов, однако в отношении ОВ наше исследование показало большую амплитуду эффекта комбинированной терапии [180]. Интересно отметить, что подобный феномен больших преимуществ по ОВ, чем по ВДП, отмечался в целом ряде исследований, обобщённых в недавнем метаанализе [217]. При анализе исследований в первой линии лекарственного лечения было отмечено улучшение ОВ, но не ВДП при проведении сравнительных исследований, в которых роль контрольной группы играла монотерапия доксорубицином [218]. На основании двух вышеуказанных анализов можно предполагать зависимость эффекта от линии системной терапии, однако в нашем исследовании этот показатель оказался незначимым. Построенные многофакторные модели свидетельствовали об отсутствии влияния ПХТ на эффективность последующего лечения, тогда как проведение менее интенсивных режимов оказывало негативный эффект. Причиной такого явления может быть как низкая эффективность монотерапии или метрономных режимов лечения, используемых, как правило, в последующих линиях терапии, так и определённая селекция опухолевых и иммунных клонов, более выраженная при использовании менее интенсивных воздействий. Важно подчеркнуть, что схемы с высокой гематологической токсичностью не обладали негативным влиянием на показатели ОВ и ВДП [180].

В нашем исследовании не выявлено значительного вклада гистологического типа опухоли (лейо- или липосарком против других типов) в прогнозирование ОВ или ВДП [180]. В метаанализе R.J. Young с соавт. [219] была показана тенденция к улучшению ответа на лечение в этой категории больных. Однако незначительный размер эффекта мог затруднить его обнаружение в нашем исследовании, принимая во внимание малое количество больных.

Между тем наше исследование показало значительный вклад и положительное прогностическое значение применения ДКВ в лечении больных саркома миеломы мягких тканей [180]. В литературе нам встретились лишь отдельные упоминания о ранних исследованиях вакцин [220; 221], не позволяющих сравнивать их с результатами нашего исследования. Вместе с тем в указанных работах также отмечена незначительная частота ОО и отдельные случаи длительно сохраняющихся эффектов, что является характерной чертой иммунотерапии. В нашем исследовании мы также наблюдали длительный достигнутый эффект и отсроченный эффект от проведения лечения, что позволяет говорить о схожести указанных наблюдений.

3.4. Эффективность адъювантной терапии рака почки

Адъювантная терапия рака почки до сих пор не является стандартным методом лечения, хотя активно изучаются, прежде всего, иммунологические подходы к применению такой терапии. Нами проведена оценка эффективности адъювантной терапии рака почки у больных, получавших лечение с 1995 по 2016 год.

В нашем исследовании мы объединили несколько методов, направленных на улучшение презентации антигена. Первым методом являлось введение НМВ – т.е. противоопухолевые вакцины первого поколения. Их применение проводилось после полной хирургической циторедукции в объёме R0. Вторым методом, отнесённым к этой же группе, был метод физической (крио- или радиочастотной) абляции опухоли в сочетании или без использования дальнейшего хирургического лечения. Такое объединение основывалось на том, что оба подхода позволяли улучшить презентацию аутологичных антигенов опухоли и, соответственно, активировали одинаковый иммунный механизм противоопухолевого действия. Хирургическое лечение без подобных воздействий использовалось как контрольная группа. Показатели ОВ и ВДП у таких больных представлены в таблице 12.

Как видно из представленных в таблице 12 данных, при оценке ОВ не было выявлено каких-либо различий в зависимости от методов проведённого лечения. Этот же результат был подтверждён в многофакторном анализе, где значимым фактором прогноза оказалась лишь стадия заболевания ($p=0,021$), тогда как проведение адъювантной терапии значимо не изменяло риск смерти ($p=0,826$). Вместе с тем при анализе ВДП как с использованием метода Каплана–Майера (рисунок 21), так и при использовании метода пропорциональных рисков Кокса (рисунок 22) различия между методами терапии оказались статистически значимыми ($p=0,004$). Риск прогрессирования у больных, получавших адъювантную терапию, снижался до 0,273 ($p=0,016$).

Таблица 12 – Показатели эффективности адъювантной терапии больных раком почки

Группа	Показатель	Медиана, мес.	Выживаемость, %		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
Методы усиления презентации антигена	ОВ 95% ДИ	107,1 25,8–188,5	89 77,2–100,0	76 60,3–91,7	69 49,4–88,6
	ВДП 95% ДИ	68,5 41,6–95,4	88,7 76,6–100,0	73,9 55,5–92,3	64,6 41,3–88,0
Хирургическое лечение	ОВ 95% ДИ	80,8 12,6–149	100 –	86 68,4–100,0	59 31,6–86,4
	ВДП 95% ДИ	24,1 15,2–33,1	65,5 41,1–90,0	19,1 0–42,4	–

Примечание: «–» – невозможно рассчитать.

Интересно отметить, что стадия не являлась фактором прогнозирования ВДП. Возраст, напротив, являлся значимым ($p=0,017$) фактором. Риск прогрессирования снижался на 6% на каждый дополнительный год жизни. Полученные нами результаты свидетельствуют об отсутствии влияния проводимого лечения на эффективность адъювантной терапии в отношении ОВ, однако предполагают увеличение ВДП при её использовании. Подобные результаты были получены в недавних метаанализах, изучавших действие ТТ [222; 223].

Однако в этих работах не учитывались ранее проведённые исследования, изучавшие адъювантную вакцинотерапию. Так, в исследовании Ch. Doehn с соавт. было показано увеличение ВДП при использовании аутологичных вакцин на основе клеточных лизатов [224]. Отсутствие данных в доступной литературе по ОВ для этого исследования позволяет предполагать отсутствие улучшения этого параметра. При этом параметры ВДП в указанном исследовании соответствуют нашим результатам, полученным в сходный временной промежуток.

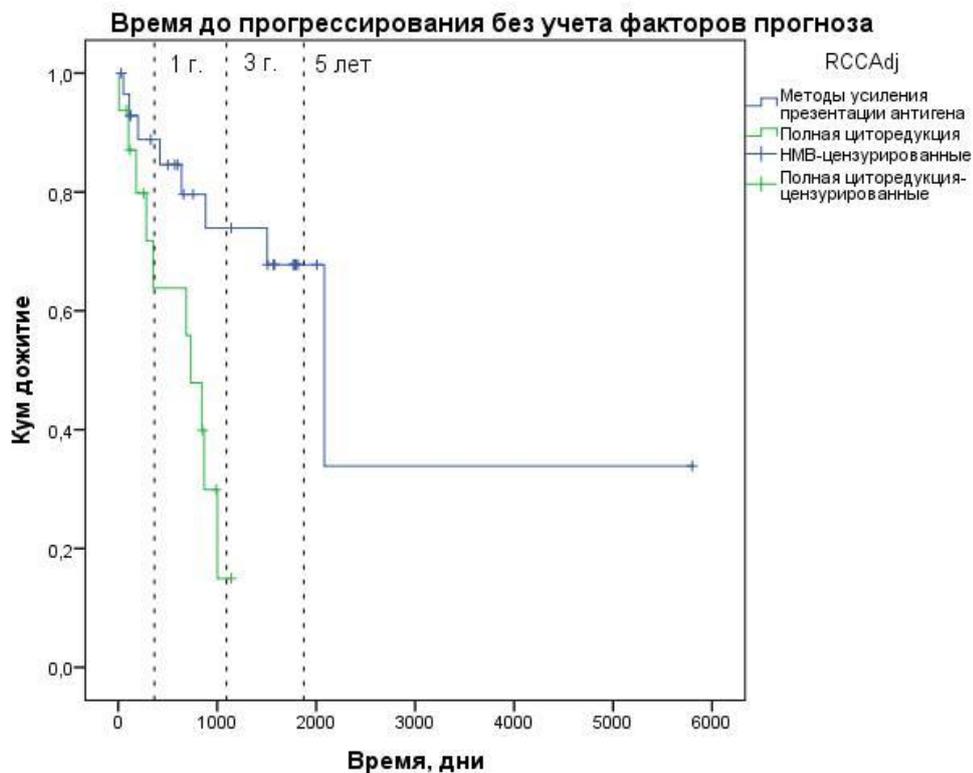


Рисунок 21 – Время до прогрессирования у больных раком почки, получавших адъювантную терапию, без учёта прогностических факторов

Показатель ВДП в нашем исследовании оказался хуже, чем аналогичный в современных исследованиях [225; 226], что отражает, вероятно, более широкие критерии включения, использованные нами, которые были более приближены к реальной клинической практике.

Вместе с тем показатели ВДП в указанных исследованиях находятся в пределах 95% ДИ нашего исследования.

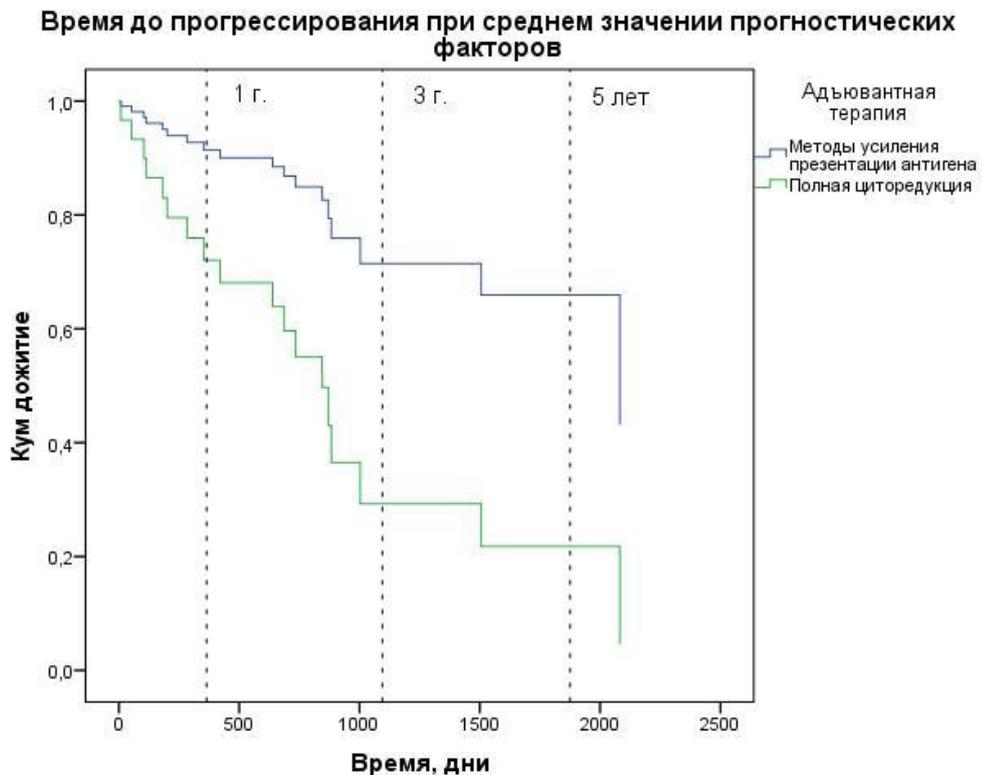


Рисунок 22 – Время до прогрессирования у больных раком почки, получавших адъювантную терапию, с учётом прогностических факторов

При анализе адъювантной терапии рака почки мы объединили методы абляции очагов и применения вакцин на основе аутологичных опухолевых клеток, исходя из общих предполагаемых механизмов иммунологического действия этих подходов. В метаанализе рандомизированных исследований, посвящённых методам радиочастотной абляции (РЧА), не было отмечено её влияния на показатели ОВ, однако риск прогрессирования в этой группе был выше (ОР 1,81; 95% ДИ 1,14–2,88) [227]. У включённых в исследование РЕПРИЗА пациентов такого влияния не отмечено, возможно, благодаря учёту возраста больных в многофакторной модели. В указанном метаанализе отмечалось, что большинство больных, получавших РЧА, имели больший возраст и сопутствующую патологию, что могло повлиять на результаты лечения.

3.5. Эффективность паллиативной лекарственной терапии рака почки

В исследовании РЕПРИЗА проведена оценка методов системной терапии рака почки, в период 1998 по 2018 год. Эффективность методов лечения представлена в таблице 13.

Таблица 13 – Эффективность паллиативной терапии у больных раком почки

Группа	ОО, %	Показатель	Медиана, мес.	Выживаемость, %		
	95% ДИ			1-летняя	3-летняя	5-летняя
Ингибиторы тирозинкиназ	20	ОВ 95% ДИ	38,6 31,5–45,7	88,6 73,7–100,0	59 29,6–88,5	16,4 0–43,3
	5,7–39,8	ВДП 95% ДИ	6,7 3,9–9,4	33,3 12,4–54,3	13,3 0–29,9	–
НМВ	5,88	ОВ 95% ДИ	14,3 6,3–22,3	58,8 35,4–82,2	21,8 0–44,2	10,9 0–29,7
	0–21,5	ВДП 95% ДИ	4,1 2,4–5,8	27,3 5,8–48,8	0	–
ИФН	0	ОВ 95% ДИ	8,1 5,9–10,2	44 12,0–76,9	44 12,0–76,9	44 12,0–76,9
	0–9,3	ВДП 95% ДИ	2,1 0,8–3,4	20 0–44,8	20 0–44,8	20 0–44,8

Примечание: ОО – объективный ответ по RECIST 1.1; «–» – невозможно рассчитать.

В наше исследование были включены пациенты, у которых заболевание прогрессировало на фоне терапии ИФН. Применение ингибиторов тирозинкиназ (ТКИ) обладало наибольшей частотой ОО. Уровень ОО при терапии НМВ был низким, что совпадало с аналогичными исследованиями других авторов [228]. Значительная доля пациентов получала лечение во второй и последующей линиях, что отразилось на показателях ОВ и ВДП. Эти показатели в исследовании РЕПРИЗА значительно уступали результатам первой линии терапии [229; 230], однако были сопоставимы с таковыми при использовании ингибиторов ТКИ во второй линии лечения [231; 232].

При проведении многофакторного анализа ВДП важными факторами, определявшими риск прогрессирования, были прогноз по MSKCC ($p=4 \times 10^{-4}$), несветлоклеточный характер опухоли ($p=0,002$), наличие первично-множественных злокачественных новообразований ($p=3 \times 10^{-6}$). Последний фактор, однако, должен учитываться с осторожностью ввиду малого количества подобных наблюдений. Проведённое лечение в нашем исследовании не влияло на показатели ВДП. При анализе ОВ важными факторами прогноза являлись предлеченность больного (повышение риска смерти в 2 раза после каждого следующего этапа лечения) и несветлоклеточный вариант рака почки ($p=0,01$). Все указанные параметры являются известными факторами, влияющими на продолжительность жизни пациентов [16]. Лечение в нашем исследовании не оказывало статистически значимого влияния на ОВ и ВДП. Вероятно, причиной этого было малое число пациентов, не позволявшее выявить реальный размер эффекта в условиях рутинной клинической практики, а также высокая доля цензурированных наблюдений.

3.6. Оценка эффективности терапии больных колоректальным раком в исследовании РЕПРИЗА

В исследование РЕПРИЗА было включено 62 больных, получавших терапию с 1996 по 2018 год. Больные были сгруппированы в две группы: получавшие ХТ на основе фторпиримидинов (фторурацил, капецитабин, тегафур) в сочетании с оксалиплатином или иринотеканом или в монотерапии, и получавшие ХИТ (в виде моноклональных антител к VEGF или EGFR в сочетании с ХТ). Результаты применения этих видов лечения представлены в таблице 14. ХИТ обладала значительными преимуществами, по сравнению с химиотерапией, как по частоте ОО, так и по ВДП. Однако в нашем исследовании эти преимущества не реализовались в увеличение ОВ, в том числе по причине незавершённости значительной части наблюдений.

Таблица 14 – Эффективность терапии у больных колоректальным раком
в исследовании РЕПРИЗА

Группа	ОО, %	Показатель	Медиана, мес.	Выживаемость, %		
	95% ДИ			1-летняя	3-летняя	5-летняя
Химиотерапия	7,4	ОВ 95% ДИ	32,2 23,1–41,2	96 88,2–100,0	44 10,7–77,3	0
	0,8–20,5	ВДП 95% ДИ	4,7 4,2–5,3	22 6,3–37,7	0	–
Химеоиммунотерапия	42,9	ОВ 95% ДИ	38,7 20,0–57,4	86 72,3–99,7	79 59,4–98,6	0
	26,5–59,3	ВДП 95% ДИ	7 3,0–11,0	43 21,4–64,6	0	–

Примечание: «–» – невозможно рассчитать.

В многофакторном анализе наблюдалось снижение риска прогрессирования на 59,6% с каждым дополнительным компонентом комплексного лечения ($p=4 \times 10^{-5}$), на 67% – при наличии хирургического лечения в анамнезе ($p=0,005$), и повышение в 2,6 раза при проведении ХТ без ингибиторов VEGF или EGFR. При анализе ОВ негативным фактором прогноза ОВ оказалось применение эфферентной терапии как до текущего лечения ($p=0,002$), так и во время такового ($p=0,09$). Применение комплексного лечения при этом значительно снижало риск смерти ($p=0,003$). Ввиду преимущественного включения в исследование больных, ранее получавших терапию, мы сопоставили результаты с отдельными исследованиями, изучавшими эффективность второй и последующих линий терапии КРР [233; 234]. Наше исследование показало меньшую эффективность ХТ и сопоставимую эффективность ХИТ в отношении ВДП. При оценке ОВ в нашем исследовании были получены более высокие результаты. Вместе с тем

не выявлено влияния вида терапии на показатели ОВ, но было подтверждено влияние современного лечения на ВДП. Следует отметить, что в многофакторной модели для ХТ риск смерти был в 2,3 раза выше, чем при ХИТ, однако эти изменения не были статистически значимыми. Большой метаанализ рандомизированных исследований [235] подтверждает подобную динамику ОВ и ВДП при добавлении к терапии ингибиторов EGFR или VEGF. Отсутствие статистически значимых различий в нашем исследовании может объясняться малым количеством наблюдений. При этом размеры эффекта в нашем исследовании превосходили результаты, полученные в результате метаанализа.

3.7. Характеристика наблюдений в исследовании РЕПРИЗА:

важные аспекты дальнейшего анализа

Проанализировав показатели эффективности терапии исследуемых больных, можно сделать общий вывод о соответствии наших результатов лечения результатам опубликованных в доступной литературе исследований. У популяции наших больных в большинстве случаев наблюдались более низкие показатели эффективности терапии, отражающие включение больных в условиях реальной клинической практики и на более поздних этапах лечения. Эту особенность следует рассматривать как одно из ограничений нашего исследования. Вместе с тем нами не выявлено значимых расхождений по эффективности стандартных методов терапии и взаимоотношению эффектов этих методов в многофакторных моделях.

Кроме этого, нами показано влияние стадии заболевания во всех группах пациентов, включавших лечение на разных стадиях. При этом «грубое» разделение пациентов на 4 стадии, с одной стороны, несёт достаточно много прогностической информации, а с другой – является универсальным для всех локализаций.

Лечение оказывало существенное влияние как на показатели ОВ, так и ВДП, и было выявлено, что возможно объединение ряда методов лечения на основании показателей их эффективности. Это, прежде всего, касается лечения больных меланомой. Необходимо отметить, что иммунологические аспекты действия режимов лечения часто оказывались важными для моделей ОВ и ВДП, поэтому эти особенности должны быть учтены при дальнейшем изучении параметров, характеризующих иммунный статус.

При изучении эффективности лечения первично-множественный характер опухоли в большинстве случаев оказывал влияние на показатели ОВ. Это требует выделения больных с +ПМО в отдельную группу в последующих исследованиях.

ГЛАВА 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ ОЦЕНОК ИММУННОГО СТАТУСА МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ – ИССЛЕДОВАНИЕ ВАСИЛИСА

4.1. Дизайн исследования и характеристика больных

Для оценки вариабельности измерений показателей иммунного статуса нами были использованы 100 случайных иммунных статусов, проходивших последовательную оценку в отделе онкоиммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Дизайн исследования представлен на рисунке 23. У всех больных были произведены повторные оценки первичных данных, полученных на проточном цитофотометре FaxCanto II.

В последующем для анализа были отобраны только пациенты со злокачественными солидными опухолями. Характеристика больных представлена в таблице 15.

Таблица 15 – Характеристика больных, включённых в исследование

Показатель	Количество больных, n (%)	Количество иммунных статусов, n (%)
Всего наблюдений	88	93
Пол		
Мужской	27 (31,0)	29 (31,0)
Женский	61 (69,0)	64 (69,0)
Возраст		
Средний Диапазон	57 25–80	
Локализация первичной опухоли*		
Меланома	25 (28,0)	29 (31,0)
Колоректальный рак	19 (22,0)	19 (20,0)
Рак молочной железы	18 (20,0)	19 (20,0)
Саркомы мягких тканей	7 (8,0)	7 (8,0)
Первично-множественные опухоли	7 (8,0)	7(8,0)
Прочие виды опухолей	12 (14,0)	12 (13,0)

Примечание: * – указаны опухоли с количеством наблюдений >5%.

В исследование вошли результаты иммунологического обследования (иммунные статусы) пациентов с различными злокачественными опухолями. Среди прочих опухолей встречались: рак поджелудочной железы – у 2 больных, рак почечной лоханки – у 1 пациента, рак желчевыводящих путей – у 2 больных, рак почки – у 4 человек, семинома – у 1 больного, рак головы и шеи – у 2 пациентов, рак предстательной железы – у 2 больных, рак шейки

матки – у 2 пациентов, базалиома кожи – у 1 больного, рак желудка – у 2 больных, нейроэндокринная опухоль – у 1 больного, аденокарцинома легкого – у 2 пациентов, рак маточной трубы – у 1 больной и рак яичников – у 3 больных. Частота опухолей разных локализаций у пациентов, включённых в данное исследование, не соответствуют таковым у пациентов с впервые в жизни установленным новообразованием, что отражает селекционное смещение в исследовании.

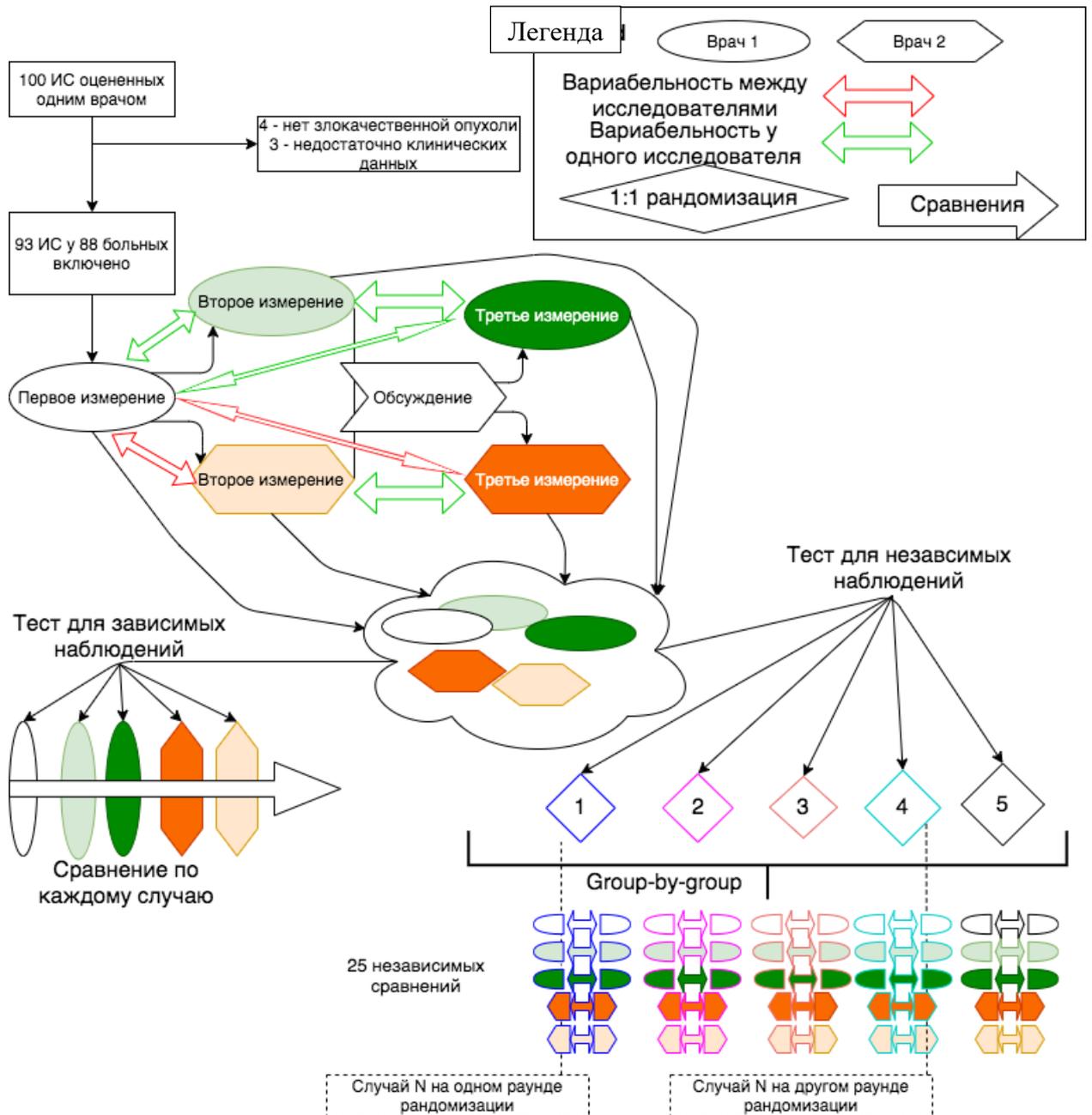


Рисунок 23 – Дизайн исследования по оценке вариабельности измерений субпопуляций лимфоцитов

Тем не менее включение пациентов с большим количеством различных локализаций злокачественных опухолей дает возможность утверждать, что полученные в ходе описываемого исследования данные могут быть распространены на любую солидную опухоль.

В нашем исследовании мы пытались определить погрешность измерений, связанную именно с обработкой первичных данных, полученных при помощи проточного цитометра. Такой подход был выбран потому, что оценка результатов исследования основана на гейтировании отдельных клеток для выделения определённых субпопуляций лимфоцитов. Это достигается с помощью либо визуальных методов исследования диаграмм рассеяния, либо с использованием машинных методов. Каждый из этих подходов имеет свои ограничения. Эти ограничения не могут быть устранены путём стандартизации преаналитического этапа исследования. Задачей нашего исследования было установление влияния variability измерений на результаты последующей статистической обработки данных и определения её размера. Благодаря использованию одного и того же набора первичных данных, полученных однократно из цитометра, для каждого повторного измерения, нами была полностью устранена variability, связанная с преаналитическим этапом исследования.

Для определения воспроизводимости гейтирования и влияния погрешностей измерения на результаты статической обработки тестов мы использовали рандомизированное исследование. Пациенты были случайным образом разделены на 2 группы. Для оценки воспроизводимости расчётов процедура рандомизации проводилась 5 раз. Дальнейшие сравнения проводились в каждой из рандомизированных когорт отдельно. Рандомизация проводилась на уровне первичного анализа иммунного статуса, поэтому при всех повторных измерениях пациент оставался в одной и той же группе.

Измерения проводились 2 врачами. Были оценены абсолютные ($10^9/\text{л}$) и относительные (% от лимфоцитов) значения следующих показателей иммунного статуса: В-лимфоциты, Т-лимфоциты, Th, HLA-DR⁺Th, CD25⁺Th, ЦТЛ, HLA-DR⁺ЦТЛ, CD127^{low}Treg, NK, NKT, DP, DN, ИРИ, отношение NK к ЦТЛ, отношение NKT к ЦТЛ, отношение Т-лимфоцитов к Th, отношение ЦТЛ к Treg.

Для оценки влияния variability измерений на результат исследования полученные замеры сравнивались между собой с помощью критерия Фридмана для k зависимых наблюдений. Некорректными считались показатели с вероятностью нулевой гипотезы об отсутствии различий в наблюдениях менее 5%. Группы 1 и 2 сравнивались между собой в каждом из измерений с помощью критерия Манна-Уитни для независимых выборок. При этом оценивалось изменение уровня значимости показателя. Учитывая 5 рандомизированных когорт и 5 измерений, для каждого показателя сравнение между группами проводилось 25 раз.

За уровень значимости α было принято значение 0,05. При наличии разных относительно уровня значимости значений критерия в двух и более измерениях использование теста считалось некорректным.

Нами был использован метод Bland–Altman для оценки вариабельности измерений между исследователями (interobserver variability) и вариабельности измерений одним исследователем (intraobserver variability). Поскольку предположения метода требуют нормального распределения разниц измерений, мы применили тест Shapiro–Wilk для оценки этого предположения. В нашем наборе данных распределение не соответствовало нормальному, что потребовало генерализации метода Bland–Altman [177] с использованием медианы в качестве меры срединной тенденции и перцентилей (2,5% и 97,5%), которые при нормальном распределении величин соответствуют среднему значению и 95% ДИ. Графики Bland–Altman были получены с использованием статистического пакета R (модуль BlandAltmanLeh) [115].

4.2. Влияние вариабельности измерений на результаты анализа иммунологических показателей

Результаты оценки влияния повторных измерений на выводы статистических тестов представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Влияние повторных измерений на статистическую обработку показателей
иммунного статуса

Показатель	Оценка зависимых наблюдений*	Разные по значимости результаты сравнений рандомизированных групп**	
		абс.	%
1	2	3	4
В-лимфоциты, $10^9/\text{л}$	<0,001	0	0
В-лимфоциты, % от LY	<0,001	0	0
Т-лимфоциты, $10^9/\text{л}$	<0,001	0	0
Т-лимфоциты, % от LY	<0,001	0	0
Th, $10^9/\text{л}$	<0,001	0	0
Th, % от LY	<0,001	0	0
HLA-DR ⁺ Th, $10^9/\text{л}$	0,001	0	0
HLA-DR ⁺ Th, % от LY	<0,001	0	0
HLA-DR ⁺ Th, % от Th	0,015	0	0
CD25 ⁺ Th, $10^9/\text{л}$	0,008	3	12,0
CD25 ⁺ Th, % от LY	0,008	2	8,0
CD25 ⁺ Th, % от Th	0,039	1	4,0
ЦТЛ, $10^9/\text{л}$	<0,001	0	0
ЦТЛ, % LY	<0,001	0	0
HLA-DR ⁺ ЦТЛ, $10^9/\text{л}$	0,01	2	8,0

1	2	3	4
HLA-DR ⁺ ЦТЛ, % от LY	0,03	0	0
HLA-DR ⁺ ЦТЛ, % от ЦТЛ	<0,001	1	4,0
CD127 ^{low} Treg, 10 ⁹ /л	<0,001	2	8,0
CD127 ^{low} Treg, % от Th	<0,001	0	0
NK, 10 ⁹ /л	<0,001	0	0
NK, % от LY	<0,001	0	0
NKT, 10 ⁹ /л	<0,001	0	0
NKT, % от лимфоцитов	<0,001	0	0
DP, 10 ⁹ /л	<0,001	0	0
DP, % от LY	<0,001	0	0
DN, 10 ⁹ /л	<0,001	0	0
DN, % от LY	<0,001	0	0
ИРИ	<0,001	0	0
NK/ЦТЛ	<0,001	0	0
NKT/ЦТЛ	<0,001	0	0
Отношение Т-лимфоцитов к Th	0,466	0	0
ЦТЛ/Treg	<0,001	0	0

Примечание: * – использовался двухфакторный ранговый дисперсионный анализ Фридмана для связанных выборок; ** – использовался критерий Манна–Уитни для независимых выборок.

Как видно из данных, представленных в таблице 16, при оценке динамики измерений, даже на относительно небольшой по объему выборке, практически для всех показателей зафиксированы статистически значимые отличия, хотя использовались и анализировались абсолютно идентичные данные. При сравнении независимых наблюдений измерения сами по себе, в подавляющем большинстве случаев, не оказывали существенного влияния на результат анализа и позволяли одинаково его интерпретировать в каждом измерении. Тем не менее при оценке наиболее вариабельных показателей, являющихся маркерами активации клеток (CD25, HLA-DR), анализ статистических тестов требовал альтернативной интерпретации результатов в 8–12% случаев. Таким образом, для обработки результатов оценки иммунного статуса требуется учитывать вариабельность измерений, прежде всего, при анализе зависимых наблюдений.

4.3. Оценка вариабельности иммунологических показателей

Результаты измерений вариабельности показателей обобщены на рисунках 24–29.

Большинство показателей характеризовались высокой воспроизводимостью. Абсолютные величины могли быть измерены точно в пределах $0,05 \times 10^9/L$, относительные – в пределах 1%.

Наиболее вариабельными оказались показатели активированных HLA-DR и CD25 популяций Т-лимфоцитов, различия в измерениях которых существенно отличались от этих значений.

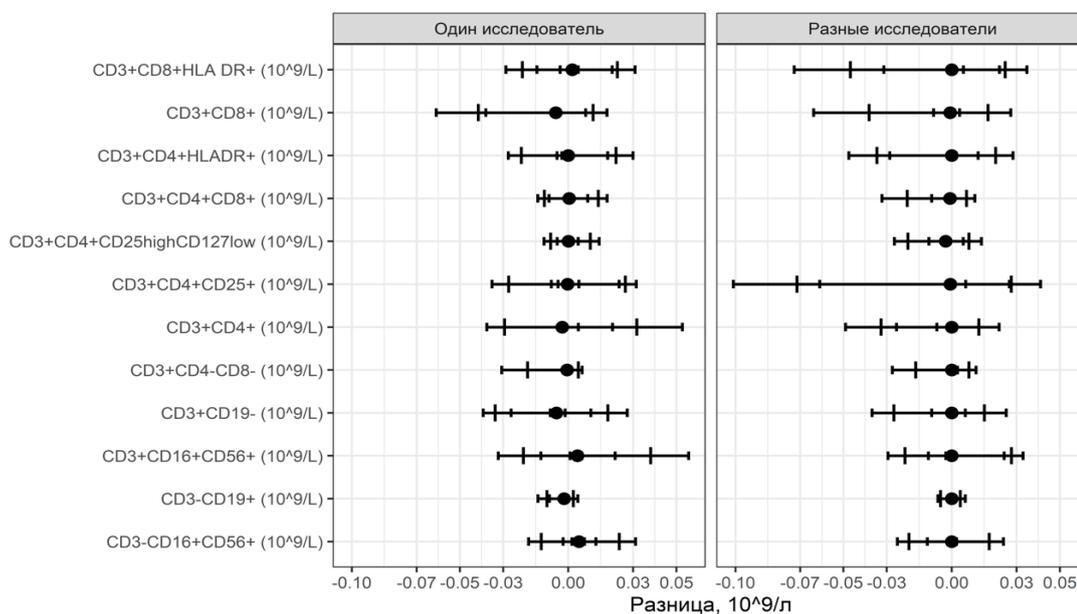


Рисунок 24 – Вариабельность измерений абсолютных значений показателей – абсолютные различия

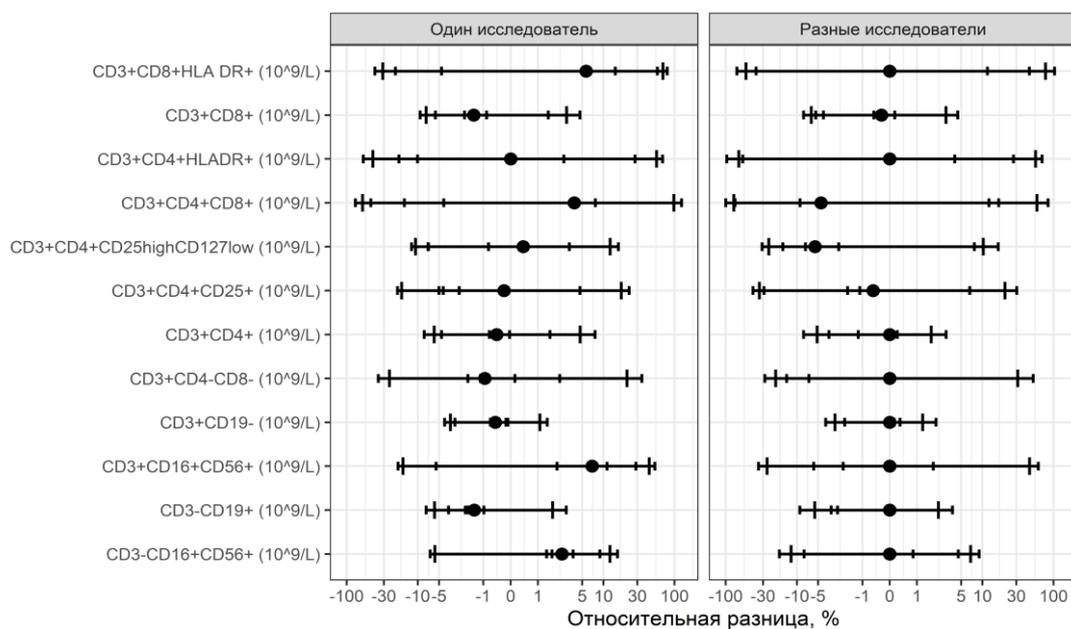


Рисунок 25 – Вариабельность измерений абсолютных значений показателей – относительные различия

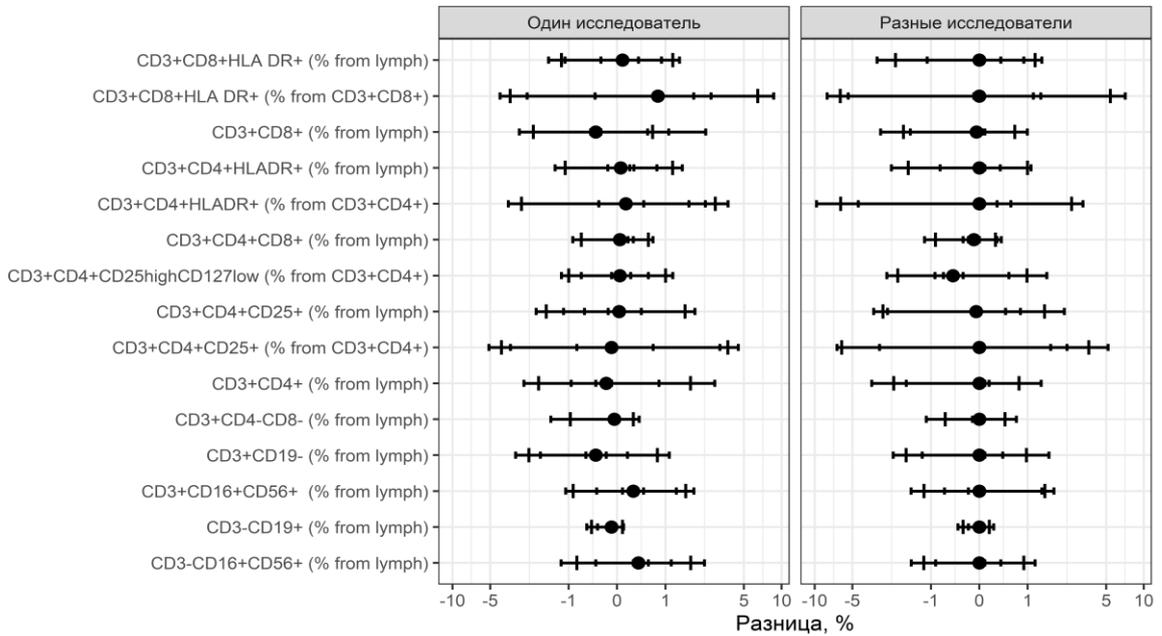


Рисунок 26 – Вариабельность измерений относительных значений показателей – абсолютные различия

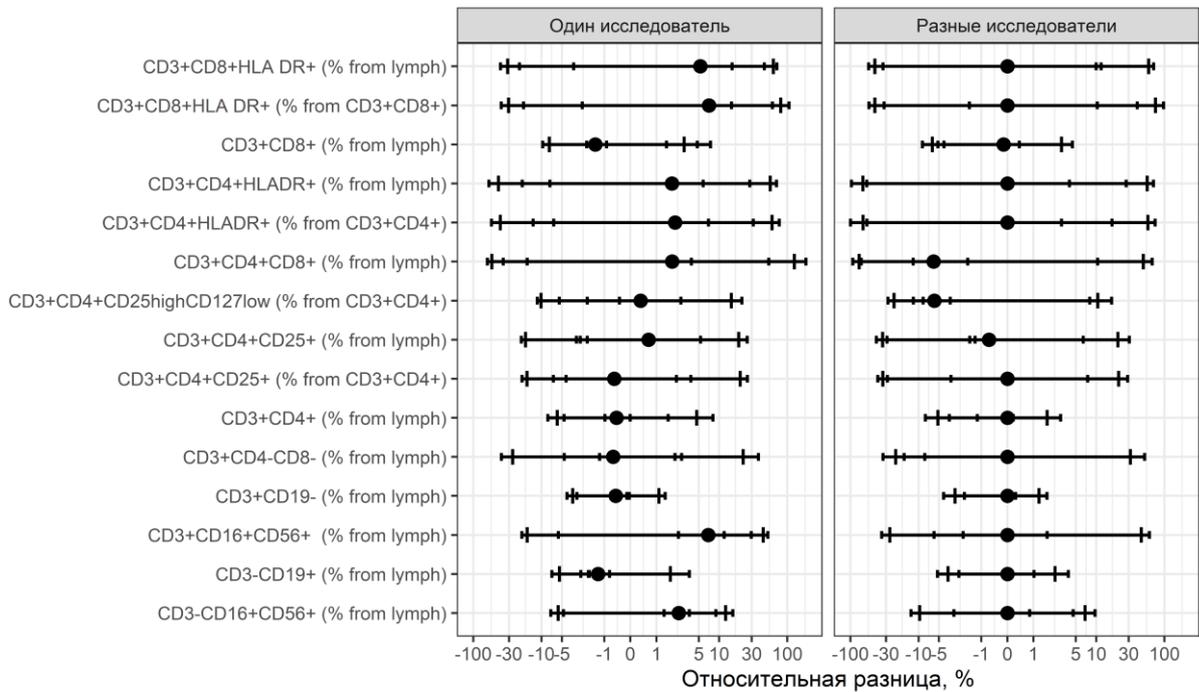


Рисунок 27 – Вариабельность измерений относительных значений показателей – относительные различия

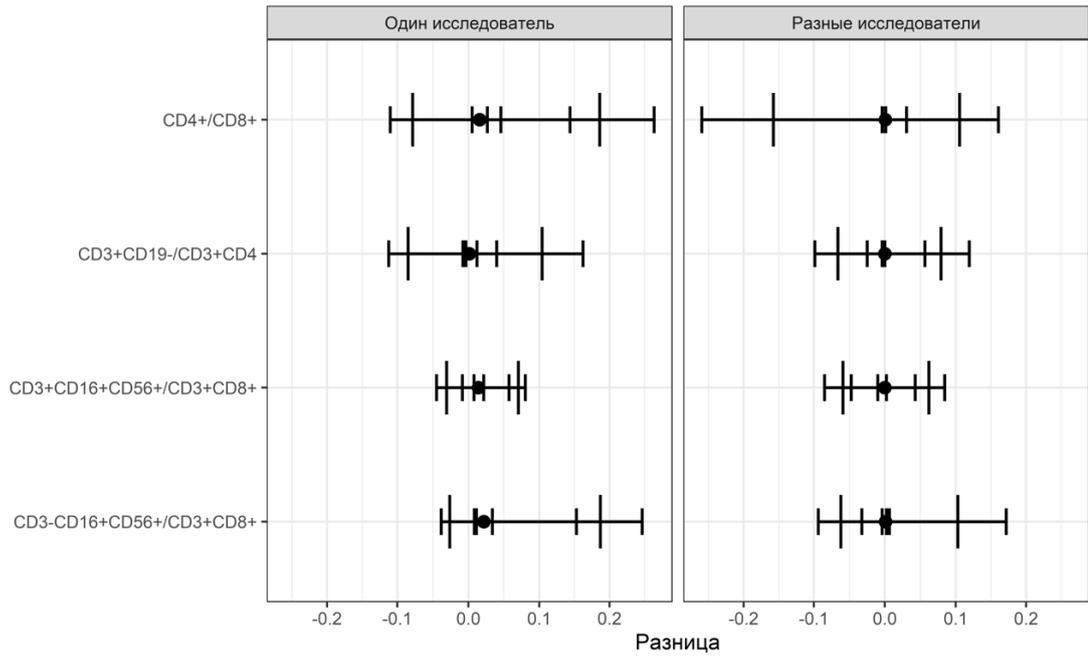


Рисунок 28 – Вариабельность измерений соотношений показателей – абсолютные различия

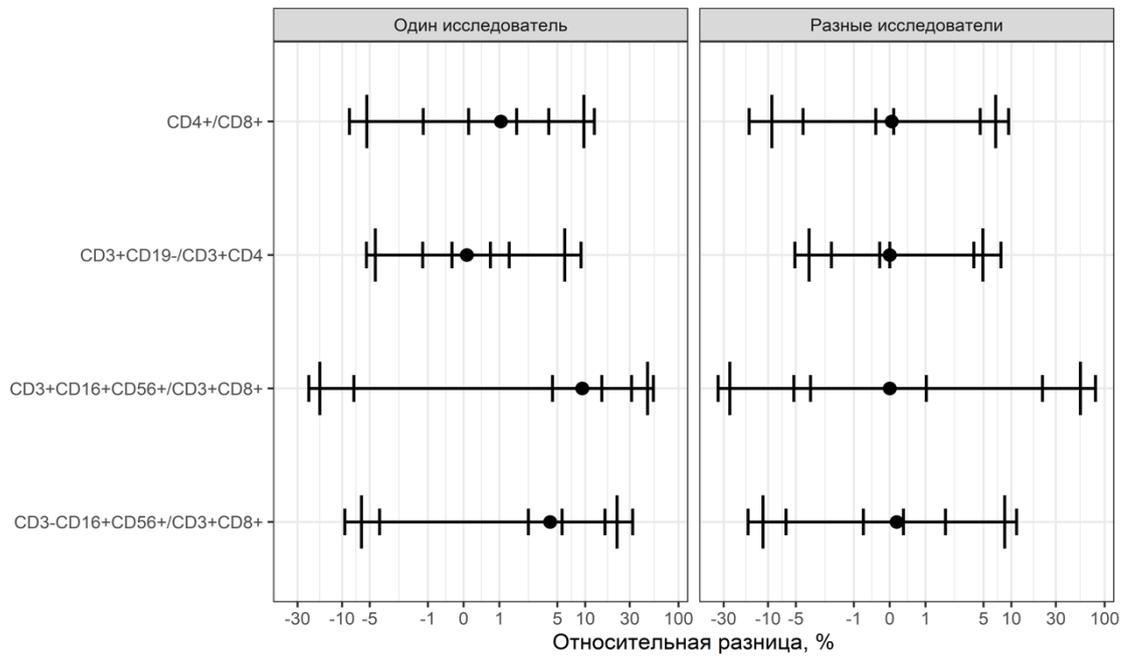


Рисунок 29 – Вариабельность измерений соотношений показателей – относительные различия

Причиной этого может быть как сам динамический характер экспрессии данных маркеров, так и размер определяемой субпопуляции. Эти тесты являются тестами второго уровня и аккумулируют погрешность в процессе многоэтапного гейтирования показателей. Изменение экспрессии от позитивной к негативной, и наоборот, во времени приводит к нечёткости границ и наличию форм с разным уровнем экспрессии. Это затрудняет установку границ от измерения к измерению и приводит к значительным изменениям в подсчётах при минимальном измерении порогового значения, отделяющего клетки с разным уровнем экспрессии. Малый размер субпопуляции, особенно при пониженном содержании её в периферической крови, приводит к значительному весу одной измеренной клетки на границе квадранта в общей оценке и, соответственно, к выраженному изменению результата измерения.

При анализе соотношений показателей наиболее вариabельным отношением оказалось отношение ЦТЛ к CD127^{Low}Treg. Оно не было представлено на рисунках 6 и 7 из-за крайне широких границ. Абсолютные пределы согласия (LOA) между исследователями для данного соотношения составили: -1,925 (-2,563 – -1,152) – 1,011 (0,631–2,82), LOA для измерений одним исследователем: -0,947 (-2,153 – -0,537) – 3,856 (1,894–4,962). Относительные LOA между исследователями были: -14,985 (-19,02 – -9,731) – 12,448 (9,676–15,069), LOA для одного исследователя: -11,905 (-18,702 – -5,94) – 32,07 (24,299–49,996). В остальных случаях мы наблюдали, скорее, сложение погрешностей, нежели их амплификацию.

Нами также проведён анализ измерения показателей разными исследователями. Мы не выявили значительных различий ($p > 0,05$, тест Манна–Уитни) в измерении всех показателей, за исключением CD127^{Low}Treg в абсолютных ($10^9/л$) единицах ($p = 0,022$) и ЦТЛ при анализе абсолютных ($p = 0,006$, тест Манна–Уитни) и относительных ($p < 0,001$, тест Манна–Уитни) единицах измерений. Асимметричное отклонение в результатах измерений было обнаружено у обоих исследователей. Оно было более выраженным при первых повторных измерениях и менее выражено после анализа расхождений измерений.

Важно отметить, что даже тщательный анализ расхождений не позволил нивелировать разницу измерений полностью. Фактически минимизировать расхождения удалось лишь в трети случаев. Иногда абсолютные и относительные отклонения показывали противоположные тенденции. При этом расхождений относительных различий измерений выявлено не было ($p = 0,454$, тест Краскела–Уоллиса).

4.4. Прогнозирование variability изменений иммунологических показателей

Была изучена возможность прогнозирования variability измерений. В ходе анализа было выявлено, что прогнозирование возможно без учёта измеряемой субпопуляции лимфоцитов (рисунки 30–35).

Погрешности измерений (как абсолютные, так и относительные) резко увеличивались при малых величинах показателей, затем оставались относительно постоянными на значительном протяжении и вновь имели тенденцию к снижению при оценке популяций с большим содержанием клеток, что, вероятно, сказывалось на лучшей точности измерений. Как и ожидалось, погрешности при оценке одним врачом были несколько ниже, чем при оценке разными специалистами.

Вместе с тем результаты получились весьма близкими.

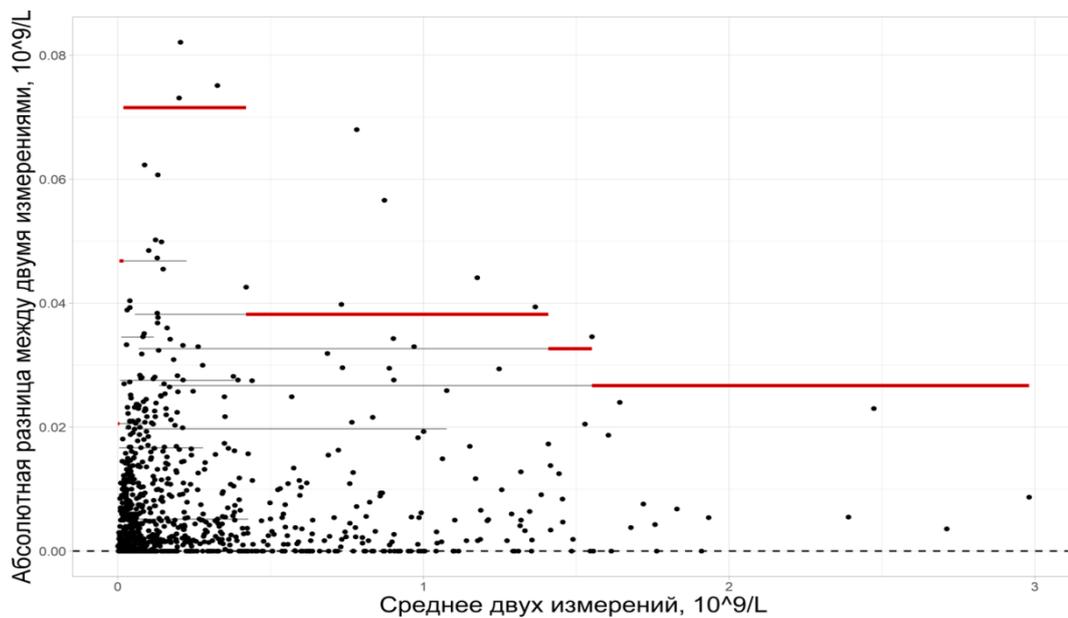


Рисунок 30 – Размеры погрешности измерений в зависимости от величины абсолютного показателя при оценках разными врачами: *красные линии* – обобщённые (наибольшие) границы 97,5% перцентиля для всех оценённых показателей; *серые линии* – границы 97,5% перцентиля индивидуальных показателей; *точки* – индивидуальные наблюдения

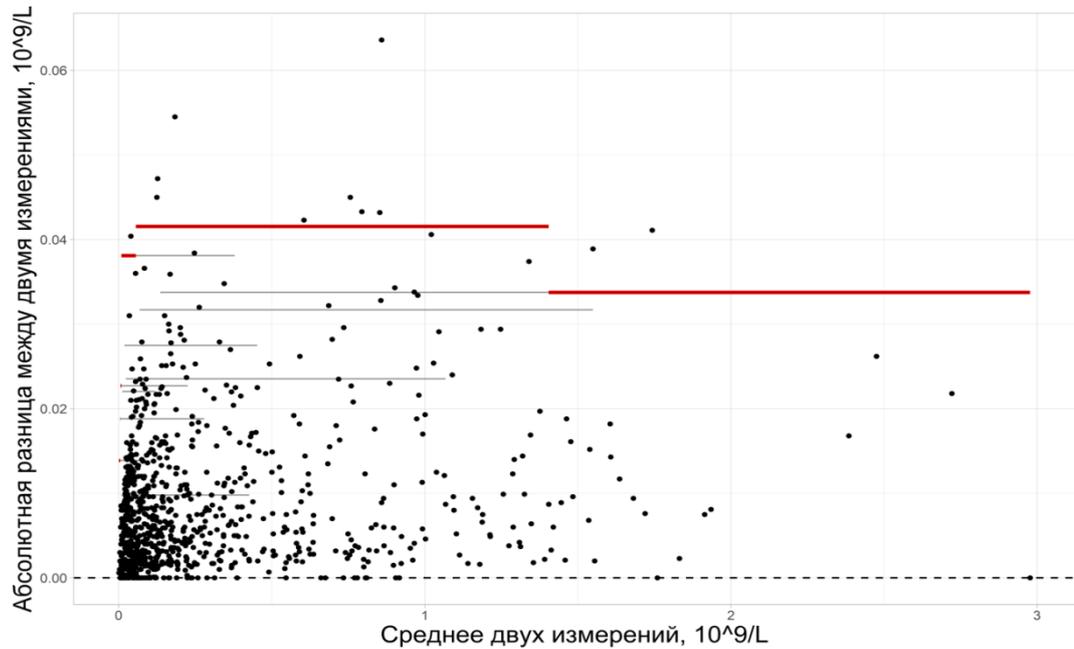


Рисунок 31 – Размеры погрешности измерений в зависимости от величины абсолютного показателя при оценках одним врачом: *красные линии* – обобщённые (наибольшие) границы 97,5% перцентиля для всех оценённых показателей; *серые линии* – границы 97,5% перцентиля индивидуальных показателей; *точки* – индивидуальные наблюдения

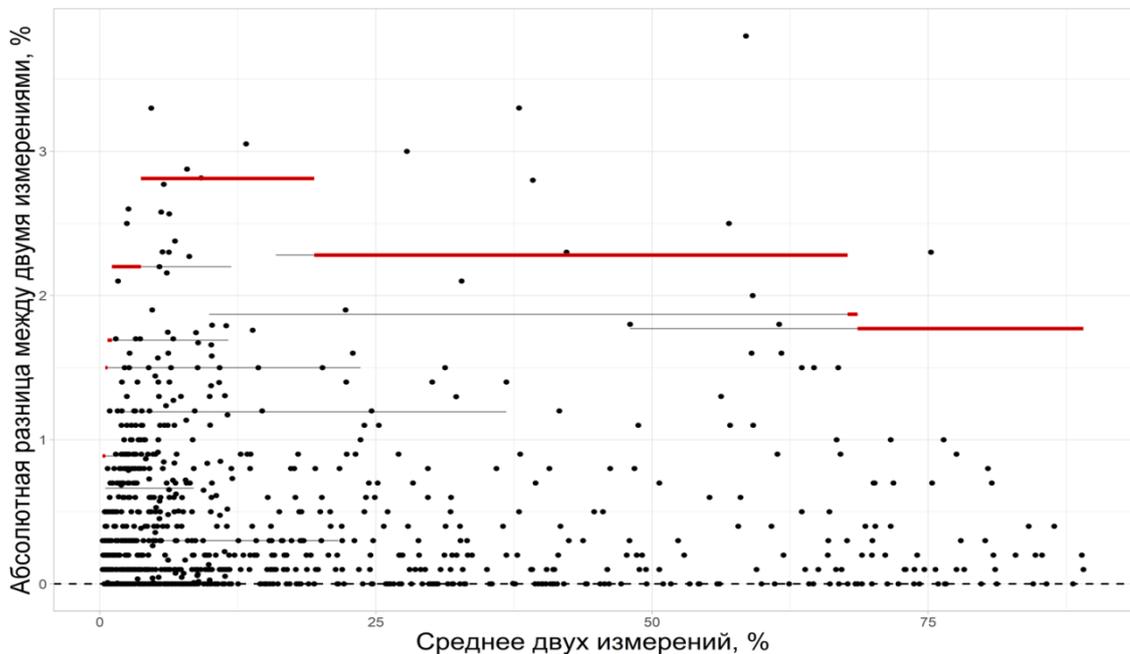


Рисунок 32 – Размеры погрешности измерений в зависимости от величины относительного показателя при оценках разными врачами: *красные линии* – обобщённые (наибольшие) границы 97,5% перцентиля для всех оценённых показателей; *серые линии* – границы 97,5% перцентиля индивидуальных показателей; *точки* – индивидуальные наблюдения

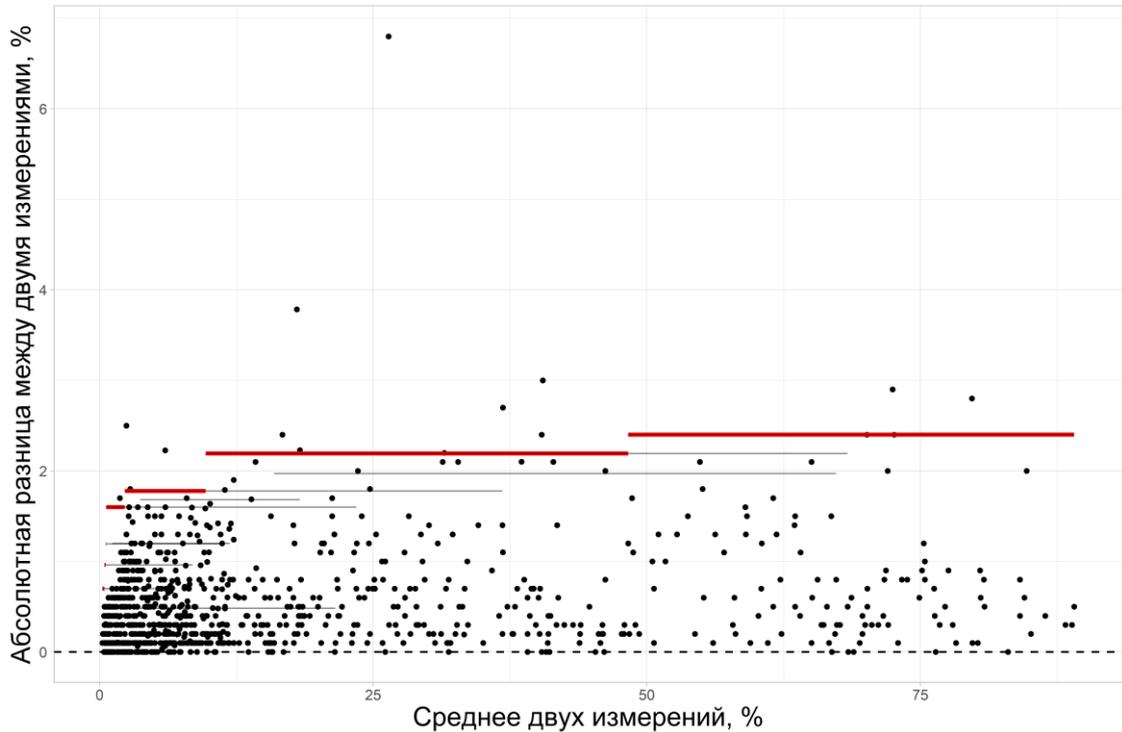


Рисунок 33 – Размеры погрешности измерений в зависимости от величины относительного показателя при оценках одним врачом: *красные линии* – обобщённые (наибольшие) границы 97,5% перцентиля для всех оценённых показателей; *серые линии* – границы 97,5% перцентиля индивидуальных показателей; *точки* – индивидуальные наблюдения

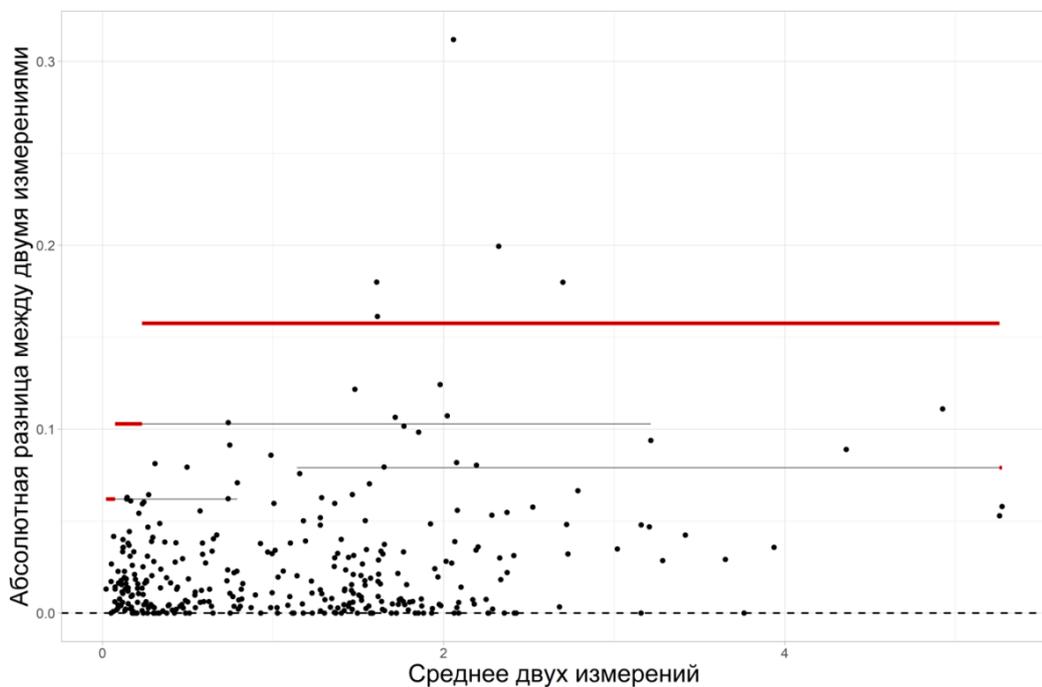


Рисунок 34 – Размеры погрешности измерений в зависимости от величины соотношения показателей при оценках разными врачами: *красные линии* – обобщённые (наибольшие) границы 97,5% перцентиля для всех оценённых показателей; *серые линии* – границы 97,5% перцентиля индивидуальных показателей; *точки* – индивидуальные наблюдения

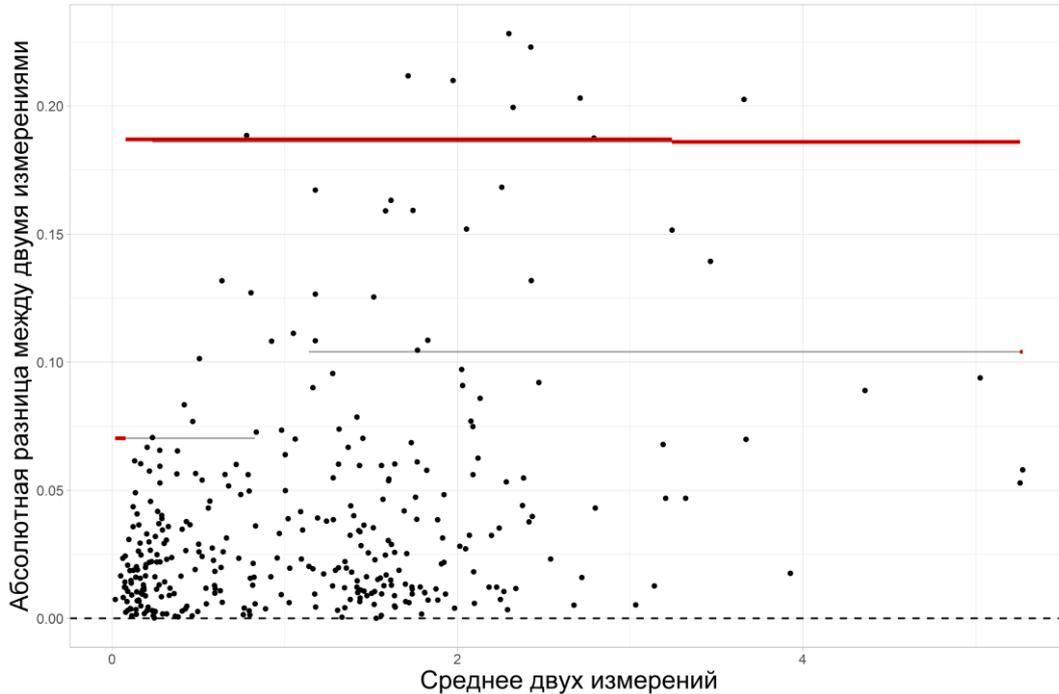


Рисунок 35 – Размеры погрешности измерений в зависимости от величины соотношения показателей при оценках одним врачом: *красные линии* – обобщённые (наибольшие) границы 97,5% перцентиля для всех оценённых показателей; *серые линии* – границы 97,5% перцентиля индивидуальных показателей; *точки* – индивидуальные наблюдения

Мы предположили, что границы 97,5% перцентиля разниц в измерениях показателя, взятые по максимальному значению в зависимости от среднего значения сравниваемых показателей, могут быть использованы для определения минимально определяемых различий измерений (MDD). Результаты такого обобщения приведены в таблице 17. При сравнении двух иммунологических показателей различия меньше, чем указанный показатель, не могут считаться истинными, поскольку их нельзя будет дифференцировать от погрешности измерения.

Таблица 17 – Размеры минимально измеряемых различий показателей в зависимости от единиц их измерения

Единица измерения	Среднее значение сравниваемых показателей (М)		Минимальные определяемые различия
	От	До	
1	2	3	4
%*	0	0,5000	1,7750
	0,5000	0,7044	3,0000
	0,7044	1,1000	3,3800

1	2	3	4
	1,1000	3,7239	4,4000
	3,7239	19,4184	5,6224
	19,4184	67,7000	4,5600
	67,7000	68,6000	3,7400
	68,6000	89,0500	3,5400
10 ⁹ /л	0	0,0058	0,0411
	0,0058	0,0186	0,0936
	0,0186	0,4197	0,1431
	0,4197	1,4086	0,0764
	1,4086	1,5512	0,0653
	1,5512	2,9814	0,0534
Соотношение показателей	0	0,0737	0,1240
	0,0737	0,2325	0,2057
	0,2325	5,2580	0,3151
	5,2580	5,2729	0,1581

Примечание: * – учитывались проценты от общего числа лимфоцитов.

4.5. Воспроизводимость результатов иммунологических исследований

Поиск биомаркеров является ключевой задачей в современной иммуноонкологии [64]. Вместе с тем проблемы с воспроизводимостью исследований мешают успешному внедрению данных показателей в клиническую практику [124]. При поиске маркера для мониторинга течения заболевания наиболее частым используемым статистическим тестом является оценка уровня показателя в динамике. Наиболее частым подходом к выявлению прогностической и предиктивной роли показателя является его сравнение в отдельных временных точках у пациентов с различными эффектами терапии в качестве зависимого показателя (т.е. сопоставление динамики изменений маркера) и независимого (т.е. сравнение уровня маркера в разных группах в одной временной точке исследования). Подчас исследования начальных фаз включают малое количество пациентов, что позволяет выявлять лишь большие различия.

Наше исследование показывает, что даже при относительно небольшой выборке пациентов результат анализа зависимых наблюдений может быть скомпрометирован из-за вариабельности измерений показателей, в то время как при анализе независимых наблюдений такого не происходит. Нам не удалось найти в доступной литературе аналогичных исследований, оценивающих влияние вариабельности измерений на результаты статистической обработки данных.

Использование любого биомаркера требует в первую очередь оценки его воспроизводимости и точности [64]. Стандартными подходами являются параллельное

тестирование параметра с использованием разных средств измерения (для новых методов оценки) и повторная оценка показателя тем же методом с оценкой пределов согласия или оценки чувствительности и специфичности метода [177]. Последнее возможно при наличии известного исхода или решения, принимаемого по результатам теста [236]. В онкологии иммунологические маркеры до сих пор являются экспериментальными, ввиду чего единственным способом их оценки является измерение пределов согласия.

Как известно, существует три потенциальных источника вариабельности измерений: сам образец (т.е. биологическая вариабельность), обработка образца (преаналитический этап) и анализ результатов (аналитический этап) [64; 237; 238]. В нашем исследовании вариабельность, связанная с пробоподготовкой и характером образца, была исключена полностью, поскольку повторной пробоподготовки при анализе не делалось. Таким образом, представленные нами данные показывают размеры вариабельности ручного гейтирования как основного метода, применяемого на сегодняшний день в проточной цитометрии. Машинные технологии пока не позволяют существенно увеличить точность измерений [122; 239].

В исследовании G. Finak с соавт. [239] были проанализированы не только возможности автоматического и ручного гейтирования, но и источники вариабельности измерений. В этом исследовании было показано, что остаточная ошибка методов измерения (которая может быть сопоставлена с нашими результатам, с учётом дизайна описываемого исследования) составляет, как правило, менее трети от общей вариабельности измерений и не является основной при анализе. Исключением могут быть популяции дендритных клеток, где остаточная ошибка составляла до половины всей вариабельности измерений. Особенности математических методов, применённых в работе, не позволяют нам сравнивать описанные в исследовании G. Finak с соавт. размеры вариабельности показателей, но позволяют предположить, что оценённая нами погрешность в реальной практике может быть значительно больше. Вклад в это может вносить биологическая вариабельность показателей и особенности работы конкретного центра.

Биологическая вариабельность изучалась в исследовании M. Falay с соавт. [116]. Исследование показало, что индивидуальная вариабельность иммунологических тестов первого уровня, оценённая у больных с ВИЧ-инфекцией или у пациентов после трансплантации костного мозга, составляет от 30% до 60% от общей вариабельности показателей и не зависит от пола или вида изученного показателя (оценивались Т-лимфоциты, Th, ЦТЛ, DP). Максимальная вариабельность наблюдалась в наименьшей из изученных популяций – двойных положительных лимфоцитах, что подтверждает результаты нашего исследования. Авторы предлагали использовать именно эти показатели при оценке результатов иммунологических

исследований в динамике, что согласуется с выводами, полученными в ходе нашего анализа. Относительная вариабельность изучалась также в исследовании С.С. Gouttefangeas с соавт. [240]. Они показали, что вариабельность зависела в основном от лаборатории (центральной или локальной) и метода гейтирования (ручного или автоматического). В данном исследовании вариабельность изменений иммунологических показателей составляла от 36 до 100%, что сопоставимо с полученными нами результатами.

Многолетние усилия по стандартизации процедур проточной цитометрии были проанализированы в программе по контролю качества проточной цитометрии, проведённой в странах БЕНЕЛЮКС [241; 242]. Уровень погрешности измерений Th и ЦТЛ в этом исследовании снижался по мере проведения программы и соответствовал полученным нами результатам. Однако при применении предложенной нами обобщённой модели к результатам, изложенным в рассматриваемой публикации, оказалось, что наша модель позволяла адекватно оценивать результаты абсолютных измерений показателей, тогда как при оценке относительных параметров прогнозируемые погрешности были несколько выше определённых в исследовании J. Vainbridge с соавт. [241]. Кроме того, в указанной программе была выявлена значительная зависимость погрешности измерений от метода анализа данных.

В нашем исследовании показана связь погрешности с размером определяемой популяции клеток. В других исследованиях были получены сходные результаты [116; 243], что подтверждает выявленную нами закономерность и возможность использования разработанного нами метода прогнозирования вариабельности измерений иммунологических показателей.

Для оценки результатов нашей прогностической модели был проведён анализ исследований, оценивающих клиническую значимость MDD. Большинство этих исследований оценивали содержание $CD4^+$ клеток у больных с ВИЧ-инфекцией, поскольку это показание является наиболее частым применением метода проточной цитометрии в клинической практике. В исследовании Daneau G. с соавт. [244] было показано, что минимально определяемые различия по уровню данных клеток должны быть не более $0,1 \times 10^9/\text{л}$. Исследование оценивало пациентов со средним содержанием $CD4^+$ клеток $0,35 \times 10^9/\text{л}$ и $0,5 \times 10^9/\text{л}$. Если применить рассчитанные нами MDD к указанным данным, то для пониженного содержания этих клеток предложенный нами алгоритм давал более высокие значения ($0,1413 \times 10^9/\text{л}$), тогда как при больших концентрациях предсказанная нами погрешность была ниже указанного предела ($0,0764 \times 10^9/\text{л}$). Однако, даже в данном исследовании, было отмечено, что определённая в ходе этой работы граница была в два раза ниже использованной в клинической практике. При анализе воспроизводимости относительного содержания уровней $CD4^+$ клеток с использованием разных анализаторов [245] полученные LOA (двойное значение

которых равно MDD) были выше или сопоставимы с предсказанными нами границами. Предсказанные нами абсолютные значения погрешностей были меньше диапазона пределов согласия (равного минимально определяемым различиям), полученным при изучении разных методик подсчёта уровней CD4⁺ клеток [246] с использованием разных методов подсчёта: $0,23 \times 10^9/\text{л}$ – в указанном исследовании против $0,1431 \times 10^9/\text{л}$ – в нашей работе.

Работы, изучавшие вариабельность измерений уровня CD34⁺ клеток в крови – минорной субпопуляции, имеющей значение при проведении процедур подготовки к забору стволовых клеток периферической крови – показали сопоставимые с нашими данными результаты вариабельности при оценке различных методов подсчёта данной группы клеток [247]. Размеры относительной вариабельности малых субпопуляций лимфоцитов проанализированы в исследовании С.С. Gouttefangeas с соавт. [240], где показатели относительной вариабельности результатов измерений в зависимости от использованного метода измерения (автоматический и ручной) и лаборатории (локальной и центральной) составили от 36 до 100%, что практически эквивалентно полученным нами результатам (см. рисунки 24–29).

Комплексный анализ воспроизводимости измерений сразу нескольких иммунологических тестов первого уровня был проведён в исследовании Omaha-Zappa I. с соавт. [248]. В данном исследовании, как и в нашем, был показан относительно равный уровень вариабельности показателей, не имевший значительной связи с содержанием CD4⁺ лимфоцитов, однако наибольшее расхождение показателей достигнуто именно в этой субпопуляции больных. Относительный коэффициент вариабельности показателей колебался от 5 до 7,5%, что сопоставимо с полученными нами результатами в обобщённой модели.

Таким образом, полученные в нашем исследовании данные сопоставимы с результатами других исследований. Анализ опубликованных данных подтверждает выдвинутое нами предположение о независимости погрешности измерения от вида оцениваемой популяции иммунных клеток. Использование пациентов со злокачественными опухолями для проведения исследования не отразилось на размере вариабельности измерений.

С учётом развития методов детекции маркеров на иммунных клетках, постоянного роста количества субпопуляций и уменьшения их размера, подобная система может иметь высокое практическое значение для внедрения результатов анализа в клиническую практику.

Знание о размере вариабельности измерений может быть использовано на практике, прежде всего, для оценки динамики показателей и эффективности воздействия на состояние иммунной системы. Подобное применение информации об отклонениях в измерениях объектов было применено при создании систем оценки ответа опухоли на лечение с использованием методов визуализации – например, системы RECIST [249]. Для этих систем состояние

стабилизации было эквивалентно зоне вариабельности оценок одного очага, т.е. означало невозможность объективно судить о динамике измерений [32]. Основываясь на наших результатах о влиянии вариабельности измерений на результаты анализа, прежде всего, последовательных наблюдений, мы предлагаем использование подобного подхода в клинической практике при повторных оценках иммунологических параметров.

При оценке таблицы MDD можно заметить, что в первых строках размер данного показателя превышает верхнюю границу измерений, для которых он был предложен. Подобное случается в тех случаях, когда верхняя граница интервала больше, чем половина MDD. Фактически это означает, что при относительно малых размерах популяции иммунных клеток мы не можем полностью быть уверены в результате из-за высокой вариабельности таких изменений. Поэтому мы предполагаем, что столь малые величины не должны анализироваться с помощью общего правила. Для оценки их вариабельности требуется проведение отдельного исследования. Прямое сравнение таких показателей также, вероятно, возможно, однако при интерпретации таких результатов должно учитываться возможное влияние вариабельности измерений на результат оценки показателя.

Исследование ВАСИЛИСА показало, что существует определённая погрешность измерений иммунологических показателей. Данная погрешность практически не влияет на результаты сравнения независимых групп наблюдений, поэтому может не учитываться при данном типе сравнений. С другой стороны, при анализе зависимых наблюдений вариабельность оценок может вызвать существенное смещение результатов исследования, что требует её учёта при подобных методах оценки. Поэтому при анализе краткосрочной динамики иммунологических показателей в исследовании АИСТ мы будем опираться на общие (т.е. полученные в результате обобщений, представленных выше) и специфические (т.е. полученные при анализе вариабельности каждого показателя методом Бленда–Альтмана) минимально определяемые различия.

ГЛАВА 5. РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЯХ

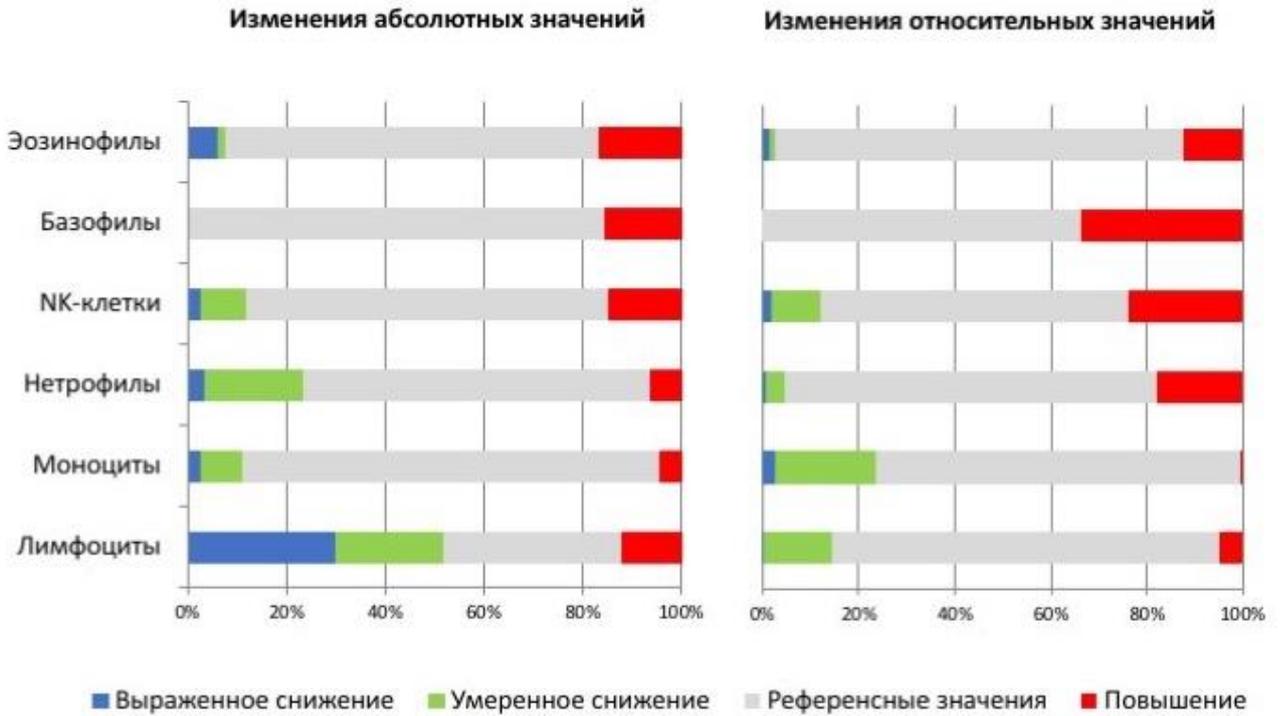
5.1. Частота отклонений иммунологических показателей от референсных значений

Для оценки частоты отклонения показателей иммунного статуса от референсных значений (РЗ) результаты каждого иммунологического показателя сравнивались с РЗ лаборатории. Было выделено 4 группы результатов: в пределах РЗ, повышенные результаты, умеренное снижение (уменьшение не более чем на 50% от нижней границы нормы (НГН) РЗ и выраженное снижение – отклонение >50% от НГН. Показатели анализировались по группам в соответствии со звеном иммунной системы, которое они в большей степени характеризовали.

При оценке наличия каких-либо отклонений в показателях иммунного статуса обнаружено, что лишь в 4 наблюдениях (0,1%) все оценённые показатели были в пределах РЗ. У половины больных более 35% параметров иммунного статуса имели какие-либо отклонения от РЗ. При этом повышение иммунологических показателей встречалось в 19,69% (95% ДИ 19,45–19,93%), снижение – в 15,55% (95% ДИ 15,33–15,77), из которых выраженное снижение отмечено в 4,04% (95% ДИ 3,92–4,16) случаев.

При анализе изменений во врождённой ИС (рисунок 36) наиболее часто изменения касались фагоцитарного индекса моноцитов (повышение в 74% иммунных статусов) и уровня лимфоцитов (снижение относительных значений в 51,7% иммунных статусов).

Отклонения в адаптивной части ИС (рисунок 37) чаще характеризовались снижением показателей первого уровня (в большей степени в абсолютных значениях), увеличением доли регуляторных субпопуляций лимфоцитов (таких, как NKT-клетки, FOXP3⁺ или CD127^{low} Treg). В В-клеточном звене ИС наиболее частыми отклонениями были снижение относительного и абсолютного уровня В-лимфоцитов, повышение уровня отдельных иммуноглобулинов и ЦИК. Среди изменений в маркерах активации ИС (рисунок 38) чаще наблюдалось повышенное содержание маркеров поздней активации (CD95⁺, HLA-DR⁺), тогда как маркеры ранней активации (CD25⁺, CD38⁺) чаще оказывались сниженными.



Изменения лейкоцитов и индексов

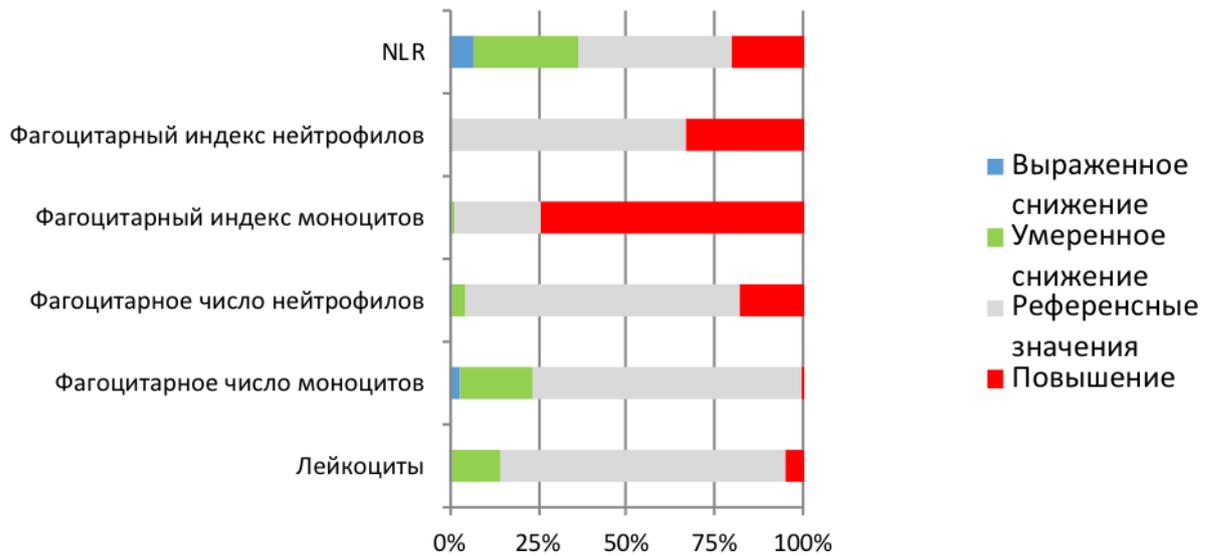


Рисунок 36 – Частота отклонений показателей врождённой ИС

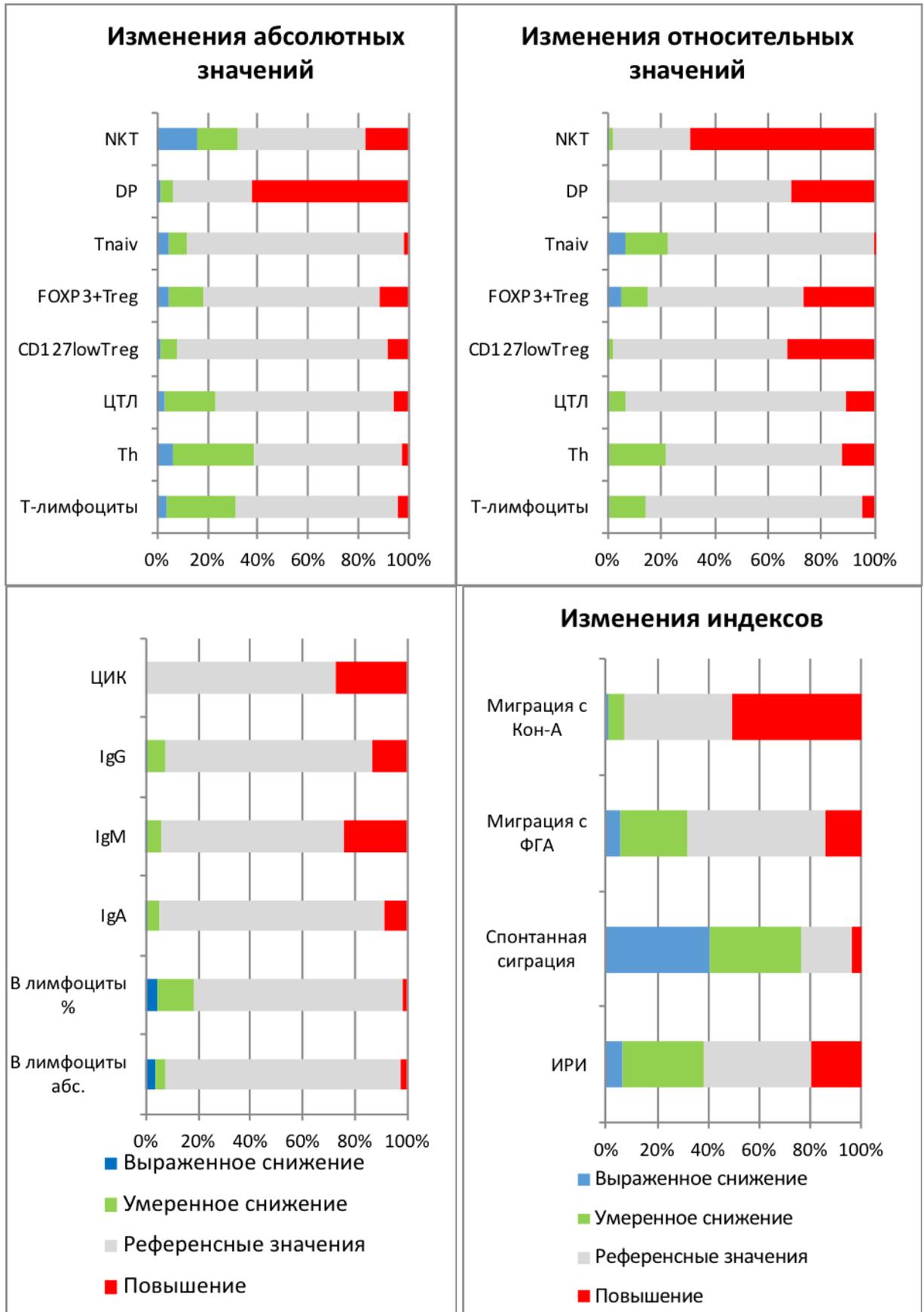


Рисунок 37 – Частота отклонений показателей адаптивной ИС

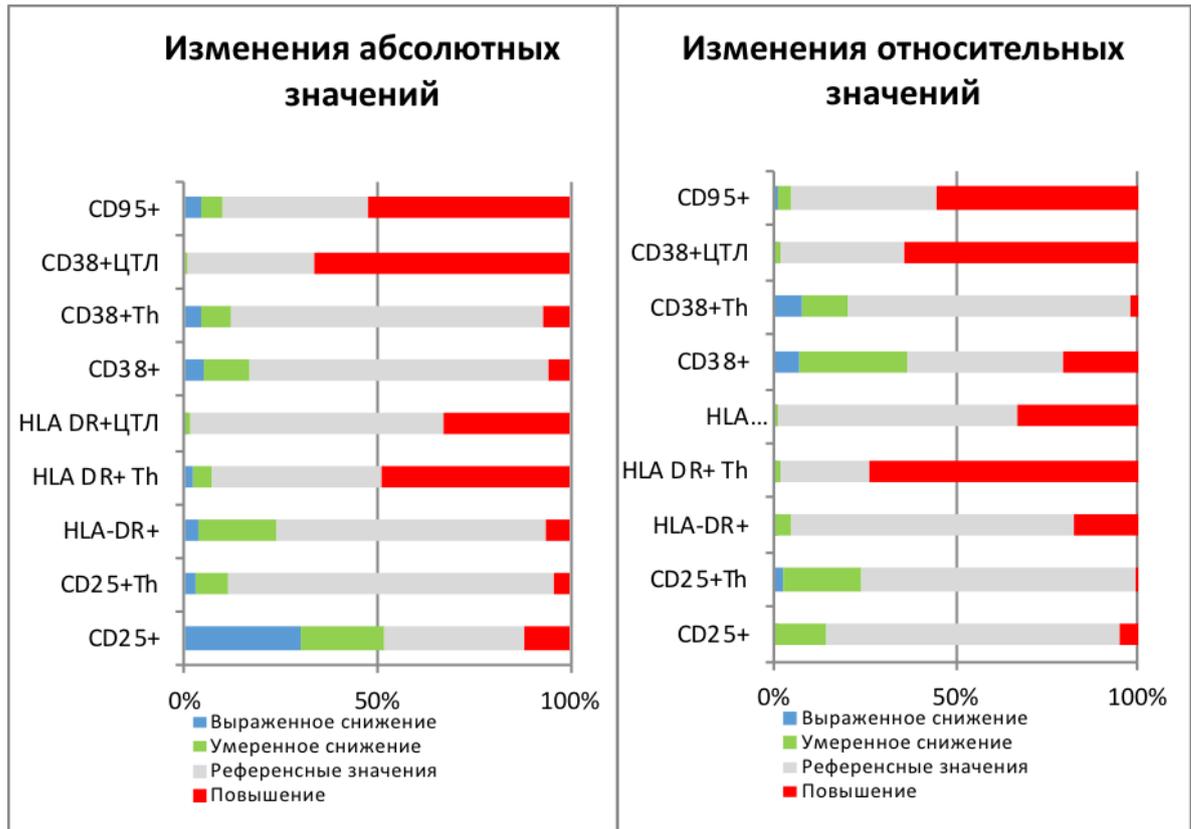


Рисунок 38 – Частота отклонений маркеров активации ИС

Для сравнения полученных частот изменений иммунологических показателей с ранее проведёнными исследованиями нами произведён поиск публикаций в PubMed. Изучение литературных данных показало, что подавляющее большинство исследований опиралось на анализ непрерывных данных или на сравнительное описание отдельных подгрупп пациентов. На основании опубликованной информации затруднительно определить частоту отклонений от РЗ. Ввиду этого сравнение полученных нами результатов с другими когортами пациентов не представляется возможным.

Таким образом, проведённый анализ свидетельствует о высокой частоте отклонений различных показателей, характеризующих отдельные звенья ИС у больных злокачественными опухолями. При этом наблюдается не только снижение, но и повышение значительной части описанных показателей.

5.2. Сравнение частот отклонений в показателях иммунного статуса при различных заболеваниях и стадиях

Для сравнения изменений в иммунном статусе, наблюдавшихся при различных заболеваниях и стадиях, применялись методы анализа таблиц сопряжённости, такие как точный критерий Фишера (FT) для четырёхпольных таблиц при ожидаемой частоте в одной из ячеек менее 5%, тест Хи-квадрат с поправкой Йетса для всех остальных четырёхпольных таблиц и LRT для таблиц сопряжённости большей размерности. Анализировались ранние (I и II) и поздние (III–IV) стадии каждого заболевания, а также более детально проводился анализ частот выраженного снижения, умеренного снижения и повышения конкретного показателя у больных с одинаковыми стадиями и заболеваниями. Сравнения проводились как по стадии внутри одного заболевания, так и между заболеваниями при одинаковой стадии процесса. Условием для включения заболевания в сравнение было более 10 иммунных статусов при оцениваемой стадии заболевания. При оценке частот отдельных отклонений применялись поправки на множественные сравнения. Графическое отображение полученных результатов представлено на рисунке 39.

При оценке связи изменений показателей, характеризующих врождённую ИС, со стадией заболевания, оказалось, что риск возникновения отклонений в уровне лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, а также в показателях фагоцитарной активности моноцитов не зависел от стадии как в целом по группе, так и при отдельных заболеваниях при сравнении ранних и поздних стадий (FT, $p > 0,05$). Более детальный анализ позволил выявить некоторые закономерности. Так, лейкоцитоз статистически значимо чаще выявлялся при IV стадии меланомы (LRT, $p < 0,0001$) и ПМО (LRT, $p = 0,017$). Повышение абсолютного уровня лимфоцитов встречалось чаще при IV стадии у больных с ПМО (LRT, $p = 0,013$), тогда как частота возникновения других отклонений не зависела от стадии. Относительный лимфоцитоз чаще всего встречался при III стадии меланомы и IV стадии ПМО, тогда как лимфопения была наиболее характерна для IV стадии меланомы кожи и II стадии ПМО (LRT, $p < 0,0001$).

При сравнении заболеваний между собой лейкоцитоз был более характерен для I–II стадии ПКР. При СМТ значительно чаще встречалась лейкопения на ранних стадиях. СМТ характеризовались наименьшей частотой отклонений в уровне лейкоцитов. Лимфоцитоз, особенно относительный, чаще наблюдался при ПМО и, в несколько меньшей степени, при меланоме и ПКР. При КРР и СМТ IV стадии, наоборот, значительно чаще выявлялась лимфопения.

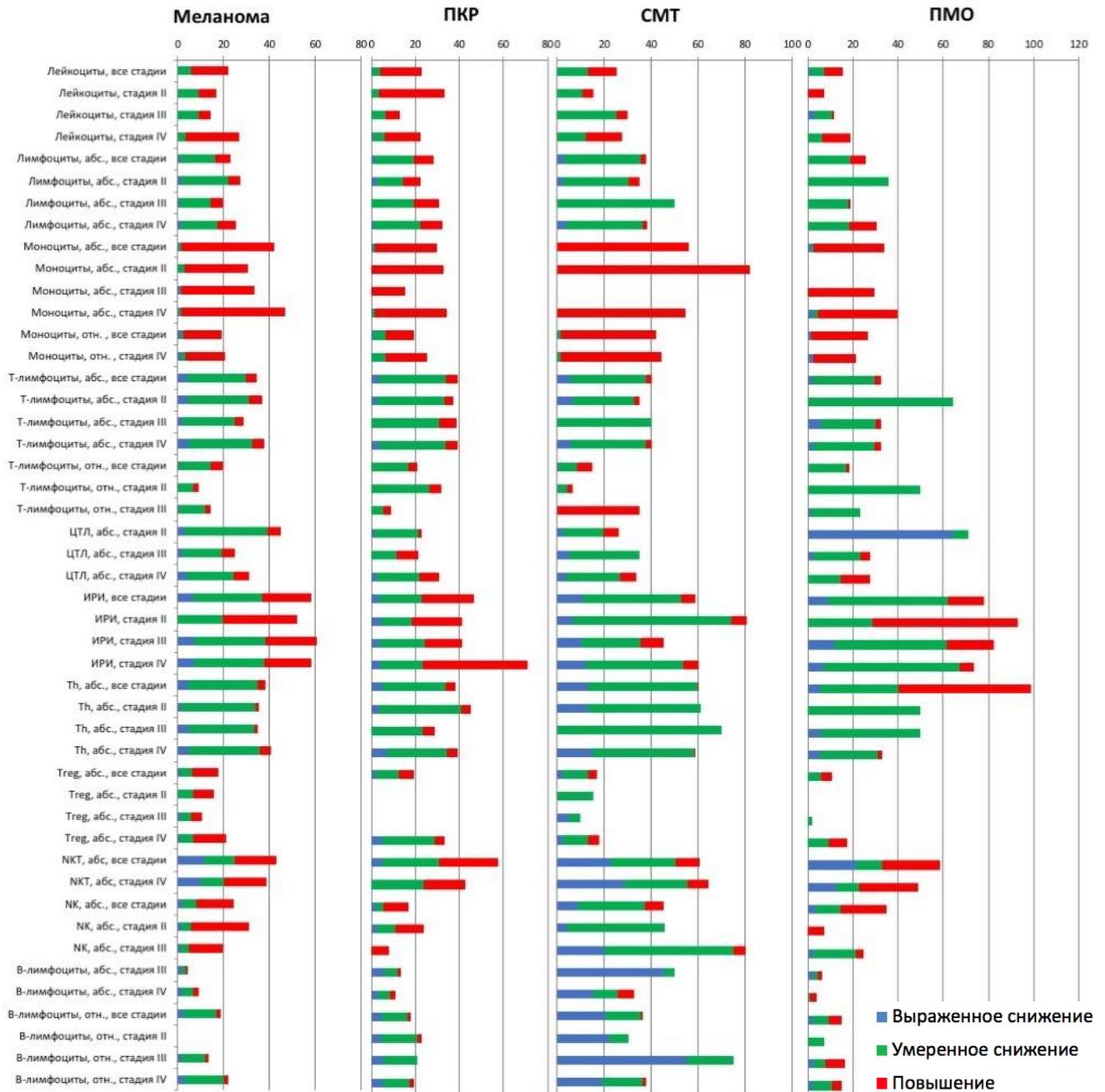


Рисунок 39 – Распределение отклонений иммунологических показателей по заболеванию и стадии. Во всех графиках показатели расположены в одинаковом порядке: суммарный показатель по всем стадиям, затем значения отклонений на I–IV стадии

Снижение абсолютного содержания моноцитов реже наблюдалось при ранних стадиях ОР (ОР 0,717; 95% ДИ 0,515–0,933), тогда как повышение уровня базофилов при этих стадиях наблюдалось чаще (ОР 1,744; 95% ДИ 1,352–2,25) во всей группе. При СМТ подобных различий не было, при этом на II стадии заболевания уровень статистически значимо отличался от всех прочих опухолей ($p < 0,05$). При меланоме эти различия достигали максимума

на IV стадии, что проявлялось повышенной частотой моноцитоза у пациентов (LRT, $p=0,009$), при этом частота моноцитоза оставалась ниже, чем у больных с СМТ. При отдельном анализе при прочих заболеваниях статистически значимых связей выявлено не было

При оценке НК-клеток изменение их уровня при меланоме встречалось с одинаковой частотой при ранних (I–II) и поздних (III–IV) стадиях. Однако при анализе направлений изменения, наименьшая частота снижений данного показателя выявлена при II–III стадиях заболевания (LRT, $p=0,005$) При I стадии снижение разной степени наблюдалось более чем у 40% пациентов, что значительно отличалось от других опухолей. При СМТ различия по стадиям не достигали статистической значимости, однако при II и III стадиях заболевания пониженное содержание НК чаще наблюдалось именно у этой группы больных, по сравнению с пациентами, имеющими другие заболевания. Тенденции при других заболеваниях были противоположны. При СМТ и ПМО отклонения чаще наблюдались при поздних стадиях (FT, $p=0,04$ и $p=0,022$ соответственно). При ПКР, наоборот, отклонения в 2,343 раза чаще встречались при ранних стадиях (FT, $p=5,2 \times 10^{-5}$).

При оценке тестов, характеризующих фагоцитарную активность отдельных фракций лейкоцитов, также были выявлены статистически значимые различия между заболеваниями и стадиями по частоте отклонений показателей от РЗ у больных меланомой и ПКР. Для СМТ, КРР и ПМО сравнения показателя по стадиям не проводилось из-за малого числа наблюдений с ранними стадиями заболевания. Отклонение фагоцитарного числа нейтрофилов чаще встречалось при поздних стадиях меланомы (ОР 1,94; 95% ДИ 1,222–3,079). На IV стадии у больных ПКР чаще, чем при меланоме или ПМО, встречались выраженное снижение и повышение данного показателя ($p<0,05$). При оценке фагоцитарного индекса нейтрофилов его снижение было наиболее характерным для больных раком почки ($p<0,05$). Фагоцитарное число и фагоцитарный индекс нейтрофилов имели одинаковые тенденции к снижению частоты отклонений с ростом стадии заболевания при меланоме (LRT, $p=0,01$) и раке почки (LRT, $p=0,035$).

Отклонение в фагоцитарной активности в спонтанном НСТ-тесте реже всего наблюдалось при меланоме III стадии (LRT, $p=0,003$) и было представлено преимущественно снижением данного показателя, тогда как при других стадиях или при других изученных опухолях различий в частоте отклонений между разными стадиями выявлено не было. Тем не менее больные раком почки характеризовались наибольшей частотой выраженного снижения этого показателя на всех стадиях заболевания.

При анализе гуморального звена ИС оказалось, что отклонение в относительном содержании В-клеток реже встречалось при ранних стадиях (ОР 0,653; 95% ДИ 0,499–0,856)

среди общей группы больных. Данные изменения достигали статистически значимого уровня при меланоме (FT, $p=0,012$) и саркомах мягких тканей (FT, $p=0,003$), тогда как при других заболеваниях изменения были статистически незначимы. Вместе с тем при более детальном изучении стадий и характера отклонений значимый рост числа нарушений наблюдался при раке почки уже со II стадии (LRT, $p=0,017$).

Оценка изменений уровня иммуноглобулинов проведена только у больных меланомой и раком почки. Статистически значимая связь между стадией болезни и уровнем Ig была выявлена только для IgA (FT, $p=0,049$ для меланомы и $p=0,001$ для ПКР). При этом при ПКР изменения чаще наблюдались на ранних стадиях (максимальны – на второй), тогда как при меланоме – на поздних. Углублённый анализ выявил статистически значимое (с учётом поправки на множественные сравнения) повышение частоты сниженного относительно R3 уровня IgM у больных меланомой. При I и II стадии такие изменения отсутствовали, при III стадии встречались у 2,2% пациентов, при IV – у 9,2%. Данные различия между опухолями были статистически значимы ($p<0,05$). Самый низкий уровень IgM наблюдался при ПМО на III стадии заболевания.

Ассоциация уровня ЦИК со стадией заболевания была обнаружена только при ПКР, где при I стадии реже всего наблюдалось повышение данного показателя. Начиная со II стадии, отклонения наблюдались в 30,6–37,2% наблюдений ($p=0,007$). При сравнении частоты нарушений в целом по заболеванию повышенный уровень ЦИК чаще наблюдался у больных раком почки ($p<0,05$), чем при других изученных нами заболеваниях.

Анализ отклонений в Т-клеточном звене адаптивной ИС проводился при всех оценённых нами заболеваниях. Частота отклонений относительного содержания Т-лимфоцитов показывала противоположные тенденции при меланоме и ПМО. При первой отклонения реже встречались на ранних стадиях (ОР 0,572; 95% ДИ 0,34–0,961), тогда как при ПМО подобные изменения при ранних стадиях встречались чаще (ОР 2,899; 95% ДИ 1,552–5,415). Подобная тенденция для ПМО сохранялась и при анализе абсолютного содержания Т-лимфоцитов, тогда как для меланомы кожи существенный рост частоты отклонения абсолютного содержания Т-клеток наблюдался лишь при IV стадии заболевания, прежде всего, за счёт увеличения частоты выраженного снижения Т-лимфоцитов (LRT, $p=0,002$). При раке почки на III стадии заболевания наблюдалась наименьшая частота отклонений относительного содержания Т-лимфоцитов (LRT, $p=0,019$), тогда как другие стадии не отличались между собой по частоте данного отклонения. У больных СМТ III стадии чаще, чем при других заболеваниях, повышалось относительное содержание Т-лимфоцитов ($p<0,05$).

Анализ направления отклонений в абсолютном содержании Th позволил выявить лишь рост доли больных с повышением данного показателя при IV стадии заболевания среди всех изученных локализаций злокачественных опухолей (LRT, $p=0,001$). Снижение относительного содержания Th реже всего наблюдалось у больных меланомой II стадии (LRT, $p=0,012$). При ПМО на этой стадии чаще всего наблюдалось повышение относительного содержания Th (LRT, $p=0,026$). При СМТ повышение относительного содержания Th значимо чаще отмечалось на III стадии заболевания (LRT, $p=0,016$). Все другие отклонения данного показателя были равномерно распределены по стадиям. При сравнении частоты отклонений уровня Th между заболеваниями глубокое снижение наблюдалось чаще при КРР, умеренное – при СМТ, где частота снижения была наибольшей при всех стадиях при оценке абсолютных, но не относительных, показателей. Последние были чаще всего снижены у больных КРР и СМТ IV стадии, тогда как при меланоме такое снижение наблюдалось значительно реже ($p<0,05$).

Уровень ЦТЛ, как в абсолютных, так и в относительных величинах, примерно в 2,5 раза чаще выходил за пределы референсных значений у больных с ранними стадиями ПМО. Относительное содержание ЦТЛ реже отклонялось от референсных значений при ранних стадиях меланомы (FT, $p=0,026$), но не имело различий при других злокачественных опухолях. Интересно отметить, что самая высокая частота снижений абсолютного содержания ЦТЛ наблюдалась при II стадии заболевания у больных меланомой и ПМО (LRT, $p=0,011$ и $p<0,0001$ соответственно). При этом при ПМО чаще наблюдалось выраженное снижение показателя, наблюдавшееся более чем у половины больных. При сравнении содержания ЦТЛ у больных с IV стадией всех оцениваемых заболеваний у пациентов с СМТ и ПМО чаще наблюдалось повышение, тогда как при КРР – умеренное снижение относительного содержания этих клеток ($p<0,05$).

Изменение ИРИ чаще наблюдалось при поздних стадиях рака почки (FT, $p=0,19$). Повышение этого индекса выявлено у 64,3% больных с ПМО на II стадии заболевания, тогда как на III и IV стадиях чаще наблюдалось понижение уровня данного показателя (LRT, $p=1,2\times 10^{-5}$). При СМТ на III стадии заболевания чаще всего встречались РЗ данного показателя, тогда как II и IV стадии были связаны с повышенной частотой умеренного снижения показателей (67,4% и 41,5% соответственно; LRT, $p=0,018$).

Абсолютное содержание DP чаще всего отклонялось от референсных значений среди всех показателей. Преимущественно наблюдалось повышение уровня этих клеток, при этом максимальная частота отклонений наблюдалась на I стадии заболевания у больных меланомой и раком почки, тогда как у больных СМТ максимум наблюдался на II стадии, а при ПМО – на III стадии. Наименее выраженные изменения наблюдались у пациентов с III стадией

при меланоме или ПКР (LRT, $p < 0,05$). У больных с ПМО минимум отклонений достигался на II стадии, а при СМТ – на I стадии (LRT, $p < 0,05$).

При оценке относительного содержания DP наблюдались иные закономерности. Частота отклонений уровня этих клеток от P3 при ПМО не зависела от стадии заболевания ($p = 0,824$). При СМТ на I стадии отклонений вовсе не наблюдалось, тогда на II и на III стадии их частота была высокой (58,3–75%) и статистически значимо снижалась к IV стадии (36,5%; LRT, $p = 2 \times 10^{-6}$). При этом данные частоты были максимальными среди всех оценённых опухолей ($p < 0,05$). У больных меланомой до 60% иммунных статусов на I стадии имели повышение данного показателя, что являлось максимальным показателем среди всех опухолей ($p < 0,05$). В дальнейшем частота падала примерно в 2 раза и не имела различий между II и IV стадиями (LRT, $p = 0,857$). При ПКР частота отклонений при I и IV стадиях не имела значимых отличий (43,8% и 31,8%) и существенно превышала частоту отклонений при II–III стадии (5,3% и 0%; LRT, $p = 1,91 \times 10^{-4}$). Снижение показателя наблюдалось лишь у больных меланомой кожи III стадии и у пациентов с КРР IV стадии ($p < 0,05$).

Выраженные нарушения уровня спонтанной миграции лимфоцитов реже встречались у больных с IV стадией рака почки (LRT, $p = 0,002$) и были самыми низкими среди всех сопоставленных заболеваний ($p < 0,05$), тогда как при других стадиях частота отклонений была одинаковой. При меланоме частота изменений зависела от стадии (LRT, $p = 0,021$). При ПМО наблюдалось накопление отклонений на IV стадии заболевания (LRT, $p = 0,006$).

При оценке маркеров активации ИС общий уровень экспрессии CD25 на мононуклеарах периферической крови имел существенные колебания только при раке почки (LRT, $p = 0,005$). Уже при I стадии показатель оказывался сниженным у 70,9% больных. Начиная со II стадии наблюдался рост этого показателя, достигавший максимума к III стадии заболевания (рисунок 40). При ПМО умеренное снижение данного показателя наблюдалось у 46,2% пациентов с III стадией заболевания, что выделяло их среди других заболеваний ($p < 0,05$).

Изменения в абсолютном содержании CD3⁺CD4⁺CD25⁺ клеток не зависели от стадии опухолевого процесса при совместном анализе ранних и поздних стадий. При более детальном рассмотрении направления изменений и стадии выявлено, что изменения в уровне данной субпопуляции наиболее часто наблюдались на III стадии заболевания при меланоме и на I стадии – при СМТ (LRT, $p = 0,039$). При оценке относительного содержания установлено, что при меланоме данные изменения чаще встречались на ранних стадиях (ОР 3,187; 95% ДИ 1,713–5,929). Относительное снижение этой субпопуляции чаще наблюдалось при II стадии меланомы, тогда как повышенные показатели реже всего

встречались при IV стадии (LRT, $p < 0,0001$). Для прочих стадий процесса распределение отклонений было одинаковым. При сравнении заболеваний в целом снижение относительного и абсолютного содержания $CD25^+$ активированных Т-хелперов реже всего наблюдались при меланоме кожи ($p < 0,05$).

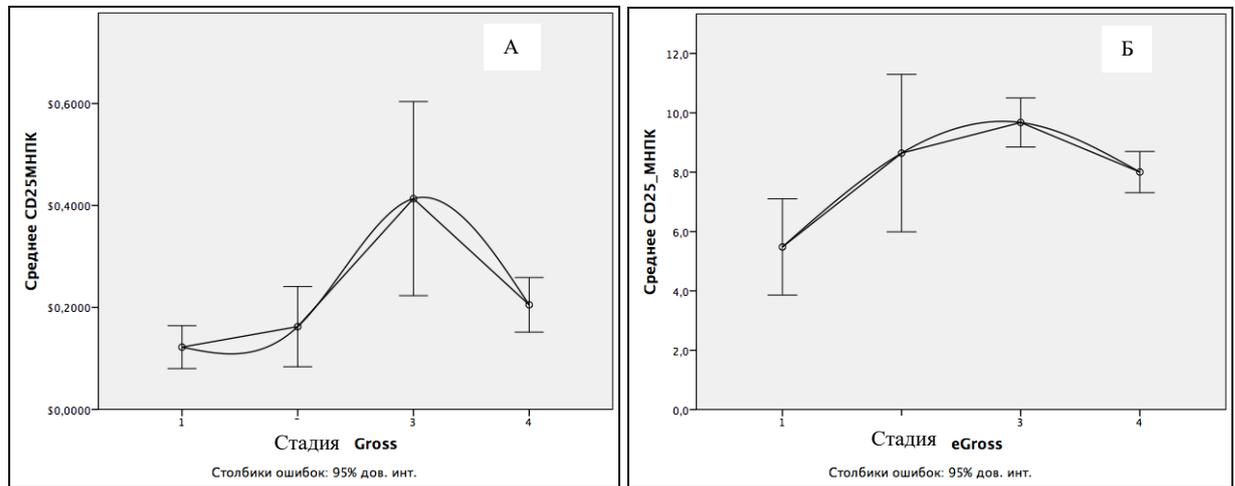


Рисунок 40 – Динамика уровня CD25 на мононуклеарах периферической крови у больных раком почки: А – абсолютные значения; Б – относительные

Отклонение в относительном уровне $CD8^+HLA-DR^+$ лимфоцитов чаще наблюдалось на поздних стадиях при всех оценённых заболеваниях (FT, $p = 3,2 \times 10^{-5}$) и было представлено преимущественно повышением данного показателя. Подобная тенденция при оценке абсолютного уровня данного показателя наблюдалась только при СМТ (FT, $p = 0,002$) и ПМО (FT, $p = 0,004$). При прочих опухолях связи со стадией не наблюдалось ($p > 0,1$). Изменение в содержании $CD4^+HLA-DR^+$ лимфоцитов имело связь со стадией при СМТ (FT, $p = 8 \times 10^{-5}$) и меланоме (FT, $p = 0,033$). При обеих опухолях изменения чаще наблюдались при поздних стадиях. При меланоме повышение относительных значений данного показателя чаще наблюдалось на II–IV стадиях (LRT, $p = 5,2 \times 10^{-5}$). При более детальном рассмотрении абсолютных показателей повышенное содержание данной субпопуляции клеток наблюдалось в 57% исследований при IV стадии заболевания и в 39,4% – при III стадии (LRT; $p = 0,001$).

Схожая тенденция наблюдалась при СМТ и меланоме в отношении уровня $CD127^{low}Treg$ ($p = 0,004$ и $p = 0,001$ соответственно). Исключение составляли ПМО, при которых повышение относительного уровня Treg наблюдалось у 43–47% пациентов со II–III стадиями заболевания соответственно. Изменение в относительном содержании НКТ чаще наблюдалось при ранних стадиях всех опухолей (тест Фишера; $p < 0,00001$). При оценке абсолютного содержания в общей

массе опухолей подобная тенденция сохранялась, однако у больных с СМТ была выявлена повышенная частота изменений при поздних стадиях заболевания, преимущественно – за счёт больных с III стадией заболевания (LRT, $p=1,5 \times 10^{-5}$).

При анализе отклонений в ИС установлено, что качественных отличий между заболеваниями нет, хотя наблюдаются количественные различия в профилях отклонений и их изменениях с ростом стадии процесса. Так, при меланоме наблюдается истощение функции адаптивной ИС с ростом стадии заболевания и компенсаторное увеличение механизмов врождённого иммунитета. Так, на II–III стадиях реже наблюдается снижение уровня НК-клеток, а к IV стадии растёт число больных с воспалительным сдвигом в периферической крови. При этом чаще наблюдается снижение эффекторных популяций, таких как ЦТЛ, Т-лимфоциты и В-клетки. Двойные положительные лимфоциты также чаще всего оказываются повышенными на I стадии у больных меланомой. Напротив, регуляторные субпопуляции Т-лимфоцитов чаще оказываются сниженными на ранних стадиях и повышенными – на поздних. Снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов наблюдается реже, чем при других опухолях.

При раке почки, напротив воспалительный сдвиг наблюдается чаще на ранних стадиях процесса, при этом чаще, чем при других злокачественных опухолях, наблюдается нарушение фагоцитарной активности, которое нарастает к IV стадии. Уже со II стадии наблюдается снижение уровня В-лимфоцитов и повышение уровня ЦИК. Лишь на II–III стадиях наблюдается рост лимфоцитов и моноцитов с маркерами ранней активации (CD25). При этом важно отметить отсутствие линейной взаимосвязи частоты отклонений со стадией заболевания. Важной особенностью ПКР является значительная частота снижения абсолютного содержания Treg при IV стадии процесса при довольно высокой доле пациентов с повышенным относительным содержанием этих клеток на той же стадии.

У больных саркома миометрия активация компонентов иммунной системы наблюдалась позднее. При этом заболевании отмечена повышенная частота лимфоцитоза, более частое повышение уровня ЦТЛ у больных IV стадией заболевания. Повышение DP и наиболее низкие показатели ИРИ наблюдались на II–III стадиях заболевания. Четвертая стадия характеризовалась повышенной частотой снижения ИРИ. Важно отметить, что, несмотря на рост эффекторов, до 90% клеток при СМТ и ПМО на IV стадии имели маркеры поздней активации.

ПМО совмещали в себе черты профилей меланом и сарком. При этом, в отличие от последних, снижение уровня Т-лимфоцитов наблюдалось уже на ранних стадиях, тогда как частота снижения ИРИ росла на поздних стадиях процесса за счёт роста ЦТЛ.

У больных с КРР чаще наблюдалось значительное снижение Th, снижение ЦТЛ. При этом частота повышенного содержания регуляторных клеток была максимальной среди всех опухолей на IV стадии.

Выявленные нами профили иммунологических нарушений согласуются с представлениями о механизмах резистентности опухоли к воздействиям ИС. Известная концепция «горячих» и «холодных» опухолей [250] свидетельствует о разных защитных механизмах, привлекаемых для ускользания опухоли от иммунного ответа, которые во многом обусловлены различными генетическими профилями опухоли. Для меланомы, характеризующейся большим числом иммуногенных мутаций, более характерна активация супрессорных механизмов в очаге, что приводит к истощению иммунной системы, которое постепенно становится необратимым [250].

В нашем исследовании отмечалось усиление супрессорных воздействий и переключение ответа на неспецифическое звено по мере роста распространённости меланомы, что соответствует данной гипотезе. При саркомах, которые, наоборот, характеризуются меньшей экспрессией иммуногенных антигенов [251], мы наблюдали более позднее повышение эффекторных популяций и меньшую частоту повышения Treg. У больных КРР, который также характеризуется относительно высокой частотой мутаций [21], с одной стороны, и значительной прогностической ролью ассоциированных с опухолью иммунологических изменений [56], с другой, мы наблюдали отличный от меланомы профиль изменений, с большей частотой значительного снижения уровня Th при высоком относительном содержании Treg, которые являются одной из субпопуляций Th. Это может свидетельствовать о вовлечении различных механизмов иммунологической резистентности, ассоциированных с каждым заболеванием, либо о разной частоте отдельных иммунологических синдромов. Последнее требует комплексной индивидуальной оценки состояния иммунной системы.

5.3. Характеристика иммунологических синдромов

Для комплексной оценки состояния иммунной системы были выделены отдельные иммунологические синдромы на основании показателей иммунного статуса. Использовались как непосредственные значения показателей, так и шкалированные относительно нормальных величин значения с использованием тех же четырёх уровней показателя, что и в предыдущем разделе. Для выявления синдромов использовался метод двухэтапного кластерного анализа в SPSS [252]. Количество возможных кластеров определялось на основании Байесовского информационного критерия.

При оценке всех основных показателей с использованием Евклидовых расстояний как меры связи признаков кластерный анализ не позволял эффективно выделить какие-либо группы признаков. Ввиду этого была проведена оценка синдромов на каждом из уровней анализа иммунологических показателей. Использование переменных в качестве непрерывных шкал при этом оказалось неэффективным и также не позволяло выделить отдельные кластеры. Как и в предыдущем варианте кластерного анализа, построение модели с использованием Евклидовых расстояний не позволяло выделить отдельные группы синдромов. Возможной причиной этого было обилие различных сочетаний отклонения показателей. Так, из 3011 наблюдений, вошедших в анализ, было выделено 2993 уникальных комбинации отклонений, что подтверждает мнение об уникальности и индивидуальности изменений в иммунном статусе у каждого больного.

Применение альтернативного подхода, при котором были использованы шкалированные показатели в качестве номинальных переменных, и оценки максимального правдоподобия в качестве меры связи признаков оказалось более эффективным и позволяло выделить отдельные группы симптомов. Подобное решение, с одной стороны, поддерживается, выявленными нами нелинейными взаимодействиями частоты отклонений со стадией заболевания. С другой, почти все математические модели взаимодействия иммунных клеток между собой при опухолевом росте содержат нелинейные компоненты [253-255]. Результаты такого выделения и взаимодействие указанных групп представлены на рисунке 41.

Для характеристики полученных кластеров, создания их формальных определений и определения важности переменных для их идентификации использовались методы построения деревьев решений. Оценка качества кластеризации проводилась с использованием визуальной меры качества кластеризации в SPSS [252]. При получении низких значений оценок кластеризации по модели или невозможность построения определений кластеров с помощью деревьев решений (т.е. корректная классификация с помощью выделенных правил – менее 80%) расценивались как неэффективная классификация.

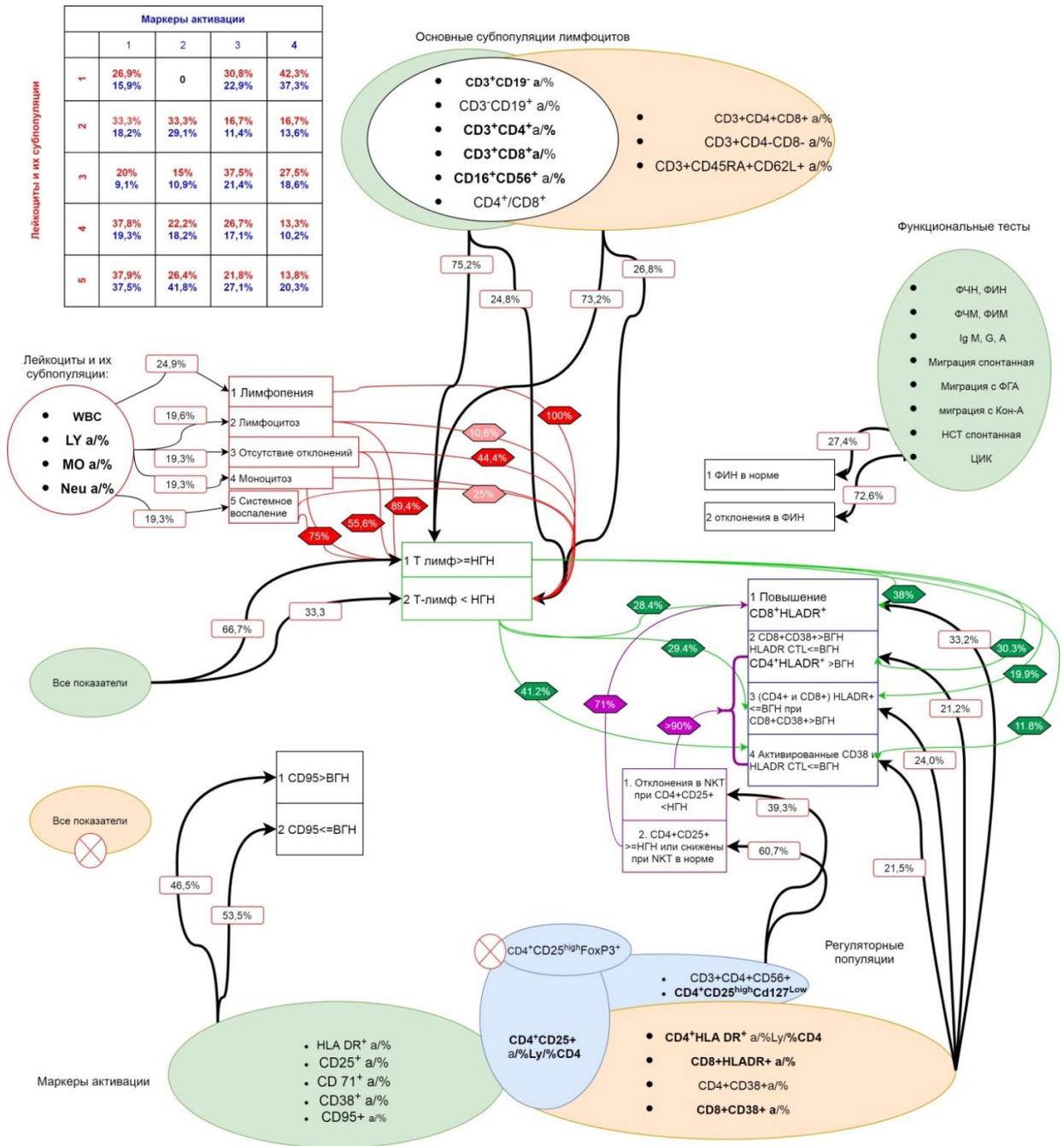


Рисунок 41 – Характеристика и результаты кластерных анализов различных наборов переменных, характеризующих состояние иммунной системы

Примечание к рисунку 41: черные стрелки – связи между оцениваемыми популяциями и кластерами, которые могут быть сформированы с их помощью; цветные стрелки с шестиугольниками соответствующего цвета – связи между кластерами. Связи между кластерами лейкоцитов и маркерами активации: синий цвет – частота лейкоцитарного кластера в соответствующем кластере маркеров активации; красный – частота кластера маркеров активации в лейкоцитарном кластере; бледно-розовый фон – статистически значимые отличия частоты отдельных кластеров Т-лимфоцитов в лейкоцитарных кластерах; ФЧН – фагоцитарное число нейтрофилов; ФИН – фагоцитарный индекс нейтрофилов; ФЧМ – фагоцитарное число моноцитов; ФИМ – фагоцитарный индекс моноцитов.

При оценке маркеров системного воспаления и основных фракций лейкоцитов в результате кластерного анализа (см. рисунок 41) разные алгоритмы позволяли выделить от 5 до 10 кластеров. Проведённый в SPSS анализ соответствий [256] показал, что вся вариабельность этих изменений может быть удовлетворительно объяснена разделением на пять кластеров, которые и были использованы в дальнейшем. Один из них соответствовал лимфопении. В другой кластер вошли состояния лимфоцитоза, включая относительный лимфоцитоз при нейтропении. В третий кластер вошли состояния относительного моноцитоза при прочих показателях, близких к РЗ. В четвёртом кластере были объединены состояния, характеризующиеся значительными признаками системного воспалительного ответа. К пятому кластеру были отнесены ситуации, в которых все показатели были в пределах референсных значений.

Анализ первого уровня показателей иммунного статуса, независимо от использованного перечня показателей, позволял выделить лишь 2 группы показателей – с нормальными или повышенными Т-лимфоцитами и пониженными. Все варианты анализа показывали сходное распределение этих кластеров: первый всегда был более чем в два раза больше последнего. Расширение включённых параметров не позволяло удовлетворительно выделить большее число групп. Как качество кластеров в соответствии с визуальной мерой оценки качества, так и интерпретация результатов с помощью деревьев классификации свидетельствовали о низком качестве разделений кластеров.

Анализ состояния активации иммунной системы, вне зависимости от использованного перечня маркеров, позволил выделить два принципиальных состояния: торможение иммунной системы, характеризовавшееся повышенным уровнем поздних маркеров активации или регуляторных клеток, и активацию иммунной системы, при которой наблюдалось повышенное содержание ранних маркеров активации на отдельных субпопуляциях клеток ИС.

При объединении всех систем выяснилось, что четыре состояния встречаются крайне редко или не встречаются вовсе. Так, сочетание нормального или повышенного уровня Т-лимфоцитов с лимфопенией было выявлено только в 8 иммунных статусах, при этом все они были отнесены к торможению активности ИС. Редко встречались моноцитоз и лимфоцитоз при пониженном уровне Т-лимфоцитов (13 и 17 случаев соответственно). Подавляющее большинство таких наблюдений также относилось к состоянию торможения ИС. Поэтому такие группы были объединены в соответствии со статусом активации данных наблюдений. В итоге было получено 14 групп, в которые было сгруппировано 1027 иммунных статусов. Прочие наблюдения сгруппированы не были ввиду наличия пропущенных значений отдельных показателей.

Полученные результаты кластеризации были сопоставлены с группами, полученными другими авторами при оценке рака почки [65; 102] и меланомы кожи [127]. Сопоставление осуществлялось на основании использованных для классификации показателей. При оценке типа реакции и характера реакции ИС на основании данных клинического анализа крови [65] оказалось, что полученное нами разбиение на пять кластеров имеет выраженную ассоциацию как с типом реакции ($p=0$), так и с характером реакции ($p=2 \times 10^{-28}$). При оценке направленных мер связи предложенное нами разделение позволяло лучше предсказывать тип, нежели характер реакции ($U=0,662$ и $0,531$ соответственно; $p<0,001$). При анализе таблиц сопряжённости угнетению иммунитета в 90% случаев соответствовала лимфопения. Активация врождённого иммунитета соответствовала системному воспалению в 98% случаев. Активация адаптивного иммунитета почти поровну была поделена между лимфоцитозом (55,4%) и системным воспалением (44,6%). Ареактивность иммунитета была представлена во всех пяти кластерах. Основная доля наблюдений при этом приходилась на кластер с отсутствием отклонений (41,7%), моноцитоз (30,3%). Значительно реже подобная реакция встречалась при лимфоцитозе (22,2%). Важно отметить, что все наблюдения кластеров «без отклонений» и «моноцитоз», и 70% наблюдений кластера «лимфоцитоз» приходились именно на ареактивность иммунитета. При оценке характера реакции лимфопения соответствовала декомпенсированному лимфопозу – 85,2% случаев. Недостаточная активация лимфопоэза одинаково часто встречалась как при лейкоцитозе, так и при лимфопении. Нормореакция чаще всего наблюдалась у больных без отклонений (45,2%) или с моноцитозом (32,6%), значительно реже – при моноцитозе (8,4%) и системном воспалении (13,8%). Асимметричная стимуляция лейкопоэза в 88,4% случаев наблюдалась у больных с явлениями системного воспаления. Активация лимфопоэза, как и активация адаптивного иммунитета, была поделена между лимфоцитозом (57,7%) и системным воспалением (42,3%).

Учитывая эти различия, мы провели дополнительное сравнение кластеров на основании индексов системного воспаления (из обзора литературы). Мы использовали два основных показателя – dNLR и LMR. Сравнения проводились с использованием непараметрических методов анализа независимых выборок с поправкой на множественные сравнения. Как по критерию Краскела–Уоллиса, так и по критерию Манна–Уитни были показаны выраженные ($p<0,001$) различия в индексах системного воспаления между всеми кластерами, что, с учётом знаний о связи этих показателей с прогнозом, требует отдельного учёта выявленных нами кластеров. Тем не менее клиническая значимость каждой из систем требует дальнейшей проверки.

При более подробной характеристике состояния иммунной системы на основании методов, предложенных А. Мисепіесе [127], нам удалось успешно определить состояние лишь в 42,1% случаев. При исключении неклассифицированных случаев была выявлена статистически значимая связь средней силы ($U=0,578$; $p<0,001$). Симметричные меры связи показывали более высокую оценку ($KoC=0,744$; $p=5\times 10^{-92}$). Состояние активации ИС характеризовалось лимфоцитозом на фоне торможения ИС в 70% наблюдений и нормальными показателями КАК на фоне торможения ИС в 30% случаев. Вместе с тем данные пересечения множеств затрагивали лишь малую часть определённых нами кластеров. Большая часть описанных кластеров (70,9% и 98,1% соответственно) пересекалась с состоянием нормализации ИС. Умеренная супрессия ИС пересекалась с лимфопенией с торможением ИС в 63,3% случаев, включая пересечение в 96,9% наблюдений в кластере. Другое относительно крупное пересечение наблюдалось с кластером воспалительного сдвига при торможении ИС и снижении уровня Т-лимфоцитов. Это же пересечение представляло самую крупную группу наблюдений в указанном кластере – 66,7%. Состояние гиперактивации ИС в 43,8% наблюдений было ассоциировано с лимфоцитозом и торможением ИС (при котором уровень Т-лимфоцитов повышен) и воспалительным сдвигом при торможении ИС и повышенным уровнем Т-лимфоцитов в 54,2% случаев.

По данным авторов [127], подобное состояние обладало наихудшим прогностическим значением, что соответствует выявленному нами торможению ИС во всех указанных случаях.

При сравнении полученных нами групп с характеристиками реакции ИС на основе количественного и функционального определения активности основных субпопуляций лимфоцитов, проведённых А.А. Савченко с соавт. [65], также была выявлена статистически значимая связь, но значительно меньшей силы, между предложенным нами делением и 7 кластерами, описанными в указанной работе. Во-первых, среди описанных кластеров нам не встретились варианты активации и гиперактивации адаптивной ИС. Метрики связи между категориями были значительно ниже, чем при предыдущих классификациях ($U=0,21$; $p=2\times 10^{-31}$). Во-вторых, почти на каждом пересечении групп в классификациях частота случаев редко приближалась к 50%. Все группы имели пересечение с тремя и более категориями. Возможной причиной этому явились особенности измерения субпопуляций лимфоцитов. Нам пришлось адаптировать классификацию, поскольку мы не анализировали содержание классических и неклассических моноцитов и отдельно учитывали содержание Т-, НК- и НКТ-клеток. Важно отметить, что большая часть (94,7%) классифицированных случаев приходилась на кластеры с торможением ИС.

Группировка и классификация наблюдений позволили нам выделить 14 относительно крупных групп, которые могут расцениваться как иммунологические синдромы. Характеристика их центроидов представлена на рисунке 42.

Данные группы сформированы с учётом пересечений трёх независимых классификаций (LRT, $p=0,39$; U=0,01, $p=2 \times 10^{-6}$). Они отражают как количественный состав, так и динамику состояния иммунной системы. Направленные меры связи показывают, что данная группировка является более детальной по сравнению с ранее существующими классификациями. Вместе с тем значимость данной оценки требует валидации в отношении клинически значимых конечных точек и сравнения с предшествующими классификациями, равно как и с использованием отдельных параметров оценки состояния ИС.

Первый кластер – лимфопения с активацией ИС – характеризовался референсными относительными значениями большинства субпопуляций лимфоцитов при пониженных абсолютных значениях. При этом большинство регуляторных популяций были в пределах референсных значений или снижены, а уровень CD95 и CTLA4 на лимфоцитах был снижен. Следует отметить, что экспериментальные исследования показали возможность стимуляции опухолевого роста при высокой экспрессии указанных рецепторов и возможность развития противоопухолевого ответа при их блокировании [143; 257].

Кроме того, соотношение эффекторных и регуляторных клеток в этой группе оказалось приближено к средним значениям так же, как и стимулированная миграция ЦТЛ и Th, что позволяет предположить сбалансированность взаимоотношений отдельных звеньев ИС. Уровень двойных положительных CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов при этом у большинства пациентов с подобной характеристикой ИС оказывался выше ВГН. По данным различных исследований, эти клетки могут обладать как цитотоксической, так и супрессивной функцией при злокачественных опухолях [258]. Показатели функциональных тестов (фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофилов), несмотря на нахождение медианы в пределах референсных значений, имели одни из наиболее высоких показателей среди всех прочих кластеров, что также поддерживает предположение о значительной активизации иммунных процессов у данной категории больных.

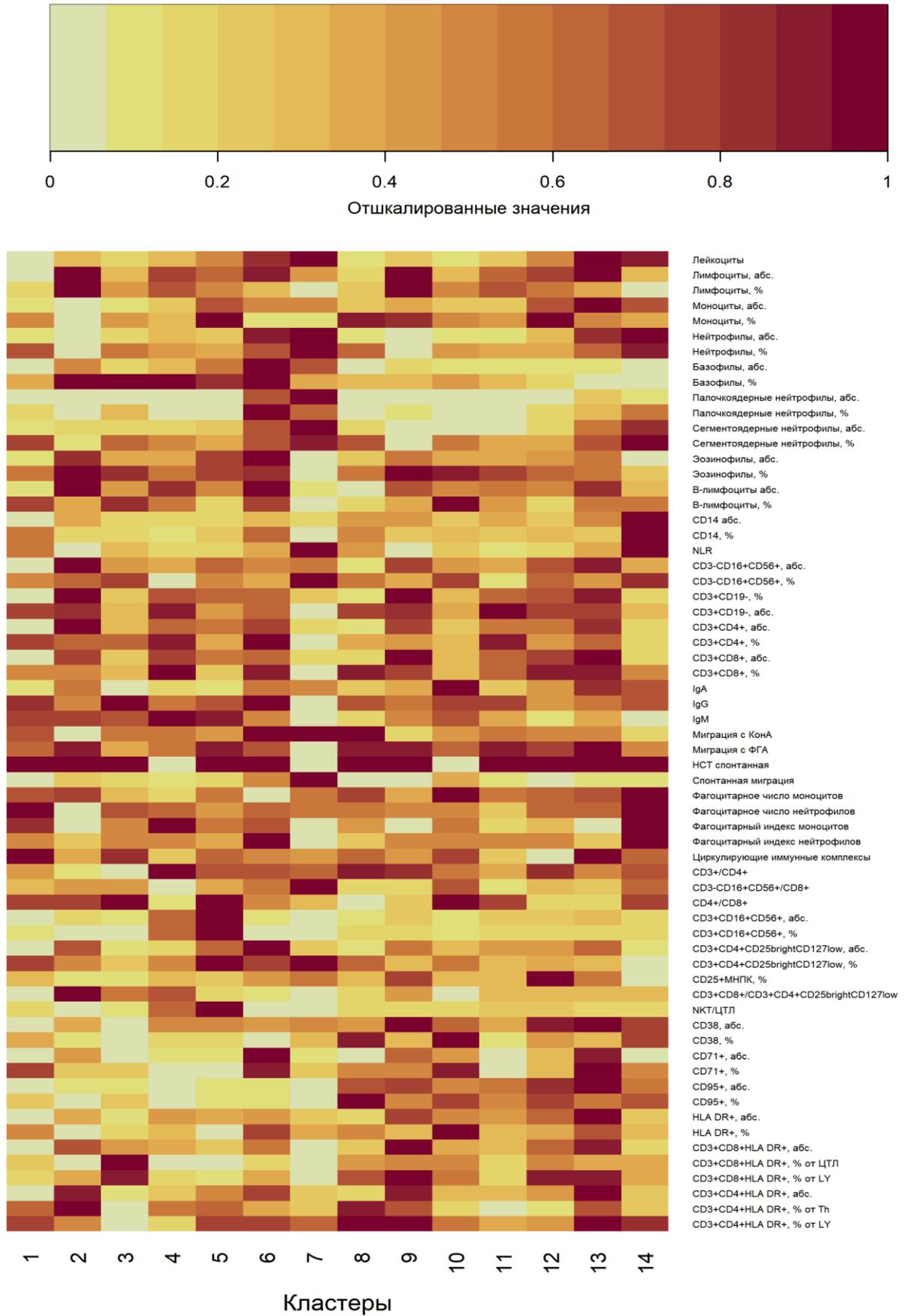


Рисунок 42 – Характеристика центроидов обобщённых кластеров

Второй кластер – лимфоцитоз с активацией ИС – отличался, помимо относительно низких (в пределах РЗ) показателей нейтрофилов и моноцитов, одними из самых высоких уровней базофилов и эозинофилов. Кроме лимфоцитоза, у больных данной группы отмечался повышенный уровень CD14⁺ моноцитов. При этом содержание сегментоядерных нейтрофилов было, как правило, снижено относительно НГН. Пациенты данного кластера имели самые низкие уровни NLR и самые высокие значения LMR. В соответствии с полученными ранее при систематическом обзоре данными, такое соотношение является максимально благоприятным с прогностической точки зрения при всех заболеваниях. Однако функциональные тесты свидетельствовали о дисбалансе продукции цитокинов Т-лимфоцитами: снижение миграции с Кон-А, свидетельствующее об активизации ЦТЛ, и повышение миграции с ФГА, свидетельствующее о снижении функциональной активности Th. Об этом же свидетельствуют низкие относительные показатели Treg при достаточно высоких ЦТЛ, что делает их соотношение наиболее высоким среди всех описываемых кластеров. Отношение НКТ-клеток к ЦТЛ также было наименьшим среди всех кластеров. При подобном состоянии ИС также отмечалось повышенное абсолютное содержание HLA-DR активированных Th, при этом число активированных HLA-DR⁺ЦТЛ было в пределах референсных значений и одним из самых низких среди всех кластеров. Таким образом, данный синдром представляет собой активацию преимущественно эффекторного звена адаптивной ИС.

Третий кластер – активация ИС при референсных значениях фракций лейкоцитов и сниженных Т-лимфоцитов – характеризовался, как и предыдущий кластер, тенденцией к повышению относительного содержания базофилов и эозинофилов. Абсолютные значения были в пределах РЗ. Для данного кластера были характерны одновременно повышенные значения NLR и средние значения LMR, что отражает менее благоприятную прогностическую картину по данным приведённого ранее систематического обзора. В кластере отмечено снижение абсолютного содержания Т-лимфоцитов, преимущественно за счёт ЦТЛ, что отразилось в высоком ИРИ и одном из самых низких отношений CD3⁺/CD4⁺. На фоне РЗ Treg, уровень НКТ-лимфоцитов был, как и в предшествующих двух кластерах, снижен. Отличительной чертой данного кластера является довольно высокий уровень относительного содержания HLA-DR⁺ЦТЛ при низком уровне практически всех маркеров активации ИС. Таким образом, данный тип можно расценивать как истощение эффекторного потенциала ИС и завершение активного иммунного ответа.

Четвёртый кластер, в отличие от третьего, характеризуется референсными значениями уровня Т-лимфоцитов. Для него характерны более высокие значения LMR на фоне более низких значений NLR, содержание основных субпопуляций Т-лимфоцитов в пределах

референсных значений, высокое содержание двойных положительных лимфоцитов при пониженном содержании двойных отрицательных Т-лимфоцитов, высокий уровень клеток эффекторной памяти при низком содержании клеток центральной памяти. Последнее выделяет данную группу из всех прочих кластеров. Интересным является значительная относительная активация ЦТЛ (по маркеру ранней активации CD38). Также для этой группы характерно низкое содержание CD27⁺CD62L⁺ и CD28⁺CD62L⁺ лимфоцитов и низкий уровень CD3⁺CD4⁺CTLA4⁺ лимфоцитов. Уровень NKT-клеток в данном кластере, в отличие от предыдущего, повышен, что отражается в значительном повышении значений индекса NKT/ЦТЛ. На фоне референсных значений NK-клеток уровень их активации (по маркеру NKG2D) оказывается более низким в данном кластере.

Таким образом, мы можем предполагать, что данный кластер отражает повышенное содержание и активность эффекторных субпопуляций со стимуляцией созревания лимфоцитов, индукцией их терминальной дифференцировки и поляризации ответа в сторону включения HLA-независимых механизмов, использующих механизмы врожденной ИС [13; 63; 258; 259].

Пятый кластер – активация ИС при моноцитозе – характеризуется, помимо собственно абсолютного моноцитоза, почти равными уровнями NLR и LMR, с небольшим преобладанием последнего. Функциональная активность Т-хелперов в данном кластере снижена на фоне активности ЦТЛ в пределах референсных значений. Важно отметить низкий уровень CD3⁺CD1d⁺ лимфоцитов (В-клетки маргинальной зоны, взаимодействующие с Т-лимфоцитами [13]) и высокое содержание NKT-клеток, равно как и Treg. Уровень NKG2D активированных NK-клеток также оказывается сниженным. Между тем абсолютное содержание CD38⁺ЦТЛ в данном кластере выше нормы, а уровень HLA-DR⁺ лимфоцитов, хоть и превышает ВГН, но оказывается одним из самых низких среди всех кластеров. Таким образом, данный кластер может отражать дисрегуляцию ИС на фоне активации супрессорных механизмов, направленных на подавление функциональной активности ЦТЛ.

Шестой кластер – воспалительный сдвиг с активацией ИС и нормальным или повышенным уровнем Т-лимфоцитов – отличался более высоким, чем при моноцитозе, NLR. В данном кластере отмечался более высокий уровень базофилов и эозинофилов, в отличие от 8 кластера (воспалительный сдвиг с активацией ИС и снижением уровня Т-лимфоцитов), а также наблюдался повышенный уровень Т-лимфоцитов (медиана показателей находилась в пределах P3). Уровень NK-клеток также находился в пределах P3, при этом относительное их содержание было значительно ниже, чем в 7 кластере. Уровень спонтанной миграции лимфоцитов в данном кластере был снижен, равно как и во всех кластерах до этого, но занимал второе место среди всех групп пациентов. НСТ, в отличие от 7 кластера, оказалась в пределах

референсных значений. Абсолютное, но не относительное содержание NKT-клеток в данном кластере было повышено, при этом их уровень был наивысшим среди всех кластеров. Отношение NKT к ЦТЛ было относительно низким. Относительное, но не абсолютное, содержание CD38⁺ лимфоцитов было самым низким среди всех кластеров. Уровень CD71⁺ лимфоцитов, наоборот, был самым высоким среди всех кластеров. Абсолютное содержание HLA-DR⁺Th было высоким. Таким образом, при данном синдроме можно предполагать максимально возможную активность адаптивного ответа, недостаточную для устранения источника стимуляции, что приводит к компенсаторному вовлечению врождённой ИС.

В седьмом кластере – воспалительном сдвиге с активацией ИС при сниженных Т-лимфоцитах – наблюдалась относительная лимфопения на фоне нейтрофильного лейкоцитоза и моноцитоза, высокие значения NLR, NMLR при сохранении средних значений LMR. Снижение Т-лимфоцитов было обусловлено как уменьшением Th, так и ЦТЛ. Относительное содержание данных клеток укладывалось в P3. Данный кластер был единственным, при котором уровень спонтанной миграции был в пределах P3. Отношение NK к ЦТЛ было самым высоким среди всех кластеров. Важно отметить, что доля FOXP3⁺Treg в данном кластере была значительно увеличена на фоне сниженного абсолютного содержания CD127^{Low}Treg. В отличие от всех других кластеров, в данной группе было наименьшее содержание HLA-DR⁺ЦТЛ. Поэтому мы можем предположить смещение активации адаптивной ИС в сторону регуляторных механизмов, направленных на завершение иммунного ответа на фоне поддержания высокой компенсаторной активности неспецифического звена ИС.

Восьмой кластер – первый из кластеров с торможением ИС – принципиально отличался от аналогичного кластера с активацией ИС повышенным уровнем CD14⁺ клеток, референсными (а не повышенными) относительными уровнями DP, повышенным уровнем миграции с ФГА, более низкими показателями CD1d⁺ лимфоцитов, средним (а не низким) содержанием CTLA4⁺Th. Наблюдались P3 (а не снижение), содержание CD25⁺МНПК и более низкое относительное содержание CD25⁺Th на фоне высокого относительного и абсолютного содержания CD95⁺ лимфоцитов. Для данного кластера были характерны низкое содержание клеток памяти (как центральной, так и эффекторной), низкий уровень CD3⁺CD27⁺CD62L⁺ и CD3⁺CD28⁺CD62L⁺ клеток, низкие значения NKG2D⁺ЦТЛ. Можно предположить, что в данном случае отмечается истощение возможностей адаптивной ИС на фоне низкой активности или недостаточной активации врождённой.

Девятый кластер – лимфоцитоз с торможением ИС – в отличие от парного кластера с активацией ИС, характеризовался средними уровнями LMR на фоне низкого NLR, ещё более низким уровнем CD1d⁺ лимфоцитов и референсными значениями CD25⁺МНПК. При этом

относительное содержание $CD25^+$ активированных Th было снижено. Как и в парном кластере, отмечалось повышение уровня миграции лимфоцитов с ФГА. Уровень DP был повышен так же, как и в 10, 11 и 13 кластерах. Это позволяет предполагать преимущественно супрессивную роль этих клеток в данной ситуации [258; 260]. В отличие от остальных кластеров с торможением ИС, при данном кластере наблюдались самые высокие уровни $CD3^+CD27^+CD62L^+$ и $CD3^+CD28^+CD62L^+$ клеток, что позволяет предположить наличие препятствий к активации клеток памяти [63] и, соответственно, большую эффективность терапии ипилимумабом у данных пациентов. Уровень NKT-клеток в данном кластере находился в пределах референсных значений. Как и во всех прочих кластерах (за исключением кластера с лимфопенией) с торможением ИС, уровень Treg также находился в пределах референсных значений. Абсолютное, но не относительное, содержание $CD38^+$ ЦТЛ было повышено; наблюдался повышенный абсолютный уровень $HLA-DR^+$ активированных ЦТЛ и Th-клеток. Таким образом, можно предположить завершение активных иммунных процессов в данном кластере.

Десятый и одиннадцатый кластеры представляют торможение ИС при P3 показателей субпопуляций лимфоцитов при сниженных и несниженных уровнях T-лимфоцитов, соответственно. В 10 кластере отмечался повышенный относительный уровень $CD3^+CD1d^+$ лимфоцитов, тогда как в 11 кластере было увеличено содержание $CD38^+$ ЦТЛ. Общая доля $CD38^+$ клеток, наоборот, была повышена при сниженном уровне T-лимфоцитов, тогда как при повышенном уровне этот показатель оказывался снижен. Абсолютные значения показателя были в пределах P3 для обоих кластеров, однако численно выше в 10 кластере. Уровень $NKG2D^+$ ЦТЛ в 10 кластере был сопоставим с 8 (лимфопения при торможении ИС), а в 11 – с 9 кластером (лейкоцитоз при торможении ИС). Вместе с тем сам уровень этих клеток в 11 кластере был несколько ниже, чем в 9.

Моноцитоз с торможением ИС (12 кластер) характеризовался сдвигом лейкоцитарной формулы влево при средних значениях всех лимфоцитарных индексов. У больных с данным типом иммунного статуса отмечено снижение спонтанной миграции лимфоцитов, повышенная миграция с ФГА, высокое относительное и абсолютное содержание $CD38^+$ ЦТЛ на фоне P3 всех лимфоцитов с экспрессией данного маркера. Также в этой группе наблюдались повышенные уровни $CD95^+$ лимфоцитов.

Тринадцатый и четырнадцатый кластеры были представлены ситуациями с торможением ИС на фоне воспалительного сдвига. Помимо общего для всех кластеров с торможением ИС повышенного уровня $CD95^+$ клеток, они характеризовались нейтрофильным лейкоцитозом с (14) или без (13) лимфопенией, повышенным абсолютным содержанием $CD38^+$ ЦТЛ на фоне низкого уровня $CD25^+$ активированных T-лимфоцитов.

Четырнадцатый кластер отличался высокими индексами NLR, NMLR на фоне более низких значений LMR по сравнению с 13 кластером. Равномерное снижение уровня Т-лимфоцитов, как за счёт ЦТЛ, так и за счёт Th, наблюдалось лишь в 14 кластере. Уровень CD14⁺ клеток был повышен в обоих кластерах, однако в 14 он был выше. Кроме того, именно здесь наблюдалось и увеличение относительного содержания этих клеток. Также в 14 кластере отмечались низкие уровни Tem и низкое содержание CD3⁺CD27⁺CD62L⁺ и CD3⁺CD28⁺CD62L⁺ клеток, что может свидетельствовать об истощении возможностей ИС [63] или о нарушении презентации антигена. Содержание NKT-клеток в данном кластере также было снижено.

В 13 кластере отмечались низкий уровень двойных отрицательных лимфоцитов, высокий уровень миграции с ФГА и относительно высокое содержание CD3⁻CD1d⁺ лимфоцитов, близкое к таковому в 9 и 10 кластерах. В 13 кластере наблюдался повышенный уровень NKG2D⁺ активированных ЦТЛ и NK-клеток, тогда как в 14 кластере эти уровни были снижены или в пределах PЗ, соответственно. В 13, но не в 14 кластере, наблюдалось повышенное содержание активированных HLA-DR⁺Th и ЦТЛ. При этом показатели были очень близки к подобным показателям 9 кластера (лимфоцитоз с торможением ИС).

Таким образом, данные кластеры представляют поляризацию адаптивной ИС в сторону переключения на HLA-независимые механизмы распознавания антигена (13 кластер) или полное истощение активности адаптивной иммунной системы и компенсаторное вовлечение врождённого иммунитета (14 кластер).

При сравнении кластеров между собой было выявлено несколько показателей, не имевших выраженных различий между кластерами. К таким показателям, все центроиды кластеров в которых находились в пределах PЗ, относятся уровень В-лимфоцитов (относительный и абсолютный), относительное содержание NK-клеток, ЦТЛ и Th, фагоцитарные индексы и фагоцитарное число нейтрофилов и моноцитов, уровень циркулирующих иммунных комплексов, иммунорегуляторный индекс, абсолютные уровни CD38⁺ лимфоцитов и CD127^{low}Treg.

В нашем исследовании центроиды относительного содержания HLA-DR⁺Th и ЦТЛ были выше референсных значений. Полученные результаты могут быть как признаками собственно наличия злокачественной опухоли, так и следствием селекционного смещения, обусловленного когортным характером нашего исследования.

5.4. Частота встречаемости иммунологических синдромов у больных с различными заболеваниями и стадиями

При проведении анализа по распространённости отдельных иммунологических синдромов из всего числа наблюдений успешно классифицировать удалось 1033 случая. При этом использовались методы анализа таблиц сопряжённости. Сравнение распределений частот отклонений по разным группам проводили с учётом поправки на множественные сравнения методом Холма–Бонферрони.

При оценке изменения частоты отдельных состояний ИС по заболеваниям анализ проводился только для III и IV стадии и заболевания в целом. Единственные статистически значимые различия между заболеваниями при III стадии были выявлены только по частоте признаков торможения ИС при нормальных значениях фракций лейкоцитов и повышенном содержании Т-лимфоцитов. При меланоме и первично-множественных опухолях этот тип изменений встречался в 20,3% и 29,4% случаев соответственно, а при раке почки – у 75% пациентов.

При IV стадии различия были более очевидными, возможно, благодаря большему количеству проанализированных случаев. Лимфопения с активацией ИС чаще всего встречалась при КРР и ПКР (17,9% и 19,2% соответственно), тогда как при меланоме и ПМО этот тип реагирования встречался реже (4,6% и 2,4% соответственно) ($p < 0,05$). Частота лимфоцитоза с активацией ИС была минимальна (0,5%), что существенно отличалось от рака почки (7,7%, $p < 0,05$). Частота данного состояния при других заболеваниях занимала промежуточное положение и статистически значимо не отличалась от обеих указанных цифр. Лимфопения с торможением ИС чаще всего наблюдалась при СМТ (31,5%) и значительно реже при меланоме и ПМО (11,8% и 4,9% соответственно, $p < 0,05$). Частота изменения состояний при прочих заболеваниях занимала промежуточное положение и не имела значимых отличий от двух вышеуказанных крайних состояний. При оценке лимфоцитоза с торможением ИС ситуация была иной. Чаще всего (34,1%, $p < 0,05$) это состояние наблюдалось при ПМО. При КРР этот синдром наблюдался в 28,6% случаев. Редко это явление наблюдалось при меланоме (14,2%), ПКР (7,7%) и СМТ (7,4%).

При сравнении распределения синдромов по заболеваниям в целом статистически значимые ($p < 0,05$) различия были выявлены только в отношении лимфопении с активацией ИС, лимфопении с торможением ИС и активацией ИС при референсных значениях фракций лейкоцитов и нормальном или повышенном уровне Т-лимфоцитов.

Первый синдром чаще встречался у больных КРР (17,9%) и реже всего у больных меланомой (4,8%). Второй синдром часто (9,8%) встречался у больных с ПМО и редко (2,6%)

у больных с меланомой. Третий синдром чаще всего наблюдался у больных СМТ и редко – у больных меланомой и ПМО.

Количество наблюдений было достаточным для сравнения распределений иммунологических синдромов между стадиями заболевания только у больных СМТ и меланомой. При первом заболевании моноцитоз с торможением ИС значительно чаще встречался у больных со II стадией заболевания по сравнению с пациентами с IV стадией (55,6% против 16,7% соответственно, $p < 0,05$). У больных меланомой активация ИС при лимфоцитозе чаще встречалась на III стадии (5,4% и 3,8% соответственно) и реже (0,5% и 1,2% соответственно) – на IV ($p < 0,05$). Воспалительный сдвиг с активацией ИС и снижением уровня Т-лимфоцитов, напротив, наблюдался только при IV стадии ($p < 0,05$). Частота двух вариантов воспалительного сдвига с торможением ИС нарастала к IV стадии заболевания, тогда как частота варианта лимфоцитоза с торможением ИС снижалась с 22,2% при III стадии до 14,2% при IV.

5.5. Изменение иммунологических синдромов в динамике при повторных обследованиях

Для оценки характера выделенных кластеров мы оценили динамику изменения этих состояний. Было выделено 522 пары иммунных статусов, последовательно определённых у одного и того же больного. Полное отражение переходов между кластерами отражено на рисунке 43.

Основные, наиболее частые, переключения между синдромами отражены на рисунке 44. Характеристика изменений в ИС, сопровождавших изменение каждого из основных переходов между состояниями, представлена в таблице 18.

Большинство состояний оказались взаимосвязаны между собой, однако прослеживалась общая тенденция перехода от активированной ИС к её торможению. При этом стоит подчеркнуть, что в 6 из 14 кластеров самым частым сценарием было сохранение того же иммунологического синдрома, что позволяет предположить относительную стабильность данных состояний.

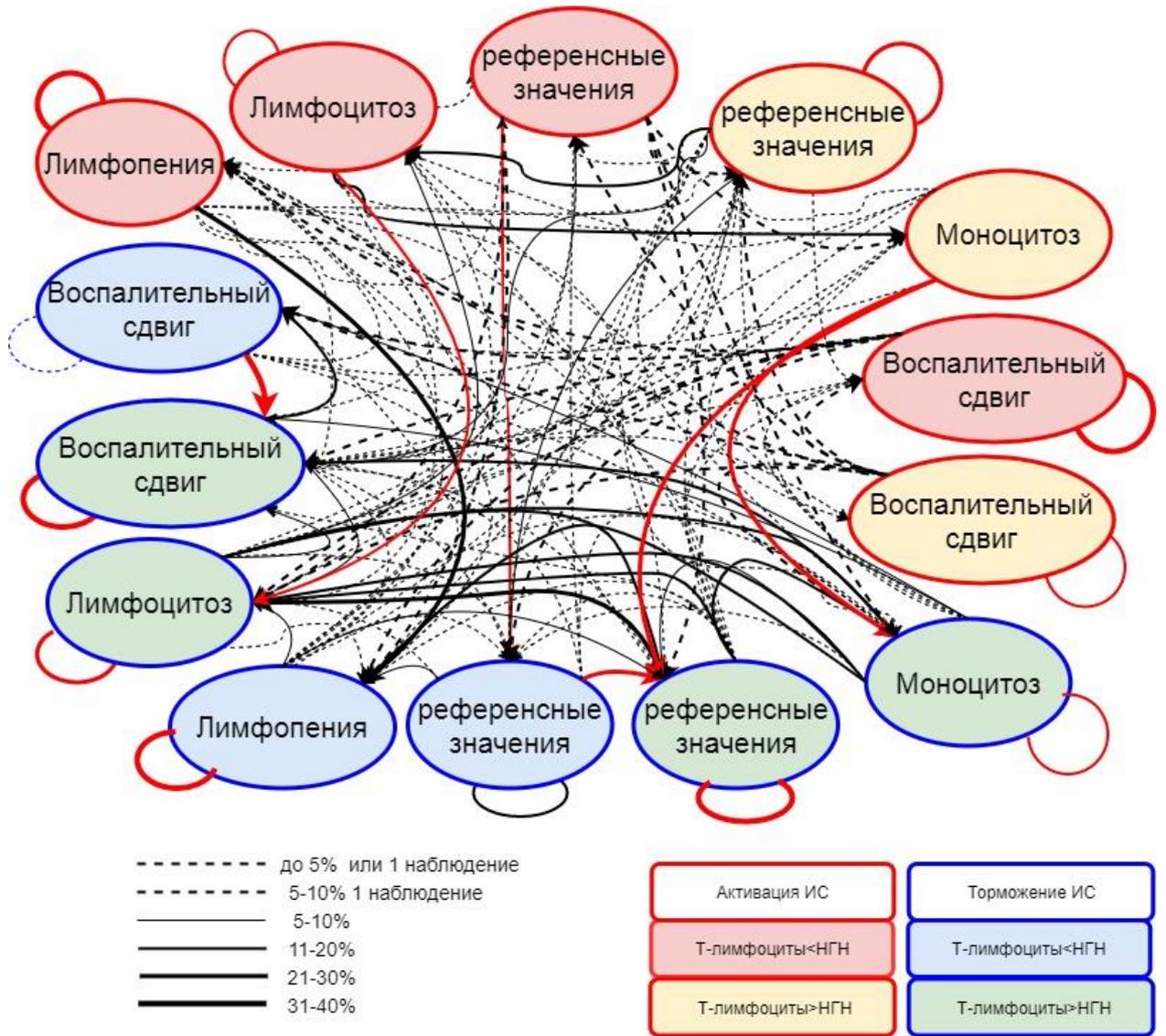


Рисунок 43 – Изменения в ИС при смене иммунологического синдрома у больных с повторными оценками иммунного статуса

Таблица 18 – Характеристика изменений в ИС при изменении иммунологического синдрома
в динамике

Исходный кластер	Конечный кластер	Повышение показателя	Снижение показателя	Обратимые изменения
1	2	3	4	5
3	10	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ ; CD38 ⁺ ; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ , %; CD95 ⁺	НСТ	нет
10	11	CD3 ⁺ ; ЦТЛ; Th; Т-клеток центральной памяти; НСТ; миграция с ФГА; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺ ; CD3 ⁺ CD8 ⁺ NKG2D ⁺ , %	базофилы, %; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , %; CD38 ⁺	нет
10	4	ЦТЛ; Th; CD3 ⁺ ; Т-клетки эффекторной памяти; NKT; CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺ ; CD3 ⁺ CD8 ⁺ NKG2D ⁺ , %	базофилы, %; NLR; Т-клетки центральной памяти; CD3 ⁻ CD1d ⁺ ; CD3 ⁺ CD27 ⁺ CD62L ⁻ ; CD3 ⁺ CD28 ⁺ CD62L ⁺ ; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CTLA4 ⁺ ; CD38 ⁺ , %; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ , %; CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NKG2D ⁺ , %; CD95 ⁺	нет
4	2	лимфоциты, %; базофилы, %; CD14 ⁺ абс.; НСТ спонтанная; миграция с ФГА; CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.	сегментоядерные нейтрофилы, %; NLR; Миграция с Кон-А; NKT; CD38 ⁺ , %	нет
4	13	лейкоциты; моноциты, абс.; нейтрофилы, абс.; сегментоядерные нейтрофилы, %; CD14 абс.; NLR; CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻ , абс.; Т-клетки центральной памяти; миграция с ФГА; CD3 ⁺ CD27 ⁺ CD62L ⁺ ; CD3 ⁺ CD28 ⁺ CD62L ⁺ ; CD3 ⁺ CD8 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.; CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NKG2D ⁺ ; CD95 ⁺ ; CD3 ⁺ CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.	лимфоциты, %; базофилы, %; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , %; Т-клетки эффекторной памяти, %; CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	нет
1	8	лимфоциты, %; НК, абс.; CD14 ⁺ абс.; миграция с ФГА; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CTLA4 ⁺ ; CD95 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , %	нет
8	9	лимфоциты; CD3 ⁺ CD8 ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD4 ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻ , абс.; Т-клетки эффекторной памяти, абс.; Т-клетки центральной памяти, абс.; CD3 ⁻ CD1d ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD27 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD28 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; NKT, абс.; CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺ , абс.; CD25 ⁺ МНПК, %; CD3 ⁺ CD8 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.	нейтрофилы, %; сегментоядерные нейтрофилы, %; NMLR; NLR; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{low} , %	нет

1	2	3	4	5
2	9	миграция с Кон-А; NKT, абс.; CD25 ⁺ МНПК, %; CD38 ⁺ , %; CD95 ⁺ ; CD3 ⁺ CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.	нейтрофилы, %; базофилы, %; LMR;	да
2	5	моноциты, абс.; сегментоядерные нейтрофилы, %; NKT; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{low} , %; CD38 ⁺ , %	лимфоциты, %; CD14 ⁺ абс.; NLR; миграция с Кон-А	нет
5	11	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , абс.; CD3 ⁻ CD1d ⁺ ; CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NKG2D ⁺ , %; CD95 ⁺	моноциты, абс.; базофилы, %; NKT; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} FoxP3 ⁺ , %; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{low} , %	нет
5	12	CD3 ⁻ CD1d ⁺ ; CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NKG2D ⁺ , %; CD95 ⁺	базофилы, %; NLR; NKT; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} FoxP3 ⁺ , %; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{low} , %; CD38 ⁺ , %	нет
12	8	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{low} , %	моноциты, абс.; лимфоциты, абс.; ЦТЛ, абс.; Th, абс.; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ , абс. Т-клетки эффекторной памяти, абс.; наивные Т-лимфоциты, абс.; Т-клетки центральной памяти, абс.; CD3 ⁻ CD1d ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD27 ⁺ CD62L ⁺ , абс. CD3 ⁺ CD28 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; NKT, абс.; CD25 ⁺ МНПК, %; CD3 ⁺ CD8 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.	да
12	11	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , абс.	моноциты, абс.; NKT, абс.; CD25 ⁺ МНПК, %; CD38 ⁺ , %; CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.; Cd3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ , % от LY; CD3 ⁺ CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.	да
12	9	лимфоциты, %; CD14 абс.; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , абс.; CD3 ⁻ CD1d ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD27 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD28 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.	моноциты, абс.; нейтрофилы, %; сегментоядерные нейтрофилы, %; NLR; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ , %	да
9	11	нейтрофилы, %; сегментоядерные нейтрофилы, %; NLR	лимфоциты, %; CD14 абс.; CD3 ⁻ CD1d ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD27 ⁺ CD62L, абс.; CD3 ⁺ CD28 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; CD25 ⁺ МНПК, %; CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.	да
9	13	лейкоциты; моноциты, абс.; нейтрофилы, абс.; нейтрофилы, %; сегментоядерные нейтрофилы, %; NLR; CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD8 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.	лимфоциты, %; CD3 ⁺ CD27 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD28 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; CD25 ⁺ МНПК, %	да

1	2	3	4	5
12	13	лейкоциты; нейтрофилы, абс.; CD14 ⁺ абс.; NLR; CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , абс.; CD3- CD1d ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD8 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс. CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.	CD25 ⁺ МНПК, %	да
12	14	лейкоциты; нейтрофилы, абс.; палочкоядерные нейтрофилы, % dNLR; NMLR; CD14 ⁺ ; NLR	лимфоциты, %; ЦТЛ; Т-клетки эффекторной памяти, абс.; миграция с ФГА; CD3 ⁺ CD27 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD28 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; NKT, абс.; CD25 ⁺ МНПК, %; CD3 ⁺ CD8 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.	нет
13	14	палочкоядерные нейтрофилы, %; dNLR; NMLR; CD14 ⁺ %	лимфоциты, %; ЦТЛ, абс.; Т-клетки эфекторной памяти, абс.; миграция с ФГА; CD3 ⁺ CD1d ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD27 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD28 ⁺ CD62L ⁺ , абс.; NKT, абс.; CD3 ⁺ CD8 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NKG2D ⁺ , абс.; CD3 ⁺ CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс. CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.	да

При анализе основных переходов между состояниями (рисунок 44; см. таблицу 18) обращает на себя внимание отсутствие переходов из 6 и 7 кластера. Это обусловлено, прежде всего, редкостью данных состояний, что не позволяет более точно выделить основные тенденции. Важным также представляется характер взаимосвязи между отдельными кластерами. Так, большинство кластеров с активацией ИС являются начальными этапами цепи переходов или промежуточными состояниями, тогда как для самых крупных кластеров с торможением ИС характерны значительная частота стабильного состояния и обратимые перемещения между четырьмя из них: 9, 11, 12 и 13. Интересно отметить, что прямые переходы из 11 в 13 кластер и обратно были крайне редки.

Переход от 3 кластера (P3 фракций лейкоцитов с активацией ИС и снижением Т-лимфоцитов) к 10 (P3 фракций лейкоцитов с торможением ИС и снижением Т-лимфоцитов) сопровождался ростом уровня активированных лимфоцитов на фоне увеличения CD95⁺ клеток и снижения НСТ. В дальнейшем у большей части пациентов наблюдалось восстановление уровня Т-лимфоцитов за счёт как ЦТЛ, так и Th, наблюдался рост содержания Т-клеток центральной памяти, увеличение активированных CD38⁺Th и активированных NKG2D⁺ЦТЛ. Уровень двойных положительных лимфоцитов и общее содержание CD38⁺ клеток между тем снижались, что свидетельствует о дальнейшем торможении активности ИС.

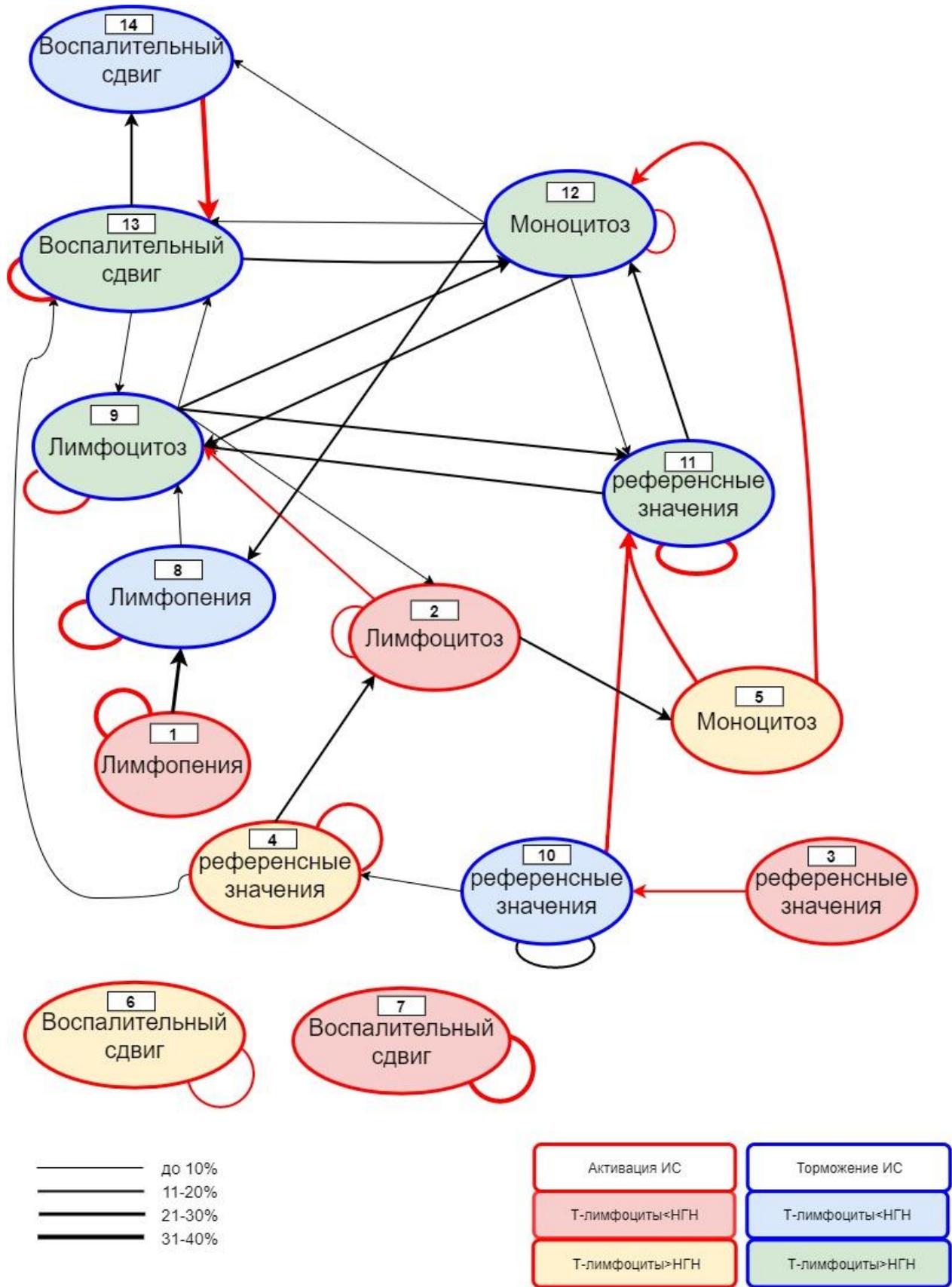


Рисунок 44 – Ключевые переходы между отдельными иммунологическими синдромами в процессе наблюдения за больным

Реже наблюдался переход в состояние активации (4 кластер), при котором на фоне общего повышения Т-лимфоцитов росло число NKG2D⁺ и CD38⁺ активированных ЦТЛ за счёт дифференцировки клеток центральной памяти в клетки эффекторной памяти, снижения активности врождённой иммунной системы и уменьшения содержания супрессорных субпопуляций (CD3⁺CD4⁺CTLA4⁺; CD3⁺CD4⁺CD25⁺). В дальнейшем были возможны два сценария. При первом, более частом, наблюдался рост уровня лимфоцитов за счёт неклассических моноцитов (CD14⁺) и увеличение HLA-DR⁺Th, снижение их функциональной активности на фоне увеличения функциональной активности ЦТЛ перемещало иммунный статус во 2 кластер (лимфоцитоз при активации ИС). При втором сценарии развивалось торможение ИС на фоне воспалительного сдвига с Р3 уровня CD3⁺ клеток. Данные изменения происходили при смещении активации в сторону врождённой ИС за счёт роста уровня неклассических моноцитов, Т-клеток центральной памяти, снижения функциональной активности ЦТЛ и Th лимфоцитов, увеличения NKG2D⁺ активированных ЦТЛ. При этом относительное содержание клеток эффекторной памяти, двойных положительных лимфоцитов и НКТ-клеток снижалось.

При исходной лимфопении с активацией ИС развитие иммунологических процессов приводило к торможению активности иммунного ответа за счёт истощения активности ИС: наблюдался рост миграции с ФГА (снижение функциональной активности Th), рост CD3⁺CD4⁺CTLA4⁺ и CD95⁺ клеток при снижении относительного содержания двойных положительных лимфоцитов. Относительно редко пациенты выходили из этого состояния в состояние лимфоцитоза за счёт роста всех субпопуляций Т-лимфоцитов на фоне относительного снижения уровня Treg. Однако повышался уровень поздних маркеров активации на всех клетках и уровень CD3⁺CD27⁺CD62L⁺, CD3⁺CD28⁺CD62L⁺ лимфоцитов.

Лимфоцитоз с активацией ИС (2 кластер) сменялся лимфоцитозом с торможением ИС (9 кластер) или моноцитозом с активацией ИС (5 кластер). При первом варианте наблюдался рост истощения ИС за счёт роста числа клеток с маркерами поздней активации, при втором – за счёт увеличения содержания Treg и повышения функциональной активности ЦТЛ. В обоих случаях наблюдался рост НКТ⁺ и CD38⁺ лимфоцитов.

Кластеры 9, 11, 12 и 13 формировали равновесную систему, характеризовавшуюся разными доминантами активации ИС на фоне общего торможения иммунного ответа. В 10 кластере такой доминантой были HLA-DR⁺ и CD62L⁺ лимфоциты, в 11 – двойные положительные лимфоциты с низким уровнем маркеров активации на всех клетках, в 12 – CD25⁺ лимфоциты (преимущественно Th), в 13 – NKG2D⁺ клетки.

5.6. Анализ соответствий отдельных групп иммунологических синдромов

В нашей работе мы оценили несколько различных классификаций состояния ИС, как разработанных нами, так и предложенных другими авторами. Для определения общности этих показателей мы провели множественный анализ соответствия этих систем (рисунки 45 и 46). При построении модели решение с использованием двух размерностей позволяло объяснить всю дисперсию наблюдений, поэтому увеличение размерности не требовалось. При анализе соответствий у больных меланомой, как наиболее крупной из имеющихся групп, оказалось, что первая размерность объясняет преимущественно состояние специфического звена ИС, выделяя состояние его подавления.

Вторая размерность позволяла дифференцировать состояние между пониженной реакцией ИС на патологический процесс, состоянием активации врождённой части иммунной системы и гиперактивацией адаптивной иммунной системы. При этом для всех кластеров, связанных с активацией ИС или её пониженным реагированием, было характерно удовлетворительное состояние Т-клеточного звена на фоне активации ИС, т.е. с повышенным содержанием клеток с ранними маркерами активации.

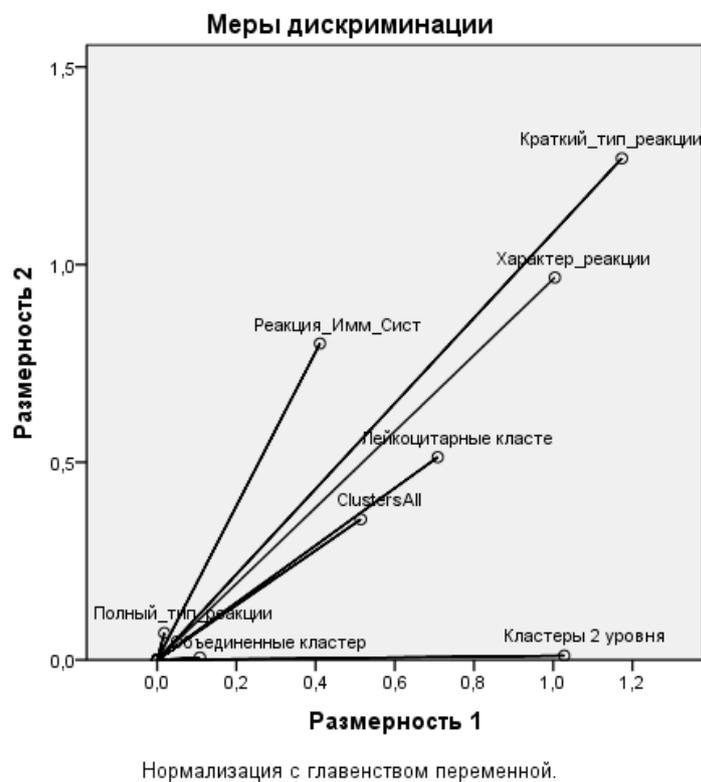


Рисунок 45 – Вклад каждой классификации в определение отдельных размерностей

Это позволяет предположить, что подобное состояние угнетения является активным процессом, регулируемым механизмами ИС. Остальные три состояния характеризуются активацией тех или иных компенсаторных механизмов и отражают диапазон реакций от игнорирования злокачественного процесса до активации неспецифического и специфического звеньев, что, с учётом прогностического значения данных синдромов, может отражать процесс стимуляции ИС опухолевого роста.

Распределение пациентов по описываемым размерностям (рисунок 4б) свидетельствует о комплексном характере возникновения синдромов, что осложняет задачу их выделения и описания. Тем не менее для дальнейшего анализа может быть сформирован ряд групп синдромов, относящихся к описанным выше группам:

Пониженная реактивность иммунной системы:

- кластеры активации и торможения ИС при РЗ лимфоцитарных субпопуляций;
- группа нормализации по реакции ИС;
- кластеры моноцитоза;
- ареактивный вариант реагирования;
- характер реакции – нормореакция.

Торможение адаптивной ИС:

- кластеры лимфопении;
- группа умеренной супрессии по реакции ИС;
- иммунодефицитный вариант реагирования;
- характер реакции ИС – декомпенсированный лимфопоз.

Воспалительный фенотип (как вариант дезинтеграции ИС):

- кластеры лимфоцитоза;
- кластеры воспалительного сдвига;
- вариант реагирования – активация врождённого иммунитета;
- дисрегуляторный вариант реагирования;
- характер реакции – асимметричная стимуляция лимфопоза.

Синдромы гиперактивации адаптивной ИС (близкие к группе воспалительного сдвига):

- характер реакции – активация лимфопоза;
- тип реакции ИС – активация адаптивного иммунитета;
- группа гиперактивации в реакции ИС.

Таким образом, выявленные нами кластеры представляют собой ряд относительно устойчивых состояний ИС, сменяющихся у пациентов в определённой последовательности и образующих устойчивые группы, объединённые сходными процессами иммунопатогенеза

заболевания. Клиническая значимость таких состояний, равно как и их смены, требует оценки в прогностических и предиктивных моделях при сопоставлении с известными прогностическими факторами. Поскольку характеристику состояний удалось получить не у всех пациентов, неохарактеризованные больные будут использоваться в качестве группы сравнения при оценке прогностической и предиктивной значимости отдельных иммунологических синдромов.

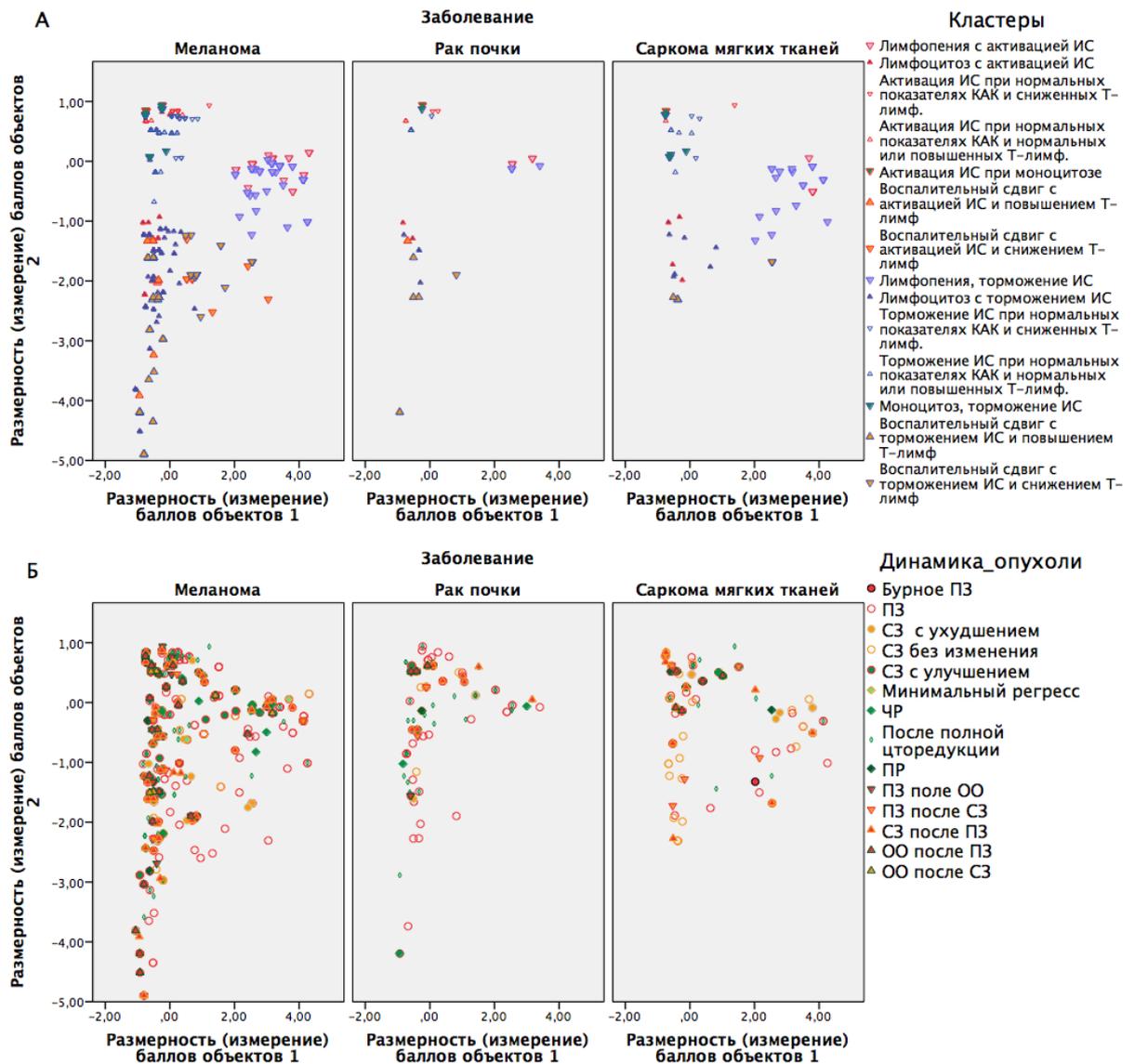


Рисунок 46 – Распределение наблюдений по выявленным размерностям.

Наблюдения отмечены в соответствии с выделенными нами кластерами иммунологических изменений (А) и эффектом терапии (Б)

ГЛАВА 6. РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ В КАЧЕСТВЕ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ И ПРЕДИКТИВНЫХ ФАКТОРОВ

6.1. Методика оценки иммунологических показателей как прогностических и предиктивных факторов

Для оценки связи иммунологических показателей с показателями ответа на лечение и общей выживаемости был проведён ряд статистических тестов. Для анализа связи отклонений в значениях отдельных показателей с частотой ОО использовались методы анализа таблиц сопряжённости для порядковых (η) и номинальных (U) переменных. В качестве критерия для расчёта альфа-ошибки (α) использовался тест отношения правдоподобия LRT. Поскольку в исследовании допускалось использование нескольких результатов иммунологического обследования от одного больного, проведенных во время одной линии терапии, проводился отдельный анализ всех измерений показателя (с переменными текущего ответа на лечение) и оценённых только до начала лечения (с переменной наилучшего ответа на лечение в качестве отклика). Подобным методом оценивались как отклонения отдельных показателей от РЗ, так и характеристики отдельных состояний ИС, полученных нами ранее или описанных другими авторами.

Для анализа показателей выживаемости применялась модель пропорциональных рисков Кокса. В качестве отклика анализировались показатели ОВ и ВДП от момента оценки иммунного статуса. Отдельно проводился анализ иммунного статуса до начала терапии. Все факторы объединялись в три группы. К факторам с доказанной прогностической значимостью, принудительно включавшимся в модели, относились стадии (первая – четвертая), прогностические подгруппы (благоприятный, неопределённый, неблагоприятный). Для меланомы в эту же группу включалось наличие мутаций в гене BRAF или C-Kit. Во второй группе объединялись факторы с возможной значимостью – пол, возраст (как непрерывная величина и как категориальная переменная до и после 65 лет), качественные характеристики лечения. К этой же группе были добавлены параметры, отражающие длительность лечения и длительность заболевания для учёта множественных наблюдений. Длительность лечения кодировалась как категориальная переменная, которая включала состояние до лечения, ранние этапы лечения (первый месяц), прочие этапы лечения и состояние после окончания терапии.

Для учёта длительности заболевания рассчитывалось количество месяцев от постановки диагноза. Включение факторов в данной группе осуществлялось методом условного включения: параметр добавлялся в модель при $p < 0,05$ и исключался из модели при $p > 0,1$. Первые два блока изначально оценивались без показателей иммунного статуса для оценки

модели без новых факторов и исключения незначимых переменных. Все переменные проверялись на взаимодействие. При выявлении переменных с коэффициентом корреляции более 0,7 коррелирующая переменная с наименьшей известной значимостью исключалась из модели.

Перечень полученных факторов в модели представлен в таблице 19. Возраст, пол, параметры длительности заболевания и лечения включались в модель изучения иммунологических параметров вне зависимости от их влияния на показатели выживаемости. Факторы, выделенные как значимые на предыдущем этапе, принудительно включались в модель прогнозирования. После к модели добавляли третий блок факторов. В третью группу входили анализируемые параметры иммунного статуса или состояния ИС, каждый из которых поочередно включался в модель. Так же, как и на предыдущем шаге, проводилась оценка взаимодействия факторов и добавление взаимодействующих факторов в качестве отдельных переменных. Кроме того, факторы, взаимодействовавшие в предшествующем анализе с эффектами и терапией, добавлялись в модель с учётом их взаимодействия с видом лечения или последним зарегистрированным эффектом терапии.

Таблица 19 – Значимые факторы прогноза ОВ и ВДП без учёта показателей иммунного статуса

Фактор	ВДП			ОВ		
	ОР	95% ДИ	p	ОР	95% ДИ	p
1	2	3	4	5	6	7
Меланома, адьювантная терапия						
ЛДГ не определена	1	–	0,046	1	–	0,001
ЛДГ ≤ ВГН	1,57	1,04– 2,37	0,032	0,254	0,091– 0,708	0,009
ЛДГ > ВГН	0,746	0,421– 1,324	0,317	1,972	1,163– 3,345	0,012
Адьювантная терапия не проводилась	1	–	<0,0005	1	–	<0,0005
ГМВ	0,874	0,532– 1,435	0,595	0,356	0,202– 0,628	<0,0005
ДКВ	0,897	0,59– 1,364	0,611	1,265	0,792– 2,022	0,325
НМВ	2,095	1,215– 3,614	0,008	3,715	2,066– 6,678	<0,0005
Пол: мужской	1,293	1,013– 1,651	0,039	1,424	1,053– 1,925	0,022
Стадия	1,909	1,496– 2,436	<0,0005	5,101	3,612– 7,204	0
Подстадия: промежуточная/ неопределённая	1		НЗ	1		0,024

1	2	3	4	5	6	7
Подстадия неблагоприятная	НЗ	НЗ	НЗ	0,673	0,397– 1,142	0,142
Подстадия благоприятная	НЗ	НЗ	НЗ	1,315	0,965– 1,791	0,083
Время от постановки диагноза, мес.	0,986	0,98– 0,991	<0,0005	0,99	0,983– 0,997	0,007
Линии системного лечения	НЗ	НЗ	НЗ	0,685	0,559– 0,84	<0,0005
Методы воздействия на кинетику иммунных процессов	0,295	0,154– 0,565	<0,0005	3,087	1,419– 6,716	0,004
Методы воздействия на кинетику иммунных процессов в анамнезе	НЗ	НЗ	НЗ	1,813	1,206– 2,727	<0,0005
Методы с возможным иммуномодулирующим действием	8,961	3,686– 21,785	<0,0005	16,107	8,188– 31,682	<0,0005
Методы устранения иммуносупрессирующих факторов	НЗ	НЗ	НЗ	0,197	0,092– 0,42	<0,0005
Методы с возможным иммуномодулирующим действием в анамнезе	3,781	2,132– 6,708	<0,0005	3,578	1,694– 7,56	<0,0005
Методы устранения иммуносупрессирующих факторов в анамнезе	2,346	1,512– 3,639	<0,0005	5,702	3,223– 10,087	<0,0005
Методы усиления презентации антигена в анамнезе	0,677	0,465– 0,987	0,042	НЗ	НЗ	НЗ
Химиотерапия в анамнезе	НЗ	НЗ	НЗ	6,159	2,054– 18,464	<0,001
Драйверные мутации не оценены	1	–	<0,0005	1	–	0,017
Дикий тип мутаций	1,441	0,883– 2,353	0,144	0,345	0,161– 0,737	0,006
Наличие мутаций в гене BRAF	1,99	1,507– 2,628	<0,0005	1,046	0,719– 1,523	0,814
Первично-множественная опухоль	0,261	0,119– 0,569	0,001	НО	НО	НО
Редкие формы меланомы	0,311	0,093– 1,039	0,058	НО	НО	НО
Достигнут контроль над опухолью	0,291	0,197– 0,43	<0,0005	НЗ	НЗ	НЗ
Возраст >65 лет	0,49	0,319– 0,753	0,001	НЗ	НЗ	НЗ
Меланома, паллиативная терапия						
ЛДГ не определена	1	–	<0,0005	1	–	<0,0005

1	2	3	4	5	6	7
ЛДГ ≤ ВГН	0,838	0,687– 1,023	0,082	1,512	1,171– 1,952	0,002
ЛДГ > ВГН	1,83	1,477– 2,267	<0,0005	2,56	1,986– 3,301	<0,0005
МХТ	1	–	<0,0005	1	–	<0,0005
анти-CTLA4	0,63	0,446– 0,89	0,009	0,348	0,243– 0,497	<0,0005
анти-PD1	0,449	0,264– 0,763	0,003	0,178	0,09– 0,354	<0,0005
ГМВ	1	1,647– 4,197	<0,0005	0,616	0,433– 0,876	0,007
ДКВ	1,605	1,016– 2,536	0,043	0,673	0,48– 0,945	0,022
НМВ	1,051	0,652– 1,694	0,837	0,688	0,428– 1,107	0,123
Прочее	0,997	0,591– 1,682	0,992	0,542	0,309– 0,951	0,033
ПХТ	0,91	0,561– 1,476	0,703	0,324	0,183– 0,575	<0,0005
ТТ	1,058	0,654– 1,711	0,819	0,964	0,584– 1,59	0,885
ХИТ	1,568	0,984– 2,5	0,058	1	0,323– 0,738	0,001
Цитокины	2,152	1,313– 3,527	0,002	0,655	0,461– 0,932	0,019
Стадия	1,212	0,977– 1,504	0,08	2,663	2,004– 3,538	<0,0005
Последний зарегистрированный эффект: ПЗ	1	–	<0,0005	0	–	<0,0005
СЗ	0,575	0,468– 0,707	<0,0005	0,463	0,375– 0,573	<0,0005
ОО	0,341	0,258– 0,451	<0,0005	0,244	0,175– 0,338	<0,0005
Пол: мужской	0,832	0,724– 0,957	0,01	1,315	1,116– 1,55	0,001
Первично-множественная опухоль	0,135	0,087– 0,208	<0,0005	НЗ	НЗ	НЗ
Этап лечения: до лечения	1	–	<0,0005	НЗ	НЗ	НЗ
Начало терапии	0,993	0,824– 1,197	0,941	НЗ	НЗ	НЗ
Продолжение терапии	1,366	1,143– 1,633	0,001	НЗ	НЗ	НЗ
После завершения терапии	1,64	1,25– 2,15	<0,0005	НЗ	НЗ	НЗ
Методы воздействия на кинетику иммунных процессов	0,481	0,353– 0,655	<0,0005	НЗ	НЗ	НЗ

1	2	3	4	5	6	7
Методы воздействия на кинетику иммунных процессов в анамнезе	НЗ	НЗ	НЗ	0,382	0,313–0,465	<0,0005
Методы усиления презентации антигена	0,684	0,497–0,942	0,02	НЗ	НЗ	НЗ
Методы модуляции активности иммунного синапса в анамнезе	0,668	0,547–0,816	<0,0005	НЗ	НЗ	НЗ
Методы устранения иммуносупрессирующих факторов	1,881	1,236–2,862	0,003	НЗ	НЗ	НЗ
Методы с возможным иммуномодулирующим действием в анамнезе	НЗ	НЗ	НЗ	1,636	1,366–1,959	<0,0005
Наличие симптомов заболевания	1,292	1,03–1,622	0,027	НЗ	НЗ	НЗ
Драйверные мутации не оценены	НЗ	НЗ	НЗ	1	–	<0,0005
Дикий тип мутаций	НЗ	НЗ	НЗ	0,521	0,408–0,664	<0,0005
Наличие мутаций в гене BRAF	НЗ	НЗ	НЗ	0,528	0,416–0,67	<0,0005
Возраст старше 65 лет	НЗ	НЗ	НЗ	0,799	0,641–0,996	0,046
Подстадия: промежуточная/неопределённая	НЗ	НЗ	НЗ	1	–	<0,0005
Подстадия неблагоприятная	НЗ	НЗ	НЗ	0,507	0,359–0,715	<0,0005
Подстадия благоприятная	НЗ	НЗ	НЗ	0,658	0,474–0,913	0,012
Редкие формы меланомы	НЗ	НЗ	НЗ	0,607	0,485–0,759	<0,0005
Наличие иНЯ	НЗ	НЗ	НЗ	0,714	0,586–0,871	0,001
Время от постановки диагноза, мес.	НЗ	НЗ	НЗ	0,995	0,993–0,997	<0,0005
Линия системного лечения	НЗ	НЗ	НЗ	1,102	1,044–1,162	<0,0005
ПКР, адьювантная терапия						
ДКВ	1	–	<0,0005	1	–	<0,0005
НМВ	12,02	5,259–27,474	<0,0005	0,044	0,018–0,108	<0,0005
Пол: мужской	НЗ	НЗ	НЗ	0,189	0,088–0,407	<0,0005
Стадия	НЗ	НЗ	НЗ	1,596	1,039–2,45	0,033
Линии системного лечения	НЗ	НЗ	НЗ	57,434	20,372–161,923	<0,0005

1	2	3	4	5	6	7
Время от постановки диагноза, мес.	1,033	1,018–1,049	<0,0005	H3	H3	H3
ПКР, паллиативная терапия						
Пол: мужской	H3	H3	H3	0,38	0,24–0,602	<0,0005
Возраст, лет	H3	H3	H3	0,956	0,932–0,98	<0,0005
Возраст, после 65 лет	1,012	1,003–1,02	0,006	1,033	1,022–1,045	<0,0005
Подтип не определён	1	–	<0,0005	1	–	<0,0005
Несветлоклеточный	4	2,294–6,974	<0,0005	2,481	1,307–4,708	0,005
Светлоклеточный	0,697	0,472–1,028	0,069	0,502	0,319–0,79	0,003
Методы усиления презентации антигена в анамнезе	H3	H3	H3	0,513	0,302–0,87	0,013
Время от постановки диагноза, мес.	H3	H3	H3	0,99	0,984–0,996	0,002
Последний зарегистрированный эффект: ПЗ	1	–	0,003	H3	H3	H3
СЗ	0,878	0,578–1,333	0,541	H3	H3	H3
ОО	0,385	0,221–0,67	0,001	H3	H3	H3
Прогноз: промежуточный/не определён	1	–	0,001	H3	H3	H3
Благоприятный прогноз	0,27	0,12–0,604	0,001	H3	H3	H3
СМТ, паллиативная терапия						
ПХТ	1	–	<0,0005	0	–	0,016
ДКВ	1,732	1,277–2,348	<0,0005	0,768	0,495–1,193	0,241
МХТ	3,512	1,871–6,594	<0,0005	1,928	0,943–3,943	0,072
Стадия M1	H3	H3	H3	2,229	1,359–3,658	0,002
Этап лечения: до лечения	1	–	0,002	H3	H3	H3
Начало терапии	1,254	0,796–1,975	0,33	H3	H3	H3
Продолжение терапии	0,859	0,617–1,195	0,367	H3	H3	H3
После завершения терапии	2,68	1,449–4,958	0,002	H3	H3	H3
L-саркомы	1,743	1,256–2,42	0,001	H3	H3	H3

1	2	3	4	5	6	7
Пол: мужской	НЗ	НЗ	НЗ	0,483	0,323– 0,723	<0,0005
Последний зарегистрированный эффект: ПЗ	НЗ	НЗ	НЗ	1	–	<0,0005
СЗ	НЗ	НЗ	НЗ	0,872	0,597– 1,272	0,477
ОО	НЗ	НЗ	НЗ	0,462	0,257– 0,833	0,01
Линия системного лечения	НЗ	НЗ	НЗ	1,155	1,041– 1,282	0,006
Методы воздействия на опухоль с последующей активацией/индукцией	НЗ	НЗ	НЗ	3,739	1,508– 9,275	0,004
Методы устранения иммуносупрессирующих факторов	НЗ	НЗ	НЗ	3,165	1,468– 6,824	0,003
Методы с возможным иммуномодулирующим действием в анамнезе	НЗ	НЗ	НЗ	1,896	1,113– 3,23	0,019
Химиотерапия в анамнезе	НЗ	НЗ	НЗ	1,674	1,023– 2,739	0,04

Для обеспечения релевантности модели из анализа исключались переменные с числом полных наблюдений менее 10 на одну категорию в первых двух блоках и менее 8 в третьем блоке [261]. Ввиду малого количества наблюдений у больных КРР анализ выживаемости методом пропорциональных рисков Кокса не проводился.

Пациенты с пропущенными наблюдениями исключались из анализа. Также из анализа исключались группы наблюдений, в которых было недостаточное количество случаев для оценки изучаемых параметров. Для анализа частоты объективных ответов требовалось не менее 10 человек на каждом уровне анализируемого параметра для включения в анализ. Для показателей выживаемости анализ проводился, если количество наблюдений в три раза превышало количество факторов, включённых в итоговую 3-блочную модель.

Для унификации отображения результатов все связи отображались в показателях относительного риска, полученных из четырёхпольных таблиц или из регрессионного уравнения. Во всех случаях сравнение производилось с группой РЗ показателя (в случае использования категоризированных данных для анализа). В случае, когда при РЗ частота события была равна 0, для расчёта ОР использовались верхние границы ДИ. Для увеличения мощности исследования к данной группе прибавлялись все значения, не имевшие статистически значимых различий с ней. Для оценки направленных мер связи в качестве зависимой переменной использовался ответ на терапию. Уровень значимости корректировался

методом Холма–Бонферрони на множественные сравнения. Значимыми считались результаты с уровнем значимости $<0,05$ после коррекции.

Оценка влияния показателей иммунного статуса на выживаемость проводилась в несколько этапов. На первых этапах оценивалась роль небольших групп показателей, которые добавлялись как отдельные блоки методом условного включения к ранее созданным прогностическим моделям (см. таблицу 19). Взаимодействие показателей между собой и выявленное взаимодействие с видом лечения на предыдущем этапе учитывалось в отдельном блоке факторов.

6.2. Прогностическое и предиктивное значение иммунологических показателей у больных меланомой

6.2.1. Прогностическое и предиктивное значение уровня лейкоцитов

Отклонение в уровне лейкоцитов оказывало существенное влияние, прежде всего, на все виды иммунотерапии. При применении анти-CTLA4 препаратов происходило перераспределение эффектов в зависимости от уровня лейкоцитов. Частота ОО была максимальна при РЗ, тогда как при сниженных значениях подобных ответов не наблюдалось вовсе, а при повышении уровня лейкоцитов они регистрировались реже ($p=0,002$). Интересно отметить, что лейкоцитоз наблюдался при всех случаях гиперпрогрессирования ($p<0,05$). При проведении анти-PD1 терапии, наоборот, у всех больных с лейкопенией был зарегистрирован ОО, тогда как при РЗ или лейкоцитозе ответ наблюдался лишь у 50% больных. Похожая тенденция наблюдалась при применении ДКВ, где частота ОО при лейкопении 1–2 степени была заметно выше, чем при лейкоцитозе и РЗ, тогда как частота ПЗ была снижена ($p=4,3\times 10^{-5}$). При применении цитокинов частота объективного ответа у больных с лейкопенией 1–2 степени была также повышена. При общей оценке данного показателя наблюдалось снижение эффективности терапии при РЗ уровня лейкоцитов и ещё большее снижение – при лейкоцитозе ($p=3,4\times 10^{-9}$). Оценка связи отклонения показателя до лечения с наилучшим эффектом терапии не выявила статистически значимых взаимодействий ($p>0,05$).

При анализе уровня лейкоцитов у больных, получавших адъювантную терапию ДКВ, процесс прогрессирования чаще регистрировался при повышенных значениях данного показателя (21% против 4% – при РЗ и 0% – при сниженных значениях, $p=0,025$). Аналогичная тенденция наблюдалась и в целом у всех больных, однако не достигала заданного уровня значимости ($p=0,052$).

При оценке ОВ у больных, получавших адъювантную терапию меланомы, повышение уровня лейкоцитов являлось неблагоприятным фактором прогноза (ОР 1,45; $p=0,003$). При

оценке ВДП риск прогрессирования был ниже у больных с отклонениями уровня лейкоцитов от РЗ (ОР 0,586; $p=0,015$). Взаимодействия уровня лейкоцитов с видом терапии в качестве фактора прогноза выявлено не было ($p>0,05$). При анализе иммунных статусов, оценённых только до начала адъювантной терапии, связи уровня лейкоцитов с показателями ОВ и ВДП также не было выявлено ($p>0,05$).

У больных, получавших самостоятельную терапию, повышение уровня лейкоцитов ассоциировалось с ростом риска смерти (ОР 1,02; $p=10^{-10}$). При этом как снижение показателя ниже РЗ, так и повышение его имело в целом негативное прогностическое значение ($p=0,001$ и $p=0,035$ соответственно). Однако роль данного фактора существенно зависела от вида лечения ($p<0,05$). Так, у больных, получавших анти-CTLA4 терапию, снижение показателя в значительно меньшей степени повышало риск смерти (ОР 1,945 против 12,961 в общей группе). Риск смерти также незначительно увеличивался у больных, получавших ХИТ, при снижении уровня лейкоцитов ниже РЗ (ОР=1,769). У пациентов, получавших ДКВ, снижение уровня лейкоцитов ниже РЗ вообще снижало ОР смерти до 0,571. Повышение уровня лейкоцитов выше РЗ являлось негативным фактором прогноза для всех пациентов, кроме получавших ТТ, для которых риск смерти при лейкоцитозе снижался до 0,488. При анализе ВДП уровень лейкоцитов, равно как и отклонения от РЗ, сохранили свою значимость, как и при анализе ОВ, однако значительно меньше влияли на риск ПЗ ($p<0,05$). При оценке иммунного статуса исключительно до лечения уровень лейкоцитов и его отклонения от РЗ также оказались значимыми факторами прогноза ОВ и ВДП ($p<0,05$).

6.2.2. Прогностическое и предиктивное значение уровня лимфоцитов

Абсолютный уровень лимфоцитов не был связан с объективным ответом на лечение ($p>0,05$ во всех подгруппах). При более детальном анализе ответов расхождения в частоте прогрессирования (но не гиперпрогрессирования) становились статистически значимыми ($p<0,05$) у больных, получавших ипилимумаб, при сравнении с пациентами с повышенным или нормальным абсолютным содержанием лимфоцитов. При подробном изучении ответов на вакцинотерапию казалось, что умеренная лимфопения была связана с большей частотой СЗ (10,7% против 0% при РЗ, $p<0,05$), при которой не наблюдалось какой-либо динамики опухолевых очагов или симптомов, тогда как тенденция к улучшению состояния в рамках СЗ чаще, но статистически незначимо, встречалась при РЗ. При применении ДКВ более глубокие ЧР наблюдались у пациентов с лимфопенией (33% – при глубокой лимфопении, 26,8% – при умеренной), чем у пациентов с РЗ (8,5%) или при лимфоцитозе (12,5%). При рассмотрении

тенденций в динамике ответа на всей популяции пациентов с меланомой оказалось, что лимфоцитоз ассоциировался с регрессирующей опухолью (ОР 2,42; $p < 0,05$).

Относительная лимфопения была ассоциирована со сниженной эффективностью анти-CTLA4 терапии ($p = 0,001$), преимущественно за счёт увеличения частоты ПЗ, гиперпрогрессирования у пациентов с лимфопенией и снижения частоты ОО. Эта же тенденция наблюдалась при сопоставлении относительного уровня лимфоцитов до лечения с наилучшим ответом на терапию ($p = 0,0297$). Важно отметить, что изменения частоты СЗ выявлено не было. У пациентов, получавших ДКВ, частота ОО увеличивалась у больных с относительным лимфоцитозом (χ^2 , $p = 0,032$), прежде всего, за счёт выраженных ЧР. Аналогичные закономерности были выявлены при анализе ХИТ ($p = 0,005$). Интересно отметить, что при сравнении уровня лимфоцитов до лечения с максимальным эффектом ХИТ у больных с РЗ показателя наблюдались максимальная частота ОО и минимальная частота СЗ и ПЗ, тогда как при лимфопении и лимфоцитозе наилучшим возможным ответом была СЗ ($p < 0,05$). При применении НМВ наилучшие результаты достигались у больных с лимфопенией ($p = 0,042$). В целом относительная лимфопения снижала частоту ОО и повышала частоту ПЗ ($p = 8,5 \times 10^{-7}$).

При оценке динамики опухоли у больных, получавших адъювантную терапию ДКВ, оказалось, что при повышенных относительных, но не абсолютных, значениях уровня лимфоцитов чаще всего сохранялась достигнутая ремиссия, тогда как по мере снижения уровня лимфоцитов все чаще отмечалось развитие процесса прогрессирования опухоли ($p = 0,009$). Аналогичная тенденция прослеживалась и при оценке всех пациентов без учёта вида адъювантной терапии ($p = 0,005$).

При оценке ОВ и ВДП у больных, получавших адъювантную терапию, относительный уровень лимфоцитов оказался значимым фактором, снижающим риск как прогрессирования (ОР 0,965; $p = 9 \times 10^{-5}$), так и смерти (ОР 0,951; $p = 9 \times 10^{-5}$). В модели ОВ было выявлено значимое взаимодействие абсолютного уровня лимфоцитов с видом лечения ($p = 0,018$). У больных, получавших ДКВ, наблюдалась тенденция к снижению риска смерти при повышении этого показателя и к повышению риска смерти при понижении абсолютного уровня лимфоцитов относительно РЗ, однако данная тенденция не достигала заданного в исследовании уровня значимости ($p = 0,067$ и $p = 0,061$ соответственно). При оценке иммунных статусов, взятых до лечения, значимое влияние на ВДП оказывал лишь относительный уровень лимфоцитов у больных, получавших адъювантную терапию ДКВ, с повышением которого снижался риск прогрессирования (ОР 0,994; $p = 0,015$). Связи уровня лимфоцитов с ОВ выявлено не было ($p > 0,05$).

Анализ данных пациентов, получавших самостоятельную системную терапию, показал, что уровень лимфоцитов является независимым от лечения фактором прогноза ОВ. При этом с повышением абсолютного уровня риск смерти повышался (ОР 1,364; $p=8 \times 10^{-7}$), тогда как при повышении относительного уровня – снижался (ОР 0,957; $p=7 \times 10^{-7}$). Аналогичные тенденции наблюдались в отношении риска ПЗ (ОР 1,153; $p=0,017$ и ОР 0,974; $p=4 \times 10^{-4}$). Можно также было выделить дополнительный негативный фактор в виде снижения относительного уровня лимфоцитов ниже РЗ, что увеличивало риск смерти пациента ($p=0,029$) в дополнение к вышеуказанным факторам. Роль изменения лимфоцитов при различных методах терапии не оценивалась ввиду высокой взаимосвязи таких оценок с методами терапии (коэффициенты корреляции регрессионных коэффициентов $>0,7$), что нарушало предположения метода пропорциональных рисков. При оценке риска ПЗ отклонения уровня лимфоцитов от РЗ имели самостоятельное прогностическое значение лишь при проведении терапии анти-CTLA-4 ($p=0,03$) и использовании цитокинов ($p=0,009$). Отклонение лимфоцитов от РЗ также имело прогностическое значение ($p=0,009$), однако поскольку МХТ была выбрана в качестве контрольной группы, рассчитать влияние лимфоцитов у этих пациентов в нашей модели не представлялось возможным. При оценке иммунного статуса исключительно до лечения лишь отклонения уровня лимфоцитов (как относительного, так и абсолютного) от РЗ оказались значимыми факторами прогноза ОВ и ВДП ($p<0,05$). При этом сниженный абсолютный уровень лейкоцитов до лечения снижал риск смерти (ОР 0,603), тогда как все другие отклонения его повышали в 1,8–2,6 раза.

6.2.3. Прогностическое и предиктивное значение уровня моноцитов

Моноцитоз исключал вероятность СЗ при применении анти-PD1 терапии и не оказывал существенного влияния на иные исходы ($p=0,046$). При более детальном анализе моноцитоз чаще наблюдался у пациентов с минимальным, а не выраженным, регрессом опухоли или у пациентов в процессе развития объективного ответа. Вероятность ОО при применении ДКВ также значимо снижалась за счёт увеличения доли больных с ПЗ и снижения вероятности достижения выраженного ЧР ($p=0,004$). Интересно отметить, что при оценке иммунного статуса до лечения наблюдалась обратная, но статистически незначимая ($p=0,143$) тенденция. Коэффициент сопряжённости при этом составил 0,308, что свидетельствует о связи умеренной силы между показателями ($p=0,012$). В целом моноцитоз снижал частоту ОО и СЗ и повышал частоту ПЗ при анализе данных всех пациентов с меланомой ($p=8,5 \times 10^{-7}$). Однако взаимосвязь показателей во всей оцениваемой группе была более слабой (коэффициент

сопряжённости 0,182; $p=2,9 \times 10^{-5}$). Относительное содержание моноцитов никакого влияния на эффект не оказывало.

При анализе больных, получавших адъювантную терапию, ассоциации уровня моноцитов с ПЗ выявлено не было ($p>0,05$). Вместе с тем повышенный уровень моноцитов увеличивал риск смерти данных больных в многофакторной модели ($p=0,002$) при использовании ГМВ. При оценке ВДП выявлено противоречивое значение абсолютного уровня моноцитов при разных видах лечения. Так, с ростом данного показателя на единицу относительный риск ПЗ снижался на 87,2% у больных, получавших ГМВ, и повышался в 5,26 раза у больных, получавших ДКВ ($p=0,002$ и $p=0,001$ соответственно). При анализе иммунных статусов, взятых исключительно до лечения, уровень моноцитов был независимым фактором неблагоприятного прогноза ОВ ($p=0,024$), но не ВДП ($p=0,41$). Важно отметить, однако, что определить роль лечения в данной модели не представлялось возможным из-за недостаточного количества полных наблюдений.

Оценка данных пациентов, получавших системное лекарственное лечение, показала, что повышение абсолютного, но не относительного, уровня моноцитов является независимым неблагоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 3,784; $p=5 \times 10^{-6}$). Отклонение относительного уровня от РЗ имело статистически значимую связь с риском смерти лишь при определённых видах лечения. Так, у больных, получавших цитокины, снижение уровня моноцитов ниже НГН являлось фактором неблагоприятного прогноза ОВ (ОР 8,125; $p=0,004$). При оценке ВДП абсолютный моноцитоз также являлся независимым фактором прогноза ОВ и ВДП (ОР 3,784 и ОР 1,25 соответственно; $p=0,012$). При анализе показателя до лечения оказалось, что с увеличением уровня моноцитов возрастал риск смерти больных вне зависимости от проведённого адъювантного лечения (ОР 1,362; $p=0,007$). Причем при анализе отдельных видов лечения оказалось, что повышение уровня моноцитов является благоприятным фактором прогноза ВДП у больных, получавших адъювантную ГМВ (ОР 0,128; $p=0,001$), и неблагоприятным (ОР 5,263; $p=0,001$) у больных, получавших ДКВ по аналогичным показаниям.

Уровень CD14⁺ моноцитов являлся значимым прогностическим, но не предиктивным фактором прогноза ВДП. Повышение уровня этих клеток на 1×10^9 /л снижало риск ПЗ на 80,3% ($p=0,004$) у больных, получавших адъювантную терапию, тогда как повышение относительного содержания на 1% увеличивало риск ПЗ на 4% ($p=0,046$) в многофакторном анализе. Подобная тенденция наблюдалась и при применении ГМВ, однако здесь она не достигла заданного уровня значимости ($p=0,054$). Повышение уровня моноцитов выше РЗ имело тенденцию

к повышению риска смерти у больных, получавших ПХТ, но и здесь заданный нами уровень значимости также не был достигнут ($p=0,059$).

При анализе самостоятельных режимов лечения с повышением относительного уровня CD14⁺ моноцитов увеличивался риск смерти (ОР 1,024; $p=0,01$). Абсолютный уровень лучше отражал риск ПЗ (ОР 2,172; $p=0,01$) и также являлся фактором неблагоприятного прогноза. При оценке иммунного статуса до лечения относительный уровень CD14⁺ моноцитов сохранял своё негативное прогностическое значение (ОР 1,042; $p=0,007$).

6.2.4. Прогностическое и предиктивное значение уровня нейтрофилов и показателей фагоцитарной активности лейкоцитов

Уровень нейтрофилов не имел статистически значимых связей с эффектом терапии ($p>0,05$). При более детальном рассмотрении этого показателя оказалось, что частота прогрессирования и гиперпрогрессирования при нейтрофильном лейкоцитозе увеличивалась, а вероятность развития эффекта терапии снижалась по мере роста уровня нейтрофилов (как относительного, так и абсолютного) у больных, получавших ипилимумаб ($p=0,035$). При анализе всей популяции в целом частота выраженных ответов на лечение была ниже при нейтрофильном лейкоцитозе ($p=0,000013$; Кос 0,297). Подобные тенденции сохранялись и при анализе связи уровня нейтрофилов до лечения с наилучшим ответом на терапию во всей популяции больных ($p=0,024$). У больных, получавших самостоятельное системное лечение, отклонение как абсолютного, так и относительного уровня нейтрофилов от РЗ являлось значимым независимым фактором прогноза ОВ и ВДП ($p\leq 0,002$). При оценке иммунных статусов, взятых до лечения, значимым фактором прогноза ВДП являлся лишь абсолютный уровень нейтрофилов ($p=0,01$). Связи показателя с ОВ выявлено не было ($p>0,05$).

При анализе адьювантной терапии без учёта вида лечения была отмечена тенденция к повышенной частоте развившегося ПЗ и прогрессирующего состояния опухоли ($p=0,013$) у больных с повышенным абсолютным уровнем нейтрофилов. Пациенты с РЗ или пониженными значениями чаще всего (82,2%) не имели признаков ПЗ в момент оценки иммунного статуса или при ближайшем контрольном обследовании, тогда как при повышенном абсолютном уровне нейтрофилов стабильное состояние опухоли наблюдалось лишь у 62,5% пациентов. Относительные значения уровня нейтрофилов также подтверждали описываемую тенденцию ($p=0,0078$). В нашем исследовании уровень нейтрофилов не оказывал существенного влияния на показатели ОВ ($p>0,05$) у больных меланомой, получавших адьювантную терапию. Снижение относительного уровня нейтрофилов ниже РЗ снижало риск ПЗ ($p=0,004$).

При оценке иммунного статуса до лечения уровень нейтрофилов не оказывал влияния на показатели ОВ или ВДП при проведении адъювантной терапии ($p>0,05$).

Снижение фагоцитарной активности в НСТ-тесте оказывало негативное влияние на частоту ОО при применении ДКВ (LRT, $p=0,001$). При применении НМВ подобное влияние обнаруживалось только при выраженном снижении показателя (LRT, $p=0,038$). При других режимах терапии и в целом по группе данный показатель не имел статистически значимой связи с эффективностью лечения.

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов не имели статистически значимой связи с эффективностью лечения ($p>0,05$). Также не выявлено связи всей описываемой группы показателей, оценённых до лечения, с выраженностью максимального ответа на лечение ($p>0,05$). При анализе ОВ, но не ВДП, у больных, получавших самостоятельное лекарственное лечение, рост уровня НСТ являлся независимым фактором неблагоприятного прогноза (ОР 2,588; $p=0,049$). Прочие показатели фагоцитарной активности не имели статистически значимых связей с ОВ и ВДП при учёте других прогностических факторов ($p>0,05$).

При анализе адъювантной терапии отмечена тенденция к снижению НСТ у пациентов в процессе развития ПЗ ($p<0,05$). При других видах лечения и на всей популяции в целом, а также при анализе адъювантной терапии подобные закономерности не обнаружены ($p>0,05$).

6.2.5. Прогностическое и предиктивное значение уровня базофилов и эозинофилов у больных меланомой

Повышение абсолютного уровня базофилов являлось маркером неэффективности как терапии ДКВ ($p=0,004$), так и при обобщённом анализе эффектов без учёта вида терапии ($p=0,035$). При этом все симметричные и направленные меры связи показывали низкий уровень ассоциации между переменными (все коэффициенты $<0,1$). Относительное содержание базофилов не имело статистически значимой связи с эффектом терапии при грубой оценке. При более детальном учёте эффекта проведённого лечения повышенный уровень базофилов чаще наблюдался у больных с развивающейся стабилизацией процесса на фоне терапии ипилимумабом (26,3% против 13,6%; $p<0,05$).

Оценка связи отклонения уровня базофилов от РЗ до лечения с наилучшим эффектом терапии не выявила статистически значимых ассоциаций ($p>0,05$). Единственным исключением из этого наблюдения были больные, получавшие ХИТ, у которых при повышенном относительном уровне базофилов не наблюдалось СЗ. Вместо данной категории ответа регистрировалось ПЗ ($p=0,028$; КоС 0,438). Абсолютный уровень базофилов не был

ассоциирован с риском прогрессирования и у больных, получавших адъювантную терапию, ($p > 0,05$). При оценке относительного уровня этих клеток отмечено увеличение риска ПЗ с 3% до 30% при повышенном содержании этих клеток только у пациентов, получавших ГМВ, ($p = 0,029$; $\eta = 0,21$; КоС 0,347).

Повышенный абсолютный уровень базофилов являлся независимым фактором прогноза ОВ у больных меланомой, получавших адъювантную и самостоятельную терапию (ОР 1,914; $p = 3,8 \times 10^{-5}$ и ОР 3,682; $p = 10^{-4}$ соответственно). Подобная тенденция наблюдалась и при оценке ВДП у больных, получавших адъювантную терапию, где повышение относительного уровня базофилов на 1% увеличивало риск ПЗ в 1,5 раза ($p = 0,035$). При оценке самостоятельного системного лечения повышенный уровень базофилов увеличивал риск ПЗ почти в 2 раза ($p = 2 \times 10^{-5}$). Интересно отметить, что у пациентов на фоне самостоятельной терапии повышение относительного уровня базофилов являлось благоприятным фактором прогноза ОВ и ВДП (ОР 0,764; $p = 0,02$ и ОР 0,716; $p = 0,04$ соответственно). При оценке иммунного статуса до начала терапии у больных, получавших самостоятельное системное лечение, значимым благоприятным фактором, независимым от терапии, оказалось лишь повышение относительного уровня базофилов, приводившее к снижению риска ПЗ и смерти на 24% и 45% соответственно ($p < 0,05$). Повышение абсолютного уровня, наоборот, подтвердило своё негативное значение при анализе ОВ лишь у пациентов, получавших ДКВ (ОР 7,045; $p = 0,007$) и ХИТ (ОР 9,228; $p = 0,002$). Влияния абсолютного уровня базофилов до лечения на риск ПЗ выявлено не было ($p > 0,05$). Уровень эозинофилов не имел статистически значимой связи с эффективностью лечения ($p > 0,05$). Повышение данного показателя у больных с ЧР на фоне терапии ипилимумабом не наблюдалось. Однако на фоне развития СЗ отмечалось статистически значимое увеличение частоты повышения уровня эозинофилов ($p < 0,05$). При сравнении оценок показателя до начала терапии с наилучшим достигнутым эффектом лечения статистически значимых связей выявлено не было ($p > 0,05$).

Анализ показателей пациентов, получавших адъювантную терапию, не выявил связи показателя с развитием ПЗ ($p > 0,05$). Однако снижение уровня эозинофилов ниже НГН в 15 раз увеличивало риск смерти пациента ($p = 1 \times 10^{-5}$) в многофакторной модели. Увеличение показателя на 1×10^9 /л снижало риск ПЗ почти в 10 раз у больных, получающих адъювантную терапию ($p = 0,002$). При анализе иммунных статусов, взятых до лечения у больных меланомой, получавших адъювантную терапию, связи уровня эозинофилов с показателями ОВ и ВДП выявлено не было ($p > 0,05$).

При оценке влияния уровня эозинофилов у больных, получавших самостоятельное лечение, оказалось, что сниженный ниже РЗ относительный уровень эозинофилов является

фактором неблагоприятного прогноза ОВ (ОР 2,37; $p=0,007$). При оценке ВДП снижение абсолютного уровня эозинофилов также оказалось значимым негативным фактором прогноза (ОР 1,715; $p=3 \times 10^{-5}$), тогда как повышение абсолютного уровня, наоборот, снижало риск ПЗ (ОР 0,704; $p=0,005$). При оценке иммунных статусов, взятых до лечения, любое отклонение абсолютного уровня эозинофилов от РЗ имело негативное прогностическое значение при оценке ОВ, повышая риск смерти на 85–113% ($p<0,05$), но не влияло на ВДП ($p>0,05$).

6.2.6. Прогностическое и предиктивное значение уровня НК

Абсолютный уровень НК влиял на частоту объективного ответа при использовании анти-PD-1 терапии ($p=0,009$), прежде всего, за счёт изменения частоты ЧР. При этом с увеличением числа клеток снижался эффект. Так, при снижении показателя эффект наблюдался у 90% пациентов, при РЗ – у 59%, при повышении – у 11,1% (ОР 0,165). Эта тенденция была наиболее выражена при оценке частоты ЧР, которая падала с 80% до 0% по мере роста содержания НК ($p<0,05$). Аналогичная тенденция прослеживалась при анализе терапии ипилимумабом. В процессе терапии вероятность перехода от прогрессирования к стабилизации была максимальна при выраженном снижении уровня НК (44%), 18,4% – при умеренном снижении, 13,4% и 11,1% – при РЗ и повышении показателя соответственно.

При применении ДКВ наблюдалась противоположная закономерность: при повышенных значениях НК-клеток ОО наблюдался в 33% случаев (95% ДИ 18,54–48,13), а при РЗ или пониженных – в 12,8% (95% ДИ 7,95–18,69). Интересно отметить, что при проведении МХТ наблюдалась похожая на ДКВ картина: 40% объективных ответов – при повышенном абсолютном уровне НК и 4,55% – при РЗ или сниженном. При оценке относительного содержания НК у больных, получавших МХТ, различий не наблюдалось. Направленные меры связи при этом были статистически незначимы ($p>0,05$).

При обобщённом анализе всех вариантов лечения выявлены статистически значимые ($p<0,05$) различия частоты псевдопрогрессирования у больных с разным абсолютным уровнем НК-клеток. При РЗ показателя вероятность события была минимальна (2,8%), при повышении увеличивалась до 4,7%, при снижении – до 10,4%. Значимых отличий по другим видам динамики опухоли в общей группе выявлено не было. При детальном анализе вариантов динамики опухолевого процесса без учёта вида терапии оказалось, что при РЗ уровня НК-клеток при меланоме реже всего (3,8%) наблюдаются пограничные варианты ответа с ухудшением состояния больного при СЗ или при противоречивых оценках по разным системам. При отклонениях (прежде всего, при снижении показателя) частота такого состояния увеличивалась до 10,9% ($p<0,05$).

Отклонение относительного уровня НК-клеток от РЗ повышало вероятность прогрессирования процесса у больных, получавших ипилимумаб, а также вероятность достижения ОО у больных, получавших ДКВ ($p < 0,05$). Усиление ответа после достижения при первой оценке СЗ на фоне терапии ипилимумабом требовало повышенного уровня НК ($p < 0,05$). При анализе монотерапии цитокинами у больных с повышенным относительным уровнем НК наблюдалась более высокая частота СЗ и ОО ($p = 0,008$). Из-за малого числа пациентов с ОО по данному показателю различия статистической значимости не достигли. При анализе показателей всех пациентов без учёта проводимой терапии – лишь выраженное снижение относительного содержания этих клеток повышало риск прогрессирования.

Детальный анализ изменений значений опухолевой нагрузки выявил противоречивые закономерности, связанные с относительным уровнем НК у больных, получавших ДКВ. Так, у всех больных, прогрессирующих после достижения ЧР, отмечалось повышение их абсолютного содержания. При этом доля больных с прогрессированием процесса последовательно снижалась с 77,8% – при крайне низких значениях показателя до 43,8% – при низких, 38,8% – при РЗ и 28,6% – при повышении абсолютного содержания НК ($p < 0,05$). При анализе МХТ меланомы у всех больных с достигнутым выраженным частичным регрессом наблюдался повышенный относительный уровень НК-клеток, тогда как при потере эффекта наблюдалось их умеренное снижение ($p < 0,05$). При применении НМВ, наоборот, у больных с развивающейся стабилизацией процесса наблюдали отклонения в относительном уровне НК-клеток. Подобная характеристика ответа была выявлена у 67% больных с выраженным снижением относительного уровня НК и у 20% пациентов с повышением данного уровня, тогда как при РЗ подобный ответ наблюдался лишь в 1,9% случаев (ОР 12,7; $p < 0,05$).

Обобщённый анализ, не учитывавший вид проведённого лечения, показал, что при РЗ относительного содержания НК-клеток увеличивается вероятность СЗ (ОР 0,36 – для отклонений; $p < 0,05$). Среди пациентов со сниженным уровнем НК-клеток доля больных с развивающейся стабилизацией процесса была максимальной (17%), тогда как при РЗ и повышенном уровне показатели снижались до 9,4% и 6,5% соответственно ($p < 0,05$). При сравнении оценок показателя до начала терапии с наилучшим достигнутым эффектом лечения статистически значимых связей выявить не удалось (LRT, $p = 0,065$ – для абсолютных значений, $p = 0,088$ – для относительных).

Анализ показателей пациентов, получавших самостоятельное системное лечение по поводу метастатической меланомы, показал как повышение, так и понижение относительного уровня НК-клеток, что являлось фактором неблагоприятного прогноза ОВ вне зависимости от терапии (ОР 1,417; $p = 0,001$ и ОР 1,319; $p = 0,04$ соответственно). Значимость абсолютного

уровня зависела от вида проведённого лечения. Так, у пациентов, получавших ГМВ, его снижение являлось выраженным неблагоприятным фактором прогноза ОВ в многофакторном анализе (ОР 13,631; $p=0,011$). Повышение уровня этих клеток у больных, получавших ДКВ, снижало риск смерти вдвое ($p=0,01$), тогда как у больных, получавших ХИТ, при подобных отклонениях риск смерти повышался (ОР 4,176; $p=0,003$). При оценке иммунных статусов исключительно до лечения – связи уровня НК-клеток с ОВ и ВДП выявлено не было ($p>0,05$).

Анализ показателей пациентов, получавших адъювантную терапию, показал, что повышенный абсолютный уровень НК-клеток ассоциировался с ПЗ после ранее проведённого хирургического лечения ($p=0,001$; $\eta=0,238$; КоС 0,323). При других видах лечения так же, как и для относительных значений показателя, подобной ассоциации не наблюдалось ($p>0,05$). При оценке ОВ повышенный уровень НК-клеток значительно снижал риск смерти у больных, получавших адъювантную терапию ГМВ ($p=0,00017$) и повышал его у больных, получавших НМВ ($p=0,004$). При оценке ВДП как относительный, так и абсолютный уровень НК-клеток был связан с риском прогрессирования процесса ($p=0,004$ и $p=1,36 \times 10^{-4}$ соответственно). Однако при оценке отдельных видов лечения, заданный в исследовании уровень значимости достигался лишь при повышении абсолютного содержания НК у больных, получавших ГМВ и ДКВ, или относительного – при лечении ГМВ или НМВ ($p<0,05$).

Важно подчеркнуть, что значимость повышенного уровня оказывалась противоположной для разных видов терапии. При анализе иммунных статусов до лечения как собственно относительный уровень НК-клеток (как непрерывная величина), так и его повышение выше РЗ у больных, получавших адъювантную терапию ГМВ, были связаны с риском смерти ($p=0,029$ и $p=0,009$ соответственно). Однако значимость данных факторов была противоположной. Риск смерти умеренно возрастал у всех пациентов с повышением уровня НК-клеток (ОР 1,051), тогда как при превышении ВГН у больных, получавших ГМВ, значительно снижался (ОР 0,052). Повышение относительного уровня НК-клеток до лечения являлось предиктором прогрессирования у больных, получавших адъювантную терапию ДКВ – ОР 4,027; $p=0,034$ и НМВ – ОР 60,7; $p=0,002$. Большие ОР у пациентов, получавших ГМВ и НМВ, требуют осторожной интерпретации с учётом характера проводимого исследования. При этом противоположная прогностическая значимость одних и тех же изменений в ИС не вызывает сомнений.

6.2.7. Прогностическое и предиктивное значение уровня Т-лимфоцитов

При анализе показателей всех пациентов без учёта вида лечения пониженное абсолютное содержание Т-клеток до лечения повышало риск прогрессирования заболевания ($p=0,042$;

$U=0,22$). При анализе всех иммунных статусов подобная тенденция также сохранялась, однако в целом при оценке связи между уровнем Т-лимфоцитов и последним ответом на лечение статистически значимых различий выявлено не было ($p=0,068$; $U=0,005$). Вероятной причиной такой оценки может быть пул иммунных статусов, собранных у больных на фоне терапии ипилимумабом, где наблюдались иные соотношения ответов. Так, в этой группе наибольшая частота ОО (13,8%) отмечена у больных с уровнем Т-лимфоцитов в пределах РЗ. При понижении показателя частота снижалась до 1,9% ($p<0,05$), а при повышении – до 6% ($p>0,05$). В целом различия в частоте отдельных эффектов при разном уровне Т-лимфоцитов у больных, получавших ипилимумаб, оказались статистически значимыми ($p=0,0008$; $KoC=0,22$).

Детальная оценка динамики опухоли показала, что при резком снижении содержания Т-лимфоцитов существенно возрастают риски ПЗ и, что особенно важно, гиперпрогрессирования ($p<0,05$). При рассмотрении динамики опухоли аналогичная тенденция показана для ДКВ ($p=0,002$): при снижении абсолютного содержания Т-лимфоцитов значительно реже наблюдались регрессирующие опухоли (8,2% против 27,4% – при РЗ и 28,6% – при повышенных показателях, $p<0,05$). У больных, получавших НМВ, минимальная частота ПЗ отмечена у пациентов с РЗ или повышенными значениями показателя ($p=0,039$). У больных, получавших ХИТ, наблюдался рост частоты ОО по мере роста абсолютного уровня Т-лимфоцитов ($p=0,019$; $\eta=0,359$, $KoC=0,363$), но у больных с пониженным уровнем ОО не наблюдался. У пациентов с РЗ частота ОО составила 16%, при повышенном уровне – 50% (различия от РЗ здесь статистически незначимы). В целом при анализе динамики без учёта вида лечения такая тенденция оказывалась доминирующей ($p=0,012$). При этом у больных со сниженным уровнем Т-лимфоцитов чаще наблюдалось ПЗ за счёт меньшего числа пациентов с развивающимся эффектом терапии (9,9% против 14,5% – при РЗ и 23,7% – при повышенном уровне показателя).

Другая, отличная от обобщённой оценки, тенденция наблюдалась при анализе иммунных статусов пациентов, получавших ГМВ ($p=0,012$). У них частота СЗ была максимальной, а частота ПЗ минимальной у пациентов с умеренно пониженными значениями показателя. При этом вероятность ПЗ и СЗ изменялась статистически значимо ($p<0,05$) – при РЗ показателя, и незначимо ($p<0,05$) – при его выраженном понижении. Оценка ОО у данной группы больных была невозможна из-за низкой частоты таких ответов при данном виде лечения.

При оценке относительного содержания Т-лимфоцитов различия оказались более существенными. Снижение уровня Т-клеток до начала терапии практически исключало возможность достижения КЭ на фоне лечения ипилимумабом ($p=0,031$). У всех пациентов с подобными показателями наблюдалось ПЗ, тогда как при РЗ или повышенных относительных

значениях Т-клеток у 24% пациентов наблюдалась СЗ и у 16% – ОО. Детальный анализ динамики опухоли подтвердил большую частоту прогрессирования и меньшую частоту развивающихся эффектов при пониженном относительном содержании Т-лимфоцитов у больных, получавших ипилимумаб ($p=0,003$). Похожее соотношение эффектов наблюдалось у пациентов, получавших цитокины ($p<0,05$), однако в целом в данной группе связи между уровнем Т-лимфоцитов и эффектом терапии не наблюдалось ($p=0,144$). У пациентов, получавших МХТ, была отмечена противоположная тенденция: при сниженных показателях относительного содержания Т-лимфоцитов у 80% больных наблюдался КЭ, тогда как при РЗ – у 26% (χ^2 , $p=0,045$; КоС=0,454). При анализе всех иммунных статусов тенденция сохранялась ($p=0,028$). Различия, прежде всего, касались частоты частичного регресса ($p<0,05$). Такие противоположные тенденции нивелировали различия в эффекте терапии на всей группе пациентов ($p=0,188$).

При анализе показателей пациентов, получавших самостоятельное системное лечение, относительный уровень Т-лимфоцитов оказался независимым значимым фактором благоприятного прогноза ОВ (ОР 0,989; $p=0,008$) и ВДП (ОР 984; $p=2\times 10^{-6}$). Значимость отклонений от РЗ зависела от вида проводимого лечения. Снижение уровня Т-лимфоцитов являлось неблагоприятным фактором прогноза ОВ у больных, получавших ипилимумаб (ОР 1,517; $p=0,004$), НМВ (ОР 2,226; $p=0,002$) и ПХТ (ОР 2,721; $p=0,045$). Интересно отметить, что повышение показателя также негативно сказывалось на ОВ, как и повышение у пациентов, получавших анти-CTLA4 (ОР 1,531; $p=0,039$). Связи изменений абсолютного уровня Т-лимфоцитов с показателями ВДП выявлено не было ($p>0,05$). При оценке иммунных статусов, взятых до начала терапии, значимых факторов прогноза ВДП выявлено не было. Важным фактором неблагоприятного прогноза ВДП оставалось только снижение относительного уровня Т-лимфоцитов у больных, получавших анти-PD1 терапию (ОР 5,368; $p=0,001$) и его повышение у пациентов, получавших цитокины (ОР 24,869; $p=0,002$).

При анализе показателей пациентов, получавших адъювантную терапию связи абсолютного уровня Т-лимфоцитов с признаками ПЗ выявлено не было ($p>0,05$). У больных с РЗ относительного уровня CD3⁺ клеток на фоне терапии ДКВ чаще наблюдалось сохранение достигнутой ремиссии (91,7% против 81% – при сниженном уровне и 75% – при повышенном, $p<0,05$). У больных, получавших НМВ, повышенный уровень Т-клеток ассоциировался с развитием ПЗ ($p=0,018$). При анализе показателей всех пациентов без учёта вида лечения начало развития ПЗ чаще всего было связано с повышенным уровнем Т-лимфоцитов или их крайне низкими значениями ($p<0,05$).

Анализ показателей больных, получавших адъювантную терапию меланомы, показал, что снижение уровня Т-лимфоцитов являлось благоприятным фактором прогноза ОВ у больных, получавших ГМВ (ОР 0,274; $p=0,034$), тогда как у больных на фоне терапии ДКВ это же изменение повышало риск смерти (ОР 1,988; $p=0,002$). При анализе ВДП были выявлены аналогичные закономерности ($p=0,006$ и $p=0,002$ соответственно). При оценке иммунного статуса до лечения сниженный уровень Т-лимфоцитов являлся независимым от лечения неблагоприятным фактором прогноза эффективности адъювантной терапии (ОР прогрессирования 2,91; $p=0,0005$; ОР смерти 4,443; $p=0,0001$).

6.2.8. Прогностическое и предиктивное значение уровня Th

Выраженное снижение уровня Th до начала лечения ассоциировалось с повышенной частотой ОО у больных, получающих МХТ ($p<0,05$). Эта вероятность снижалась по мере роста уровня Th ($\eta=0,406$). Необходимо отметить, что небольшое количество наблюдений в данной группе и отсутствие значимых различий по частоте других вариантов ответа отразились на пограничных значениях LRT ($p=0,059$), что не позволяет однозначно интерпретировать выявленные тенденции.

Различий в частоте отдельных эффектов у больных, получавших МХТ, выявлено не было ($p>0,05$), однако общая тенденция сохранялась и оказалась статистически значимой ($p=0,014$). Лишь при детальном анализе динамики опухоли удалось выявить статистически значимое перераспределение клинических эффектов ($p=0,013$; КоС=0,384). Этот же анализ выявил подобную тенденцию у больных, получавших анти-PD1, при которой при выраженном снижении абсолютного содержания Th клеток отмечена значительно более высокая частота выраженного ЧР (80% против 42,9% – при умеренном снижении и 27,6% – при РЗ, $p<0,05$). В целом связь динамики опухоли с уровнем Th оказалась статистически незначимой ($p=0,14$).

Обозначились различия и при других видах терапии. Так, у больных, получавших ипилимумаб, наименьшая частота ПЗ зарегистрирована у пациентов с РЗ данного показателя, тогда как по мере роста (в меньшей степени) и снижения (в большей степени) показателя наблюдалось увеличение частоты ПЗ ($p=0,0002$; $U=0,02$; КоС=0,242). Детальный анализ динамики опухоли показал, что риск ПЗ максимален при сниженных значениях показателя, тогда как при повышенных значениях чаще наблюдаются пациенты с регрессирующей опухолью ($p=0,001$).

При проведении таргетной терапии у всех пациентов со сниженным числом Th отмечалось ПЗ ($p=0,001$; $\eta=0,464$; КоС=0,447). Подобная тенденция, с меньшей выраженностью, была выявлена и при анализе всех наблюдений ($p=0,0008$). Мы наблюдали

рост числа больных с ПЗ и сокращение доли пациентов с развивающимся ответом при низких значениях данного показателя.

У больных, получавших ДКВ, наибольшая эффективность была выявлена у пациентов с выраженным снижением абсолютного уровня Th ($p < 0,05$). Редкость таких изменений отразилась на статистически незначимом уровне отношения правдоподобия ($p = 0,06$) для всех ответов в целом. Лишь при детальной оценке динамики опухоли эта тенденция оказалась статистически значимой ($p = 0,027$).

При оценке относительного содержания Th отмечена похожая тенденция к росту вероятности ОО на лечение ДКВ при снижении относительного содержания Т-лимфоцитов ($p < 0,05$), которая в общей группе пациентов, получавших ДКВ, характеризовалась пограничными значениями статистик ($p = 0,058$; $U = 0,123$; $\eta = 0,459$), однако при детальном анализе динамики опухоли оказывалась статистически значимой ($p = 0,009$). При анализе всех иммунных статусов данная тенденция также оставалась статистически значимой ($p = 0,015$; $U = 0,047$; $\eta = 0,271$). У пациентов со сниженным относительным уровнем Th клеток, получавших анти-PD1 препараты, реже наблюдалось ПЗ за счёт повышенного числа пациентов с регрессирующими опухолями (23,1% против 0% при РЗ, $p = 0,009$).

У больных, получавших ТТ, наоборот, отмечено повышение риска ПЗ при подобной тенденции ($p = 0,022$; $\eta = 0,415$; $KoC = 0,436$). При проведении ХИТ пациенты с РЗ относительного содержания Th до начала терапии имели наименьшую вероятность развития СЗ ($p = 0,02$; $U = p = 0,222$) за счёт несколько большей частоты ЧР (статистически значимо не отличавшейся между больными с РЗ Th и изменённым уровнем Th). Вероятность достижения КЭ у пациентов с РЗ относительного содержания Th была примерно в 2,4 раза выше, чем у пациентов с отклонениями показателя от РЗ. При анализе всех иммунных статусов данная тенденция не сохранялась ($p > 0,1$), но подтверждалась при детальном учёте динамики опухоли ($p = 0,004$).

При оценке адъювантной терапии у больных, получавших НМВ и в общей группе без учёта вида лечения, оказалось, что при крайне низких уровнях Th чаще развивался процесс ПЗ при последующем наблюдении (23% против 5% – при РЗ и умеренном снижении, 6% – при повышенном уровне, $p < 0,05$).

При анализе ОВ у больных, получавших адъювантную терапию, повышение относительного уровня Th выше ВГН повышало риск смерти у пациентов, получавших ДКВ (ОР 1,863; $p = 0,014$). Снижение уровня этих клеток повышало риск смерти у больных, получавших НМВ (ОР 4,301; $p = 0,024$). При оценке ВДП уровень Th не влиял на риск прогрессирования у больных, получавших ГМВ или ДКВ ($p > 0,05$). Однако отклонение от РЗ в любую сторону увеличивало риск ПЗ у больных, получавших НМВ, в 2–4 раза ($p = 0,001$).

и $p=0,035$ для снижения и повышения соответственно). Сам уровень Th являлся независимым от лечения фактором благоприятного прогноза ВДП (ОР 1,017; $p=0,00005$). При анализе иммунных статусов до лечения лишь у больных, получавших ДКВ, абсолютный уровень показателя оказывался связан с риском смерти (ОР 2,41; $p=0,045$). Относительный уровень фактора являлся фактором неблагоприятного прогноза ПЗ у больных, получавших НМВ (ОР 17,692; $p=0,013$). У больных, получавших ГМВ, тенденция была сходной, однако она не достигала заданного нами уровня значимости ($p=0,052$).

При оценке иммунного статуса больных, получавших самостоятельное лекарственное лечение, сниженный относительный уровень Th повышал риск смерти у больных, получавших ипилимуаб (ОР 1,412; $p=0,024$) и снижал его среди пациентов, получавших ДКВ (ОР 0,553; $p=0,015$). Повышенный относительный уровень Th клеток повышал риск смерти больных, получавших ДКВ (ОР 1,863; $p=0,017$) и цитокины (ОР 2,608; $p=0,006$). Связи уровня Th с ВДП при проведении многофакторного анализа выявлено не было ($p>0,05$). При оценке иммунного статуса до начала терапии уровень Th не имел связи с ОВ.

6.2.9. Прогностическое и предиктивное значение уровня цитотоксических лимфоцитов

При оценке абсолютного содержания ЦТЛ до лечения у всех пациентов, получавших паллиативную терапию меланомы кожи, выявлена общая тенденция к росту частоты ЧР при повышении данного показателя ($p=0,037$; $\eta 0,165$; КоС=0,031). Данная тенденция прослеживалась и при отдельных вариантах терапии, однако с пограничными значениями LRT ($p=0,092$ – для ДКВ; $p=0,074$ – для МХТ; $p=0,054$ – для ТТ). Динамика изменений частоты ответов прослеживалась преимущественно в отношении вероятности развития ЧР за счёт изменения частоты СЗ и ПЗ. При оценке всех иммунных статусов описываемая тенденция достигала статистически значимого уровня в отношении частоты ОО ($p<0,05$). Более ярко эти тенденции отразились в значениях относительного содержания ЦТЛ, оценённого до начала лечения. LRT для данных различий оказался статистически значимым как для всей группы в целом ($p=0,011$; $\eta=0,182$; $U=0,028$), так и для отдельных видов терапии: ХИТ ($p=0,012$), ТТ ($p=0,018$). Вместе с тем при анализе всех иммунных статусов, включая сданные на фоне терапии, различия в частоте ответов на лечение при разном относительном уровне ЦТЛ терялись.

При детальной оценке динамики опухолевых очагов был выявлен ряд дополнительных тенденций. Так, при понижении абсолютного уровня ЦТЛ наблюдалось повышение частоты ПЗ за счёт уменьшения доли больных с развивающимся эффектом на фоне лечения ипилимуабом

($p=0,002$; $KoC=0,223$; $\eta=0,159$). У больных, получавших анти-PD1 терапию, отмечено увеличение доли больных с регрессирующей опухолью при повышении абсолютного уровня ЦТЛ ($p=4\times 10^{-4}$). У больных, получавших ГМВ, процесс прогрессирования чаще сопровождался понижением уровня ЦТЛ ($p<0,05$). При лечении ДКВ повышенное содержание ЦТЛ исключало возможность ПЗ и свидетельствовало либо о развитии, либо о достижении эффекта терапии ($p=1\times 10^{-4}$).

Подобная картина наблюдалась и при проведении ХИТ ($p=0,026$). При анализе без учёта терапии данный тренд сохранялся и усиливался ($p=4\times 10^{-5}$). Оценка относительного содержания ЦТЛ в целом подтвердила наблюдения, сделанные при анализе абсолютного уровня данных клеток. Лишь при ТТ обнаружилась противоположная тенденция, достигшая в отношении ПЗ статистически значимого уровня ($p<0,05$).

Уровень ЦТЛ не имел связей с признаками ПЗ у больных, получавших адъювантную терапию ($p>0,05$). При анализе выживаемости больных, получавших адъювантную терапию, повышение относительного уровня ЦТЛ являлось независимым неблагоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 2,166; $p=0,0003$) и ВДП (ОР 1,027; $p=0,002$). При этом повышение показателя выше РЗ имело тенденцию к снижению риска ПЗ, не достигавшую заданного в исследовании уровня значимости ($p=0,075$), хотя в целом все уровни данного показателя имели связь с риском ПЗ, вероятно, за счёт повышения риска ПЗ при РЗ показателя ($p=0,038$). При оценке иммунного статуса до лечения связи уровня ЦТЛ с ОВ и ВДП выявлено не было ($p>0,05$).

6.2.10. Прогностическое и предиктивное значение НКТ-клеток

Уровень НКТ-клеток при меланоме сказывался на эффекте терапии анти-CTLA4 (LRT, $p=0,002$) препаратами и на применении ДКВ (LRT, $p=0,015$). При применении ипилимумаба частота объективного эффекта при повышении показателя (как в относительных, так и в абсолютных величинах) была значимо ниже, чем при референсных значениях: 1,4% (95% ДИ 0–5,22) и 13,1% (95% ДИ 9,51–17,28) соответственно. Следует отметить, что при снижении данного показателя ОО не наблюдался вовсе, что также позволяет сделать вывод о значимости отклонений от РЗ и подчёркивает нелинейный характер этих взаимоотношений. При более детальном анализе эффектов лечения во всей группе пациентов оказалось, что при выраженном снижении уровня НКТ ответ на лечение наблюдался лишь у 2,5% больных, тогда как при умеренном снижении – у 16,2% ($p<0,05$). При РЗ и повышении показателя ЧР регистрировался в 9% и 6,3% случаев соответственно.

При использовании для лечения ДКВ отсутствие эффектов наблюдалось лишь при выраженном снижении показателей. При умеренном снижении и РЗ ОО наблюдался примерно

у $1/3$ больных, тогда как при повышенных значениях – в 1 из 5 иммунных статусов. Малое количество пациентов в данной группе не позволяет выносить суждения о значимости различий, однако наблюдается схожая тенденция при двух видах иммунотерапии. Сила связи между уровнем НКТ и эффектом при двух указанных режимах была слабой ($U=0,04$ ($p=0,002$) – для анти-CTLA4 и $0,106$ ($p=0,015$) – для ДКВ). При других вариантах терапии подобных тенденций не наблюдалось, что привело к отсутствию значимых различий по данному показателю у больных меланомой.

При анализе всех пациентов без учёта вида лечения как относительное, так и абсолютное содержание НКТ-клеток не влияло на вероятность какого-либо эффекта терапии. Исключение из анализа больных, оценка иммунных статусов которых проводилась на фоне или после терапии, и сопоставление ответов с наилучшим достигнутым эффектом не позволяли выделить какие-либо значимые ассоциации ($p=0,448$).

При изучении ОВ у больных, получавших самостоятельное системное лечение при метастатическом процессе, снижение абсолютного уровня НКТ ниже РЗ повышало риск смерти у больных, получавших ипилимумаб (ОР 12,183; $p=0,028$) или ДКВ (ОР 2,714; $p=0,023$). Абсолютный уровень НКТ являлся также независимым от терапии фактором неблагоприятного прогноза ВДП (ОР 5,838; $p=0,003$). Снижение абсолютного уровня этих клеток повышало вероятность ПЗ у больных, получавших ПХТ (ОР 4,464; $p=0,0004$), ТТ (ОР 3,202; $p=0,027$) и цитокины (ОР 8,536; $p=0,009$). Повышение показателя выше РЗ также повышало риск ПЗ у больных, получавших НМВ (ОР 29, 549; $p=0,0002$), ПХТ (ОР 4,433; $p=0,039$) и цитокины (ОР 13,984; $p=0,036$). При ХИТ, наоборот, риск ПЗ снижался у пациентов с повышенным относительно РЗ уровнем НКТ-клеток (ОР 0,349; $p=0,045$). Изменение эффективности терапии в зависимости от уровня НКТ-клеток представлено на рисунке 47.

При анализе иммунных статусов, взятых исключительно до лечения, связи уровня НКТ-клеток с показателями ОВ и ВДП выявлено не было ($p>0,05$). Анализ больных, получавших адъювантную терапию, не выявил связи уровня НКТ-клеток с прогрессированием опухоли ($p>0,05$). Вместе с тем в многофакторных моделях прогнозирования уровень НКТ-клеток являлся независимым неблагоприятным фактором прогноза ОВ и ВДП ($p=0,001$ и $p=7,9\times 10^{-5}$ соответственно).

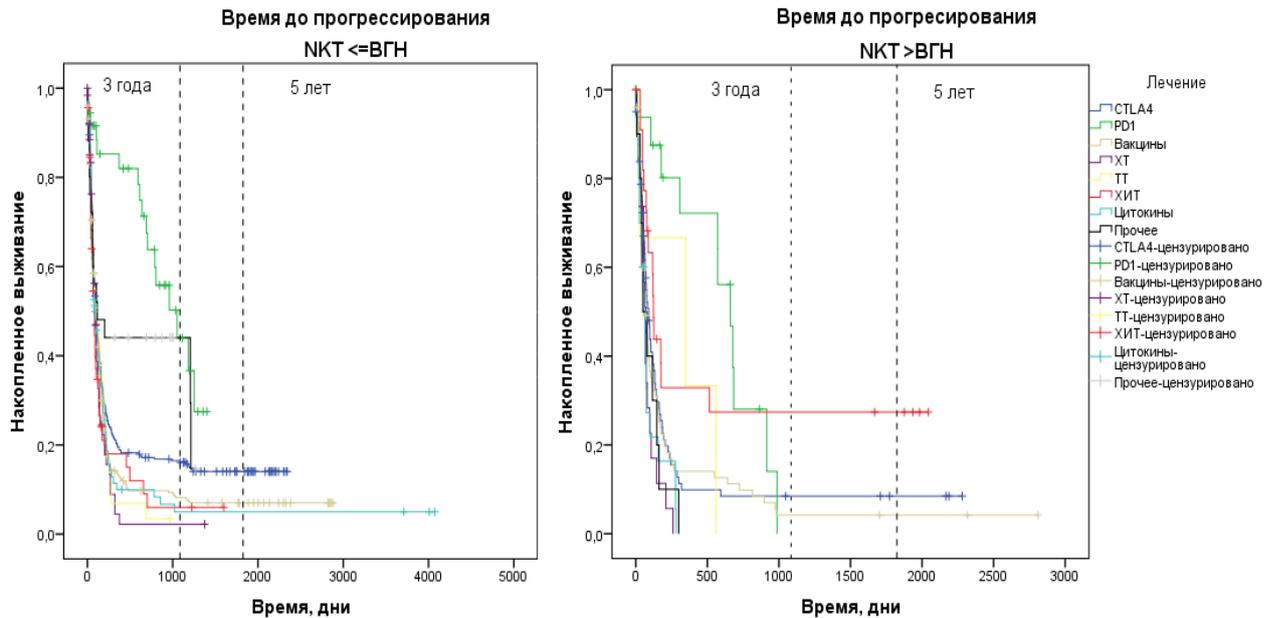


Рисунок 47 – Эффективность терапии меланомы при различном уровне НКТ-клеток

6.2.11. Прогностическое и предиктивное значение общей экспрессии маркеров активации

Общая экспрессия маркеров активации оценивалась только у больных, получавших ДКВ, ГМВ, НМВ и цитокины. Общее содержание $CD38^+$ лимфоцитов до лечения не влияло на вероятность достижения определённого максимального эффекта терапии ($p > 0,05$). При добавлении иммунных статусов, оценённых на фоне лечения, выявлено, что только у пациентов с пониженным содержанием этих клеток при применении ГМВ наблюдался ОО ($p < 0,05$). При более детальном рассмотрении вариантов ПЗ оказалось, что в единственном случае бурного прогрессирования заболевания у больных, получавших ГМВ, наблюдалось повышенное содержание $CD38^+$ клеток. Повышение данного показателя наблюдалось у больных, получавших ГМВ, исключительно при ПЗ ($p = 0,037$). При понижении показателя у тех же пациентов описываемая тенденция не достигала заданного уровня значимости ($p > 0,05$).

При оценке выживаемости также была подтверждена негативная прогностическая роль повышения абсолютного уровня $CD38^+$ лимфоцитов в виде повышения риска у больных, получавших ГМВ ($p = 0,02$) и цитокины ($p = 0,005$), но не ДКВ ($p = 0,891$). Связи уровня $CD38^+$ клеток с ОВ выявлено не было ($p > 0,05$). Анализ иммунных статусов до лечения также не выявил связи уровня $CD38^+$ лимфоцитов с показателями выживаемости ($p > 0,05$).

При оценке относительного содержания CD38⁺ лимфоцитов, в отличие от абсолютного уровня, выявлено статистически значимое ($p < 0,05$) повышение частоты СЗ у больных с РЗ данного показателя, получавших ГМВ, хотя общая оценка сопряжённости уровня CD38⁺ лимфоцитов с частотой ответа оказалась незначимой ($p = 0,065$ – для абсолютных значений, $p = 0,078$ – для относительных). Для НМВ наблюдалась иная тенденция: ОО наблюдался только у больных с РЗ уровня CD38⁺ лимфоцитов (как относительных, так и абсолютных). У этих же пациентов реже наблюдалось ПЗ ($p = 0,022$ и $p = 0,04$; коэффициент сопряжённости 0,416 и 0,482 – для абсолютных и относительных значений соответственно). Вероятность ОО при этом росла по мере увеличения уровня CD38⁺ лимфоцитов ($\eta = 0,489$).

Анализ показателей больных, получавших адъювантную терапию, не выявил связи абсолютного уровня CD38⁺ клеток с прогрессированием опухоли ($p > 0,05$). Однако многофакторный анализ выживаемости у этих больных показал статистически значимое ухудшение ВДП по мере роста значения показателя ($p = 0,04$) и отсутствие связи показателя с эффектом терапии. Отклонение показателя от РЗ при этом не имело прогностического значения ($p > 0,3$). При оценке относительных значений оказалось, что у больных с высоким уровнем CD38⁺ лимфоцитов, получавших ГМВ, чаще регистрировалось ПЗ ($p = 0,03$; $\eta = 0,18$). При оценке всех пациентов без учёта вида терапии подобная тенденция сохранялась. Относительный уровень CD38⁺ клеток снижал риск прогрессирования на 3% на каждый 1% клеток в многофакторной модели ($p = 0,011$), но не оказывал влияния на показатели ОВ ($p > 0,05$). При многофакторном анализе относительного уровня CD38⁺ клеток до лечения оказалось, что его повышение на 1% увеличивало риск смерти на 10,7% ($p = 0,047$), но не влияло на риск ПЗ ($p = 0,086$). Отклонение показателя от РЗ не имело самостоятельного значения в качестве прогностического фактора ($p > 0,05$).

При оценке относительного и абсолютного содержания CD25⁺МНПК у больных ДКВ до лечения выявлена тенденция к повышению частоты СЗ у больных с повышенным уровнем данных клеток (70%) по сравнению с пациентами с РЗ (19,5% и 14,3% соответственно, $p = 0,01$; КоС=0,474). Не было выявлено ни одного ПЗ у больных, получавших ДКВ, при РЗ относительного содержания CD25⁺МНПК в крови до лечения, в то время как при снижении данного уровня ПЗ наблюдалось у половины больных, а при повышении – у всех больных ($p = 0,003$; $U = 0,423$). Похожая тенденция сохранялась и при анализе всех иммунных статусов. При этом различия в частоте ПЗ также приобрели статистическую значимость ($p = 0,012$; КоС=0,298). Тенденция к меньшей частоте ОО у больных с низким абсолютным содержанием CD25⁺МНПК сохранялась и при анализе всех иммунных статусов без учёта вида терапии ($p < 0,05$). Однако в целом статистически значимых различий по частоте ОО не было выявлено

($p=0,255$). При оценке ОВ общий уровень CD25⁺МНПК оказался значимым фактором прогноза для пациентов, получавших ГМВ и лечение цитокинами. При этом на фоне лечения ГМВ риск смерти снижался с ростом относительного содержания этих клеток (ОР 0,937; $p=0,04$), тогда как при использовании цитокинов он повышался (ОР 1,124; $p=3 \times 10^{-6}$). Уровень CD25⁺МНПК до начала терапии цитокинами также повышал ОВ (ОР 1,15; $p=0,00001$), но не ВДП ($p>0,05$).

У больных, получавших адъювантную ДКВ, повышенный относительный уровень CD25⁺ всегда ассоциировался с отсутствием признаков ПЗ, тогда как при РЗ и пониженных значениях вероятность этого была примерно равной ($p=0,042$). При оценке ОВ выявлена существенная ассоциация относительного уровня CD25⁺МНПК с характером проведённого лечения ($p=0,043$) в многофакторном анализе. При этом для больных, получавших ГМВ и НМВ, она оказалась статистически незначимой, тогда как для пациентов, получавших ДКВ, отмечена тенденция к снижению риска смерти (ОР 0,94; $p=0,062$). При этом снижение относительного уровня CD25⁺ клеток ниже РЗ являлось благоприятным фактором прогноза ($p=0,003$). Интересно отметить, что при анализе ВДП в многофакторной модели, как понижение (ОР 0,514), так и повышение (ОР 0,26) уровня CD25⁺МНПК являлось благоприятным фактором прогноза ($p=0,003$ и $p=0,001$ соответственно). При оценке иммунных статусов исключительно до начала адъювантной терапии повышение абсолютного уровня CD25⁺ клеток, наоборот, имело негативное влияние на риск ПЗ (ОР 5,265; $p=0,043$), но не ОВ ($p>0,05$). При анализе ВДП подобных связей выявлено не было.

Общий уровень CD95⁺ клеток до лечения не имел значимых связей с максимальным эффектом терапии и показателями выживаемости как в общей популяции, так и при оценке отдельных видов терапии ($p>0,05$). При оценке всех иммунных статусов ОО чаще наблюдался у пациентов с РЗ уровня CD95⁺ клеток ($p<0,05$), однако в целом, частота ответов на лечение не достигала статистической значимости при разных уровнях CD95⁺ лимфоцитов (LRT, $p=0,094$). У пациентов, получавших адъювантную терапию, уровень CD95⁺ лимфоцитов также не имел связи с развитием ПЗ и не влиял на ОВ и ВДП ($p>0,05$).

Общий абсолютный уровень HLA-DR⁺ лимфоцитов не был связан с эффектом ни при оценке до лечения, ни при анализе всех иммунных статусов ($p>0,05$). При оценке относительного уровня связь с эффектом обнаружилась лишь при оценке всех иммунных статусов у больных, получавших НМВ. У 100% больных с повышенным уровнем данных клеток наблюдался ОО, тогда как при РЗ он регистрировался лишь у 2% пациентов, а при сниженных значениях – у 25% ($p<0,05$). При пониженном уровне HLA-DR клеток у 75% пациентов, получавших ДКВ, происходил процесс остановки роста опухоли, тогда как

при PЗ и повышении данный феномен наблюдался лишь у 22,2% и 17,2% пациентов соответственно ($p < 0,05$). В целом относительный уровень HLA-DR⁺ клеток существенно влиял на распределение эффектов в данной подгруппе пациентов ($p = 0,00001$; КоС=0,22; $\eta = 0,517$). Однако, несмотря на известную статистику, эта информация требует осторожной интерпретации ввиду малого количества больных с пониженными и повышенными значениями показателя. При анализе выживаемости абсолютный уровень HLADR⁺ лимфоцитов являлся фактором неблагоприятного прогноза ВДП у больных, получавших цитокины (ОР4,709; $p = 0,003$). При других видах терапии, а также при анализе ОВ, статистически значимых изменений риска события выявлено не было ($p > 0,05$).

У больных, получавших адъювантную терапию, связи уровня HLA-DR⁺ клеток с развитием ПЗ, а также влияния на ОВ и ВДП выявлено не было ($p > 0,05$).

Уровень CD71⁺ лимфоцитов оценивался исключительно как непрерывная переменная ввиду отсутствия PЗ. У больных меланомой, получавших адъювантную терапию, относительный, но не абсолютный уровень этих клеток обладал негативным прогностическим влиянием на ОВ ($p = 0,012$) и ВДП ($p = 4,8 \times 10^{-4}$).

Интересно отметить, что при его включении в модель у пациентов в возрасте старше 65 лет отмечалось снижение риска смерти, по сравнению с более молодыми пациентами, почти в два раза (ОР 0,447; $p = 0,016$), тогда как подстадия утрачивала своё прогностическое значение ($p = 0,204$). Взаимодействие с видом лечения оказалось статистически незначимым ($p > 0,05$). В модели ВДП возраст также оказался значимым ($p = 0,0495$), при этом ОР ПЗ снижался на 2,5% на каждый год жизни. При оценке иммунного статуса до лечения абсолютный уровень CD71⁺ лимфоцитов оказывался решающим, увеличивая риск смерти в 15 раз при увеличении содержания этих клеток на $10^9/\text{л}$ ($p = 0,016$). Связи с риском ПЗ при этом в многофакторном анализе выявлено не было ($p > 0,1$). При анализе показателей пациентов, получавших самостоятельную терапию, предиктивная значимость абсолютного содержания CD71⁺ лимфоцитов была обнаружена лишь у больных, получавших ГМВ и цитокины, где рост данного показателя значительно увеличивал риск ПЗ ($p = 0,006$ и $p = 0,001$ соответственно), но не влиял на риск смерти ($p > 0,05$). Аналогичные результаты были получены и при анализе иммунных статусов, взятых исключительно до лечения.

При оценке выживаемости у больных меланомой, получавших самостоятельную системную терапию, уровень CD1d⁺ лимфоцитов не имел связи с показателями ОВ ($p > 0,05$), но являлся фактором благоприятного прогноза ВДП ($p = 0,049$). Уровень CD1d⁺ лимфоцитов до лечения в нашем исследовании не был связан с показателями ОВ и ВДП ($p > 0,05$).

6.2.12. Прогностическое и предиктивное значение активированных Th

Максимальный ответ на терапию не имел связи с абсолютным уровнем активированных CD38⁺ или HLA-DR⁺Th до начала терапии ($p > 0,05$). У больных, получавших ипилимумаб, при сниженном содержании уровня CD38⁺Th чаще отмечалось состояние прогрессирования процесса на момент анализа иммунного статуса ($p = 0,046$). Похожая тенденция была отмечена и при анализе всех иммунных статусов без учёта вида терапии ($p = 0,02$; КоС=0,196).

При пониженном относительном содержании CD38⁺Th до начала терапии ипилимумабом, а также в общей группе пациентов без учёта вида лечения, отмечалась повышенная частота СЗ за счёт тенденции к уменьшению вероятности ПЗ ($p = 0,046$; $U = 0,07$), однако данная связь была весьма слабой. Интересно отметить, что при анализе связи относительного уровня CD38⁺Th у больных, получавших ТТ, наблюдалась иная тенденция. Несмотря на малое число наблюдений в группе (7 иммунных статусов), у всех пациентов с РЗ показателя регистрировалось ПЗ на момент анализа, тогда как при понижении и повышении показателя наблюдалась уже достигнутая СЗ или её развитие. Данные различия, несмотря на малочисленность группы, достигали заданного уровня значимости ($p = 0,031$), однако это требует подтверждения данной тенденции на большем материале. У больных, получавших самостоятельное системное лечение, уровень CD38⁺Th не имел связи с показателями выживаемости ($p > 0,05$). У пациентов, получавших адъювантную терапию, анализ не проводился из-за малочисленности наблюдений.

Абсолютное содержание CD25⁺Th не влияло на эффект терапии как до, так и во время лечения ($p > 0,1$). При анализе динамики оценки опухоли оказалось, что у больных с повышенным абсолютным уровнем CD25⁺Th, получавших ипилимумаб, чаще наблюдалось гиперпрогрессирование (15,4% против 1,1% – при РЗ, $p < 0,05$). У пациентов с РЗ показателя не наблюдалось СЗ с улучшением симптомов заболевания, тогда как при умеренном понижении или повышении данного показателя они отмечались в 10% и 7,7% случаев соответственно ($p < 0,05$).

Крайне низкий уровень CD25⁺Th (относительно лимфоцитов) до начала лечения в целом, без учёта терапии, снижал вероятность ПЗ за счёт увеличения частоты ОО. При добавлении к анализу иммунных статусов, оценённых на фоне лечения, были выявлены иные тенденции. При РЗ показателя, как и при крайне низких его значениях, частота ОО составляла около 13%. При низких значениях показателя и, в меньшей степени при его повышении, частота ОО увеличивалась до 25% и 23% соответственно ($p = 0,043$). Рассмотрение динамики изменения опухоли показало, что это происходит преимущественно за счёт уменьшения доли больных

с бурным прогрессированием ($p < 0,05$). При РЗ показателя развившийся регресс наблюдался реже всего (12,1% против 21,4% – при сниженных значениях и 23,1% – при повышенных, $p < 0,05$). При этом чаще встречалась клинически значимая СЗ (4,3% против 0% – при снижении и 0,65% – при повышении показателя, $p < 0,05$).

Похожие тенденции с иными численными значениями были выявлены при сопоставлении уровня CD25⁺Th с содержанием Th ($p = 2 \times 10^{-4}$). При проведении терапии ипилимумабом у больных с повышенным относительным уровнем CD25⁺Th (относительно Th) чаще наблюдалось гиперпрогрессирование (25% против 1,3% – при РЗ, $p < 0,05$). При пониженном уровне этих клеток чаще наблюдалась СЗ. При этом при умеренном снижении преимущественно наблюдалась положительная клиническая динамика, тогда как при выраженном снижении, как правило, отмечались феномены псевдопрогрессирования или медленного роста очагов. Оценить тенденции у больных, получавших анти-PD1 терапию, не представлялось возможным из-за малого числа наблюдений.

На фоне проведения ТТ ингибиторами BRAF у всех больных с низким относительным уровнем CD25⁺Th (относительно LY) было отмечено прогрессирование процесса ($p = 0,007$; $\eta = 0,606$; $KoC = 0,548$). Оценка динамики опухолевых очагов подтверждала данные наблюдения ($p = 0,005$). При проведении ПХТ меланомы, наоборот, у всех больных с РЗ показателя на фоне терапии наблюдалось ПЗ ($p = 0,04$). Подобного типа тенденция зафиксирована и при МХТ, при которой все ОО наблюдались у больных со сниженным относительным уровнем CD25⁺Th ($p = 0,043$) и у пациентов, получавших ДКВ, где вероятность достижения ОО у больных с РЗ относительного содержания CD25⁺Th была минимальной. При проведении анти-PD1 терапии отмечено статистически значимое снижение частоты ОО у больных с РЗ относительного содержания CD25⁺Th ($p < 0,05$).

В наше исследование вошло относительно небольшое количество пациентов, получавших анти-PD1 терапию. Поэтому повышение относительного содержания CD25⁺ наблюдалось лишь у одного больного с ЧР на фоне терапии ниволумабом. Малое количество наблюдений не позволило достичь заданного в исследовании уровня значимости ($p = 0,113$) и требует осторожной интерпретации выявленных тенденций. При оценке относительного содержания CD25⁺Th среди Th были выявлены иные тенденции. У больных, получавших ипилимумаб, реже наблюдалось ПЗ, и чаще СЗ – при сниженном содержании этих клеток ($p = 0,017$).

Различий в распределении ответов на лечение при других видах терапии выявлено не было. При анализе всех иммунных статусов без учёта терапии данная тенденция сохранялась ($p = 0,0066$).

При оценке выживаемости пациентов, получавших самостоятельное системное лечение по поводу метастатической меланомы, относительный (относительно LY) уровень CD25⁺Th ассоциировался с повышенным риском смерти ($p=7 \times 10^{-5}$). При анализе ВДП связь уровня CD25⁺Th с риском ПЗ оказалась статистически незначимой ($p>0,05$). При оценке иммунных статусов до лечения, напротив, с повышением уровня активированных CD25⁺Th снижался риск ПЗ ($p=0,041$), тогда как риск смерти был статистически незначим ($p>0,05$).

При анализе показателей пациентов, получавших адъювантную терапию, повышение относительного содержания CD25⁺Th ассоциировалось с более частым развитием ПЗ у больных после хирургического лечения ($p=0,017$). При таких значениях показателя процесс ПЗ наблюдался у 50% больных, тогда как при РЗ – не наблюдался вовсе, а при сниженных значениях – у 2% пациентов. При этом повышенный уровень данных клеток при состоявшемся прогрессировании не наблюдался. В общей популяции без учёта вида терапии наблюдались аналогичные тенденции ($p=0,024$; $\eta=0,117$).

При анализе ОВ и ВДП у больных, получавших адъювантную терапию, подтвердилось взаимодействие уровня CD25⁺Th с видом лечения ($p=5,9 \times 10^{-5}$ – для ОВ и $p=6 \times 10^{-6}$ – для ВДП). Такое взаимодействие было значимым лишь при хирургическом лечении, тогда как у больных, получавших вакцины, связи показателя с прогнозом не отмечено ($p>0,9$). Уровень CD25⁺Th не имел прогностического или предиктивного значения при оценке состояния ИС до начала терапии ($p>0,05$). При изучении иммунных статусов в процессе лечения и проведении оценки ВДП отмечена разнонаправленная роль снижения показателя. Так, у пациентов, получавших ипилимумаб, риск ПЗ увеличивался (ОР 2,153; $p=0,041$), тогда как при проведении ХИТ или терапии цитокинами риск смерти уменьшался (ОР=0,314; $p=0,006$ и ОР=0,086; $p=0,029$ соответственно).

Пониженное абсолютное содержание HLA-DR⁺Th у больных, получавших анти-PD1 терапию, ассоциировалось с перераспределением ответов с ОО в СЗ ($p=0,032$). Эти же особенности выявлялись при оценке динамики опухоли ($p=0,042$). При анти-CTLA4 терапии ассоциация была выявлена только при оценке динамики опухолевого процесса ($p=0,001$). Здесь при повышенном содержании активированных HLA-DR⁺Th реже наблюдалось ПЗ и чаще – развитие ответа на лечение. У больных, получавших ДКВ, наблюдалась противоположная тенденция: вероятность ОО снижалась с 50% у больных со сниженным уровнем HLA-DR⁺Th до 3% у больных с повышенным уровнем этих клеток ($p=0,0004$; $\eta=0,356$; КоС=0,397). Оценка динамики изменения опухоли подтверждала данную закономерность ($p=0,001$; $\eta=0,499$; КоС=0,5). Столь противоречивые тенденции привели к отсутствию статистически значимых различий при анализе всех иммунных статусов без учёта вида лечения ($p=0,732$). Лишь

при оценке динамики изменений связи между динамикой очагов и уровнем HLA-DR⁺Th оказались статистически значимыми ($p=0,03$).

При анализе относительного содержания HLA-DR⁺Th у больных, получавших ДКВ и анти-PD1 терапию, описанные выше тенденции в отношении объективного ответа сохранялись статистически значимыми ($p=0,031$ и $p=0,048$ соответственно), что транслировалось в изменение показателей выживаемости (как ОБ, так и ВДП) в общей популяции больных ($p=0,005$ и $p=0,001$ соответственно). Связей относительного содержания динамики опухоли и уровня HLA-DR⁺Th выявлено не было ($p>0,1$), равно как и зависимости показателей выживаемости от уровня HLA-DR⁺Th до начала терапии ($p>0,05$).

При изучении прогностического и предиктивного уровня HLA-DR⁺Th у больных меланомой, получавших адъювантную терапию, относительный уровень данных клеток (относительно Th) являлся независимым фактором неблагоприятного прогноза ОБ (ОР 1,918; $p=0,04$), тогда как при анализе ВДП рост абсолютного, а не относительного, уровня HLA-DR⁺Th ассоциировался с ростом риска ПЗ у больных, получавших ДКВ ($p=0,005$), так же как и при применении данной терапии в самостоятельном режиме. При анализе иммунных статусов до лечения прогностических или предиктивных факторов среди показателей HLA-DR⁺Th выявлено не было ($p>0,05$).

Уровень CD3⁺CD4⁺CTLA4⁺ лимфоцитов не имел связи с показателями выживаемости ($p>0,05$) в общей группе пациентов. Однако при оценке уровня этих клеток до лечения риск ПЗ и смерти увеличивался по мере роста относительного содержания CD3⁺CD4⁺CTLA4⁺ лимфоцитов ($p=0,037$ и $p=0,013$ соответственно).

Умеренная (коэффициент корреляции Спирмена 0,479 – для абсолютных значений и 0,314 – для относительных), но статистически значимая ($p=3\times 10^{-25}$ и $p=5\times 10^{-11}$ соответственно) связь между экспрессией HLA-DR и CTLA-4 позволяет оценить роль экспрессии HLA-DR в развитии анергии (рисунок 48).

Как высокий уровень CTLA4⁺Th, так и высокий уровень HLA-DR⁺Th ассоциируются с ПЗ и являются достаточными для реализации такого эффекта.

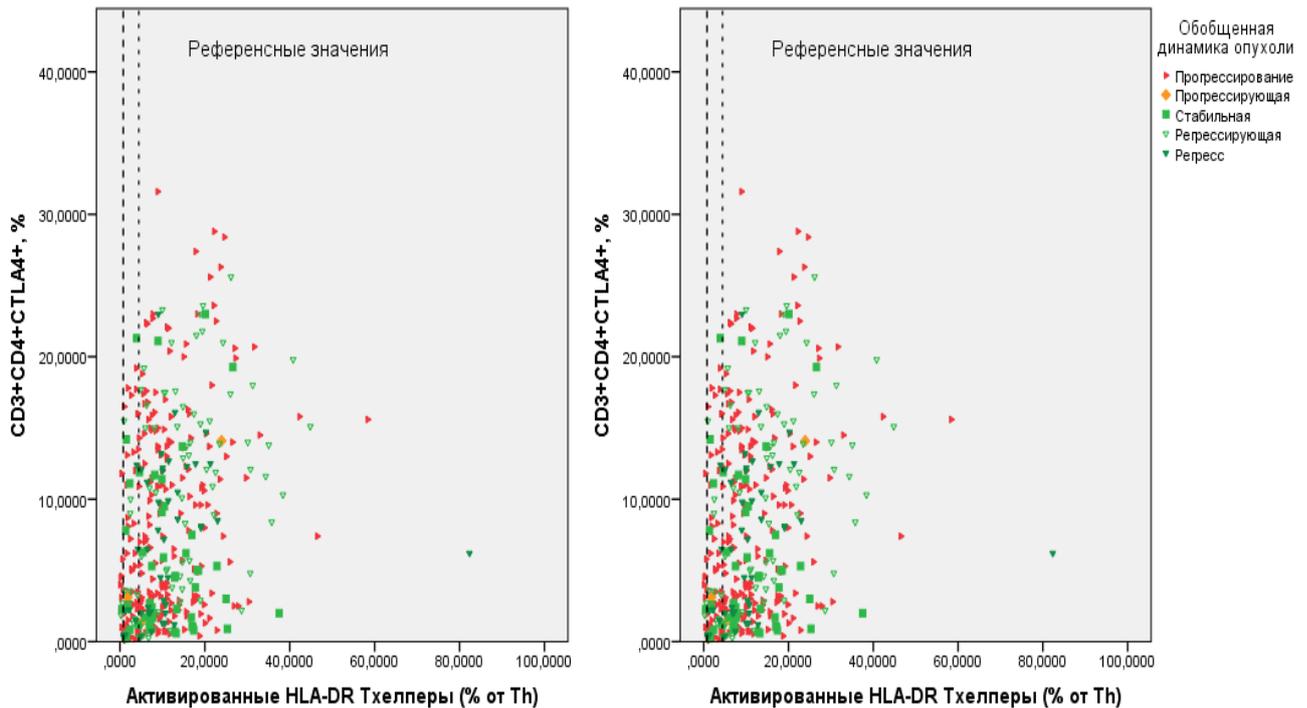


Рисунок 48 – Связь между содержанием CTLA4⁺ и HLA-DR⁺Th и динамикой опухоли

6.2.13. Прогностическое и предиктивное значение активированных цитотоксических лимфоцитов

Максимальный ответ на терапию не имел связи с уровнем активированных CD38⁺ лимфоцитов или HLA-DR⁺ЦТЛ ($p > 0,05$) до начала лечения. При анализе всех иммунных статусов оказалось, что у пациентов, получавших анти-PD1 терапию, частота ОО была больше за счёт снижения частоты СЗ при повышенном уровне CD38⁺ЦТЛ ($p = 0,028$; КоС=0,402). Подобные соотношения наблюдались и для относительных значений ($p = 0,018$; U=0,11). Сходные результаты были получены при оценке динамики опухолевых очагов в момент оценки состояния ИС. У больных с повышенным уровнем активированных CD38⁺ЦТЛ наблюдалось статистически значимое ($p < 0,05$) снижение частоты стабилизаций за счёт статистически значимого ($p < 0,05$) увеличения частоты регрессировавших опухолей.

Число больных с ПЗ было меньше, а число пациентов с регрессирующей опухолью больше, чем при РЗ, однако эти различия не достигали выбранного в исследовании уровня значимости с учётом множественных сравнений. В целом уровень CD38⁺ЦТЛ имел значительную связь с эффектом анти-PD1 терапии ($p = 0,0009$; $\eta = 0,366$; КоС=0,473). В общей популяции наблюдались иные тенденции. Частота ПЗ у пациентов с повышенным уровнем

CD38⁺ЦТЛ оказалась выше ($p < 0,05$), однако в целом значимых различий в ответе не было ($p = 0,134$).

При сопоставлении относительного уровня CD38⁺ЦТЛ с динамикой очагов у больных, получавших ипилимумаб, оказалось, что снижение данного показателя чаще всего ассоциировалось с состоявшимся или развивающимся прогрессированием в 5 из 6 случаев. РЗ показателя при этом чаще наблюдались при уже достигнутом регрессе или при его развитии ($p = 0,046$). У больных, получавших анти-PD1 терапию, наблюдалась похожая тенденция, при которой РЗ показателя чаще регистрировались при развитии ОО. При оценке выживаемости уровень CD38⁺ЦТЛ не имел статистически значимых связей с ОБ и ВДП ($p > 0,05$).

Уровень HLA-DR⁺ЦТЛ не имел статистически значимых связей с эффективностью терапии ($p > 0,05$) при сопоставлении с последним ответом до момента оценки состояния ИС. При оценке динамики опухолевых изменений оказалось, что у больных, получавших ипилимумаб, при РЗ данного показателя чаще отмечалось продолжающееся ПЗ: 64% против 48% – при повышенном уровне данного показателя (LRT, $p = 0,037$). При РЗ показателя на фоне терапии развитие ЧР наблюдалось реже, чем при повышенных значениях (2,7% против 9,9%, $p < 0,04$).

Похожая статистически значимая ($p = 0,031$) тенденция наблюдалась у пациентов, получавших анти-PD1 терапию. В этой группе больных развитие ЧР при РЗ показателя не наблюдалось, тогда как при повышенных значениях такая динамика регистрировалась у 12,5% пациентов ($p < 0,05$). Интересно отметить, что после развития выраженного ($> 50\%$ регресса опухоли) ЧР соотношение изменялось. У 41,9% пациентов с РЗ регистрировался выраженный ЧР, тогда как при повышенных показателях – у 16,7% ($p < 0,05$). Относительные уровни данной популяции демонстрировали аналогичные тенденции ($p = 0,029$). Зависимость уровня HLA-DR⁺ЦТЛ от состояния опухоли в момент оценки иммунного статуса подтверждается направленными мерами связи для порядковых переменных, при которой отмечены высокие значения ($\eta = 0,534$) – при прогнозировании уровня этой популяции клеток и низкие результаты ($\eta = 0,043$) – при попытке оценки степени регресса опухоли на основании значений показателей иммунного статуса. Оценка роли относительного содержания HLA-DR⁺ЦТЛ в нашем исследовании оказалась затруднительной, поскольку подавляющее большинство наблюдений имели повышенное значение данного показателя.

При анализе ОБ у больных, получавших самостоятельное системное лечение, оказалось, что увеличение абсолютного уровня HLA-DR⁺ЦТЛ у пациентов, получавших анти-PD1 или анти-CTLA4 терапию, снижало риск смерти (OR 0,004; $p = 0,04$). Уровень HLA-DR⁺ЦТЛ относительно LY являлся благоприятным фактором для пациентов, получавших ДКВ (OR 0,121;

$p=0,001$) и имел статистически незначимую тенденцию к негативному значению у пациентов, получавших химиотерапию ($p=0,093$). При оценке ВДП уровень HLA-DR⁺ЦТЛ относительно ЦТЛ являлся независимым фактором неблагоприятного прогноза (ОР 4,464; $p=0,035$), тогда как абсолютный уровень, наоборот, благоприятным (ОР 0,945; $p=0,0001$). Повышение уровня HLA-DR⁺ЦТЛ относительно LY выше ВГН являлось неблагоприятным фактором прогноза ВДП у больных, получавших МХТ (ОР 3,873; $p=0,001$) или ипилимумаб (ОР 1,539; $p=0,021$). При включении в анализ иммунных статусов, взятых только до начала терапии, лишь уровень HLA-DR⁺ ЦТЛ относительно LY показал статистически значимую связь с ВДП ($p=0,012$), но не с ОБ ($p>0,05$). При этом относительные риски ПЗ у больных, получавших вакцины и химиотерапию, оказались противоположны, однако не достигли заданного нами уровня значимости ($p=0,07$ и $p=0,052$ соответственно).

У больных, получавших адъювантную терапию, связи уровня HLA-DR⁺ЦТЛ с развитием ПЗ, равно как и с показателями ОБ и ВДП, выявлено не было ($p>0,05$). При проведении самостоятельного лекарственного лечения относительный уровень ЦТЛ оказывал значимое влияние на показатели ОБ. С повышением относительного уровня этих клеток снижался риск смерти ($p=2\times 10^{-5}$). При снижении абсолютного содержания ЦТЛ в периферической крови ниже РЗ риск смерти и прогрессирования, наоборот, повышался ($p=0,024$ и $p=0,001$ соответственно). При повышении показателя выше РЗ снижался риск ПЗ ($p=0,004$), тогда как статистически значимого влияния на риск смерти выявлено не было ($p=0,147$).

6.2.14. Прогностическое и предиктивное значение регуляторных

Т-лимфоцитов

При оценке уровня Treg до начала терапии не было выявлено связи с максимальным эффектом лечения ($p>0,05$). При оценке всех иммунных статусов у больных, получавших ДКВ, выявлено нарастание частоты ПЗ по мере роста абсолютного содержания этих клеток ($p<0,05$). При этом в целом различия в частоте эффекта между пациентами с разным уровнем Treg оказались статистически незначимы ($p=0,1$). У больных, получавших ипилимумаб, уровень CD127^{low}Treg влиял на распределение эффектов терапии ($p=0,004$), однако чёткую тенденцию выделить было затруднительно, о чем свидетельствуют низкие значения U (0,032); η (0,136) и КоС (0,181).

При анализе FoxP3⁺Treg тенденция была более очевидна ($p=0,004$; U=0,042; $\eta=0,21$; КоС=0,222). При повышенном относительном содержании этих клеток повышалась частота ПЗ за счёт снижения доли больных с КЭ. В целом нумерически несколько большая частота СЗ и ОО наблюдалась у пациентов с РЗ данного показателя. Интересно отметить, что рассмотрение

динамики развития ответа на момент оценки иммунного статуса выявило другие закономерности ($p=7 \times 10^{-7}$). ПЗ с равной вероятностью сохранялось у больных с повышенными и РЗ данного показателя – 46,2% и 58,2% соответственно, тогда как при пониженных значениях оно отмечалось у 89,3% пациентов. Частота частичных регрессов действительно была статистически значима ($p < 0,05$), выше при РЗ, чем при повышении показателя – 7,1% против 0%. При повышенных значениях чаще наблюдался процесс развития клинического эффекта терапии – 35,9% – при повышенных значениях Treg против 17,7% – при РЗ и 7,1% – при пониженных ($p < 0,05$). Оценка относительных показателей подтвердила выявленные закономерности ($p=9 \times 10^{-6}$).

У больных, получавших анти-PD1 терапию, наблюдались похожие тенденции в отношении относительного содержания CD127^{low}Treg ($p=0,047$). В этой группе пациентов при повышенном относительном уровне описываемых клеток в 10 раз чаще наблюдалась СЗ. У больных меланомой, получавших МХТ, при повышенном относительном уровне CD127^{Low}Treg происходило перераспределение ответов от СЗ к ЧР ($p=0,001$).

Связь уровня CD127^{low}Treg с эффектом терапии у больных, получавших ДКВ, была выявлена лишь при сопоставлении с динамикой опухоли ($p=0,046$). У пациентов с пониженными значениями показателя ПЗ не наблюдалось, тогда как при РЗ и повышении показателя подобные ответы регистрировались в 45,6% и 100% случаев соответственно. При этом на фоне адъювантной терапии при отсутствии прогрессирования уровень данных клеток чаще оказывался снижен ($p < 0,05$).

При анализе иммунных статусов без учёта проводимой терапии отмечено снижение вероятности ОО за счёт повышения вероятности ПЗ у больных с повышенными уровнями данной субпопуляции лимфоцитов ($p=0,004$; КоС=0,143; U=0,019; $\eta=0,11$) по сравнению с пациентами с РЗ или сниженными показателями. Оценка динамики опухолевой нагрузки показала, что пониженный уровень CD127^{low}Treg, в отличие от РЗ и повышенных значений показателя, ассоциирован с ПЗ ($p=2 \times 10^{-5}$). При этом состояние торможения опухолевого роста до первой регистрации эффекта чаще наблюдалось при повышенных значениях показателя (22,7% против 11,9% – при РЗ и 5,5% – при сниженных значениях, $p < 0,05$). У больных с состоявшимся частичным регрессом чаще наблюдались РЗ или пониженные уровни CD127^{low}Treg. КоС между показателями составил 0,213, что свидетельствует о небольшой силе связи между ними.

При оценке содержания относительного уровня Treg подобная тенденция проявлялась у больных, получавших анти-CTLA4 и анти-PD1 терапию ($p=7,8 \times 10^{-5}$ и $p=0,018$ соответственно). Для анти-PD1 терапии снижение ОО происходило преимущественно за счёт увеличения

количества больных с СЗ, тогда как на фоне анти-CTLA4 терапии – за счёт роста числа больных с ПЗ. При этом именно при повышенных относительных значениях оцениваемого показателя наблюдалась наибольшая вероятность развития эффекта в дальнейшем (31,9% против 14%, $p < 0,05$). При анализе эффектов без учёта вида лечения подтверждалась тенденция к большей частоте ОО при РЗ показателя, но не увеличение количества случаев ПЗ ($p = 0,009$), поскольку их частота у больных со сниженными значениями относительного содержания Treg также была несколько увеличена. Так же, как и при использовании ипилимумаба, наблюдалось повышение частоты регрессирующих опухолей с увеличением относительного содержания CD127^{Low}Treg ($p = 0,001$). В отличие от описанных выше тенденций, при применении МХТ все ответы регистрировались исключительно у пациентов с повышенным относительным содержанием данной субпопуляции клеток ($p = 0,0019$).

При анализе ОВ у больных меланомой, получавших самостоятельное системное лечение, отклонения абсолютного уровня CD127^{Low}Treg от РЗ обладали негативным прогностическим значением, однако при учёте всех взаимодействий эти связи не достигли заданного в исследовании уровня значимости ($p = 0,067$). Отклонения относительного уровня CD127^{Low}Treg оказались значимыми лишь у больных, получавших ипилимумаб, где, как при повышении (ОР 1,327; $p = 0,011$), так и при понижении (ОР 2,495; $p = 0,041$) указанного показателя, возрастал риск смерти. При оценке ВДП повышение абсолютного содержания CD127^{Low}Treg имело самостоятельное негативное прогностическое значение лишь у больных, получавших анти-PD1 терапию (ОР 1,107; $p = 0,002$). При оценке иммунного статуса до лечения снижение абсолютного содержания CD127^{Low}Treg у больных, получавших ипилимумаб или ниволумаб, также оказалось статистически значимым фактором неблагоприятного прогноза (ОР 2,444; $p = 0,007$). У больных, получавших ХТ подобным неблагоприятным фактором являлось повышение данного показателя (ОР 5,087; $p = 0,04$). При анализе ВДП связи уровня CD127^{Low}Treg с выживаемостью выявлено не было ($p > 0,05$).

FoxP3⁺Treg показывали сходные результаты, однако ввиду малого числа наблюдений эти различия не достигали уровня статистической значимости, принятого в исследовании с учётом множественных сравнений для всех видов терапии, за исключением ипилимумаба ($p = 0,004$) и анти-PD1 терапии ($p = 0,042$). Тем не менее повышенная частота регрессирующих опухолей при повышенном содержании этих клеток для всех больных меланомой была подтверждена (31,7% против 15,3% – при РЗ и 16,1% – при пониженных значениях, $p < 0,05$). При оценке выживаемости у больных меланомой, получавших самостоятельное системное лечение, относительное содержание FOXP3⁺Treg являлось фактором неблагоприятного прогноза ОВ (ОР 1,028; $p = 0,017$). Повышение уровня FOXP3⁺Treg выше РЗ являлось фактором негативного

прогноза ВДП (ОР 1,616; $p=0,01$). Уровень FOXP3⁺Treg до начала терапии также являлся предиктором ВДП ($p=0,022$), но не ОВ ($p=0,058$).

Связи уровня Treg с развитием ПЗ у больных, получавших адъювантную терапию, выявлено не было ($p>0,05$). Следует отметить, что достаточное для анализа количество наблюдений было лишь в группах ДКВ, цитокинов и хирургического лечения. При многофакторном анализе ОВ и ВДП влияния уровня Treg на риск прогрессирования и смерти выявлено не было ($p>0,05$).

Таким образом, повышенный уровень Treg в нашем исследовании оказывал негативное влияние на прогноз во всех проанализированных группах, тогда как при снижении данного показателя риски неблагоприятных исходов зависели от вида терапии. Мы сравнили выживаемость больных с благоприятными для ХТ или ДКВ значениями фактора. В одну группу были объединены пациенты, получавшие анти-PD1 или анти-CTLA4 (поскольку они одинаково реагировали на содержание Treg). В другой группе были пациенты, получавшие ХТ или ДКВ. В третью группу вошли все прочие больные.

Как и ожидалось, у пациентов с неизвестным уровнем Treg современная иммунотерапия с использованием МИС превосходила существовавшие ранее методы лечения (с учётом малого количества пациентов, получавших комбинированную ТТ), $p=10^{-6}$. При снижении абсолютного уровня Treg ниже НГН (рисунок 49) ОВ больных, получавших ДКВ, было существенно выше таковой у пациентов, получавших другие виды лечения ($p=0,44$), тогда как при неблагоприятном уровне терапия ДКВ уступала по эффективности ипилимумабу ($p=0,003$).

У больных с повышенным относительным уровнем Treg медиана ОВ не отличалась от таковой у пациентов, получавших анти-CTLA4 (рисунок 50). При длительном наблюдении ОВ у больных, получавших ХТ, продолжала снижаться, тогда как в прочих группах выходила на плато. Однако, зная об изменчивом характере показателей ИС и средней длительности ХТ, можно предположить, что уровень Treg изменялся со временем, что отражалось и на представленных результатах лечения.

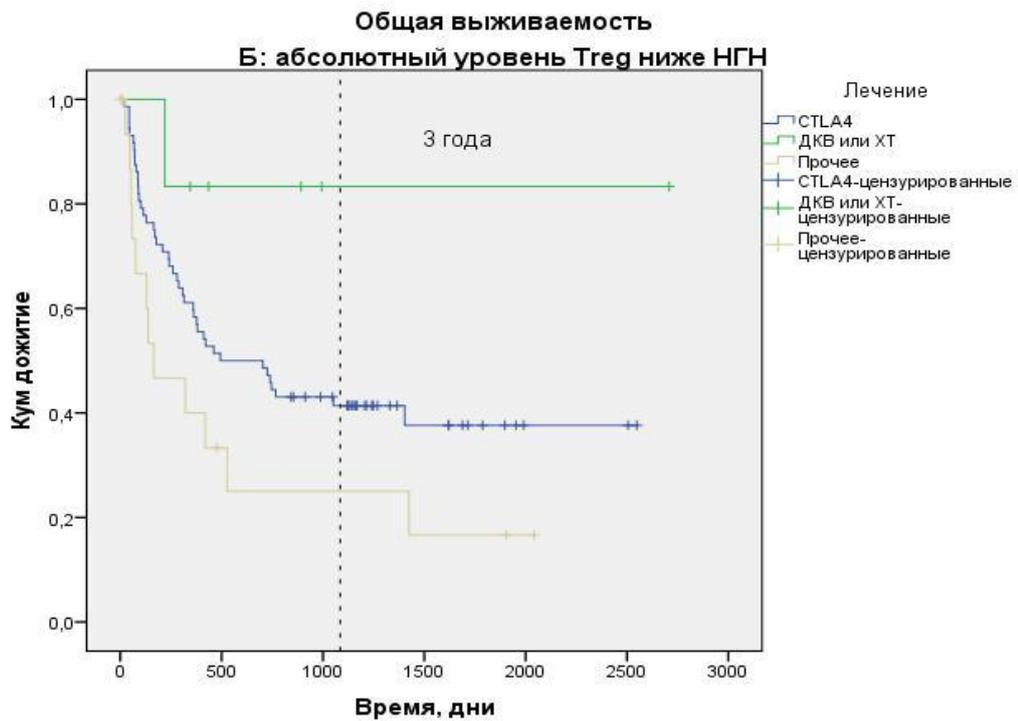
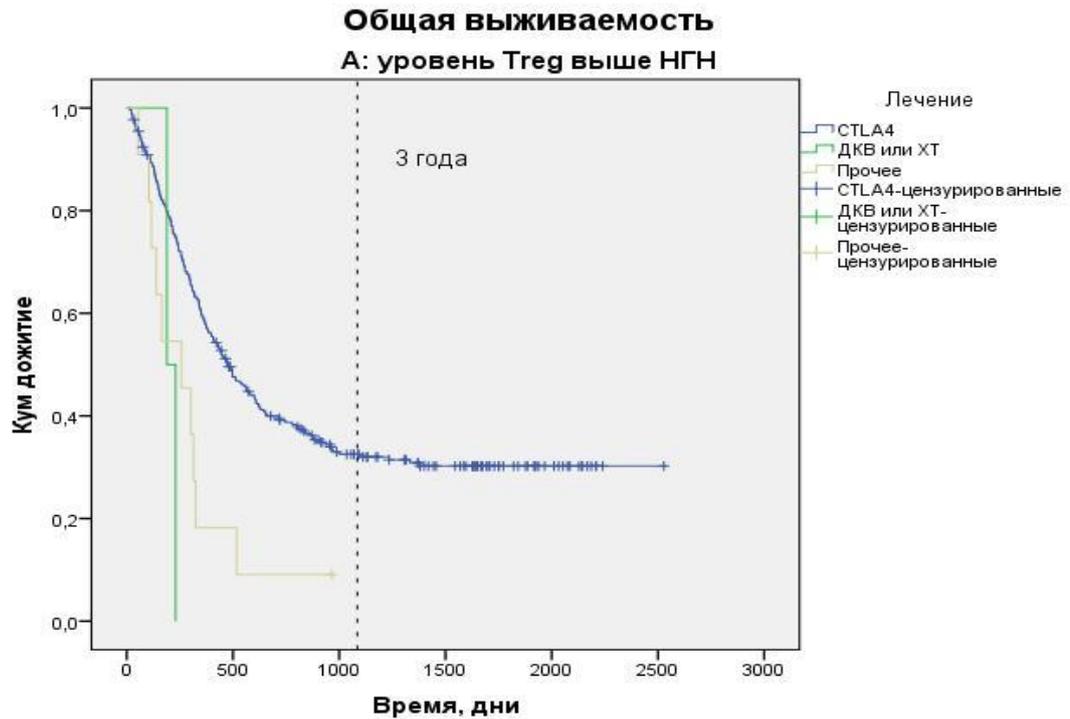


Рисунок 49 – ОВ пациентов с меланомой: А – при неблагоприятном для ДКВ уровне Treg;
Б – при благоприятном для ДКВ уровне Treg

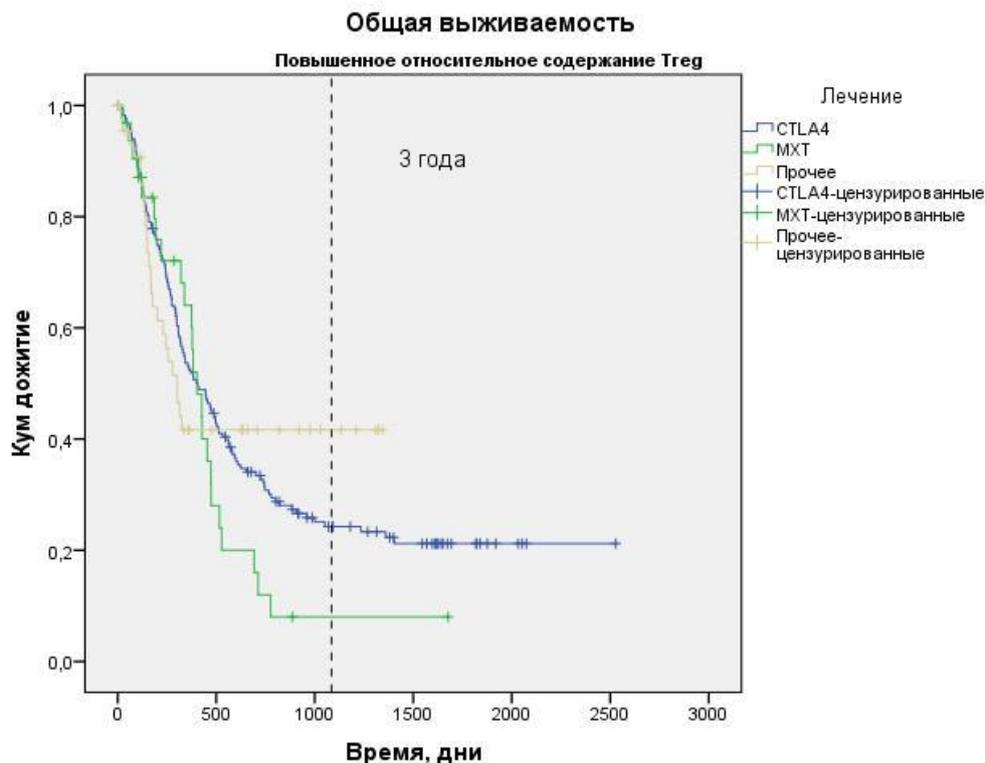


Рисунок 50 – ОВ и ВДП пациентов с меланомой при уровне Treg выше ВГН

6.2.15. Прогностическое и предиктивное значение двойных позитивных и двойных негативных Т-лимфоцитов

При оценке абсолютного уровня DP и DN как до начала терапии, так и во всей оцениваемой группе пациентов связи с эффектом лечения выявлено не было ($p > 0,05$). При оценке относительного содержания у пациентов, получавших MXT, отмечено снижение частоты СЗ у больных с повышенным относительным содержанием DP ($p < 0,05$). Однако в целом различия оказались статистически незначимыми ($p = 0,09$). При оценке данного показателя в общей группе без учёта вида лечения отмечалась статистически значимая тенденция к большей частоте ПЗ и меньшей вероятности ОО у больных с повышенным относительным содержанием DP ($p = 0,024$). Тем не менее при оценке динамики опухоли у больных, получавших ипилиумаб, повышенный абсолютный, но не относительный, уровень $CD3^+CD4^+CD8^+$ лимфоцитов снижал риск прогрессирования процесса, прежде всего, за счёт уменьшения вероятности гиперпрогрессирования (0,4% против 2,2% – при РЗ и 11,8% – при снижении показателя, $p < 0,05$). При проведении ХИТ отмечена похожая по смыслу тенденция. У пациентов со сниженным абсолютным уровнем $CD3^+CD4^+CD8^+$ клеток чаще наблюдалось развитие ПЗ после достижения СЗ (25% против 0% – при РЗ, $p < 0,05$). При терапии

анти-PD1 препаратами, наоборот, риск ПЗ при повышенном относительном уровне этих клеток повышался ($p < 0,05$). При оценке динамики опухоли без учёта вида терапии у больных с повышенным относительным уровнем $CD3^+CD4^+CD8^+$ лимфоцитов наблюдалось повышение частоты ПЗ за счёт снижения вероятности регресса опухоли ($p = 0,02$; $KoC = 0,142$; $\eta = 0,123$). Данные взаимосвязи уровня DP с эффектом терапии транслировались в изменения риска смерти больных ($p = 0,012$) вне зависимости от вида лечения. Однако изменения риска при повышении или понижении показателя относительно PЗ не достигали заданного в нашем исследовании уровня значимости ($p = 0,082$ и $p = 0,07$ соответственно).

При оценке ОВ с ростом относительного уровня DP возрастал риск смерти (ОР 1,076; $p = 0,027$), тогда как повышение абсолютного уровня выше PЗ сопровождалось его снижением (ОР 0,75; $p = 0,021$). Связи уровня PD с показателями ВДП в многофакторном анализе выявлено не было ($p > 0,05$). Анализ иммунных статусов, взятых исключительно до лечения, показал, что повышение относительного уровня $CD3^+CD4^+CD8^+$ лимфоцитов снижало риск смерти у больных, получавших цитокины и прочие иммуномодуляторы (ОР 0,42; $p = 0,05$), и повышало у больных, получавших ХИТ (ОР 3,921; $p = 0,006$). Связи уровня DP до лечения с риском ПЗ выявлено не было ($p > 0,05$).

У больных, получавших адъювантную терапию, связи уровня DP с развитием ПЗ выявлено не было ($p > 0,05$). При анализе иммунных статусов ОВ у больных, получавших адъювантную терапию, оказалось, что абсолютный уровень $CD3^+CD4^+CD8^+$ лимфоцитов является негативным фактором прогноза, не связанным с проведённым лечением (ОР 6,473; $p = 0,001$). При анализе ВДП у этих пациентов фактор тоже оказывался значимым (ОР 3,555; $p = 0,048$), однако не добавлял дополнительной информации к известным клиническим факторам прогноза. При анализе иммунного статуса до начала адъювантной терапии оказалось, что повышенный уровень DP у больных, не получавших подобного лечения (т.е. тех, у которых проводилось только оперативное вмешательство), является благоприятным предиктором ВДП, но не ОВ (ОР 0,024; $p = 0,014$).

При оценке роли DN лимфоцитов у больных меланомой, получавших адъювантную терапию, относительные значения показателя являлись независимым негативным фактором прогноза как ОВ (ОР 1,196; $p = 0,009$), так и ВДП и (ОР 1,254; $p = 0,002$) соответственно). У больных, получавших самостоятельное лечение, подобная связь сохранялась. Однако, в отличие от больных, получавших адъювантную терапию, рост уровня этих клеток являлся благоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 0,793; $p = 0,018$), в то время как при оценке ПЗ связи с риском смерти выявлено не было ($p = 0,164$). При анализе иммунных статусов, оценённых

исключительно до начала лечения, связи уровня $CD3^+CD4^+CD8^-$ лимфоцитов с риском ПЗ или смерти выявлено не было ($p>0,05$).

6.2.16. Прогностическое и предиктивное значение наивных Т-лимфоцитов и клеток памяти

При оценке уровня T_{naiv} до начала терапии не было выявлено связи с максимальным эффектом лечения ($p>0,05$). При анализе всех иммунных статусов обнаружено, что понижение данной субпопуляции лимфоцитов (как в абсолютных, так и в относительных значениях) чаще ассоциировалось с ПЗ (ОР 1,236 и ОР 1,173; $p=0,003$ и $p=0,006$ соответственно). При более детальном рассмотрении динамики опухоли у больных, получавших ипилимумаб, обнаружена аналогичная тенденция ($p=0,024$). Связи данного показателя с эффективностью других методов терапии не представляются возможными из-за малого числа наблюдений. При более детальном рассмотрении динамики опухоли у больных, получавших ипилимумаб, обнаружена аналогичная тенденция ($p=0,024$). При этом различия в частоте стабилизаций процесса достигали статистически значимого уровня ($p<0,05$). Интересно отметить, что у больных с повышенными значениями данного показателя чаще наблюдалось развитие СЗ ($p<0,05$). Относительные уровни показателей также существенно влияли на частоту отдельных категорий динамики опухоли. Так, бурное прогрессирование чаще регистрировалось при пониженном относительном значении T_{naiv} ($p<0,05$). При анализе выживаемости связи уровня T_{naiv} как до лечения, так и в процессе терапии с ОБ и ВДП выявлено не было ($p>0,05$).

При анализе прогностической роли центральных (T_{cm} , $CD3^+CD45RA^-CD62L^+$) и эффекторных (T_{em} , $CD3^+CD45RA^-CD62L^-$) клеток памяти оказалось, что при повышении первых риск смерти увеличивается (ОР 1,02; $p=0,02$), тогда как с ростом вторых – уменьшается (ОР 0,401; $p=0,008$). Относительный уровень T_{em} являлся также прогностическим фактором при анализе ВДП (ОР 0,961; $p=10^{-5}$). При оценке уровней клеток памяти до лечения связи с показателями выживаемости выявлено не было ($p>0,05$).

При оценке выживаемости у больных меланомой, получавших самостоятельную системную терапию, абсолютный уровень $CD3^+CD27^+CD62L^+$ являлся благоприятным фактором прогноза ОБ (ОР 0,529; $p=0,001$) тогда как относительный уровень $CD3^+CD28^+CD62L^+$ лимфоцитов – неблагоприятным (ОР 1,012; $p=0,009$). При этом данные показатели не влияли на риск ПЗ ($p>0,05$). Уровень $CD3^+CD27^+CD62L^+$ и $CD3^+CD28^+CD62L^+$ лимфоцитов до лечения в нашем исследовании не имел связи с показателями ОБ и ВДП ($p>0,05$).

6.2.17. Прогностическое и предиктивное значение тестов функциональной активности Т-лимфоцитов

При оценке миграционной способности Т-лимфоцитов до начала терапии не было выявлено связи, стимулированной Кон-А или ФГА миграции Т-лимфоцитов, а также спонтанной миграции с максимальным эффектом лечения ($p > 0,05$). При анализе всех иммунных статусов связи, стимулированной Кон-А миграции с эффектом также выявлено не было ($p > 0,05$). При оценке миграции с ФГА во всех оценённых образцах без учёта терапии выявлено, что у всех больных со снижением данного показателя, получавших ДКВ, наблюдалось ПЗ, тогда как при РЗ или повышенных значениях данный ответ регистрировался лишь в 56% случаев (LRT, $p = 0,034$; $\eta = 0,209$). При анализе всех больных без учёта терапии наблюдалась похожая тенденция. У пациентов с повышением показателя отмечено большее число ОО и меньшая частота ПЗ, чем у больных со сниженным показателем. Частота данных ответов при РЗ теста занимала промежуточное положение и не имела статистически значимых отличий распределения ответов по сравнению с пациентами со сниженной стимулированной ФГА миграцией ($p = 0,003$; $\eta = 0,196$; $KoC = 0,193$).

При изучении спонтанной миграции не у всех больных, получавших ДКВ, оказалось, что ОО чаще всего наблюдался при выраженном снижении стимулированной ФГА миграции. Уже при умеренном снижении частота ОО падала с 25% до 4% ($p = 0,01$; $\eta = 0,253$; $KoC = 0,318$). У больных с РЗ и повышенным уровнем показателя ОО не наблюдался вовсе. Оценка динамики изменения опухоли подтверждала данные наблюдения. Подобная тенденция наблюдалась и при оценке всех иммунных статусов без учёта терапии ($p = 0,0003$; $\eta = 0,235$; $KoC = 0,251$). При детальном рассмотрении динамики опухолевых очагов подобная тенденция подтвердилась в большей частоте СЗ у больных со сниженными или РЗ показателя спонтанной миграции по сравнению с пациентами с крайне низким показателем ($p = 0,003$; $KoC = 0,433$; $\eta = 0,203$).

У больных, получавших самостоятельное системное лечение, с ростом уровня спонтанной миграции повышался риск смерти вне зависимости от проведенного лечения (ОР 1,196; $p = 0,002$). Интересно отметить, что при учёте только иммунных статусов, взятых до лечения, спонтанная миграция имела противоположное влияние на ОВ (ОР 0,533; $p = 0,012$). Снижение уровня показателя ниже РЗ являлось благоприятным фактором прогноза ОВ у пациентов, получавших ГМВ ($p = 0,003$), и неблагоприятным – при терапии цитокинами ($p = 0,028$). При анализе ВДП связи показателя с параметрами выживаемости при учёте других факторов выявлено не было. При оценке адъювантной терапии у больных меланомой кожи, получавших ДКВ, оказалось, что при повышенном уровне миграции с ФГА реже сохранялся достигнутый эффект и чаще наблюдались признаки ПЗ ($p = 0,025$; $\eta = 0,27$). У больных, получавших ГМВ,

повышенный уровень миграции с ФГА оказывался неблагоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 2,19; $p=0,035$). При анализе ВДП с повышением уровня стимулированной ФГА миграции повышался риск ПЗ вне зависимости от проводимой адьювантной терапии ($p=0,002$). Уровень миграции с ФГА не добавлял дополнительной информации к модели прогноза ОВ и ВДП у больных, получавших самостоятельное системное лечение при учёте других факторов ($p>0,05$). Исключение из этого составляет группа больных, у которых оценка была произведена до лечения. Здесь с повышением уровня индуцированной ФГА миграции снижался риск смерти (ОР 0,989; $p=0,023$) и прогрессирования (ОР 0,991; $p=0,047$) вне зависимости от прочих факторов прогноза и лечения.

Уровень миграции с Кон-А не имел связи с развитием ПЗ или ОВ ($p>0,05$) при оценке адьювантной терапии. При анализе ВДП, однако, уровень стимулированной Кон-А миграции являлся неблагоприятным предиктором ВДП у больных, получавших ДКВ (ОР 1,018; $p=0,003$). Уровень миграции с Кон-А не добавлял дополнительной информации к модели прогноза ОВ у больных, получавших самостоятельное системное лечение, при учёте других факторов ($p>0,05$). При оценке ВДП повышенный уровень миграции с Кон-А являлся благоприятным фактором прогноза у больных, получавших ДКВ (ОР 0,32; $p=4\times 10^{-4}$) и цитокины (ОР 0,255; $p=0,035$). При оценке показателя до лечения также была выявлена статистически значимая, однако противоположная по значению, связь с риском ПЗ (ОР 1,003; $p=0,034$), но не смерти, у больных, получавших ДКВ.

6.2.18. Прогностическое и предиктивное значение соотношения показателей иммунной системы

В нашем исследовании соотношения фракций лейкоцитов, такие как NLR, CD3/CD4, ЦТЛ/Treg, не оказывали влияния на риск смерти или ПЗ больных, получавших адьювантную терапию меланомы ($p>0,05$).

При оценке ИРИ до лечения у пациентов, получавших ипилимумаб, оказалось, что при низких значениях данного показателя чаще наблюдался ЧР, тогда как ПР отмечались только при РЗ или повышении индекса ($p=0,02$; $\eta=0,155$; КоС=0,355). При этом вероятность достижения ПР росла с увеличением показателя за счёт увеличения глубины ответа. Статистически значимых расхождений в частоте ОО между группами при этом не наблюдалось. В общей группе, без учёта вида терапии, наблюдалась схожая тенденция к снижению частоты ЧР и росту частоты ПЗ по мере увеличения ИРИ ($p=0,02$; КоС=0,202).

При более детальной оценке динамики опухоли выявлен ряд дополнительных трендов. У пациентов, получавших анти-CTLA4 терапию, статистически значимых связей с эффектом

лечения не наблюдалось ($p=0,387$). При проведении лечения анти-PD1 препаратами, равно как и ДКВ, подобные взаимодействия были выявлены ($p=0,021$ и $p=4 \times 10^{-5}$ соответственно). В обоих случаях низкий ИРИ снижал вероятность ПЗ за счёт увеличения частоты регрессов опухоли. При проведении ТТ наблюдалась обратная зависимость ($p=0,026$): при снижении ИРИ в 81% случаев наблюдалось ПЗ и в 4,8% случаев – регресс, тогда как при РЗ данные вероятности были равны (по 44,4%), а при повышенном значении ИРИ ПЗ наблюдалось в 33% случаев, а регресс – в 22%. При анализе всех иммунных статусов без учёта терапии при сниженных значениях реже наблюдалось развитие ПЗ (2,2% против 3% – при РЗ и 6% – при повышенных значениях) и чаще регистрировался состоявшийся ОО (18,3% против 8,8% – при РЗ и 10,1% – при повышенных значениях). Данные изменения оказались статистически значимыми ($p=2 \times 10^{-4}$).

При анализе выживаемости уровень ИРИ являлся независимым фактором неблагоприятного прогноза ОВ (ОР 1,209; $p=4 \times 10^{-5}$) и ВДП (ОР 1,138; $p=0,002$) у больных меланомой, получавших самостоятельное лекарственное лечение. Взаимодействие его или соотношения CD3 к CD4 с видом лечения также имело значение в многофакторной модели ОВ ($p=0,001$), однако высокая корреляция регрессионных коэффициентов этих показателей нарушала предположение модели и не позволяла проводить дальнейший анализ этих взаимодействий. При изучении иммунных статусов до лечения ИРИ сохранял своё негативное прогностическое влияние на ВДП (ОР 1,434; $p=0,004$), но не на ОВ ($p=0,21$). Прогностическая роль отклонений показателя от РЗ зависела от вида терапии. Так, у пациентов, получавших цитокины, снижение ИРИ ниже РЗ до лечения было фактором благоприятного прогноза ВДП (ОР 0,232; $p=0,005$), равно как и его увеличение выше РЗ (ОР 0,412; $p=0,025$).

При анализе адъювантной терапии лишь у пациентов, получавших НМВ, выявлена ассоциация ИРИ с эффектом лечения. При сниженных значениях показателя реже сохранялся ответ за счёт увеличения числа больных с развивающимся ПЗ (ОР 6,411; $p=0,012$). Интересно отметить, что ни одного случая ПЗ при РЗ иммунорегуляторного индекса зарегистрировано не было ($p=0,012$). Снижение ИРИ у больных, получавших ГМВ в адъювантном режиме, повышало риск смерти пациента более чем в 5 раз ($p=0,001$). При применении ДКВ в качестве адъювантной терапии повышение данного индекса снижало риск смерти (ОР 0,405; $p=0,002$). При анализе ОВ у больных меланомой на фоне адъювантной терапии, в отличие от самостоятельного лекарственного лечения, уровень ИРИ был независимым от терапии благоприятным фактором прогноза (ОР 0,846; $p=0,039$). При анализе ВДП было выявлено значимое взаимодействие уровня ИРИ и проведённого лечения ($p=7 \times 10^{-5}$). При этом снижение ИРИ у больных меланомой, получавших НМВ, являлось неблагоприятным фактором прогноза

(OR 6,411; $p=4\times 10^{-5}$), тогда как его повышение у больных, получавших ГМВ – благоприятным (OR 0,391; $p=0,008$). При оценке состояния ИС до лечения у больных, получавших адъювантную терапию, повышенный ИРИ сохранял своё выраженное позитивное прогностическое значение у больных, получавших ГМВ (OR 0,087; $p=0,028$). Снижение ИРИ у больных, получавших НМВ, имело тенденцию к негативному значению, не достигшему заданного в исследовании уровня значимости ($p=0,062$).

При оценке соотношения НКТ и ЦТЛ у больных меланомой, получавших адъювантную терапию, отмечено повышение риска смерти (OR 16,105; $p=0,001$) и ПЗ (OR 9,395; $p=0,0001$). При анализе только иммунных статусов до лечения в данной группе больных связи показателя с риском ПЗ или смерти выявлено не было ($p>0,05$). При изучении этого параметра у больных, получавших самостоятельное системное лечение, была выявлена связь показателя только с параметрами ВДП (OR 2,192; $p=0,002$). При анализе иммунных статусов до лечения связи показателя с ОВ и ВДП выявлено не было ($p>0,05$).

При оценке соотношения НК-клеток и ЦТЛ у больных меланомой, получавших адъювантную терапию, также было отмечено повышение риска смерти (OR 1,63; $p=0,014$). При анализе ВДП выявлено значимое взаимодействие показателя с видом лечения ($p=0,009$). Лишь у больных, получавших ГМВ, отмечено значимое снижение риска ПЗ по мере увеличения данного соотношения (OR 0,339; $p=0,042$), тогда как у остальных пациентов значимых различий с референсной группой выявлено не было. У пациентов, получавших самостоятельное системное лечение, соотношение НК/ЦТЛ также было ассоциировано с повышением риска прогрессирования (OR 1,156; $p=10^{-6}$) и смерти (OR 1,163; $p=5\times 10^{-6}$). При оценке иммунного статуса до лечения у таких пациентов соотношение НК/ЦТЛ демонстрировало сходное влияние на риск смерти, которое, однако, не достигало заданного нами уровня значимости ($p=0,057$). Анализ ВДП показал, что соотношение НК и ЦТЛ у больных с меланомой до лечения имеет предиктивную значимость при отдельных видах лечения ($p=5\times 10^{-5}$), при этом всегда являясь фактором неблагоприятного прогноза.

Отношение ЦТЛ к $CD127^{low}$ Treg являлось благоприятным фактором прогноза ОВ больных меланомой, получавших самостоятельное системное лечение (OR 0,98; $p=0,003$). Такую же роль в прогнозе ОВ продемонстрировало соотношение ЦТЛ/ FOXP3⁺Treg (OR 0,963; $p=0,004$). При оценке ВДП индекс ЦТЛ/ FOXP3⁺Treg был предиктором ВДП только у больных, получавших цитокины (OR 0,77; $p=0,001$), тогда как связи индекса ЦТЛ/ FOXP3⁺Treg с ВДП выявлено не было ($p>0,05$). При оценке соотношения ЦТЛ к $CD127^{low}$ Treg до лечения оказалось, что у больных ДКВ с ростом данного фактора увеличивается риск смерти (OR 1,209; $p=0,02$). Отношение ЦТЛ к FOXP3⁺Treg при этом сохраняло своё благоприятное значение

для всех видов лечения (ОР 0,961; $p=0,048$). При этом в отношении ВДП индекс ЦТЛ/CD127^{low} Treg до лечения сохранял своё благоприятное значение для всех видов лечения (ОР 0,972; $p=0,003$), тогда как соотношение ЦТЛ/FOXP3⁺Treg не имело статистически значимой связи с показателями ВДП ($p=0,301$).

Индекс dNLR у больных меланомой, получавших самостоятельное лекарственное лечение, был связан с риском смерти (ОР 1,177; $p<0,001$) и ПЗ (ОР 1,089; $p=10^{-6}$). Связь показателя с выживаемостью сохранялась и при изучении иммунных статусов, оценённых исключительно до начала терапии (ОР 1,148; $p=0,001$ – для ОБ и ОР 1,146; $p=10^{-4}$ для ВДП). Индекс NLR также оказался связан с риском ПЗ, но не смерти, однако эта связь достигала заданного нами уровня значимости только у больных, получавших ипилимумаб (ОР 1,118; $p=10^{-5}$). При включении в анализ только иммунных статусов, взятых до начала терапии, NLR оказался значимым фактором неблагоприятного прогноза ОБ (ОР 1,119; $p=0,18$) и ВДП (ОР 1,102; $p=0,015$).

При оценке LMR у больных меланомой, получавших адъювантную терапию, повышение показателя ассоциировалось с худшим прогнозом ОБ лишь у пациентов, получавших НМВ (ОР 1,06; $p=0,017$). Связи уровня данного показателя с ВДП выявлено не было ($p>0,05$). При оценке иммунного статуса до лечения значимых ассоциаций с уровнем ОБ или ВДП выявлено не было ($p>0,05$). Изучение данного соотношения у пациентов, получавших самостоятельное лекарственное лечение, показало статистически значимую (ОР 0,672; $p=0,045$) связь показателя с ОБ лишь у пациентов, получавших ТТ. Связи показателя с ВДП выявлено не было ($p>0,05$). При изучении иммунных статусов, полученных до начала самостоятельного системного лечения больных меланомой, LMR являлся независимым фактором неблагоприятного прогноза ВДП (ОР 1,004; $p=0,024$), но не ОБ ($p=0,102$).

При анализе уровня NMLR у больных меланомой, получавших адъювантную терапию, оказалось, что с увеличением данного показателя увеличивался риск смерти у больных, получавших ГМВ (ОР 1,468; $p=0,00002$). При оценке ВДП данная закономерность выявлялась не только у пациентов на фоне терапии ГМВ (ОР 1,477; $p=10^{-5}$), но и у получавших НМВ (ОР 1,723; $p=0,007$). При оценке иммунных статусов, оценённых исключительно до лечения, подобных связей выявлено не было ($p>0,05$). Для больных, получавших самостоятельное лекарственное лечение, уровень NMLR также являлся фактором неблагоприятного прогноза ОБ (ОР 1,408; $p=2\times 10^{-6}$). При анализе ВДП показатель оказался зависимым от терапии предиктором ПЗ. Он увеличивал риск ПЗ у пациентов, получавших анти-CTLA4 терапию (ОР 1,904; $p=4\times 10^{-5}$), ГМВ (ОР 1,091; $p=0,024$) и имел тенденцию к ухудшению прогноза у пациентов, получавших ПХТ ($p=0,054$).

При оценке иммунного статуса до лечения NMLR оказался независимым от терапии фактором прогноза ВДП (ОР 1,506; $p=0,047$), но не ОВ ($p=0,094$).

6.2.19. Прогностическое и предиктивное значение показателей

В-клеточного звена иммунной системы

При оценке уровня В-лимфоцитов, IgA и IgM до начала терапии не было выявлено связи с максимальным эффектом лечения ($p>0,05$). У всех больных, вне зависимости от вида лечения, с повышенным уровнем IgG до начала терапии наблюдалась повышенная частота ЧР ($p=0,02$; КоС=0,325). У пациентов с повышенным уровнем ЦИК перед проведением ХИТ чаще наблюдались объективные ответы на лечение. Фактически нами не выявлено случаев ответа на терапию у пациентов, получавших ХИТ с РЗ данного показателя ($p=0,12$; $U=0,27$).

При более подробном анализе динамики опухолевых очагов установлено, что у пациентов со сниженным уровнем В-лимфоцитов наблюдалась повышенная частота ПЗ и сниженная вероятность СЗ (LRT, $p=0,048$). У пациентов, получавших анти-PD1 терапию, наблюдалась обратная зависимость: частота регрессов была выше у больных с РЗ показателя ($p=0,032$ – для абсолютных значений, $p=-0,35$ – для относительных). При оценке абсолютных значений показателя подобная тенденция сохранялась, однако достигала статистической значимости лишь для крайне низкого уровня В-клеток, при котором наблюдалась повышенная частота выраженных ЧР ($p<0,05$).

Некоторые значимые тенденции наблюдались и у пациентов, получавших ДКВ и ГМВ, однако в целом они не достигали заданного в исследовании уровня значимости, вероятно, из-за малого числа случаев в отдельных категориях уровня В-лимфоцитов ($p>0,1$). При других видах лечения и при анализе всех больных без учёта вида терапии статистически значимых различий выявлено не было. При анализе всех больных без учёта вида лечения была отмечена тенденция к повышению частоты выраженных ЧР у пациентов с крайне низким уровнем В-клеток ($p<0,05$), однако в целом взаимодействие динамики опухоли и уровня В-лимфоцитов было статистически незначимым ($p=0,365$). Детальный анализ динамики опухоли показал, что развитие регресса у больных с ГМВ наблюдалось только при РЗ ЦИК (15,7% против 0% у больных с повышенными ЦИК, $p=0,009$).

При изучении ОВ у больных меланомой, получавших самостоятельную терапию, отклонение в уровне В-лимфоцитов (прежде всего, их снижение) являлось фактором неблагоприятного прогноза. Так, относительный риск смерти увеличивался до 1,666, вне зависимости от лечения, при повышении данного показателя ($p=0,001$) и имел ту же, но статистически незначимую ($p=0,11$) тенденцию при повышении. Снижение относительного

уровня В-лимфоцитов при применении нестандартных методов лечения резко увеличивало риск смерти больных ($p=0,003$). В меньшей степени неблагоприятное влияние на ОВ оказывало повышение относительного уровня В-лимфоцитов у данной категории больных ($p=0,026$). В то же время при использовании цитокинов подобные отклонения являлись благоприятным фактором, снижая риск смерти более чем в 2 раза (ОР 0,435; $p=0,006$). При оценке ВДП значимость отклонения уровня В-лимфоцитов целиком зависела от проведённого лечения.

Так, у больных, получавших ипилимумаб, риск прогрессирования повышался (ОР 1,758; $p=0,005$) при снижении показателя, равно как и у больных, получавших НМВ (ОР 37,891; $p=0$). Так же, как и при анализе ОВ, снижение уровня В-лимфоцитов являлось благоприятным фактором у больных, получавших цитокины (ОР 0,349; $p=0,06$). Интересно отметить, что у пациентов, получавших ТТ, при повышении уровня В-лимфоцитов существенно возрастал риск ПЗ (ОР 16,752; $p=0,007$), но не смерти ($p>0,05$). Анализ иммунных статусов исключительно до лечения не выявил статистически значимых связей уровня В-лимфоцитов с ОВ. При оценке ВДП оказалось, что применение НМВ у больных с пониженным уровнем В-лимфоцитов резко увеличивает риск ПЗ (ОР 21,634; $p=3,6\times 10^{-5}$). При применении цитокинов сниженный уровень В-лимфоцитов, наоборот, оказывал положительное влияние на ВДП ($p=0,026$). Повышение уровня В-лимфоцитов до лечения у больных, получавших ГМВ, также повышало риск ПЗ (ОР 10,281; $p=0,026$).

При проведении адъювантной терапии связи уровня В-лимфоцитов с ПЗ и ОВ выявлено не было ($p>0,05$). При оценке иммунного статуса исключительно до лечения относительный уровень В-лимфоцитов являлся независимым фактором неблагоприятного прогноза ВДП, повышая риск ПЗ на 6,9% на каждый 1% содержания этих клеток ($p=0,018$).

Уровень IgA был тесно связан с эффективностью вакцинотерапии меланомы. При сниженном уровне показателя у больных, получавших ГМВ, реже сохранялся достигнутый эффект лечения и чаще наблюдалось развитие ПЗ в ближайшее время ($p=0,006$; КоС=0,488). При этом в нашем исследовании не встречались пациенты с низким уровнем IgA и состоявшимся ПЗ на фоне адъювантной терапии. При повышенном уровне, наоборот, отмечалась максимальная частота состоявшегося ПЗ, но повышения её у больных с начинающимся ПЗ не наблюдалось. Принципиально схожая картина наблюдалась у пациентов, получавших НМВ ($p=0,018$; КоС=0,488) и ДКВ ($p=0,027$; КоС=0,185). У больных с низким уровнем IgG реже сохранялся эффект локального лечения и чаще наблюдалось ПЗ на фоне терапии НМВ в адъювантном режиме ($p=0,049$). Похожие тенденции наблюдались в отношении уровня IgM у больных, получавших ДКВ. Однако значимость этих различий была пограничной (КоС=0,223; $p=0,047$; $p=0,168$, сравнение частот отдельных видов динамики опухоли $p<0,05$).

При анализе выживаемости повышение уровня IgG являлось независимым благоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 0,557; $p=0,003$) и ВДП (ОР 0,943 при повышении на 1 г/л; $p=1,5 \times 10^{-6}$) в многофакторном анализе. Значение уровня сывороточного IgA оказалось тесно связанным с проведённым лечением. Так, у больных, получавших ГМВ, риск ПЗ (ОР 1,194; $p=10^{-6}$) и смерти (ОР 1,072; $p=0,032$) увеличивался по мере роста показателя. Интересно отметить, что любое отклонение уровня IgA от РЗ в адъювантной терапии увеличивало риск ПЗ и смерти в 2,803 раза при проведении адъювантной терапии ГМВ ($p<0,05$). В противоположность этому у больных, получавших ДКВ, риск смерти уменьшался (ОР 0,657; $p=0,006$, и отмечалась тенденция к снижению риска ПЗ при повышении показателя, однако она не достигла заданного в исследовании уровня значимости ($p=0,061$). У больных, получавших цитокины, по мере роста уровня сывороточного IgA повышался только риск ПЗ, но не смерти (ОР 1,53; $p=10^{-5}$). При этом снижение уровня IgA ниже РЗ у больных, получавших цитокины, было значимым неблагоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 34,787; $p=0$). Повышение показателя выше РЗ у пациентов, получавших ХИТ, также являлось неблагоприятным фактором прогноза (ОР 35,071; $p=0,037$).

Уровень IgM оказывал разнонаправленное влияние на риск смерти больных меланомой, которое зависело от проводимого системного лечения метастатического процесса. У пациентов, получавших ГМВ (ОР 0,753; $p=0,0004$) и ТТ (ОР 0,267; $p=0,001$), с ростом показателя риск смерти снижался. У больных, получавших ДКВ (ОР 1,216; $p=0,021$) и цитокины (ОР 1,205; $p=0,001$), риск смерти, наоборот, повышался по мере увеличения уровня IgM. При анализе ВДП наблюдались аналогичные тенденции связи риска ПЗ с уровнем иммуноглобулинов. Уровень IgM был связан со снижением риска ПЗ у больных, получавших ГМВ, и повышением риска у больных, получавших ДКВ.

У пациентов на фоне терапии цитокинами риск ПЗ также повышался, но не достигал заданного нами уровня значимости ($p=0,078$). При оценке содержания иммуноглобулинов до лечения оказалось, что повышение уровня IgM повышало риск смерти только у больных, получавших цитокины (ОР 1,251; $p=0,004$). Повышение уровня IgA до лечения значительно увеличивало риск смерти у больных, получавших ХИТ ($p=0,001$), и снижало у пациентов, получавших НМВ ($p=0,041$). Связи уровня иммуноглобулинов с ВДП выявлено не было ($p>0,05$).

При многофакторном анализе ОВ у больных меланомой, получавших адъювантную терапию, была выявлена значимая предиктивная роль уровня иммуноглобулинов. Так, повышение уровня IgM являлось негативным фактором прогноза, прежде всего у больных, получавших НМВ (ОР прогрессирования 1,427; ОР смерти 1,57; $p<0,001$). Отклонение уровня

IgA от РЗ также оказывало разнонаправленное влияние на риск смерти. При этом у пациентов, получавших ГМВ или НМВ, подобные отклонения являлись негативными факторами прогноза, повышая риск ПЗ и смерти в 2,8–6,1 раза ($p=0,015$ и $p=0,014$ соответственно), тогда как при применении ДКВ, они, наоборот, снижали риск смерти (ОР 0,144; $p=0,008$). Аналогичные, но более выраженные, связи были выявлены при анализе ВДП ($p=0,009$, $p=0,001$ и $p=3,03 \times 10^{-4}$ соответственно). Более детальный анализ отклонений в модели Кокса был невозможен из-за малого числа законченных наблюдений.

Вместе с тем при анализе частот отклонений были выявлены статистически значимые различия ($p=0,01$) между частотой снижения уровня IgA у больных, получавших ГМВ и ДКВ. В последней группе снижение наблюдалось у 14% пациентов, тогда как у больных, получавших ГМВ, – у 5,7%. Различий в частоте повышения показателей выявлено не было ($p>0,05$). Частота повышенного уровня IgA колебалась от 4% до 9%. При анализе иммунного статуса до лечения значимых связей уровней иммуноглобулинов с ОВ или ВДП у больных, получавших адьювантную терапию, выявлено не было ($p>0,05$).

При высоком уровне ЦИК после радикального хирургического лечения наблюдалась повышенная частота ПЗ во всей группе ($p<0,05$). Эта особенность была наиболее выражена у больных, не получавших адьювантного лечения ($p=0,031$), тогда как при других вариантах терапии эти отклонения не достигали заданного уровня статистической значимости ($p>0,05$). При анализе ОВ оказалось, что уровень ЦИК являлся неблагоприятным фактором прогноза у больных, получавших адьювантную терапию ГМВ (ОР 1,021; $p=8 \times 10^{-6}$), и благоприятным фактором для пациентов, получавших ДКВ (ОР 0,993; $p=0,045$), по аналогичным показаниям. При анализе ВДП значимость фактора у пациентов с ГМВ сохранялась (ОР 1,012; $p=0,0005$), тогда как для ДКВ связь с риском ПЗ не достигла заданного в исследовании уровня значимости ($p=0,093$). При оценке иммунных статусов до лечения связи уровня ЦИК с показателями выживаемости выявлено не было ($p>0,05$).

При анализе пациентов, получавших самостоятельную лекарственную терапию, уровень ЦИК не был связан с показателями ОВ ($p>0,05$). При оценке ВДП повышение уровня ЦИК являлось негативным фактором прогноза вне зависимости от вида терапии (ОР 1,273; $p=0,046$). При оценке иммунного статуса до лечения связи уровня ЦИК с показателями выживаемости выявлено не было ($p=0,05$).

6.3. Прогностическое и предиктивное значение иммунологических показателей у больных почечноклеточным раком

6.3.1. Прогностическое и предиктивное значение основных фракций лейкоцитов и их соотношения у больных почечноклеточным раком

Уровень лейкоцитов не ассоциировался с эффектом терапии у больных ПКР при анализе отдельных видов лечения. При оценке показателей всех пациентов без учёта вида терапии была отмечена тенденция к снижению частоты ОО при низком уровне этих клеток ($p < 0,05$), хотя в целом значимость ассоциации была пограничной ($p = 0,052$).

При более детальной оценке динамики опухоли отмечено увеличение частоты ПР с 2,3% до 20% при лейкоцитозе, и их отсутствие при лейкопении ($p < 0,05$), и повышение частоты СЗ при лейкопении по сравнению с РЗ ($p < 0,05$). Однако, как и при грубой оценке ответа, в целом ассоциация между уровнем лейкоцитов и ответом на лечение оказалась незначимой ($p = 0,258$).

Связь уровня лейкоцитов с динамикой опухоли и показателями выживаемости у больных ПКР, получавших адъювантную терапию, оказалась статистически незначимой ($p > 0,05$). Анализа по отдельным видам терапии не проводилось из-за малого числа наблюдений. При оценке иммунного статуса больных, получавших самостоятельное лекарственное лечение, с ростом уровня лейкоцитов возрастал риск смерти у больных, получавших ГМВ (ОР 1,104; $p = 0,006$). При этом связи показателя с риском ПЗ выявлено не было ($p > 0,05$).

Абсолютный уровень лимфоцитов не имел ассоциаций с эффективностью терапии при ПКР. У больных, которым проводилась физическая абляция метастатических очагов при ПКР, отмечался лучший эффект лечения при сниженном относительном уровне лимфоцитов ($p = 0,0007$; $\eta = 0,547$; КоС=0,48). При детальной оценке динамики опухолевых очагов выявлена умеренная значимая связь показателя с эффектом терапии ($p = 0,006$; $\eta = 0,136$; КоС=0,378). Только у пациентов с повышенным уровнем лимфоцитов регистрировалось развитие ПЗ после ранее достигнутой СЗ.

При изучении показателей выживаемости у больных, получавших самостоятельное лекарственное лечение, относительный уровень лимфоцитов являлся благоприятным фактором прогноза у пациентов, получавших вакцины (ОР=0,925; $p = 0,00002$ – для ГМВ и ОР=0,947; $p = 0,003$ – для НМВ). Связи уровня лимфоцитов с риском ПЗ выявлено не было. Связь уровня лимфоцитов с уровнем динамики опухоли и показателями выживаемости у больных ПКР, получавших адъювантную терапию, оказалась статистически незначимой ($p > 0,05$).

Моноцитоз был связан с эффектом терапии вне зависимости от метода лечения ПКР и увеличивал риск ПЗ ($p < 0,05$), однако не влиял на другие исходы терапии ($p > 0,05$). Данный тренд не прослеживался при оценке относительных значений показателя. В отдельных видах

лечения подобная тенденция не достигала заданного уровня значимости из-за небольшого количества наблюдений ($p > 0,05$). При детальном анализе динамики опухоли тенденции сохранялись, однако не достигали статистической значимости ($p > 0,05$). Так, у больных, получавших ГМВ, при повышенном уровне моноцитов чаще наблюдалось ПЗ ($p < 0,05$), но в целом связь уровня моноцитов с эффектом оказалась статистически незначимой ($p = 0,089$).

Аналогичная тенденция просматривалась у пациентов, получавших НМВ ($p < 0,05$). В отличие от других видов терапии, у пациентов, получающих цитокины при ПКР, развивающийся регресс всегда ассоциировался с повышенным уровнем моноцитов ($p < 0,05$). Уровень CD14⁺ моноцитов не имел связей с эффективностью терапии или выживаемостью больных ПКР ($p > 0,05$). Относительный уровень моноцитов являлся фактором неблагоприятного прогноза ВДП у больных, получавших ГМВ в качестве единственного системного лечения метастатического ПКР (ОР 1,157; $p = 0,002$), и не влиял на показатели ОВ ($p > 0,05$).

Анализ абсолютного уровня моноцитов больных ПКР, получавших адъювантную терапию, показал, что у пациентов с ПЗ после проведённой адъювантной терапии всегда наблюдался моноцитоз. При этом у пациентов в группе моноцитоза реже сохранялась достигнутая ремиссия ($p = 0,002$; $\eta = 0,293$; КоС=0,351). В общей популяции без учёта вида терапии наблюдалась аналогичная динамика ($p = 0,025$; $\eta = 0,222$; КоС=0,306). Связь динамики опухоли с относительным уровнем моноцитов отсутствовала во всех группах, включённых в анализ ($p > 0,05$). При анализе выживаемости у больных, получавших адъювантную терапию, относительный уровень моноцитов был предиктором ОВ в многофакторном анализе (ОР 1,112; $p = 0,025$). Связи показателя с ВДП выявлено не было ($p = 0,145$).

Абсолютный уровень нейтрофилов не был связан с эффективностью какого-либо лечения у больных ПКР ($p > 0,05$). Частота ОО при пониженном относительном уровне нейтрофилов у больных, получавших ГМВ при ПКР, была выше (80%), чем при РЗ показателя (18,5%, FT, $p = 0,015$; $\eta = 0,497$; КоС=0,445). При анализе всех пациентов без учёта вида лечения тенденция в отношении частоты ОО сохранялась ($p = 0,008$; $\eta = 0,318$; КоС=0,379). Детальное рассмотрение динамики опухоли показало, что у пациентов после хирургического лечения относительный уровень нейтрофилов был снижен, тогда как после развития ПЗ этот показатель чаще находился в РЗ (LRT без учёта терапии, $p = 0,038$; у больных, получавших ГМВ, $p = 0,008$).

Связь уровня нейтрофилов с динамикой опухоли и показателями выживаемости у больных ПКР, получавших адъювантную терапию, оказалась статистически незначимой ($p > 0,05$). При оценке данных пациентов, получавших самостоятельное системное лечение,

абсолютный уровень нейтрофилов в однофакторном анализе оказался связан с риском ПЗ ($p=0,031$).

Связи уровня базофилов с частотой ответов на терапию у больных раком почки выявлено не было ($p>0,05$). При более детальном анализе динамики опухоли оказалось, что в общей популяции, без учёта вида лечения, повышенный уровень базофилов ассоциировался со снижением выраженности ответа на лечение ($p=0,035$; $\eta=0,372$). Заслуживает внимания повышенное относительное содержание базофилов во всех оценённых иммунных статусах после полной циторедукции ($p<0,05$). Связь уровня базофилов с динамикой опухоли у больных ПКР, получавших адъювантную терапию, также оказалась статистически незначимой ($p>0,05$).

Абсолютный уровень эозинофилов не имел статистически значимой связи с эффективностью лечения у больных ПКР ($p>0,05$). Повышенный относительный уровень этих клеток у пациентов, получавших ГМВ, ассоциировался с повышенной частотой ОО и сниженным риском ПЗ ($p=0,003$; $\eta=0,574$; $KoC=0,498$). У больных, получавших НМВ, данная тенденция также прослеживалась, однако малое количество пациентов не дало возможности в полной мере её оценить. Анализ всех иммунных статусов без учёта терапии выявил аналогичный тренд ($p=0,003$; $\eta=0,515$; $KoC=0,462$). Детальный анализ динамики опухолевых очагов показал, что данные различия подтверждаются преимущественно для риска ПЗ. У больных с сохраняющейся ремиссией после полной циторедукции также чаще наблюдался повышенный относительный уровень эозинофилов ($p<0,05$), тогда как значимых различий в частоте ответов на терапию у больных с разным уровнем эозинофилов выявлено не было ($p>0,05$). В целом относительный уровень эозинофилов имел значительную связь с эффектом терапии у больных, получавших ГМВ ($p=0,003$; $\eta=0,574$; $KoC=0,498$), и при обобщённом анализе без учёта вида лечения ($p=0,007$; $\eta=0,437$; $KoC=0,465$).

Связи уровня эозинофилов с динамикой опухоли у больных ПКР, получавших адъювантную терапию, выявлено не было ($p>0,05$). При анализе пациентов, получавших самостоятельное лечение без учёта клинических факторов, с ростом абсолютного уровня эозинофилов возрастал риск смерти ($p=0,027$). Влияния показателя на риск ПЗ выявлено не было ($p>0,05$).

У больных ПКР, получавших адъювантную терапию, индекс NLR оказался важным показателем прогноза ($p=0,035$), но не ОВ ($p=0,564$). Соотношение НК/ЦТЛ, напротив, являлось фактором благоприятного прогноза ОВ ($p=0,026$) и ВДП ($p=0,011$). Связи LMR и NMLR с показателями выживаемости у больных ПКР, получавших адъювантную терапию, выявлено не было ($p>0,05$). Индексы NLR, dNLR, LMR, NMLR, соотношение НК/ЦТЛ не имели связи с показателями выживаемости у больных ПКР, получавших самостоятельное лечение ($p>0,05$).

6.3.2. Прогностическое и предиктивное значение естественных киллеров и показателей фагоцитарной активности у больных раком почки

У больных, получавших ДКВ, ОО наблюдался в 9 раз чаще при повышенном абсолютном уровне НК ($p=0,004$; $\eta=0,516$; $KoC=0,515$). Более детальное рассмотрение динамики опухоли подтвердило различие в отношении сформировавшихся ответов, и, прежде всего, полного регресса (57% – при повышенном уровне и 7% – при РЗ, $p<0,05$). При повышенном абсолютном содержании НК чаще встречались ответы на лечение и реже – ПЗ, тогда как частота переходных состояний была одинакова ($p=0,003$; $\eta=0,454$; $KoC=0,586$). Подобная тенденция наблюдалась и при анализе относительных показателей ($p=0,009$; $\eta=0,502$; $KoC=0,449$). Интересно отметить, что при анализе показателей больных после полной циторедукции и сравнения их с показателями пациентов с полным регрессом без учёта вида лечения оказалось, что первый вариант чаще встречался среди пациентов со сниженным уровнем НК-клеток (как относительным, так и абсолютным), тогда как больные ПКР с ПР на фоне лечения чаще оказывались среди пациентов с повышенным уровнем НК ($p=0,003$; $\eta=0,022$; $KoC=0,573$).

При оценке абсолютного уровня НК до лечения оказалось, что вероятность ОО была повышена у больных с отклонениями показателей от РЗ. При этом статистически значимый рост вероятности ОО был зарегистрирован для снижения показателя ($p=0,02$; $\eta=0,481$; $KoC=0,442$). Для относительного уровня подобной связи выявлено не было ($p=0,689$). Связь уровня НК с динамикой опухоли у больных ПКР, получавших адъювантную терапию, оказалась статистически незначимой ($p>0,05$). При этом данные различия в эффективности лечения при разном уровне НК не транслировались в изменения показателей выживаемости больных, получавших самостоятельное системное лечение. При изучении уровня НК-клеток у больных, получавших самостоятельное лечение, уровень НК-клеток не был связан с показателями выживаемости в многофакторной модели. Вместе с тем при проведении адъювантной терапии относительный, но не абсолютный уровень НК-клеток оказался значимым фактором прогноза ВДП (ОР 0,923; $p=0,018$), хотя по-прежнему не был связан с риском смерти больных ($p=0,096$).

Снижение фагоцитарной активности в НСТ-тесте повышало вероятность достижения ОО у больных, получавших ГМВ (ФТ, $p=0,049$; $\eta=0,305$; $KoC=0,305$). Так, частота ЧР повышалась с 4,5% при РЗ показателя до 25,8% при его снижении ($p=0,04$). Важно отметить, что при значительном снижении показателя чаще всего регистрировалось состояние после полной циторедукции, тогда как при умеренном снижении и РЗ это состояние регистрировалось с одинаковой частотой ($p<0,05$).

У больных с выраженным снижением фагоцитарного индекса нейтрофилов, получавших НМВ, наблюдалось снижение частоты ПЗ ($p < 0,05$) за счёт увеличения частоты ОО ($p > 0,05$). В целом связь фагоцитарного индекса моноцитов с эффективностью НМВ не достигла заданного в исследовании уровня значимости ($p = 0,114$). Детальное рассмотрение динамики опухолевого процесса также не выявило каких-либо ассоциаций ответа на лечение с НСТ.

Сниженный уровень фагоцитарного индекса нейтрофилов, как правило, исключал возможность развития СЗ и в целом приводил к уменьшению глубины ответа у пациентов, получавших ДКВ ($p = 0,048$; $\eta = 0,093$; $KoC = 0,093$). При проведении анализа всех иммунных статусов у больных ПКР без учёта терапии снижение глубины ответа было более заметным ($p = 0,0003$; $\eta = 0,222$; $KoC = 0,308$). При детальной оценке динамики опухоли эта тенденция подтверждалась ($p = 0,006$; $\eta = 0,167$; $KoC = 0,302$).

Связи показателей фагоцитарной активности с динамикой опухоли у больных ПКР, а также с показателями ОВ и ВДП, в многофакторном анализе выявлено не было ($p > 0,05$). При однофакторном анализе показателей фагоцитарной активности до начала терапии у больных, получавших самостоятельное лечение, фагоцитарный индекс моноцитов являлся фактором неблагоприятного прогноза ОВ (ОР 1,975; $p = 0,029$) и ВДП (ОР 2,03; $p = 0,006$).

6.3.3. Прогностическое и предиктивное значение основных субпопуляций

Т-лимфоцитов и их соотношений

При анализе уровня Т-лимфоцитов у всех пациентов без учёта вида лечения наибольшая частота эффектов отмечена у пациентов с РЗ данного показателя. У пациентов с повышенным уровнем Т-лимфоцитов отличия от РЗ были статистически незначимы ($p > 0,05$). Тем не менее при отклонении от РЗ наблюдалось снижение частоты ОО за счёт роста числа больных с ПЗ. При повышенном уровне Т-лимфоцитов СЗ не наблюдалось. В целом ассоциация уровня Т-лимфоцитов с эффектом оказалась статистически значимой ($p = 0,002$; $\eta = 0,211$; $KoC = 0,172$). Более детальный учёт динамики опухоли также подтвердил описываемую тенденцию ($p = 0,002$; $\eta = 0,174$; $KoC = 0,281$).

При оценке относительного уровня Т-лимфоцитов у всех больных связи с эффектом выявлено не было ($p > 0,05$). Однако у больных, получавших ДКВ, отмечен рост частоты ОО у пациентов со сниженным относительным уровнем Т-лимфоцитов ($p = 0,002$; $\eta = 0,550$; $KoC = 0,562$). Прежде всего, это касалось пациентов с достигнутым ОО ($p < 0,05$). Подобная тенденция наблюдалась также при применении цитокинов ($p < 0,05$), однако ввиду малочисленности наблюдений связь оказалась статистически незначимой ($p = 0,096$).

Сниженный уровень Т-лимфоцитов у больных ПКР ассоциировался с большей эффективностью терапии при анализе без учёта вида лечения ($p=0,047$; $\eta=0,423$).

У больных, получавших адъювантную терапию, связи уровня Т-лимфоцитов с динамикой опухоли и показателями ОВ выявлено не было ($p>0,05$). Вместе с тем при анализе ВДП повышение относительного уровня Т-лимфоцитов ассоциировалось с более высоким риском ПЗ (ОР 1,049; $p=0,046$). У пациентов, получавших самостоятельное лекарственное лечение, уровень Т-лимфоцитов не имел связи с риском смерти ($p>0,05$). Однако сниженный меньше РЗ относительный уровень этих клеток являлся благоприятным фактором для пациентов, получавших ГМВ (ОР 0,323; $p=0,018$). При многофакторном анализе иммунных статусов, взятых до проведения самостоятельного системного лечения, уровень Т-лимфоцитов не имел связи с показателями ОВ и ВДП ($p>0,05$).

Абсолютный уровень Th не имел связи с эффективностью лечения у больных ПКР ($p>0,05$). Детальный учёт динамики опухоли показал: что, как повышенные уровни показателя, так и его выраженное снижение, ассоциировалось с повышенной частотой ПЗ за счёт снижения частоты ответов на лечение ($p=0,046$; $\eta=0,186$).

При анализе относительного уровня оказалось, что у больных, получавших ДКВ, все ОО наблюдались при пониженном уровне этих клеток ($p=0,0002$; $KoC=0,242$).

У больных, получавших адъювантную терапию, связи уровня Th с динамикой опухоли и показателями выживаемости выявлено не было ($p>0,05$). При проведении самостоятельного лекарственного лечения снижение абсолютного уровня Th ниже РЗ являлось неблагоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 1,46; $p=0,046$) и ВДП (ОР 1,442; $p=0,039$), независимым от других факторов. При анализе исключительно иммунных статусов до лечения связи уровня Th с показателями выживаемости выявлено не было ($p>0,05$).

У всех больных со сниженным уровнем ЦТЛ, получавших ГМВ, наблюдалось ПЗ ($p=0,003$; $\eta=0,396$; $KoC=0,368$). Для других видов терапии и при оценке всех иммунных статусов без учёта лечения значимых связей с эффективностью выявлено не было ($p>0,05$). Тем не менее детальный учёт динамики опухоли показал, что при повышенном уровне ЦТЛ чаще наблюдалось ПЗ и реже – клинический эффект от проводимой терапии ($p=0,03$; $\eta=0,244$).

При оценке относительных значений снижение эффективности терапии при росте уровня ЦТЛ оказалось значимым вне зависимости от проведённого лечения ($p=0,011$; $\eta=0,135$; $KoC=0,17$).

При анализе больных, получавших адъювантную терапию, у пациентов со сниженными относительными значениями ЦТЛ чаще наблюдалось ПЗ на фоне проведённого лечения вне зависимости от его вида ($p=0,013$; $\eta=0,255$; $KoC=0,34$). При анализе выживаемости повышение

относительного уровня ЦТЛ являлось неблагоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 1,079; $p=2 \times 10^{-4}$) и ВДП (ОР 1,051; $p=0,007$). У больных, получавших самостоятельное системное лечение, уровень ЦТЛ не имел связи с показателями выживаемости ($p>0,05$).

При оценке ИРИ связи данного показателя с эффектом лечения выявлено не было ($p>0,05$). При детальном анализе динамики опухоли отмечена разная значимость изменений данного показателя при НМВ и ДКВ. При первой частота ПЗ росла при пониженных значениях показателя, при второй – при повышенных ($p<0,05$). Впрочем, для двух этих групп связь между ИРИ и динамикой опухоли оказалась статистически незначимой ($p=0,108$ и $p=0,073$ соответственно). При анализе выживаемости рост уровня ИРИ был благоприятным фактором прогноза при любом лечении, однако данное взаимодействие достигало заданного нами уровня значимости лишь у пациентов, получавших НМВ ($p=0,01$). Связи показателя с ВДП, а также влияния ИРИ до лечения на показатели выживаемости выявлено не было ($p>0,05$).

Анализ больных, получавших адъювантную терапию, не выявил связи ИРИ с динамикой опухолевого процесса ($p>0,05$). Однако при анализе выживаемости в данной группе больных риск смерти снижался по мере увеличения ИРИ ($p=0,011$). Связи ИРИ с показателями ОВ выявлено не было. Другие соотношения иммунологических показателей не были связаны с показателями выживаемости у больных ПКР, получавших адъювантную терапию ($p>0,05$).

Соотношение НК/ЦТЛ не имело связи с показателями выживаемости у больных ПКР, получавших самостоятельное лечение ($p>0,05$).

6.3.4. Прогностическое и предиктивное значение экспрессии маркеров активации и тестов функциональной активности у больных почечноклеточным раком

Уровни $CD38^+$, $CD71^+$ и $CD95^+$ лимфоцитов, а также общий уровень $CD25^+$ МНПК, не имел значимых связей с эффективностью терапии больных ПКР ($p>0,05$).

У всех больных ПКР, включённых в исследование, наблюдался повышенный абсолютный уровень $HLA-DR^+$ лейкоцитов. Относительный уровень позволял оценить связь показателя с эффектом терапии у пациентов, получавших НМВ, ГМВ, и во всей популяции без учёта проводимого лечения. Лишь в последней группе были статистически значимые изменения: по мере снижения относительного уровня $HLA-DR^+$ лейкоцитов снижалась вероятность достижения ответа на лечение в пользу увеличения вероятности СЗ ($p=0,007$; $\eta=0,414$; КоС 0,396). Более подробный анализ показал, что при сниженном уровне $HLA-DR$ чаще всего наблюдается развитие процесса прогрессирования при ранее достигнутой СЗ (20% против 3,1% – при РЗ и 0% – при повышении показателя, $p=0,039$). При оценке выживаемости риск ПЗ

снижался по мере повышения относительного уровня HLA-RD⁺ лимфоцитов ($p=0,014$). Однако до лечения высокий уровень данного фактора повышал риск ПЗ ($p=0,009$).

У больных, получавших адъювантную терапию, связи общей экспрессии маркеров активации лейкоцитов с динамикой опухоли или выживаемостью выявлено не было ($p>0,05$). При анализе данных больных, получавших самостоятельное системное лечение, относительный уровень CD38⁺ лимфоцитов являлся фактором неблагоприятного прогноза ВДП (ОР 1,027; $p=0,039$), но не влиял на ОВ ($p=0,71$). Аналогичную роль демонстрировал абсолютный уровень CD71⁺ лимфоцитов при анализе ВДП (ОР 20,975; $p=0,002$). Повышение относительного уровня CD95⁺ лимфоцитов также оказалось фактором неблагоприятного прогноза в однофакторном анализе (ОР 1,08; $p=0,004$). Многофакторный анализ с включением уровня CD95⁺ лимфоцитов не проводился из-за недостаточного числа полных наблюдений.

При оценке уровня CD25⁺МНПК повышение их относительного содержания увеличивало риск смерти вне зависимости от прочих факторов прогноза (ОР 1,071; $p=0,0001$). При анализе ВДП значимыми факторами, повышавшими риск ПЗ, являлись абсолютный уровень этих клеток (ОР 23,775; $p=8\times 10^{-6}$) у всех пациентов и относительный уровень у больных, получавших ГМВ (ОР 1,082; $p=0,002$).

Анализ уровня HLA-DR⁺Th проводился только среди пациентов, получавших ДКВ, и в общей популяции больных без учёта терапии. Другие группы были слишком малы для анализа. При ДКВ повышенный уровень показателя (как абсолютный, так и относительный от Th, но не от LY) ассоциировался с меньшей частотой ОО ($p=0,01$; $\eta=0,811$; КоС=0,655). Прежде всего, это касалось частоты ПР ($p=0,035$). В общей группе пациентов с ПКР такие связи наблюдались лишь при детальном изучении динамики опухоли ($p=0,0004$; $\eta=0,267$; КоС=0,675).

Оценка связи CD25⁺Th проводилась только в общей популяции больных без учёта терапии и у пациентов, получавших ДКВ. Статистически значимых связей абсолютных значений с эффектом выявлено не было. При оценке относительного уровня (относительно Th) у больных, получавших ДКВ, оказалось, что наибольшее число эффектов регистрировалось при РЗ показателя, тогда как отклонения снижали вероятность ОО за счёт увеличения частоты СЗ ($p=0,004$; $\eta=0,515$; КоС=0,633). В общей популяции наблюдалась аналогичная тенденция ($p=0,003$; $\eta=0,246$; КоС=0,517).

Нами не было выявлено связи, стимулированной Кон-А или ФГА миграции Т-лимфоцитов с общим эффектом лечения ($p>0,05$). При детальном анализе динамики опухоли оказалось, что процесс развития прогрессирования чаще всего наблюдался при сниженном уровне показателя (11% против 1% – при РЗ и 3% – при повышенном уровне, $p<0,05$). Однако в целом связи показателя с динамикой опухоли выявлено не было ($p=0,77$).

При анализе спонтанной миграции, который проводился только у больных ПКР, получавших лечение ДКВ, НМВ, ГМВ и цитокинами, повышенный уровень данного показателя практически неизбежно вёл к ПЗ в общей группе пациентов ($p=0,006$; $\eta=0,233$; $KoC=0,253$). Детальный анализ динамики опухоли показал, что у некоторых пациентов с развивающимся эффектом может сохраняться повышенный уровень данного показателя, но при состоявшемся КЭ повышенного уровня ни у кого не наблюдалось ($p=0,026$).

У больных с повышенным уровнем стимулированной Кон-А миграции лимфоцитов никогда не наблюдалось развития ПЗ на фоне адьювантной терапии НМВ ($p=0,025$; $\eta=0,163$; $KoC=0,287$). При повышенном уровне спонтанной миграции в общей группе пациентов без учёта терапии чаще наблюдалось ПЗ на фоне лечения ($p<0,05$), однако в целом связь данного показателя с динамикой опухоли не достигла заданного в исследовании уровня значимости ($p=0,066$). Анализ выживаемости пациентов с ПКР не выявил связи уровня спонтанной или активированной миграции лимфоцитов с показателями ОБ и ВДП как при адьювантной, так и при самостоятельной системной терапии ($p>0,05$).

При анализе HLA-DR⁺ЦТЛ, который проводился у больных, получавших ДКВ и в общей популяции без учёта вида лечения, повышенный абсолютный уровень этих клеток ассоциировался со сниженной частотой ОО за счёт увеличения числа СЗ. У больных, получавших ДКВ, эти различия были выражены наиболее сильно ($p=0,014$; $\eta=0,609$; $KoC=0,587$) и сохранялись при анализе как относительных, так и абсолютных значений показателя. Более детальный анализ динамики опухоли показал, что эти отличия статистически значимы для сформировавшихся состояний ПЗ и ОО ($p=0,011$). В общей группе, напротив, они были менее заметны. Значимые различия наблюдались только в отношении частоты СЗ при анализе абсолютных значений ($p<0,05$), тогда как в целом они не достигали заданного уровня значимости ($p=0,086$; $\eta=0,125$; $KoC=0,313$).

6.3.5. Прогностическое и предиктивное значение регуляторных субпопуляций лимфоцитов у больных почечноклеточным раком

При оценке уровня Treg мы чаще всего наблюдали РЗ или сниженные уровни показателя. Подобный уровень, как правило, снижал вероятность ОО и повышал вероятность СЗ на фоне лечения. Для больных, получавших ДКВ, эти отличия оказались статистически значимыми по описываемым показателям, тогда как в общей группе пациентов значимым оказалось лишь увеличение частоты СЗ при сниженных абсолютных уровнях Treg ($p<0,05$). Оценка роли повышенного уровня Treg затруднительна, так как подобные изменения мы наблюдали лишь в четырёх иммунных статусах. Тем не менее связь уровня Treg с эффектом оказалась значимой

как при анализе больных, получавших ДКВ ($p=0,02$; $\eta=0,592$; $KoC=0,688$), так и у всех больных ПКР без учёта вида лечения ($p=0,011$; $\eta=0,275$; $KoC=0,503$). Относительные уровни Treg при этом были в меньшей степени связаны с эффектом, хотя отражали те же самые тенденции. Однако при детальном анализе динамики опухоли у больных, получавших ДКВ, частота ПР была выше именно у пациентов с повышенным относительным уровнем Treg ($p=0,013$). В общей группе подобные отличия также прослеживались ($p=0,001$). Интересно отметить, что после полной циторедукции в процессе лечения реже встречался повышенный уровень Treg (21% против 79%, $p<0,05$).

Повышенный относительный уровень НКТ-клеток ассоциировался с меньшей частотой ПЗ и большей частотой ОО ($p=0,017$; $\eta=0,176$; $KoC=0,277$) при анализе всех иммунных статусов без учёта вида лечения. При этом частота ПР была наибольшей при РЗ, что статистически значимо отличалось от группы с пониженным уровнем показателя (31,8% против 0%, $p<0,05$). Связи ДР с эффектом лечения или динамикой опухоли у больных ПКР выявлено не было ($p>0,05$). Возможной причиной являлось небольшое число наблюдений.

6.3.6. Прогностическое и предиктивное значение показателей

В-клеточного звена иммунной системы

У больных со сниженным абсолютный уровень В-лимфоцитов не наблюдалось ОО ни при терапии ДКВ ($p=0,021$; $\eta=0,474$; $KoC=0,508$), ни во всей популяции пациентов. В общей популяции повышенный уровень этих клеток, напротив, был ассоциирован с большей частотой ОО и меньшей вероятностью ПЗ ($p=0,0005$; $\eta=0,201$; $KoC=0,251$). При оценке относительного уровня В-клеток данная тенденция сохранялась, но прослеживалась слабее, достигая заданного в исследовании уровня значимости лишь в общей популяции пациентов ($p=0,03$; $\eta=0,123$). При анализе выживаемости у больных ПКР, получавших адъювантную терапию, связи уровня В-лимфоцитов с ОВ и ВДП выявлено не было ($p>0,05$). У больных, получавших самостоятельное системное лечение, рост относительного уровня В-лимфоцитов ассоциировался с повышением риска ПЗ, но не смерти ($p=0,12$). В однофакторном анализе параметров иммунного статуса, оценённых до начала лечения у больных, получавших самостоятельное системное лечение, риск ПЗ и смерти повышался с ростом абсолютного уровня В-лимфоцитов ($p=0,024$ и $0,003$ соответственно). Однако высокие значения относительного риска и малое число включённых больных не позволяют исключить существенного смещения, повлиявшего на данный результат.

У всех больных с повышенным уровнем IgG при применении ДКВ наблюдалось ПЗ. Данная тенденция не достигла заданного нами уровня значимости ($p=0,068$). При детальной оценке динамики опухоли у больных, получавших НМВ, при сниженном уровне IgG чаще

регистровалось ПЗ ($p=0,006$). В общей популяции связи уровня IgG с эффектом лечения выявлено не было ($p=0,528$). Уровень IgA и IgM в процессе терапии не имел связи с эффективностью лечения ($p>0,05$). Вместе с тем при детальном анализе динамики опухоли выявлено увеличение частоты ПР у пациентов с повышенным уровнем IgA (15,3% против 0,5% при РЗ, $p<0,05$). Высокий уровень IgM до лечения у больных, получавших НМВ, при ПКР был связан с повышенной вероятностью достижения КЭ ($p=0,028$; $\eta=0,602$; КоС=0,56). Выявленные ассоциации не транслировались в изменение показателей выживаемости больных ($p>0,05$), что может свидетельствовать о незначительной прогностической роли данных показателей.

При анализе результатов адъювантной терапии у больных с повышенным абсолютным уровнем В-лимфоцитов чаще наблюдался процесс развития ПЗ на фоне терапии НМВ ($p=0,012$; $\eta=0,222$; КоС=0,426). Относительный уровень не имел статистически значимых связей с динамикой опухоли ($p=0,238$). При сниженном уровне IgM также чаще регистрировалось ПЗ после адъювантной терапии ($p<0,05$), как в общей группе пациентов без учёта вида лечения, так и в группе больных, получавших НМВ. Однако в целом связь IgM с динамикой опухоли не достигла заданного в исследовании уровня значимости ($p=0,297$ – для всех больных и $p=0,086$ – для НМВ). При анализе выживаемости у больных, получавших адъювантную терапию, только уровень IgA имел статистически значимую связь с ОВ (ОР 1,252; $p=0,007$) и ВДП (ОР 1,199; $p=0,04$) в многофакторном анализе.

Повышенный уровень ЦИК ассоциировался со снижением эффективности терапии у пациентов, получавших ДКВ ($p=0,038$; $\eta=0,446$), и в общей группе при анализе без учёта терапии ($p=0,0002$; $\eta=0,268$; КоС=0,261). У пациентов, получавших самостоятельное системное лечение, с ростом уровня ЦИК снижался риск ПЗ только у пациентов, получавших ГМВ ($p=0,008$). Связи уровня ЦИК до лечения с показателями выживаемости выявлено не было ($p>0,05$). Уровень ЦИК не имел связи с динамикой опухоли у больных ПКР на фоне адъювантной терапии ($p>0,05$). Тем не менее при анализе выживаемости в данной группе пациентов этот показатель оказался значимым фактором прогноза как ОВ (ОР 1,009; $p=2\times 10^{-4}$), так и ВДП (ОР 1,009; $p=2\times 10^{-4}$).

6.4. Прогностическое и предиктивное значение иммунологических показателей у больных саркомами мягких тканей

6.4.1. Прогностическое и предиктивное значение уровня показателей врождённой иммунной системы у больных саркомами мягких тканей

Отклонения в уровне лейкоцитов оказывали существенное влияние на вероятность получения эффекта у больных СМТ, прежде всего, за счёт пациентов, получающих

химиотерапию. Частота ОО росла, а риск ПЗ снижался при увеличении уровня лейкоцитов ($p=2,8 \times 10^{-6}$ – для ПХТ и $p=2,6 \times 10^{-7}$, при оценке всех иммунных статусов, $\eta=0,53$ и $\eta=0,35$, $KoC=0,483$ и $KoC=0,342$ соответственно). Связи уровня лейкоцитов с показателями ОВ у больных СМТ выявлено не было ($p>0,05$). При оценке ВДП сниженный уровень лейкоцитов до лечения значительно повышал риск смерти больных, получавших ДКВ ($p=0,024$).

Сниженный абсолютный уровень лимфоцитов ассоциировался с повышенной эффективностью ПХТ и лечения в целом у больных СМТ ($p=0,007$ – для ПХТ и $p=0,002$, при оценке всех иммунных статусов, $\eta=0,375$ и $\eta=0,133$, $KoC=0,36$ и $0,228$ соответственно). Более детальная оценка динамики опухоли показала, что у больных СМТ, получавших ДКВ, при лимфоцитозе чаще наблюдается развитие регресса опухоли. Прочие тенденции были схожи с таковыми при других видах лечения. Однако заданный в исследовании уровень значимости достигнут не был ($p=0,056$), хотя KoC оказался статистически значимым ($0,358$; $p=0,004$). При изучении связи уровня показателя до лечения с максимальным ответом на терапию наблюдалась общая тенденция к снижению эффективности лечения у больных лимфопенией ($p=0,003$; $\eta=0,470$; $KoC=0,411$), которая подтверждалась и при оценке пациентов, получавших ДКВ ($p=0,031$; $\eta=0,508$; $KoC=0,482$) и ПХТ ($p=0,013$; $\eta=0,638$; $KoC=0,553$).

При оценке относительного уровня лимфоцитов были выявлены иные проявления той же самой тенденции, одинаковые для всех видов лечения: с ростом данного показателя увеличивалась частота ОО ($p=0,0002$; $\eta=0,257$; $KoC=0,269$). При этом у больных, получавших ДКВ ($p=9,9 \times 10^{-5}$; $\eta=0,294$; $KoC=0,398$), эта тенденция проявлялась в наибольшей степени, тогда как при проведении ПХТ значимые отличия наблюдались только по частоте ОО ($p=0,009$; $\eta=0,286$; $KoC=0,359$). Изучение связи относительного уровня лимфоцитов до лечения с максимальным эффектом терапии подтвердило данные наблюдения для ДКВ ($p=0,004$; $\eta=0,663$; $KoC=0,61$). Стоит отметить, что среди пациентов, получавших ПХТ, не было выявлено случаев повышения данного показателя до лечения.

Анализ абсолютного уровня лимфоцитов до лечения показал, что данный параметр является универсальным неблагоприятным фактором, снижающим вероятность эффекта любой терапии ($p=0,003$; $\eta=0,470$; $KoC=0,411$).

При анализе выживаемости относительный уровень лимфоцитов являлся независимым фактором благоприятного прогноза ОВ (ОР 0,944) и ВДП (ОР 0,93) в многофакторном анализе ($p<0,0001$). Снижение уровня лимфоцитов ниже РЗ было значимым фактором благоприятного прогноза ОВ лишь у больных, получавших ПХТ (ОР 0,076; $p=10^{-4}$). При учёте исключительно иммунных статусов до лечения абсолютный уровень лимфоцитов являлся независимым

фактором благоприятного прогноза ОВ (ОР 0,317; $p=0,002$). Снижение абсолютного уровня лимфоцитов ниже РЗ при этом являлось неблагоприятным фактором прогноза ВДП (ОР 2,453; $p=0,001$).

Уровень моноцитов не имел связи с эффективностью терапии у больных СМТ ($P>0,05$). При оценке выживаемости повышение относительного уровня моноцитов являлось фактором неблагоприятного прогноза ВДП (ОР 2,125; $p=0,04$), но не ОВ ($p=0,794$). Анализ иммунных статусов до лечения не проводился из-за недостаточного количества полных наблюдений.

Уровень нейтрофилов не имел статистически значимых связей с эффектом терапии у больных СМТ ($p>0,05$). При анализе выживаемости рассматривались лишь абсолютные и относительные уровни нейтрофилов. Отклонения от РЗ, равно как и уровни нейтрофилов до лечения, не анализировались ввиду недостаточного количества полных наблюдений. Относительный уровень нейтрофилов являлся независимым фактором неблагоприятного прогноза ОВ, повышая риск смерти на 4,6% на каждую единицу показателя ($p=0,02$). Связи уровня нейтрофилов с показателями ВДП выявлено не было ($p>0,05$).

У больных СМТ с повышенным уровнем (относительным и абсолютным) базофилов имела тенденция к повышенной частоте ОО как при проведении ПХТ, так и при анализе без учёта вида лечения ($p<0,05$). Однако ввиду ограниченного количества наблюдений лишь при оценке относительного уровня показателя у больных, получавших ПХТ, выявлена статистически значимая связь ($p=0,028$; $\eta=0,616$; $KoC=0,614$). В этой же группе отмечен рост частоты ПР при повышенном уровне базофилов ($p<0,05$). При детальной оценке динамики опухоли у больных, получавших ДКВ, оказалось, что при повышенном уровне базофилов чаще наблюдается процесс развития ПЗ ($p<0,05$). При оценке других вариантов динамики значимых различий не наблюдалось, что отразилось на незначимом характере связи динамики опухоли и уровня базофилов у больных, получавших ДКВ ($p=0,197$). При анализе выживаемости повышенный относительный уровень базофилов являлся независимым благоприятным фактором прогноза ($p=0,036$). Связи уровня базофилов с показателями ВДП выявлено не было ($p>0,05$). Анализ до лечения не проводился из-за малого количества полных наблюдений.

Уровень эозинофилов не имел статистически значимой связи с эффективностью лечения ($p>0,05$). При анализе выживаемости с увеличением относительного уровня эозинофилов снижался риск смерти (ОР 0,769; $p=0,005$). Связи уровня эозинофилов с показателями ВДП выявлено не было. Роль уровня эозинофилов до лечения не оценивалась из-за недостаточного количества наблюдений.

Сниженный абсолютный уровень НК-клеток снижал вероятность ПЗ ($p<0,05$) за счёт роста частоты СЗ и ОО ($p>0,05$) у больных, получающих ПХТ. Так, при снижении показателя

ПЗ и ОО наблюдались у 34% и 41% пациентов, при РЗ – у 64% и 23% соответственно ($p=0,011$; $\eta=0,328$; $KoC=0,336$). При этом наибольшая выраженность данной тенденции отмечена при умеренном снижении показателя ($p=0,017$). При оценке всех иммунных статусов тенденция в отношении ОО становилась статистически значимой ($p<0,05$), хотя в целом значимость ассоциации факторов не достигла заданного нами уровня значимости ($p=0,1$). Детальный анализ динамики опухоли показал, что наиболее значимые различия наблюдались по вероятности достижения выраженного ЧР, вероятность которого была выше при пониженном уровне НК-клеток как у больных, получавших ДКВ, так и у пациентов, получавших ПХТ.

При анализе относительного уровня НК связи отклонений с эффектом терапии у больных СМТ выявлено не было. Детальная оценка динамики опухоли показала, что у пациентов с пониженным относительным уровнем НК, получавших ДКВ, чаще наблюдались выраженные ЧР, тогда как при повышенном уровне их не наблюдалось вовсе. С другой стороны, во всех случаях оценки иммунного статуса за 1 мес. до ПЗ наблюдалось повышение уровня НК ($p=0,019$). Аналогичная тенденция сохранялась и у пациентов, получавших другие виды лечения ($p<0,05$). При оценке уровня НК до начала терапии оказалось, что их сниженный уровень являлся неблагоприятным фактором при любом виде лечения ($p=0,012$; $\eta=0,412$; $KoC=0,404$).

При анализе ОВ относительный уровень НК являлся независимым неблагоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 1,068; $p=0,002$) и ВДП (ОР 1,074; $p=3\times 10^{-6}$). Вместе с тем значимость отклонения абсолютного уровня НК зависела от проводимого лечения. У больных, получавших ДКВ, их сниженный уровень увеличивал риск смерти ($p=0,001$), тогда как у пациентов, получавших МХТ, наоборот, уменьшал ($p=0,007$). При оценке ВДП отклонения абсолютного уровня от РЗ являлись независимым от терапии фактором прогноза, при этом риск ПЗ повышался при снижении уровня НК-клеток ($p=0,029$) и снижался при повышении их уровня выше РЗ ($p=0,004$). При анализе иммунных статусов, взятых до начала терапии, абсолютный уровень НК-клеток являлся благоприятным (ОР 0,004; $p=0,006$), а относительный – неблагоприятным (ОР 1,15; $p=10^{-5}$) фактором прогноза ОВ. Связи уровня НК-клеток до лечения с риском ПЗ выявлено не было ($p>0,05$).

6.4.2. Прогностическое и предиктивное значение уровня Т-лимфоцитов у больных саркомами мягких тканей

При анализе всех пациентов без учёта вида лечения пониженное абсолютное содержание Т-клеток повышало вероятность ОО ($p=0,032$; $\eta=0,11$; $KoC=0,196$). Особенно ярко это проявлялось при применении ПХТ, где вероятность достижения ответа на терапию

увеличивалась в два раза ($p=0,008$; $\eta=0,31$; $KoC=0,312$). У больных, получавших ДКВ, наблюдалась противоположная тенденция в виде роста вероятности ПЗ в 1,7 раза ($p=0,04$; $\eta=0,183$; $KoC=0,27$). Детальный анализ динамики опухоли подтверждал данные наблюдения и показывал более высокую связь между показателями ($\eta=262$ и $\eta=229$ – для ДКВ и ПХТ соответственно). Снижение относительного уровня Т-лимфоцитов являлось универсальным неблагоприятным фактором для всех пациентов с СМТ вне зависимости от вида терапии ($p=0,017$; $\eta=0,125$) и практически никогда не встречалось у больных с достигнутым объективным ответом на терапию.

При анализе выживаемости снижение абсолютного уровня Т-лимфоцитов меньше РЗ было независимым фактором неблагоприятного прогноза ОВ (ОР 1,772; $p=0,003$) и ВДП (ОР 2,029; $p=8 \times 10^{-6}$). Снижение относительного уровня Т-лимфоцитов, напротив, было фактором благоприятного прогноза ВДП у больных, получавших ДКВ (ОР 0,367; $p=0,005$).

Низкий абсолютный уровень Т-лимфоцитов оказывал неблагоприятное влияние и на вероятность достижения максимального ответа на терапию при его изучении до начала лечения как во всей группе больных СМТ ($p=0,003$; $\eta=0,183$; $KoC=0,437$), так и при проведении терапии ДКВ ($p=0,04$; $\eta=0,508$; $KoC=0,482$) и ПХТ ($p=0,004$; $\eta=0,581$; $KoC=0,514$). При этом с увеличением уровня показателя на 1 – риск смерти снижался на 85% ($p=3 \times 10^{-4}$), а риск ПЗ – на 67% ($p=3 \times 10^{-4}$). Для относительного уровня такой связи не наблюдалось ($p=0,212$). Однако в общей популяции больных подгруппа пациентов со сниженным относительным уровнем Т-лимфоцитов характеризовалась большей частотой ПР (22%) против 1,7% – при РЗ и 0% – при повышенном уровне ($p<0,05$). Тем не менее относительный уровень Т-лимфоцитов не был связан с риском смерти ($p=0,292$), но с его увеличением снижался риск ПЗ в многофакторном анализе (ОР 0,967; $p=0,033$).

6.4.3. Прогностическое и предиктивное значение уровня Th

Снижение абсолютного уровня Th у больных СМТ ассоциировалось со снижением эффективности терапии у пациентов, получавших ДКВ ($p=0,04$; $\eta=0,183$; $KoC=0,27$), и её повышением при проведении ПХТ ($p=0,04$; $\eta=0,183$; $KoC=0,27$). При оценке связи с эффектом без учёта вида терапии тенденция к большей эффективности лечения при сниженных абсолютных уровнях Th сохранялась ($p=0,04$; $\eta=0,183$; $KoC=0,27$). При детальной оценке динамики опухоли, сниженный уровень показателя ассоциировался с повышением частоты ПЗ и снижением частоты СЗ ($p=8 \times 10^{-5}$; $\eta=0,119$; $KoC=0,358$). Оценка абсолютного уровня Th до лечения также выявила негативное влияние пониженного исходного уровня показателя в виде

снижения эффективности лечения как во всей группе пациентов в целом ($p=0,04$; $\eta=0,183$; $KoC=0,27$), так и при анализе данных больных, получавших ДКВ ($p=0,04$; $\eta=0,183$; $KoC=0,27$) или ПХТ ($p=0,04$; $\eta=0,183$; $KoC=0,27$).

При оценке относительного уровня Th оказалось, что его снижение является универсальным фактором снижения эффективности лечения, и, прежде всего, химиотерапии ($p=0,002$; $\eta=0,244$; $KoC=0,181$). При проведении МХТ у больных с низким содержанием Th клеток КЭ не наблюдался ($p=0,021$; $\eta=0,614$; $KoC=0,523$). У пациентов, получавших ПХТ и имевших низкое относительное содержание Th, ОО наблюдался в 6% случаев, тогда как при РЗ – в 36%, а при повышенных значениях – у 42% больных ($p=0,038$; $\eta=0,278$; $KoC=0,406$). Детальная оценка динамики опухоли показала, что среди пациентов с РЗ и повышенными относительными уровнями Th чаще встречаются пациенты с нарастающим эффектом лечения, равно как и с развившимся регрессом, тогда как ПЗ регистрируется реже ($p=0,0001$; $\eta=0,312$; $KoC=0,319$). Связи относительного уровня Th с максимальным ответом на терапию выявлено не было ($p>0,05$).

При анализе выживаемости снижение абсолютного уровня Th ниже РЗ являлось независимым неблагоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 2,484; $p=2\times 10^{-6}$). Снижение относительного уровня Th демонстрировало аналогичную тенденцию только у пациентов, получавших ПХТ ($p=0,039$). Повышение относительного уровня этих клеток являлось негативным фактором прогноза ОВ как для больных, получавших МХТ (ОР 5,76; $p=0,043$), так и для пациентов, получавших ДКВ (ОР 6,843; $p=0,014$). При оценке ВДП свою значимость в отношении прогноза ПЗ подтвердило только снижение абсолютного уровня Th ниже РЗ (ОР 1,944; $p=8\times 10^{-6}$). При анализе иммунных статусов, взятых до начала терапии, снижение относительного уровня Th оставалось независимым фактором неблагоприятного прогноза ОВ (ОР 2,388; $p=0,045$), тогда как абсолютный уровень Th оказался независимым фактором благоприятного прогноза ВДП (ОР 0,172; $p=0,001$).

6.4.4. Прогностическое и предиктивное значение уровня цитотоксических лимфоцитов у больных саркомами мягких тканей

Пациенты с РЗ уровня ЦТЛ характеризовались наихудшими показателями эффективности лечения среди больных, получавших ДКВ ($p=0,002$; $\eta=0,251$; $KoC=0,366$). При ПХТ наименьшая частота ПЗ наблюдалась у больных со сниженным абсолютным уровнем ЦТЛ ($p=0,003$; $\eta=0,301$; $KoC=0,388$). При анализе всех иммунных статусов без учёта вида лечения пациенты с РЗ отличались наименьшей частотой ОО: 9,8% против 36,8% – при повышенном

абсолютном уровне ЦТЛ и 22,7 – при пониженном ($p=0,012$; $\eta=0,199$; $KoC=0,227$). Вместе с тем с повышением уровня ЦТЛ до лечения снижалась вероятность ПЗ на фоне терапии у больных, получавших ДКВ ($p=0,019$; $\eta=0,554$; $KoC=0,492$).

Иные тенденции наблюдались при оценке относительного содержания ЦТЛ. Здесь эффективность ДКВ росла по мере роста показателя ($p=0,036$; $\eta=0,177$; $KoC=0,271$). При других видах лечения и при оценке всех иммунных статусов без учёта терапии такой тенденции не наблюдалось ($p>0,05$). Высокий уровень ЦТЛ до лечения у больных, получавших ДКВ, повышал вероятность достижения ОО, однако в целом связь показателей не достигла заданного нами уровня значимости ($p=0,068$). Описанные выше тенденции не транслировались в изменение показателей ОВ и ВДП ($p>0,05$).

6.4.5. Прогностическое и предиктивное значение активированных Th

У больных с СМТ наблюдалось снижение частоты ПЗ и повышение вероятности КЭ при повышенном абсолютном уровне HLA-DR⁺Th ($p=0,031$; $\eta=0,137$; $KoC=0,148$) при анализе показателей без учёта вида лечения. Относительные уровни показателя демонстрировали противоположные значения у пациентов, получавших ДКВ ($p=0,001$; $\eta=0,076$; $KoC=0,293$). Интересно отметить, что при детальной оценке динамики опухоли при терапии ДКВ у больных с повышенным уровнем HLA-DR⁺Th реже регистрировалось ПЗ (35% против 59,7%, $p<0,05$), и наблюдалась общая тенденция к повышению эффективности лечения ($p=0,03$). Изменения у больных при других видах терапии не достигли определённого в исследовании уровня значимости ($p>0,05$). Анализ относительного содержания HLA-DR⁺Th (относительно Th) до лечения показал, что при РЗ показателя наблюдалась большая глубина ответа на терапию ($p=0,037$; $\eta=0,203$; $KoC=0,339$). Так, при повышенных значениях показателя ПР не наблюдался вовсе ($p<0,05$), тогда как частота ЧР и СЗ значимо не различалась ($p>0,05$). При анализе ОВ абсолютное содержание HLA-DR⁺Th, вероятно, было связано со снижением риска смерти ($p=2\times 10^{-5}$), однако полученное значение относительного риска ($<0,001$) ставит под сомнение такой результат. Уровень HLA-DR⁺Th (относительно Th), наоборот, являлся фактором, повышавшим риск смерти (ОР 1,108; $p=3\times 10^{-6}$). Повышение уровня этих клеток выше РЗ у больных, получавших МХТ, являлось дополнительным фактором риска смерти (ОР 4,207; $p=0,019$).

В альтернативной модели, не учитывавшей абсолютный уровень HLA-DR⁺Th, повышенный относительно LY уровень Th являлся неблагоприятным фактором прогноза у пациентов, получавших ДКВ (ОР 1,207; $p=0,01$) или МХТ (ОР 1,835; $p=0,004$). В этой же модели повышение абсолютного уровня Th выше РЗ являлось значимым (ОР 11,323; $p=0,016$).

дополнительным фактором неблагоприятного прогноза у больных, получавших МХТ, и имело тенденцию к снижению риска смерти у больных ДКВ, не достигшую заданного нами уровня значимости ($p=0,071$). При оценке показателей иммунных статусов до лечения связи HLA-DR⁺Th с показателями ОБ выявлено не было ($p>0,05$).

При изучении ВДП уровень HLA-DR⁺Th оказался незначимым фактором ($p>0,05$), за исключением пациентов, получавших ДКВ, у которых повышение HLA-DR⁺ Th (относительно Th) выше РЗ являлось фактором высокого риска ПЗ (ОР 5,267; $p=0,029$).

Содержание CD38⁺Th не анализировалось из-за малого количества наблюдений. Содержание в крови CD25⁺Th не влияло на эффективность терапии у больных СМТ ($p>0,05$). В то же время при детальном анализе динамики опухоли оказалось, что у пациентов, получавших ДКВ, при пониженном относительном уровне CD25⁺Th не наблюдалось нарастания эффекта, тогда как при повышенном уровне подобная ситуация наблюдалась в 25% случаев (LRT, $p=0,027$; $\eta=0,143$; КоС= $p=0,492$). При анализе выживаемости относительный уровень CD25⁺Th (относительно Th) являлся независимым фактором благоприятного прогноза ОБ (ОР 0,973; $p=0,02$). При оценке ВДП такое же значение имел относительный уровень CD25⁺Th относительно LY (ОР 0,97; $p=0,024$). При использовании в анализе только информации о состоянии ИС до лечения, сниженный относительный уровень CD25⁺Th (относительно LY) являлся фактором низкого риска смерти у больных, получавших ДКВ (ОР 0,327; $p=0,047$). Связи уровня CD25⁺ Th до лечения с ВДП выявлено не было ($p>0,05$).

При анализе всех иммунных статусов у пациентов с СМТ, получавших ДКВ, частота ОО была больше за счёт снижения частоты СЗ при повышенном абсолютном уровне HLA-DR⁺ЦТЛ ($p=0,005$; $\eta=0,036$; КоС=0,274). Анализ относительных значений показывал похожие тенденции ($p=0,002$; $\eta=0,003$; КоС=0,298). При этом уровень активированных ЦТЛ до лечения не имел статистически значимой связи с ответом на терапию ($p>0,05$), тогда как при повышенном относительном уровне этих клеток реже наблюдались КЭ у больных, получавших ДКВ ($p=0,035$; $\eta=0,119$; КоС=0,415). При анализе выживаемости связи уровня HLA-DR⁺ЦТЛ с риском ПЗ или смерти выявлено не было ($p>0,05$).

6.4.6. Прогностическое и предиктивное значение субпопуляций лимфоцитов с регуляторными свойствами у больных саркомами мягких тканей

Низкий абсолютный уровень Treg у больных СМТ ассоциировался с неэффективностью ДКВ ($p=0,002$; $\eta=0,003$; КоС=0,298). Похожая тенденция наблюдалась у пациентов, получавших МХТ, где при повышении содержания этих клеток отмечалось увеличение вероятности достижения СЗ ($p=0,03$; $\eta=0,622$; КоС=0,528). При более детальном рассмотрении

динамики опухоли аналогичная тенденция наблюдалась у всех больных СМТ без учёта вида терапии ($p=0,013$; $\eta=0,113$). Относительный уровень Treg не был связан с эффективностью лечения ($p>0,05$). Лишь при детальной оценке динамики опухоли обнаружено, что при сниженном относительном уровне Treg чаще наблюдались минимальные регрессы у больных, получавших ДКВ, тогда как при повышенном уровне чаще отмечены выраженные частичные регрессы. Общая тенденция к большей эффективности терапии у больных с повышенным уровнем Treg сохранялась ($p=0,04$; $\eta=0,108$). Оценка уровня показателя до лечения не позволяла прогнозировать максимальный ответ на терапию ($p>0,05$).

При анализе выживаемости относительный уровень Treg являлся независимым фактором неблагоприятного прогноза ОВ (ОР 1,089; $p=0,048$) и ВДП (ОР 1,078; $p=0,022$). Прогностическое значение отклонений абсолютного уровня Treg от РЗ было тесно связано с проводимым лечением. Так, у больных, получавших ДКВ, снижение показателя ассоциировалось с повышенным риском смерти (ОР 1,904; $p=0,014$), тогда как у пациентов, получавших МХТ, оно являлось фактором благоприятного прогноза (ОР 0,141; $p=0,001$). При анализе состояния ИС до начала терапии относительный уровень Treg сохранял своё прогностическое значение в отношении как ОВ (ОР 1,143; $p=0,042$), так и ВДП (ОР 1,123; $p=0,009$).

Уровень DP не имел связи с эффективностью терапии у больных СМТ ($p<0,05$). Детальный анализ динамики опухоли показал, что у больных, получавших ДКВ, наблюдалась пониженная частота СЗ при повышенном уровне $CD3^+CD4^+CD8^+$ лимфоцитов ($p=0,019$; $\eta=0,014$; КоС=0,36). При оценке DP без учёта вида лечения оказалось, что при РЗ показателя примерно в три раза увеличивалась вероятность развития СЗ за счёт снижения вероятности выраженного ЧР в три раза ($p=0,04$; $\eta=0,027$).

При оценке уровня DP до лечения оказалось, что у всех пациентов, имевших РЗ показателя до начала терапии, отмечалось ПЗ. Однако в целом связь уровня двойных положительных лимфоцитов с максимальным эффектом терапии не достигла заданного в исследовании уровня значимости ($p=0,066$). При анализе выживаемости возросший больше РЗ относительный уровень $CD3^+CD4^+CD8^+$ лимфоцитов у больных, получавших ДКВ, являлся значимым ($p<0,01$) неблагоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 2,718) и ВДП (ОР 1,302). При оценке ВДП были получены две прогностические модели. В одной, включавшей абсолютный уровень $CD3^+CD4^+CD8^+$ лимфоцитов, значимыми оказались сам этот уровень ($p=0,034$) с крайне низким значением ОР ($<0,01$), что не позволяет исключить смещение. Другими значимыми факторами в данной модели являлись относительный уровень $CD3^+CD4^+CD8^+$ лимфоцитов (ОР 1,613; $p=2\times 10^{-4}$), его повышение больше РЗ ($p=0,001$). Интересно отметить, что

негативное прогностическое значение отклонения от РЗ было меньше у больных, получавших ДКВ ($p=0,008$). В другой модели значимым вне зависимости от лечения оказался лишь относительный уровень DP (ОР 1,188; $p=0,032$). При анализе состояния ИС до лечения уровень $CD3^+CD4^+CD8^+$ лимфоцитов не имел связи с показателями ОБ и ВДП ($p>0,05$), возможно, из-за малого числа наблюдений. Уровень DN не имел связи с показателями ОБ и ВДП ($p>0,05$).

Повышенное абсолютное содержание НКТ-клеток у больных СМТ, получавших ДКВ, было связано с более глубоким ответом на лечение ($p=0,007$; $\eta=0,112$; КоС=0,236). Это, в первую очередь, объяснялось увеличением доли пациентов с минимальным регрессом, за счёт снижения частоты СЗ, и увеличением числа пациентов с развивающимся ответом в группе больных с повышенным уровнем НКТ-клеток ($p=0,001$). Связи относительного содержания этих клеток с эффектом выявлено не было ($p>0,05$). При анализе выживаемости абсолютный уровень НКТ-клеток был значимым фактором благоприятного прогноза ОБ. При этом повышение относительного уровня выше РЗ являлось неблагоприятным фактором прогноза, однако значимость этих изменений не достигала заданного нами уровня ($p=0,057$). При анализе ВДП относительный уровень НКТ-клеток являлся фактором неблагоприятного прогноза (ОР 1,067; $p=0,015$) так же, как и его увеличение выше ВГН (ОР 2,06; $p=0,029$). Повышение абсолютного уровня НКТ-клеток являлось фактором благоприятного прогноза ОБ и ВДП ($p<0,001$), тогда как их снижение имело тенденцию к негативному влиянию на прогноз, не достигшую заданного нами уровня значимости ($p=0,058$).

6.4.7. Прогностическое и предиктивное значение показателей

В-клеточного звена иммунной системы

Сниженный абсолютный уровень В-лимфоцитов резко понижал эффективность терапии ДКВ, практически исключая возможность развития ОО ($p=7\times 10^{-5}$; $\eta=0,32$; КоС=0,343). При этом при проведении ПХТ наблюдалась обратная тенденция: частота ОО была наибольшей именно у пациентов со сниженным уровнем В-лимфоцитов ($p=0,0004$; $\eta=0,438$; КоС=0,423). Аналогичная тенденция наблюдалась и при оценке всех иммунных статусов без учёта вида лечения ($p=0,0001$; $\eta=0,15$; КоС=0,285). Пониженный относительный уровень В-лимфоцитов во всех группах увеличивал частоту ОО за счёт снижения частоты ПЗ и СЗ ($p<0,05$). Про оценке относительного уровня В-лимфоцитов до лечения тенденция к большей вероятности достижения ЧР как максимального ответа на лечение при пониженном содержании этих клеток сохранялась ($p<0,05$), однако в целом ассоциация с максимальным эффектом не достигала заданного нами уровня значимости ($p=0,054$).

При детальной оценке динамики опухоли оказалось, что повышенный абсолютный уровень В-лимфоцитов у больных, получавших ДКВ, более характерен для больных со стабильной или регрессирующей опухолью, тогда как пониженный уровень был связан с продолжающимся ПЗ ($p=5 \times 10^{-5}$; $\eta=0,355$; $KoC=0,418$). При проведении ПХТ, наоборот, сниженный абсолютный уровень В-лимфоцитов ассоциировался с ОО ($p=0,001$; $\eta=0,198$; $KoC=0,463$). При анализе всех иммунных статусов без учёта вида лечения наблюдалась похожая закономерность ($p=1 \times 10^{-4}$; $\eta=0,206$; $KoC=0,329$). Сниженный относительный уровень В-лимфоцитов при детальном анализе динамики опухоли был ассоциирован с большей эффективностью ДКВ, ПХТ и лечения в целом, без учёта вида терапии ($p \leq 0,001$).

При оценке показателей выживаемости оказалось, что относительный уровень В-лимфоцитов (ОР 0,877; $p=4 \times 10^{-6}$) и его снижение относительно РЗ (ОР 0,248; $p=3 \times 10^{-4}$) являются независимыми факторами благоприятного прогноза. В то же время снижение абсолютного уровня этих клеток у больных, получавших ДКВ, в этой же модели повышало риск смерти (ОР 3,126; $p=0,016$). При анализе состояния ИС до лечения снижение относительного уровня В-лимфоцитов, наоборот, являлось независимым фактором неблагоприятного прогноза ОВ ($p=0,002$). При этом связи уровня В-лимфоцитов до лечения с риском ПЗ выявлено не было ($p > 0,05$).

6.4.8. Прогностическое и предиктивное значение тестов функциональной активности

Т-лимфоцитов и соотношения показателей иммунной системы

В ходе исследования нами не было выявлено ассоциации тестов функциональной активности с эффектом терапии у больных СМТ, возможно, в связи с малым количеством наблюдений.

Связь ИРИ с эффективностью терапии у больных СМТ оказалась противоречивой. С одной стороны, снижение значения индекса ассоциировалось с увеличением частоты ПЗ у больных, получавших ДКВ. С другой – наибольшая частота ОО при этом виде терапии наблюдалась при крайне низких значениях показателя, тогда как максимум СЗ приходился на пациентов с РЗ или повышением значений индекса ($p=0,0002$; $\eta=0,228$; $KoC=0,311$). У больных, получавших МХТ и ПХТ, наибольшая эффективность терапии отмечена у пациентов с РЗ показателя ($p=0,011$ и $p=0,031$ соответственно). При этом статистически значимые различия в частоте отдельных видов ответа на терапию наблюдались лишь при сниженных значениях ИРИ ($p < 0,05$). Детальный анализ динамики опухоли выявил повышение доли больных с нарастающим эффектом лечения в группе пациентов с повышенным ИРИ, получавших МХТ или ПХТ, а также при анализе всех пациентов без учёта вида лечения ($p < 0,05$). При оценке ИРИ

до лечения оказалось, что у больных, получавших МХТ, при его пониженных значениях наблюдалось только ПЗ ($p=0,044$; $\eta=0,432$). При других видах лечения и в общей группе пациентов связи показателя с эффективностью терапии выявлено не было ($p>0,05$). При анализе выживаемости значимость изменения уровня ИРИ, равно как и прогностическая роль соотношений CD3/CD4, НКТ/ЦТЛ и ЦТЛ/Treg, не была подтверждена ($p>0,05$).

Уровень dNLR являлся независимым фактором неблагоприятного прогноза ОБ ($p=0,002$), но не был связан с показателями ВДП ($p=0,084$). NLR также оказался значимо связан с риском смерти ($p=2\times 10^{-5}$) и не влиял на ВДП ($p=0,054$). LMR являлся значимым фактором благоприятного прогноза ОБ ($p=0,001$) и ВДП ($p=0,001$). NMLR также подтвердил свою значимость в качестве независимого фактора прогноза ОБ ($p=0,003$) и ВДП ($p=3\times 10^{-4}$) как во всей группе пациентов, так и при анализе иммунных статусов до лечения ($p=0,029$ для ВДП и $p=2\times 10^{-4}$ для ОБ).

Соотношение НК-клеток и ЦТЛ у больных СМТ оказалось значимым фактором прогноза ВДП (ОР 1,855; $p=0,008$), но не влияло на ОБ ($p=0,553$). При анализе иммунных статусов до лечения соотношение НК-клеток и ЦТЛ являлось независимым фактором неблагоприятного прогноза ОБ (ОР 3,571; $p=0,033$), но не влияло на риск ПЗ ($p=0,248$).

6.5. Прогностическое и предиктивное значение иммунологических показателей у больных колоректальным раком

6.5.1. Прогностическое и предиктивное значение показателей врождённой иммунной системы

При оценке связи последнего достигнутого эффекта лечения перед оценкой иммунного статуса и уровня лейкоцитов оказалось, что у больных с повышенным значением данного показателя чаще регистрировались ПЗ и реже СЗ ($p<0,05$). ОО также чаще наблюдался в группе с повышенным уровнем лейкоцитов, но эти различия были статистически незначимы ($p>0,05$). Детализация опухолевой динамики показала аналогичные тенденции ($p<0,05$).

Сниженный абсолютный уровень лимфоцитов был ассоциирован с худшими результатами лечения как во всей группе пациентов ($p=0,00016$), так и у больных, получавших ХИТ (цетуксимаб или бевацизумаб в сочетании с цитостатиками, $p=0,01$). Аналогичные тенденции были выявлены при рассмотрении динамики опухолевых очагов ($p=0,007$ – для всех наблюдений и $p=0,036$ – для ХИТ).

При оценке относительного уровня подобный тренд проявлялся увеличением частоты ОО у пациентов с лимфоцитозом как без учёта вида лечения ($p=0,0003$), так и при проведении ХИТ ($p=0,006$).

При абсолютном моноцитозе у больных КРР не наблюдалось развития СЗ вне зависимости от вида терапии ($p=0,01$). У больных, получавших ПХТ, данные особенности также оказались статистически значимыми ($p=0,044$), тогда как при других видах лечения изменения не достигли заданного в исследовании уровня значимости. При оценке относительных значений оказалось, что повышенный уровень моноцитов ассоциирован с лучшим эффектом терапии у больных КРР ($p=0,019$; $\eta=0,49$; $KoC=0,449$). Детальный анализ динамики опухоли показал, что такое влияние обусловлено преимущественно ростом частоты выраженных ЧР с 7,7% – при РЗ до 75% – при повышенном относительном уровне моноцитов ($p=0,009$; $\eta=0,745$)

Нами не было выявлено связи уровня нейтрофилов, базофилов, эозинофилов и НК с ответом на терапию при КРР ($p>0,05$). При более детальном учёте эффектов лечения выявлено, что повышение абсолютного, но не относительного, уровня базофилов в процессе терапии как правило сопровождало неэффективное лечение ($p<0,05$).

6.5.2. Прогностическое и предиктивное значение показателей адаптивной иммунной системы

Уровень Т-лимфоцитов не был связан с эффективностью терапии больных КРР ($p>0,05$). При детальной оценке динамики опухоли у больных со сниженным абсолютным, но не относительным, уровнем Т-лимфоцитов не наблюдался достигнутый регресс, тогда как при РЗ показателя этот эффект (преимущественно – выраженный частичный регресс) отмечали у 41,2% пациентов, получавших ХИТ ($p<0,05$). При оценке результатов всех видов терапии эти различия становились ещё более выраженными. При этом с ростом уровня Т-лимфоцитов снижалась вероятность достижения СЗ ($p=0,009$; $\eta=0,266$; $KoC=0,433$).

Нами не выявлено связи уровня Th и ЦТЛ с эффективностью лечения у больных КРР ($p>0,05$). Уровень активированных HLA-DR⁺Th клеток также оказался незначимым прогностическим и предиктивным фактором. При более детальном анализе динамики опухоли оказалось, что у больных с повышенным относительным содержанием HLA-DR⁺Th (относительно Th) чаще наблюдался достигнутый регресс и реже отмечалось нарастание эффекта терапии, чем при РЗ показателя: 20,5% против 0% – для регресса и 0% против 10,5% – для развивающегося эффекта ($p=0,005$; $\eta=0,036$; $KoC=0,397$). При анализе абсолютного уровня CD25⁺Th оказалось, что ОО регистрировался исключительно у пациентов с повышенным уровнем данных клеток ($p=0,012$; $\eta=0,16$; $KoC=0,297$), что отражает важность именно активности иммунного ответа для определения прогноза заболевания у больных КРР.

У всех пациентов, включённых в наше исследование, наблюдался повышенный уровень HLA-DR⁺ЦТЛ (относительно ЦТЛ), что препятствовало оценке его связи с эффектом терапии. Значимой ассоциации относительного (к LY) и абсолютного уровней данных клеток с эффектом терапии выявлено не было ($p > 0,05$). При более детальном анализе динамики опухоли СЗ наблюдалась только при повышении относительного содержания HLA-DR⁺ЦТЛ у больных, получавших ХИТ ($p = 0,035$; $\eta = 0,272$; КоС = 0,566).

При повышении абсолютного, но не относительного, уровня НКТ-клеток у больных КРР в нашем исследовании не наблюдалось СЗ. Большинство пациентов имели ПЗ при подобном уровне этих клеток. Снижение их уровня повышало вероятность СЗ за счёт снижения вероятности как ЧР, так и ПЗ ($p = 0,049$). При этом наименьшая доля больных с ПЗ и наибольшая с ЧР зарегистрирована у пациентов с умеренным снижением данного показателя ($p = 0,018$). При более детальном анализе динамики опухоли новых значимых связей выявлено не было ($p > 0,05$).

Значимой ассоциации относительного и абсолютного уровней Treg, DP, DN, В-лимфоцитов с эффектом терапии выявлено не было ($p > 0,05$). Значимая связь ИРИ с ответом на лечение у больных КРР была выявлена лишь при применении ХИТ, где с ростом значений данного индекса увеличивалась вероятность СЗ за счёт меньшей частоты ОО ($p = 0,024$). Похожая тенденция была выявлена при анализе динамики опухоли у больных КРР, получавших ПХТ ($p = 0,024$; $\eta = 0,309$; КоС = 0,588).

6.6. Прогностическое и предиктивное значение отдельных иммунологических синдромов

Для комплексной оценки состояния иммунной системы мы провели анализ ранее описанных другими авторами состояний иммунной системы [65; 102; 127] и выделенных нами ранее синдромов (см. в главе 5). К ним относились синдромы на основе клинического анализа крови (лейкоцитарные кластеры, тип и характер реакции по [65]) и группы синдромов на основе базовых показателей иммунного статуса и маркеров активации (варианты реагирования [102], реакция иммунной системы [127], Т-клеточные кластеры, кластеры активации и обобщённые кластеры (см. в разделе 5.3.)

В отличие от изучения отдельных показателей, в данной части работы был применён несколько иной подход. В качестве опорной категории, как в анализе частоты ответов, так и в анализе выживаемости, были использованы случаи, где ввиду неполноты данных принадлежность к тому или иному иммунологическому синдрому не удалось определить. Кроме того, в эту же группу были отнесены те синдромы, для которых было недостаточно наблюдений. По причине формирования большого количества групп на основе разделения

на кластеры изучение эффективности при отдельных видах терапии проводилось только при выявлении достаточного (более 20 на группу для оценки связи с ответом и более 10 полных наблюдений в группе при анализе выживаемости) количества наблюдений. Ввиду этого значение некоторых синдромов оценено не было. Также по этой причине не проводился анализ прогностической роли иммунологических синдромов по видам терапии до лечения. В качестве известных факторов были использованы модели (см. таблицу 19). Кроме того, в дополнение к этим анализам проводилось определение наиболее сильных прогностических факторов с использованием метода условного исключения модели Кокса. В однофакторном анализе дополнительно проводилась оценка кривых выживаемости методом Каплана–Майера.

6.6.1. Роль иммунологических синдромов у больных меланомой

При анализе иммунного статуса до лечения была выявлена взаимосвязь лейкоцитарных кластеров с частотой объективного ответа на терапию ($p=0,042$; $\eta=0,19$; $KoC=0,22$). При этом при лимфоцитозе частота ПЗ значительно снижалась (46,9% против 73,5%), тогда как статистически значимых различий в частоте ОО и СЗ выявлено не было ($p>0,05$). Аналогичное снижение риска наблюдалось при анализе ВДП (ОР 0,61; $p=0,026$), но не ОВ ($p=0,079$). При оценке всех иммунных статусов была выявлена статистически значимая связь показателя с эффективностью терапии ипилимумабом ($p=10^{-5}$; $\eta=0,3$; $KoC=0,329$). При более детальном изучении динамики опухоли оказалось, что лимфоцитоз чаще всего наблюдался в процессе регресса опухоли (40%), тогда как моноцитоз, системное воспаление и лимфопения чаще регистрировались при ПЗ (61,9–76,9%), а не при достигнутом регрессе опухоли (1,9%–4,8%) или в процессе его развития (15,3–30,2%) ($p=7\times 10^{-7}$; $\eta=0,273$; $KoC=0,406$). У больных, получавших ДКВ, значимая разница в эффективности наблюдалась между пациентами с лимфопенией и выраженным системным воспалением ($p=0,035$; $\eta=0,26$; $KoC=0,327$). У первых реже наблюдалось ПЗ (33,3% против 74,4%) и чаще – ОО (40% против 9,3%). При более детальной оценке оказалось, что при лимфопении чаще всего наблюдался достигнутый или продолжающийся регресс, тогда как при моноцитозе и системном воспалении такого состояния не наблюдалось вовсе, а отсутствие отклонений наблюдалось у пациента с достигнутым регрессом лишь в 1 случае ($p=0,01$; $\eta=0,239$; $KoC=0,411$).

При анализе всех иммунных статусов без учёта терапии наибольшая частота ПЗ и наименьшая частота ОО наблюдались у больных с моноцитозом и системным воспалением ($p=2\times 10^{-5}$; $\eta=0,161$; $KoC=0,194$). При этом регрессирующие опухоли чаще всего наблюдались у пациентов с моноцитозом и лимфоцитозом, тогда как при моноцитозе реже всего наблюдалась СЗ ($p=10^{-10}$; $\eta=0,144$; $KoC=0,272$). В многофакторном анализе ОВ при выявлении в иммунном

статусе кластера референсных значений показателей и системного воспаления у больных возрастал риск смерти ($p < 0,01$). При оценке показателей пациентов, получавших адъювантную терапию, в кластере системного воспаления наблюдалась наибольшая доля пациентов с развивающимся ПЗ ($p = 8 \times 10^{-6}$; $KoC = 0,292$).

Тип реакции ИС до лечения не продемонстрировал какой-либо связи с эффектом терапии и показателями выживаемости ($p > 0,05$). При оценке всех иммунных статусов у больных, получавших ипилимумаб, статистически значимо различались лишь частота СЗ у пациентов с ареактивностью иммунитета (8,2%) и активацией врождённого иммунитета (22,2%, $p = 0,001$; $\eta = 0,147$; $KoC = 0,267$). При детализации динамики очагов оказалось, что при активации адаптивного иммунитета чаще всего наблюдался процесс развития ответа на лечение (30,6%), тогда как при активации врождённого иммунитета такая ситуация наблюдалась лишь в 9,9% случаев. Ареактивность иммунитета при этом была чаще всего ассоциирована с достигнутым (14,6%) и развивающимся (23,3%) эффектом терапии. При лечении ДКВ частота ПЗ у пациентов с активацией врождённой ИС была значительно выше, чем у пациентов с угнетением ИС (71,4% против 36,4%, $p < 0,05$). В общей группе пациентов без учёта вида лечения была отмечена повышенная частота ОО у пациентов с ареактивностью иммунитета (17%) по сравнению с пациентами с активацией врождённой ИС ($p = 0,008$; $\eta = 0,112$; $KoC = 0,139$). При детальном анализе динамики опухолевых очагов регрессирующие опухоли чаще всего наблюдались у пациентов с активацией адаптивного иммунитета (28% против 7–14% – при других типах, $p = 5 \times 10^{-6}$; $\eta = 0,157$; $KoC = 0,217$). При анализе адъювантной терапии у больных с активацией врождённого иммунитета реже всего сохранялся достигнутый результат локального лечения ($p < 0,05$), хотя в целом связь типа реакции и динамики опухоли была статистически незначимой (LRT, $p = 0,203$). У больных, получавших адъювантную терапию, варианты реагирования не добавляли дополнительной информации к модели прогноза ОВ или ВДП, включавшей характер реакции ($p > 0,05$).

Варианты реагирования ИС до начала терапии не имели связи с ответом на лечение ($p = 0,458$). Вместе с тем дисрегуляторный вариант реагирования до начала терапии повышал риск смерти пациента в многофакторном анализе ($p = 0,032$), но не влиял на риск ПЗ. При анализе всех иммунных статусов частота ПЗ росла у больных с активацией врождённого иммунитета как при терапии ипилимумабом ($p = 0,008$; $\eta = 0,19$; $KoC = 0,242$), так и во всей группе без учёта вида лечения ($p = 0,001$; $\eta = 0,106$; $KoC = 0,165$). При обобщённых анализах варианты реагирования не добавляли информации к модели ОВ при учёте характера реакции ИС, но являлись независимыми факторами прогноза ВДП ($p = 0,023$). У больных, получавших

адьювантную терапию, варианты реагирования не добавляли дополнительной информации к модели прогноза ОВ или ВДП, включавшей характер реакции ($p>0,05$).

Характер реакции ИС до начала лечения, несмотря на статистически значимые связи с эффективностью терапии ($p=0,029$; $\eta=0,203$; $KoC=0,226$), не позволял выделить какую-либо группу пациентов с отличными от остальных параметрами эффективности терапии, с учётом множественных сравнений ($p>0,05$). При оценке выживаемости у больных меланомой, получавших самостоятельное лечение, недостаточная активация лимфопоза и нормореакция являлись благоприятными факторами прогноза ОВ вне зависимости от терапии ($p=0,006$ и $p=0,048$ соответственно). Асимметричная стимуляция лимфопоза, напротив, имела тенденцию к повышению риска смерти, которая не достигла заданных нами границ статистической значимости ($p=0,0545$). В многофакторной модели, которая включала все три системы кластеров, разработанные А.А. Савченко с соавт. [65], асимметричная стимуляция оказалась наиболее значимым негативным фактором прогноза в модели ($p=0,04$).

При оценке всех иммунных статусов у пациентов, получавших самостоятельную терапию ипилимумабом, при недостаточной активации лимфопоза наблюдалась наибольшая частота ОО (16,7%), тогда как при декомпенсированном лимфопозе и асимметричной стимуляции лимфопоза ОО не наблюдался вовсе ($p=0,019$; $\eta=0,172$). У пациентов, получавших ГМВ, при недостаточной активации лимфопоза наблюдалась наибольшая частота СЗ ($p<0,05$). При применении ДКВ, при недостаточной активации лимфопоза ОО наблюдался в четыре раза чаще, чем при нормореакции наблюдалась наибольшая частота СЗ ($p=0,003$; $\eta=0,106$; $KoC=0,372$). При проведении ХИТ у больных с декомпенсированным лейкопозом всегда наблюдалось ПЗ, тогда как при недостаточной активации лейкопоза оно наблюдалось лишь у 41,7% пациентов ($p=0,023$; $\eta=0,455$; $KoC=0,451$). При анализе всех больных, при недостаточной активации лимфопоза, в целом отмечено наименьшее число ПЗ (54,2%) при максимальной вероятности ОО (27,1%), тогда как при асимметричной стимуляции лейкопоза наблюдались наихудшие показатели (81,1% – ПЗ, 3,1% – ОО).

При остальных вариантах характера реакции наблюдались промежуточные значения с частотой ОО от 6,3% до 14% и частотой ПЗ от 78% до 77% ($p=4\times 10^{-8}$; $\eta=0,213$; $KoC=0,221$). Детализация ответа опухоли на лечение показала, что при активации лимфопоза чаще всего наблюдался процесс развития ОО (29,8%), тогда как при подобном состоянии ИС сформировавшийся ОО сохранялся лишь в 7,1% случаев ($p=6\times 10^{-12}$; $\eta=0,24$; $KoC=0,285$). В многофакторном анализе характер реакции являлся наиболее значимым фактором прогноза ОВ ($p<0,001$), но не добавлял информации к варианту реагирования при совместном анализе ВДП ($p=0,354$). При анализе пациентов, получавших адьювантную терапию, нормореакция

оказывалась неблагоприятным фактором прогноза ОВ (ОР 2,024; $p=0,002$). При анализе ВДП характер реакции также оказывался важным фактором прогноза ($p=0,032$), но выделить отдельный неблагоприятный фактор было невозможно. При использовании в прогностической модели всех доступных систем классификации ответа нормореакция была единственным неблагоприятным фактором прогноза ПЗ (ОР 1,965; $p=0,014$), но не ОВ ($p=0,106$).

Реакция ИС до лечения не имела связи с эффектом терапии ($p=0,109$). При анализе ОВ при этом было выявлено значительное взаимодействие с видом лечения. Так, нормализация ИС в целом являлась неблагоприятным фактором прогноза, повышающим риск смерти (ОР 2,172; $p=0,043$). Однако у больных, получавших МИС, риск смерти значительно снижался именно в этой группе (ОР 0,527; $p=0,006$), как и при состоянии умеренной супрессии (ОР 0,115; $p=0,046$), тогда как при гиперактивации ИС до начала лечения эти препараты не имели никаких преимуществ по сравнению с ХТ ($p=0,175$). Состояние умеренной супрессии до начала терапии снижало риск смерти на фоне терапии ГМВ (ОР 0,038; $p=0,014$) и значительно повышало риск смерти при лечении НМВ (ОР 8,837; $p=0,047$). Ещё больше повышалась вероятность смерти пациентов с гиперактивацией ИС на фоне терапии НМВ (ОР 35,816; $p=0,005$). Оценка реакции ИС до лечения не влияла на риск ПЗ ($p>0,05$). При изучении связи с ответом на лечение, при состоянии нормализации у 74% наблюдалось ПЗ, реже наблюдались регрессирующие опухоли (8%) и достигнутый регресс (6%). При гиперактивации регрессов нами не наблюдалось, тогда как частота регрессирующих опухолей была наибольшей среди всех вариантов реакций иммунной системы по данной классификации (34%).

При умеренной супрессии, наоборот, чаще всего наблюдалось ПЗ, тогда как регрессирующих опухолей было относительно мало (4%). Было отмечено повышение эффективности ХИТ и терапии цитокинами у пациентов с нормализацией реакции ИС ($p<0,05$). В целом реакция ИС имела статистически значимые ассоциации с ответом на лечение ($p=3\times 10^{-9}$; $\eta=0,124$; $KoC=0,258$). При оценке адьювантной терапии у больных меланомой при нормализации состояния ИС реже регистрировалось ПЗ ($p<0,05$), хотя в целом связь с динамикой опухоли была статистически незначимой ($p=0,068$). При этом реакция ИС не имела связи с показателями ОВ и ВДП ($p>0,05$).

Состояние активации ИС до лечения также оказалось связано с наилучшим ответом на терапию ($p=0,001$; $\eta=0,185$; $KoC=0,193$). При этом избыточная активация повышала вероятность ПЗ примерно в 1,5 раза и исключала возможность развития ОО. Это взаимодействие, однако, не транслировалось в изменение рисков ПЗ или смерти ($p>0,05$). В процессе терапии оценка не проводилась из-за селекционного смещения пациентов. При анализе ОВ характеристики активации ИС не влияли на показатели ОВ и ВДП

в многофакторной модели ($p > 0,05$). У больных, получавших адъювантную терапию, состояние торможения ИС было сопряжено со снижением риска ПЗ ($p = 0,032$), но не смерти ($p = 0,867$).

Анализ Т-клеточных кластеров в иммунном статусе, взятых до начала терапии у больных меланомой, получавших самостоятельное системное лечение, показал лишь тенденцию к меньшей частоте ПЗ у пациентов с уровнем Т-лимфоцитов в пределах РЗ или выше этих значений ($p < 0,05$), тогда как в целом влияние этих синдромов на эффективность терапии не достигло заданного нами уровня значимости ($p = 0,066$). Связи с показателями ОВ и ВДП при этом выявлено не было ($p > 0,05$). При изучении всех иммунных статусов оказалось, что роль данных кластеров во многом зависит от проводимого лечения. Так, у пациентов со сниженным уровнем Т-лимфоцитов реже развивался ОО (1,9% против 13%) и чаще – ПЗ (86,7% против 73,3%, $p = 10^{-4}$; $\eta = 0,204$; $KoC = 0,231$). При детальном анализе динамики отмечались также статистически значимые различия в частоте СЗ при сниженных Т-лимфоцитах ($p = 0,001$). Регрессирующие опухоли реже встречались у пациентов со сниженными Т-лимфоцитами, получающими ДКВ (8,2% против 27,2%, $p < 0,05$).

При проведении химиоиммунотерапии ПЗ также чаще встречалось у пациентов со сниженным уровнем Т-клеток ($p = 0,013$; $\eta = 0,359$; $KoC = 0,341$). Обратная тенденция наблюдалась у пациентов, получавших анти-PD1 терапию или ГМВ: число ПЗ при нормальном и повышенном уровне Т-лимфоцитов было выше, чем при сниженном, тогда как частота КЭ, наоборот, снижалась ($p < 0,05$). Такие противоположные тенденции приводили к отсутствию связи между Т-клеточными кластерами и эффектом лечения в общей группе пациентов ($p > 0,05$). При обобщённом анализе без учёта вида лечения сниженный уровень Т-лимфоцитов ассоциировался с большей частотой ПЗ (63,5% против 52,7%) и более редким развитием регресса (9,9% против 15,1%, $p < 0,05$). Изменения частоты ОО соотносились с показателями ОВ (ОР 1,578) и ВДП (ОР 1,397), при которых кластер со сниженным уровнем Т-лимфоцитов оказывался независимым фактором неблагоприятного прогноза в многофакторных моделях ($p < 0,05$). При оценке Т-клеточных кластеров, по данным иммунных статусов, полученных до начала терапии, связь последних с эффективностью терапии полностью утрачивалась ($p = 0,573$). Не было также их связи с показателями выживаемости ($p > 0,05$).

При оценке всех иммунных статусов у пациентов с меланомой, получавших самостоятельное лекарственное лечение, выявлена значимая ассоциация обобщённых кластеров или иммунологических синдромов, выявленных в нашем исследовании, с эффективностью лечения без учёта типа лечения (86,7% против 73,3%, $p = 5,2 \times 10^{-5}$; $\eta = 0,163$; $KoC = 0,184$), преимущественно за счёт изменения частоты ПЗ. Она была наименьшей у больных с лимфопенией и признаками активации ИС (48,6%), и наибольшими при лимфопении или

моноцитозе с признаками торможения ИС (83,1% и 84,6% соответственно). При детализации ответа на лечение удалось выявить ряд дополнительных ассоциаций. Так, у пациентов, получавших анти-CTLA4 или анти-PD1 терапию при моноцитозе с торможением ИС, чаще наблюдалось ПЗ, а при лимфоцитозе с торможением ИС чаще отмечалось развитие эффекта терапии ($p=1,1 \times 10^{-4}$; $\eta=0,212$; $KoC=0,37$). В общей популяции больных лимфоцитоз с торможением ИС ассоциировался с наибольшей частотой развития эффекта и наименьшей частотой ПЗ, тогда как при лимфопении с активацией ИС в структуре ответов на терапию отмечена большая частота сформировавшихся регрессов опухоли при равной с предыдущим кластером частотой ПЗ ($p=8 \times 10^{-8}$; $\eta=0,154$; $KoC=0,266$). Однако детализированные кластеры не добавляли новой информации в прогностическую модель ОВ при учёте лейкоцитарных и Т-клеточных кластеров как у больных, получавших самостоятельное системное лечение, так и у пациентов, получавших адъювантную терапию ($p>0,05$).

При включении всех групп иммунологических синдромов в одну модель анализа ОВ единственным значимым негативным фактором прогноза оказался дисрегуляторный вариант реагирования до начала терапии, который в 2 раза повышал риск смерти пациентов с меланомой ($p=0,03$). При анализе всех иммунных статусов наиболее значимым оказался характер реакции (декомпенсированный лейкопоз или асимметричная стимуляция лейкопоза), при которых риск смерти повышался, по сравнению с нормореакцией, вне зависимости от терапии ($p<0,0001$). При комплексной оценке ВДП наблюдалась более сложная картина.

Классификация по всем системам вошла в прогностическую модель, построенную методом условного включения как независимые факторы прогноза ПЗ. При этом значимой оказалась принадлежность лишь к отдельным категориям. Так, среди лейкоцитарных кластеров значимой оказалась лейкопения ($p=0,003$) и моноцитоз ($p=0,047$), которые отражали пониженный риск ПЗ. Ареактивный вариант реагирования подтвердил своё негативное прогностическое значение ($p=0,007$). Важным оказалось взаимодействие Т-клеточных кластеров с лечением.

Так, применение модуляторов иммунного синапса (ОР 1,871; $p=0,03$) и ДКВ (ОР 3,65; $p=0,018$) повышало риск ПЗ только у больных с реакцией ИС в виде умеренной супрессии. Гиперактивация как реакция ИС снижала риск ПЗ у пациентов, получавших ГМВ (ОР 0,112; $p=0,033$). Лимфопения с активацией ИС (ОР 3,169; $p=0,004$) и моноцитоз с торможением ИС (ОР 2,373; $p=0,036$) повышали риск ПЗ у больных, получавших ДКВ. При моноцитозе с торможением ИС риск ПЗ также увеличивался у больных, получавших ХИТ (ОР 7,09;

$p=0,004$). При лимфопении с торможением ИС возрастал риск ПЗ у больных, получавших ГМВ (ОР 6,821; $p=0,0001$).

6.6.2. Роль иммунологических синдромов у больных почечноклеточным раком

У больных ПКР, ввиду недостаточного количества наблюдений, оценка связи иммунологических синдромов с эффектом проводилась только в обобщённой группе без учёта конкретного вида лечения. Оценка обобщённых кластеров, определённых в нашем исследовании, не проводилась из-за малочисленности пациентов с отдельными иммунологическими синдромами.

Лейкоцитарные кластеры имели статистически значимую связь с эффективностью терапии ($p=0,036$), преимущественно за счёт снижения эффективности терапии у пациентов с моноцитозом и лимфопенией. Однако различий структуры ответов между отдельными кластерами при учёте множественных сравнений выявлено не было ($p<0,05$). При оценке кластеров активации ИС отмечено снижение частоты ПЗ и повышение частоты ОО у пациентов с торможением ИС ($p=4\times 10^{-5}$; $\eta=0,296$; $KoC=0,311$). Тип реакции имел статистически значимые связи с эффективностью терапии ($p=0,001$; $\eta=0,257$; $KoC=0,301$). При этом у больных с иммунными статусами, относящимися к кластеру активации врождённого иммунитета, наблюдалась повышенная частота ОО за счёт снижения частоты ПЗ. При ареактивности ИС эффект терапии снижался, а при угнетении ИС был минимален. Активация адаптивной ИС повышала риск смерти пациентов по сравнению с больными с активацией врождённой ИС ($p=0,023$). Сходное значение имело и угнетение иммунитета, однако повышение риска не достигло заданного нами уровня значимости ($p=0,063$). При анализе ВДП негативное прогностическое значение имели угнетение ИС (ОР 1,884; $p=0,047$) и активация адаптивной ИС (ОР 3,651; $p=0,024$).

У больных, получавших адьювантную терапию, тип реакции имел значимые ассоциации с динамикой опухоли ($p=0,016$; $KoC=0,383$). Так, при ареактивности иммунитета наблюдалась повышенная частота ПЗ (27% против 6%) и реже сохранялся ранее достигнутый эффект (67% против 92%). Опухоли в процессе развития рецидива чаще наблюдались при активации адаптивного иммунитета, чем при других типах реакции (10% против 0–3,3%).

При анализе характера реакции наибольшие различия в эффективности терапии наблюдались при декомпенсированном лимфопозе по сравнению с нормореакцией ($p=0,002$; $\eta=0,244$; $KoC=0,296$). При этом при асимметричной стимуляции лимфопоза частота ответов на лечение была весьма близка к нормореакции, а при декомпенсированном лейкопозе ближе

к недостаточной его активации. При анализе выживаемости активация лимфопоэза была идентична активации адаптивного иммунитета, поэтому в общей модели эти кластеры анализировались как единое целое. При оценке больных, получавших адъювантную терапию, нормореакция чаще ассоциировалась с ПЗ и потерей эффекта лечения ($p=0,025$; $\eta=0,295$; $KoC=0,304$). Это отразилось и на показателях выживаемости, где нормореакция была значимым неблагоприятным фактором прогноза ВДП (ОР 4,064; $p=2\times 10^{-6}$), но не ОВ ($p=0,425$) и являлась наиболее значимым фактором прогноза из всех оцениваемых моделей.

Снижение уровня Т-лимфоцитов приводило к значительному снижению эффективности терапии у больных ПКР, преимущественно за счёт снижения частоты ОО ($p=0,009$; $\eta=0,131$; $KoC=0,265$). Эти связи транслировались в повышение риска смерти (ОР 1,568; $p=0,009$), но не влияли на риск ПЗ ($p=0,394$). У больных, получавших адъювантную терапию, ОВ больных с разным состоянием Т-клеточного звена не имела значимых различий ($p=0,813$). В отношении ВДП у пациентов, получавших адъювантную терапию, снижение Т-лимфоцитов ниже РЗ снижало риск ПЗ, но не достигало заданного нами уровня значимости ($p=0,051$).

При анализе реакции ИС кластер нормализации сопровождался меньшей частотой ПЗ за счёт увеличения доли больных с СЗ или развитием ОО ($p=0,047$; $\eta=0,130$; $KoC=0,188$). Это также отражалось на снижении риска ПЗ (ОР 0,678; $p=0,02$) и смерти (ОР 0,536; $p=0,001$) у больных с нормализацией состояния ИС. Такое же значение имела нормализация ИС для пациентов, получавших адъювантную терапию, при которой у больных с нормализацией значительно реже наблюдалось ПЗ ($p=0,042$; $\eta=0,130$; $KoC=0,258$). Однако при анализе выживаемости у пациентов с нормализацией ИС повышался риск ПЗ (ОР 1,85; $p=0,029$), но не смерти ($p=0,44$).

При совместной оценке всех прогностических систем в единых многофакторных моделях ОВ и ВДП единственным значимым прогностическим фактором оказался тип реакции ($p=0,01$ – для ОВ и $p=0,047$ – для ВДП).

6.6.3. Роль иммунологических синдромов у больных саркомами мягких тканей

У больных СМТ, ввиду недостаточного количества наблюдений, оценка связи иммунологических синдромов с эффектом проводилась только в обобщённой группе без учёта конкретного вида лечения. Оценка обобщённых кластеров, полученных в ходе нашего исследования, не проводилась из-за малочисленности пациентов с отдельными иммунологическими синдромами.

Лейкоцитарные кластеры имели статистически значимую связь с эффективностью терапии ($p=4\times 10^{-5}$; $\eta=0,175$; $KoC=0,325$), преимущественно за счёт повышения частоты СЗ при лимфоцитозе. Данные взаимодействия отражались в изменении риска смерти у больных в кластере РЗ показателей.

Тип реакции имел значимые связи с эффективностью лечения ($p=4\times 10^{-4}$; $\eta=0,168$; $KoC=0,215$). При этом наибольшая эффективность терапии наблюдалась у больных с угнетением ИС, тогда как при активации врождённого иммунитета частота ПЗ была максимальной, а ответов не наблюдалось вовсе. Тип реакции не имел связей с ОВ при учёте в модели одновременно типа и характера реакции ($p=0,483$). При оценке ВДП риск ПЗ увеличивался у больных с угнетением ИС (ОР 1,725 – при сопоставлении с пациентами с активацией врождённой ИС, $p=0,032$).

При оценке варианта реагирования ИС у больных с активацией врождённого иммунитета и дисрегуляторным вариантом не отмечалось объективных ответов на терапию ($p=6\times 10^{-5}$; $\eta=0,216$; $KoC=0,277$). Это соответствовало повышению риска ПЗ у пациентов с подобным вариантом реакции ИС (ОР 3,246; $p=1\times 10^{-4}$ и ОР=1,954; $p=0,001$ соответственно).

При анализе характера реакции у больных СМТ эффективность терапии при недостаточной активации лимфопоэза была максимальной, тогда как при асимметричной стимуляции – минимальной ($p=1\times 10^{-4}$; $\eta=0,250$; $KoC=0,308$). При анализе ОВ у больных с недостаточной активацией лимфопоэза риск смерти значительно увеличивался (ОР 2,098; $p=4\times 10^{-4}$). При анализе ВДП связь характера реакции с риском ПЗ не достигала заданного нами уровня значимости ($p=0,066$).

Снижение уровня Т-лимфоцитов приводило к значительному снижению эффективности терапии у больных СМТ, за счёт снижения частоты ОО ($p=0,023$; $\eta=0,095$; $KoC=0,265$). Эти связи транслировались в повышение риска смерти (ОР 2,113; $p=0,001$) и ПЗ (ОР 3,219; $p=0,008$). При этом кластеры активации не имели связи с эффективностью терапии СМТ ($p>0,05$).

При анализе реакции ИС связи с частотой ответов на терапию выявлено не было ($p>0,05$). Вместе с тем при анализе вероятности достижения клинического эффекта отмечена тенденция к снижению эффективности терапии у пациентов с умеренной супрессией ($p=0,03$; $\eta=0,157$; $KoC=0,155$). Негативная прогностическая роль умеренной супрессии подтверждалась и в многофакторных анализах ОВ (ОР 6,386; $p=2\times 10^{-4}$) и ВДП (ОР 3,882; $p=2\times 10^{-4}$).

В многофакторном анализе ОВ, включавшем характеристику по всем анализируемым нами системам, лишь снижение Т-лимфоцитов являлось негативным фактором прогноза ОВ (ОР 2,113; $p=0,001$) и ВДП (ОР 1,842; $p=0,001$), тогда как другие характеристики не добавляли дополнительной информации для модели.

ГЛАВА 7. ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В НАЧАЛЕ ТЕРАПИИ В КАЧЕСТВЕ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ И ПРЕДИКТИВНЫХ ФАКТОРОВ (ИССЛЕДОВАНИЕ АИСТ)

7.1. Материалы и методы исследования АИСТ

Для оценки роли динамики изменений иммунологических показателей в качестве предиктивных и прогностических факторов был проведён анализ ранних изменений в иммунном статусе. Для этого были отобраны пациенты из исследования ПОЗИИС, у которых была проведена оценка иммунного статуса до лечения (в течение четырёх недель до начала терапии) и в процессе лечения – в течение первых 12 недель терапии. При этом для анализа, при наличии нескольких иммунных статусов, использовались в первую очередь оценки на 2–4-й неделе терапии. При их отсутствии последовательно включались иммунные статусы, оценённые на 5–12-й и 1-й неделе лечения. Для повышения однородности исследования анализ был ограничен лишь тремя локализациями (меланома, СМТ и ПКР), при которых больные получали аутологичные вакцины (при меланоме, СМТ и ПКР), ипилимумаб (при меланоме) и химиотерапию (при СМТ).

Характеристика пациентов, включённых в исследование АИСТ, представлена в таблице 20.

Для оценки прогностической и предиктивной роли динамики иммунологических показателей показатель на фоне лечения сравнивали с показателем до лечения с использованием минимально определяемых различий (MDD), определение и расчёт которых были представлены ранее (см. в главе 4). Изменение показателя меньше MDD трактовалось как отсутствие изменений. При больших различиях результат расценивался как повышение и понижение соответственно.

Нами использованы два различных размера MDD: специфический, рассчитанный для каждого конкретного показателя, и общий, полученный на основании среднего значения сравниваемых показателей в соответствии с предложенной нами методикой прогнозирования. Во всех случаях сравнения пациенты с отсутствием изменений показателей расценивались как референсная категория. При отсутствии различий с референсной категорией к ней допускалось добавление больных с результатами из неотличающейся категории для увеличения мощности исследования.

Таблица 20 – Характеристика больных, включённых в исследование АИСТ

Характеристика	Меланома, абс. (%)	ПКР, абс. (%)	СМТ, абс. (%)	Всего, абс. (%)
Всего больных	182 (100,0)	39 (100,0)	30 (100,0)	251 (100,0)
Пол:				
Мужской	89 (48,9)	21 (54,0)	10 (33,0)	120 (47,8)
Женский	93 (51,1)	18 (46,0)	20 (67,0)	131 (52,2)
Медиана возраста (диапазон)	52 (21,0–85,0)	57 (34,0–76,0)	47,5 (23,0–80,0)	52 (21,0–85,0)
Стадия:				
II	1 (0,5)	11 (28,0)	1 (3,0)	13 (5,2)
III	18 (9,9)	5 (13,0)	2 (7,0)	25 (10,0)
IV	163 (89,6)	23 (59,0)	27 (90,0)	213 (84,9)
Проведённое лечение:				
НМВ	0	39 (100,0)	0	39 (15,5)
ГМВ	39 (21,4)	0	0	39 (15,5)
ДКВ	63 (34,6)	0	14 (47,0)	77(30,7)
Ипилимумаб	80 (44,0)	0	0	80 (31,9)
Химиотерапия	0	0	16 (53,0)	16 (6,4)
Медиана наблюдения	14,4 мес.	33,8 мес.	16,2 мес.	16,3 мес.
Доля цензурированных наблюдений:				
по ОВ	62 (31,4)	18 (46,0)	16 (53,0)	94 (37,5)
по ВДП	35 (19,2)	17 (44,0)	4 (13,0)	56 (22,3)

Для сравнения между собой результатов, полученных при применении общих и специфических MDD был рассчитан коэффициент корреляции Спирмена и определена его значимость.

При оценке связи динамики иммунологических параметров с объективным ответом на лечение использовался ответ по RECIST 1.1. Из анализа исключались показатели с числом наблюдений в каждой подгруппе по диагнозу и лечению менее 10.

Для построения регрессионной модели, с учётом ограниченности количества наблюдений, использовались стандартные факторы (возраст, пол, стадия заболевания), вид лечения, линия лечения. Ввиду недостаточного количества полных наблюдений оценка влияния динамики иммунологических показателей на показатели ОВ и ВДП проводилась только у больных меланомой.

7.2. Частота изменений иммунологических показателей под воздействием отдельных видов лечения

Для определения частоты изменений показателей иммунной системы все пациенты, включённые в исследование АИСТ, были объединены в 3 группы по методу лечения: получавшие вакцины, анти-CTLA4 терапию и химиотерапию.

При сравнении изменений иммунологических показателей при разных заболеваниях (рисунок 51) оказалось, что частота отклонений сопоставима в большинстве случаев ($p > 0,05$). Исключениями из этого правила были абсолютный уровень NKT-клеток, и Treg, и относительный уровень Th.

При сравнении изменений абсолютного уровня NKT-клеток выявлена большая частота повышения данного показателя (7,1% против 0%) у больных СМТ по сравнению с больными меланомой ($p = 0,03$). Уровень Th чаще всего снижался у больных ПКР и был наиболее переменчивым у данной категории больных ($p = 0,021$). У больных СМТ, напротив, чаще наблюдалось повышение относительного уровня Th. Повышение абсолютного уровня Treg наблюдалось нами только у больных СМТ ($p = 0,05$).

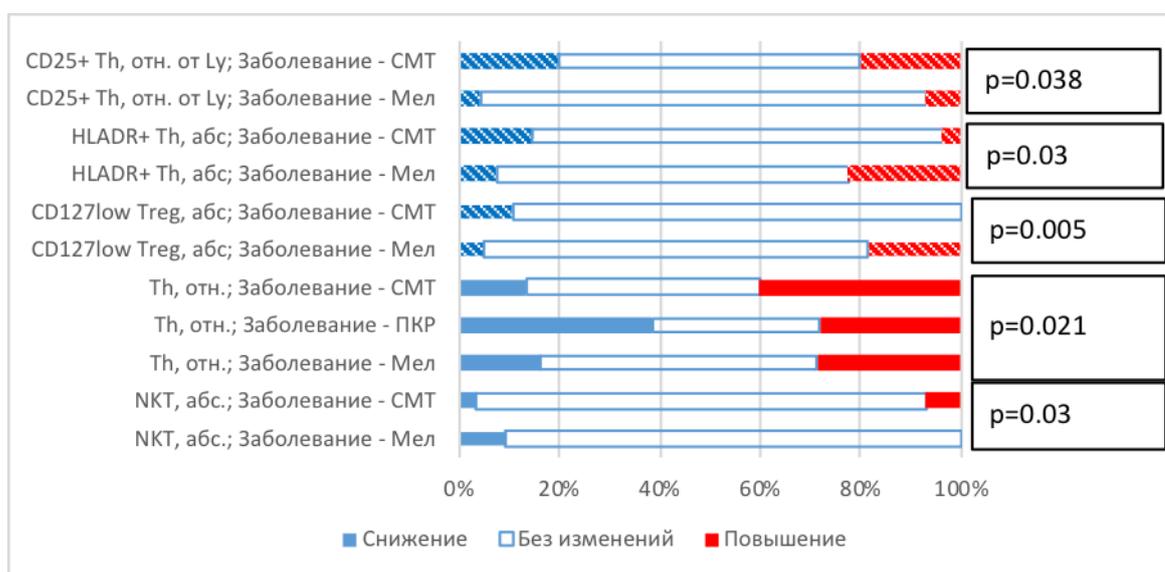


Рисунок 51 – Сравнение частоты изменений иммунологических показателей на фоне терапии в зависимости от заболевания

При анализе частоты изменений показателей иммунного статуса на ранних этапах лечения выявлено, что наиболее вариабельными из них оказались соотношения показателей ИС, число лейкоцитов, лимфоцитов, показатели фагоцитарной активности и миграции лимфоцитов. Уровни Treg, Th (как общее содержание, так и экспрессирующие отдельные маркеры активации), NK- и NKT-клеток, наоборот, были среди наиболее постоянных показателей. Изменение в их уровне в нашем исследовании наблюдалось менее чем у 30% пациентов.

Изменения иммунологических показателей на фоне данных видов лечения, имевшие различия по видам лечения, представлены на рисунке 52. Прочие показатели не имели статистически значимых различий в частоте отклонений под воздействием отдельных видов лечения. При сравнении частоты изменений на основании специфических и общих MDD частота отклонений при использовании последних была закономерно ниже, что обусловлено более грубой оценкой этого параметра. Вместе с тем все оценки имели статистически значимую корреляционную связь ($p < 0,05$). При этом малые значения коэффициента корреляции Спирмена (0,2 и 0,276) наблюдались лишь для относительного уровня CD127^{low} Treg и абсолютного уровня DP лимфоцитов.

Для относительных уровней B- и NKT-клеток, HLA-DR⁺Th, DP лимфоцитов коэффициент корреляции составлял от 0,3 до 0,5. Для уровней NK- и NKT-клеток, HLA-DR⁺ЦТЛ и отношение NK/ЦТЛ коэффициенты корреляции были в диапазоне от 0,5 до 0,7. Для всех остальных показателей значения коэффициента корреляции Спирмена – 0,7, что свидетельствует о достаточно высокой точности предложенного нами метода прогнозирования вариабельности оценок иммунологических параметров.

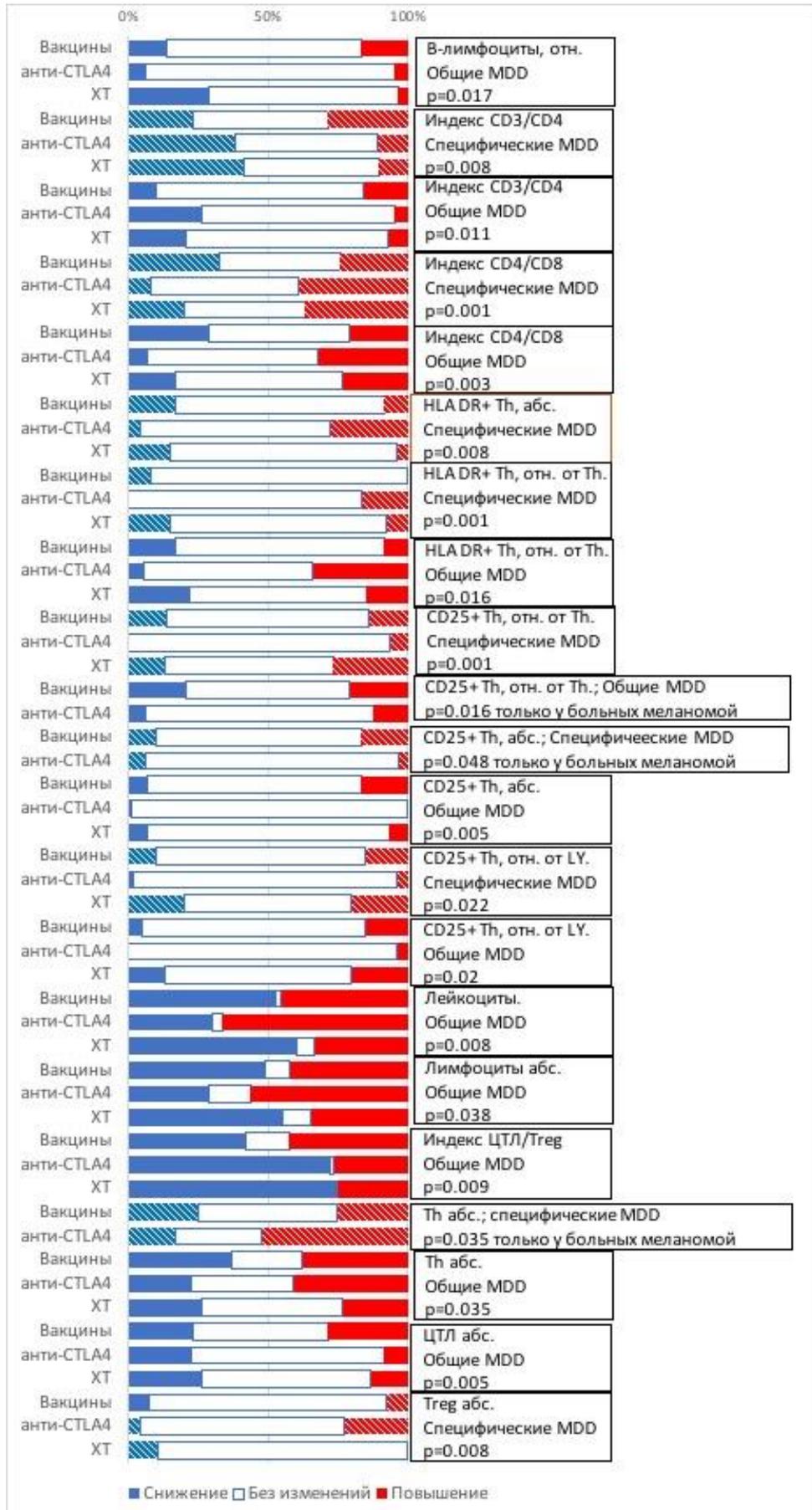


Рисунок 52 – Изменения иммунологических показателей в процессе лечения

7.3. Прогностическая и предиктивная роль изменений иммунологических показателей

7.3.1. Прогностическое и предиктивное значение изменения показателей врождённой иммунной системы

Стабильный уровень лейкоцитов ассоциировался с наибольшей эффективностью терапии у больных меланомой в динамике ($p=0,011$; $\eta=0,305$; $KoC=0,436$). При этом в случае терапии ипилимумабом эффект оказался более выраженным ($p=0,045$; $\eta=0,431$; $KoC=0,511$) по сравнению с применением вакцин ($p=0,226$; $\eta=0,165$; $KoC=0,450$ ($p=0,003$)). Повышение уровня лейкоцитов увеличивало риск смерти ($p=0,04$), тогда как снижение показателя увеличивало риск ПЗ ($p=0,034$) у больных меланомой. Необходимо отметить, что при повышении уровня лейкоцитов в динамике также наблюдалась тенденция к увеличению риска ПЗ, однако она не достигла заданного нами уровня значимости ($p=0,069$).

Снижение абсолютного уровня лимфоцитов в динамике у больных меланомой было ассоциировано с меньшей частотой ПЗ (39,2% против 44,4%, $p=0,026$; $\eta=0,173$; $KoC=0,29$; $p=0,056$). При оценке выживаемости было также отмечено статистически значимое снижение рисков смерти (ОР 0,437; $p=0,036$) и ПЗ (ОР 0,384; $p=0,002$). Повышение уровня лимфоцитов также снижало относительный риск ПЗ (ОР 0,511; $p=0,019$), но не смерти ($p=0,308$), по сравнению с РЗ показателя. Изменение относительного уровня лимфоцитов не имело связи с эффективностью лечения либо рисками наступления ПЗ или смерти ($p \geq 0,05$).

Общий уровень моноцитов, а также уровень $CD14^+$ моноцитов, как относительный, так и абсолютный, не имел связи с эффективностью в анализируемых группах больных ($p > 0,05$). При оценке ОВ и ВДП у больных меланомой связи динамики уровня моноцитов с эффектом терапии также выявлено не было ($p > 0,05$). Вместе с тем снижение относительного уровня $CD14^+$ мононуклеаров в динамике являлось значимым негативным фактором прогноза ВДП (ОР 2,431; $p=0,049$).

Нами не было выявлено связи изменения уровня нейтрофилов с ответом на лечение в анализируемых группах больных ($p > 0,05$). При оценке ОВ и ВДП у больных меланомой рост относительного уровня нейтрофилов в процессе лечения ассоциировался с меньшим риском ПЗ ($p=0,0425$), но не смерти ($p=0,236$).

При росте уровня эозинофилов в динамике нами отмечено увеличение частоты ПЗ у больных меланомой, получавших вакцины ($p=0,01$; $\eta=0,327$; $KoC=0,676$), однако оно не влияло на риск прогрессирования или смерти пациента ($p > 0,05$). Изменения относительного уровня эозинофилов, равно как и изменения уровня базофилов, не было связано с развитием ответа на лечение или изменением выживаемости больных ($p > 0,05$). Также оказались прогностически незначимыми изменения числа $NKG2D^+NK$ и у больных меланомой,

получавших ипилимумаб, изменения уровня CD1d⁺ лимфоцитов и показателей фагоцитарной активности ($p>0,05$).

Снижение в динамике абсолютного уровня НК (при использовании общих, но не специфических, MDD) у больных, получавших ипилимумаб, сопровождалось повышением вероятности достижения ЧР с 3,6% до 28,6% ($p<0,05$). У больных с повышением данного показателя в динамике ОО не наблюдался вовсе, хотя в целом изменения оказались статистически незначимыми ($p=0,213$). Данные закономерности отразились и на статистически значимом снижении риска ПЗ (ОР 0,471; $p=0,009$). Вместе с тем при использовании специфических для НК-клеток MDD, различия были более явными и достигали заданного в исследовании уровня значимости ($p=0,016$; $\eta=0,242$; КоС=0,504), но они не транслировались в изменение риска ПЗ или смерти в многофакторных моделях ОВ и ВДП ($p>0,05$). При оценке лечения больных меланомой в целом, без учёта вида лечения, помимо вышеуказанной тенденции, наблюдалось и статистически значимое снижение частоты ПЗ у пациентов со снижением абсолютного содержания НК в динамике ($p<0,05$). При этом в целом связь относительного уровня НК при использовании специфических MDD оказалась на грани заданного нами уровня значимости ($p=0,062$). При оценке динамики относительного, но не абсолютного уровня показателя с использованием специфических MDD выявлялась похожая тенденция, которая проявлялась в увеличении частоты ЧР с 0% до 11% у пациентов со снижением уровня НК в динамике ($p=0,026$; $\eta=0,173$; КоС=0,29). У больных ПКР и СМТ при использовании общих MDD подобной тенденции не определялось ($p>0,05$). При оценке с применением специфических MDD была выявлена аналогичная описанной выше тенденция у больных СМТ (повышение вероятности развития ЧР, $p<0,05$), которая, однако, не достигла заданного в нашем исследовании уровня значимости ($p=0,137$).

Повышение относительного уровня НК у больных, получавших вакцины (при использовании общих MDD), ассоциировалось с повышенной частотой ПЗ ($p<0,05$), хотя в целом значимость связи была пограничной ($p=0,093$). Интересно отметить, что при использовании специфической MDD данные изменения достигли заданного уровня статистической значимости ($p=0,038$), однако значимых различий по частоте отдельных видов ответа с учётом множественных сравнений выявлено не было ($p>0,05$).

7.3.2. Прогностическое и предиктивное значение Т-клеточного звена иммунной системы

Нами не выявлено связи изменения уровня Т-лимфоцитов с эффективностью лечения в оценённых группах пациентов при использовании общих MDD ($p>0,05$). При оценке ОВ

оказалось, что как снижение (ОР 0,5; $p=0,011$), так и повышение (ОР 0,428; $p=0,006$) абсолютного, но не относительного, уровня Т-лимфоцитов в динамике при оценке на основании общих MDD являлось благоприятным фактором прогноза ОБ. Лишь снижение абсолютного уровня Т-лимфоцитов имело статистически значимую связь с риском ПЗ (ОР 0,575; $p=0,028$).

При использовании специфических MDD у больных СМТ со снижением в динамике абсолютного уровня Т-лимфоцитов реже регистрировалась СЗ ($p<0,05$) за счёт развития ПР и ЧР. Однако в целом связь между показателями не достигла заданного нами уровня значимости ($p=0,104$). Снижение уровня Т-лимфоцитов в динамике при учёте специфических MDD оказалось значимым благоприятным фактором прогноза (ОР 0,154; $p=0,018$). При оценке относительного уровня Т-лимфоцитов с использованием специфических MDD наблюдалась тенденция к большей эффективности терапии у больных с повышением данного показателя в динамике ($p=0,028$; $\eta=0,6$; КоС=0,591 ($p=0,058$)), однако значимых различий в частоте какого-либо варианта ответа выявлено не было ($p>0,05$). При оценке ОБ и ВДП изменения относительного уровня Т-лимфоцитов оказались прогностически незначимы при использовании любых MDD ($p>0,05$).

Изменения уровня Th имели связи с эффективностью терапии лишь при отдельных заболеваниях и видах лечения. Так, у больных СМТ отмечено увеличение частоты СЗ с 26,7% до 85,7% при повышении абсолютного содержания Th в динамике с использованием общих, но не специфических MDD ($p<0,05$). При этом в целом связь изменений уровня Th с эффективностью терапии не достигла заданного нами уровня значимости ($p=0,105$). При использовании специфических MDD у больных меланомой, получавших вакцины, наблюдалась более высокая частота ПЗ при росте относительного содержания Th в динамике ($p<0,05$). При СМТ, наоборот, частота ПЗ значимо снижалась ($p<0,05$). Однако в целом в обоих случаях связь между динамикой изменений и ответом на терапию оказалась статистически незначимой ($p=0,193$ и $p=0,072$ соответственно) и сохранялась таковой при использовании специфических MDD ($p>0,05$). При оценке ОБ и ВДП статистически значимой связи как относительных, так и абсолютных показателей как с ОБ, так и с ВДП при использовании любых MDD выявлено не было ($p>0,05$).

Динамика уровня Treg не имела связи с уровнем эффекта противоопухолевого лечения в оценённых группах пациентов ($p>0,05$). Между тем при оценке как ОБ (ОР 50,11), так и ВДП (ОР 31,633) снижение абсолютного уровня этих клеток оказалось неблагоприятным фактором прогноза при использовании общих MDD ($p=0,002$ и $p=0,003$ соответственно). При использовании специфических MDD выявлены аналогичные изменения, но с меньшим размером относительного риска (ОР=10,415; $p=0,001$ и ОР=3,729; $p=0,025$ соответственно).

В многофакторной модели ОВ лишь изменение относительного уровня Treg при использовании общих MDD оказалось независимым фактором прогноза ОВ и ВДП, повышая более чем в 11 раз риски прогрессирования и смерти ($p=0,026$).

Нами не выявлено связи уровня НКТ-клеток с эффективностью лечения во всех оценённых группах пациентов при использовании как общих, так и специфических MDD ($p>0,05$). Вместе с тем повышение относительного уровня НКТ-клеток в динамике при использовании для сравнения общих MDD являлось выраженным фактором неблагоприятного прогноза как ОВ (ОР 42,403; $p=0,002$), так и ВДП (ОР 29,083; $p=0,004$).

Снижение абсолютного уровня ЦТЛ в динамике у больных меланомой, получавших вакцины, было ассоциировано с меньшей частотой ПЗ (17,2%) по сравнению с больными с повышением значения показателя (50%). При этом повышение, а не понижение абсолютного уровня ЦТЛ было значимым независимым благоприятным фактором прогноза ВДП (ОР 0,607; $p=0,033$) в общей популяции больных, тогда как повышение относительного уровня, наоборот, являлось неблагоприятным фактором (ОР 1,871; $p=0,018$). Влияния на показатели ОВ динамика как абсолютного, так и относительного уровня ЦТЛ в общей популяции больных меланомой не оказывала ($p>0,05$). При использовании специфических MDD для сравнения наблюдалась аналогичная, по сути, тенденция к повышению частоты СЗ у больных меланомой, получавших вакцины, что транслировалось в снижение ОР ПЗ до 0,229 и смерти до 0,259 ($p<0,05$). Однако в целом значимость связи между ответом на лечение и динамикой уровня ЦТЛ оказалась выше заданного нами уровня значимости ($p=0,084$ – для общих MDD и $p=0,085$ – для специфических). Как повышение (ОР 0,238), так и понижение (ОР 0,259) в динамике уровня ЦТЛ при использовании специфических MDD являлось благоприятным фактором прогноза ОВ ($p=0,009$). Снижение в динамике уровня ЦТЛ снижало также риск ПЗ (ОР 0,229; $p=0,005$). Значимых различий в других вариантах ответа на лечение отмечено не было ($p=0,084$). Относительный уровень ЦТЛ не имел значимых связей с эффективностью терапии или показателями ОВ при использовании для сравнения специфических MDD ($p>0,05$).

Изменение уровня DN лимфоцитов не было связано с изменением риска прогрессирования или смерти ($p>0,05$). При оценке уровня DP оказалось, что при использовании для сравнения общих MDD рост показателя в динамике являлся неблагоприятным фактором прогноза как ОВ ($p=0,042$), так и ВДП и ($p=0,048$). При использовании для сравнения специфических MDD таких связей выявлено не было ($p>0,05$).

Изменение числа CD25⁺, CD38⁺, CD71⁺, CD95⁺, HLA-DR⁺ лимфоцитов не имело связи с эффективностью вакцинотерапии у больных меланомой и ПКР ($p>0,05$). Однако следует отметить малое число валидных наблюдений, включённых в анализ при ПКР (10 наблюдений).

Общая экспрессия маркеров активации у больных СМТ не оценивалась ввиду малого количества наблюдений.

При оценке выживаемости у больных меланомой оказалось, что снижение абсолютного уровня CD71⁺ лимфоцитов в динамике является неблагоприятным фактором прогноза как ОБ (ОР 16,422; $p=0,002$), так и ВДП (ОР 7,416; $p=0,008$ соответственно). Повышение в динамике абсолютного уровня CD95⁺ клеток, наоборот, являлось благоприятным фактором прогноза ОБ (ОР 0,226; $p=0,03$), но не влияло на ВДП ($p=0,559$). Рост относительного содержания этих клеток, наоборот, являлся фактором неблагоприятного прогноза ОБ (ОР 4,391; $p=0,02$). Связи общей экспрессии CD38 и CD25 на лейкоцитах с показателями ОБ и ВДП выявлено не было ($p>0,05$).

Связи уровня активированных CD38⁺Th клеток, CTLA-4⁺Th и показателей функциональной активности Т-лимфоцитов с эффективностью терапии, а также с изменением риска прогрессирования или смерти выявлено не было ($p>0,05$). Связи уровня CD25⁺Th с эффективностью терапии или параметрами выживаемости при использовании общих MDD в нашем исследовании также выявлено не было ($p>0,05$). Однако при использовании для сравнения специфических MDD была выявлена значимая связь между относительным уровнем CD25⁺Th (от Th) и эффективностью вакцилотерапии ($p=0,024$; $\eta=0,626$; КоС=0,612). При расчёте содержания CD25⁺Th от лимфоцитов различия оказались ещё более выраженными ($p=0,015$; $\eta=0,827$; КоС=0,742). При анализе ОБ снижение абсолютного уровня этих клеток играло выраженную негативную роль в прогнозе ОБ ($p=0,005$) и ВДП ($p=0,041$), так же как и повышение их содержания относительно Th ($p=0,025$), тогда как снижение их содержания относительно LY, наоборот, являлось благоприятным фактором прогноза ОБ ($p=0,047$). В противоположность этому снижение в динамике абсолютного уровня HLA-DR⁺Th являлось негативным фактором прогноза ОБ ($p=0,032$), а при использовании специфических MDD – благоприятным фактором прогноза ВДП многофакторной модели ($p=0,029$), хотя связи изменений уровня HLA-DR⁺Th с эффективностью терапии не обнаружено ($p>0,05$).

При анализе изменений HLA-DR⁺ЦТЛ с использованием общих MDD связи с эффективностью терапии или выживаемостью пациентов выявлено не было ($p>0,05$). В подавляющем большинстве наблюдений изменений показателя с использованием указанных границ не наблюдалось. Вместе с тем при использовании специфических MDD у больных с повышением в динамике числа HLA-DR активированных лимфоцитов не наблюдалось ПЗ ($p<0,05$). Однако в целом связь между изменением уровня HLA-DR активированных ЦТЛ и лечебным эффектом по системе RECIST оказалась статистически незначимой ($p=0,159$). Изменения относительного уровня активированных ЦТЛ не имели статистически значимых

связей с эффективностью лечения при использовании любых MDD ($p>0,05$). Связи уровня активированных CD38⁺ЦТЛ, NKG2D⁺ЦТЛ с эффективностью терапии у больных меланомой, получавших ипилимумаб, также не обнаруживалось ($p>0,05$).

Изменение в динамике уровня CD3⁺CD27⁺CD62L⁺ и CD3⁺CD28⁺CD62L⁺ лимфоцитов, центральных и эффекторных клеток памяти, содержания наивных Т-лимфоцитов не было связано с эффективностью терапии ипилимумабом у больных меланомой ($p>0,05$).

7.3.3. Прогностическое и предиктивное значение соотношения показателей иммунной системы

Изменение соотношения CD3⁺ и CD4⁺ клеток, NK- и NKT-клеток и ЦТЛ не имело связи с эффективностью терапии или выживаемостью больных в изученных нами группах пациентов как при использовании общих, так и специфических для показателя MDD ($p>0,05$).

У больных с повышением ИРИ на фоне терапии меланомы ипилимумабом отмечено увеличение частоты ОО при использовании общих, но не специфических, MDD ($p=0,007$; $\eta=0,116$; $KoC=0,422$). Изменение соотношения ЦТЛ и Treg не имело статистически значимых связей с эффективностью терапии ($p>0,05$). Динамика ИРИ не имела связи с показателями ОБ и ВДП у больных меланомой ($p>0,05$).

7.3.4. Прогностическое и предиктивное значение показателей В-клеточного звена иммунной системы

Снижение абсолютного уровня В-лимфоцитов в динамике на фоне вакцинотерапии было ассоциировано с повышенной частотой СЗ на фоне вакцинотерапии меланомы ($p=0,048$; $\eta=0,299$; $KoC=0,341$) и химиотерапии СМТ ($p=0,01$; $\eta=0,49$; $KoC=0,674$). При оценке относительного уровня В-лимфоцитов наблюдалась аналогичная тенденция как при меланоме ($p=0,048$; $\eta=0,366$; $KoC=0,405$), так и при СМТ ($p=0,002$; $\eta=0,779$; $KoC=0,621$). Вместе с тем использование специфичных для данного показателя MDD не позволяло выявить статистически значимой взаимосвязи динамики данного показателя с эффективностью лечения у больных меланомой ($p>0,05$). У больных СМТ выявленная ранее тенденция к большей глубине ответа на фоне снижения В-лимфоцитов в динамике сохранялась ($p=0,024$; $\eta=0,318$; $KoC=0,587$; ($p=0,077$)), однако была менее выражена. Тем не менее такие связи не транслировались в изменение показателей выживаемости у больных меланомой ($p>0,05$). Связи динамики содержания ЦИК с частотой эффектов терапии у больных меланомой и ПКР также не обнаружено ($p>0,05$).

ГЛАВА 8. КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПАРАМЕТРОВ ИММУННОГО СТАТУСА В КАЧЕСТВЕ ФАКТОРОВ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ В КОНТЕКСТЕ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

8.1. Контуры управления иммунным ответом

Для определения роли параметров, характеризующих работу ИС, необходимо рассмотреть основы её функционирования. В процессе изучения работы данной системы последовательно развивался ряд подходов и концепций [262], использовавшихся для построения моделей работы иммунной системы. В настоящее время ИС рассматривается как сложная взаимосвязанная система взаимодействий, одновременно работающая на клеточном и молекулярном уровнях, не все функции которой до конца понятны и соответствуют сложности организации самой системы, сопоставимой со сложностью связей в нервной системе. Тем не менее все концепции позволяют выделить функциональную последовательность обработки сигналов, нарушения в которой происходят при опухолевом росте. Важной особенностью функционирования иммунной системы является необходимость межклеточных контактов для осуществления её функции [262].

Первый этап подразумевает обработку сигнала в тканях, в которой участвуют преимущественно клетки врождённой иммунной системы [13]. На этом этапе происходит само распознавание необходимости реагирования, т.е. активация иммунного ответа, и в зависимости от активированной части системы начинается выбор пути ответа на данный сигнал [263]. В этом этапе важная роль принадлежит макрофагам [264; 265], лимфоидным и миелоидным клеткам врождённой ИС [265-267], НКТ-клеткам [268], которые во многом определяют направление дальнейшего иммунного ответа.

Второй этап обработки сигнала заключается в поляризации работы ИС, при котором благодаря секреции определённых цитокинов активируются определённые субпопуляции клеток как в тканях, где проходит, собственно, эффекторная фаза иммунного ответа, так и в лимфоидных органах. При этом поляризация осуществляется совместно клетками врождённой и адаптивной иммунной системы с формированием трёх основных направлений [262; 265; 269; 270].

К первому направлению могут быть отнесены основные эффекторы противоопухолевого иммунного ответа: ЦТЛ, НК-клетки и ИLC1 клетки, которые активируются сходной группой цитокинов и при совместной работе позволяют уничтожить опухоль благодаря осцилляциям

между HLA-зависимым (ЦТЛ) и HLA-независимым (НК) распознаванием опухолевых клеток [271; 272]. Данная популяция поддерживается Th1 и хелперными лимфоидными клетками врождённой иммунной системы (ILC1) [270; 273]. Определённая роль в этом направлении поляризации принадлежит и NKT-клеткам первого типа, которые выполняют как противоопухолевые, так и регуляторные функции [274].

Второе направление поляризации – В-клеточный иммунный ответ, включающий в себя два варианта [273; 275]. Первый поддерживается совместным участием Th1, Th2 фолликулярными Th (Thf). При этом происходит последовательное переключение антител с IgM на IgG и IgA, активируются нейтрофилы и система комплемента. Второй вариант ответа направлен на защиту от гельминтов. В его основе лежат активация Th2 и ILC2 клеток с переключением Ig на IgE и IgG4, активация эозинофилов и базофилов и тимуснезависимый ответ с продукцией исключительно IgM.

Третье направление поляризации, вовлекающее Th9, Th17, Th22 и ILC3 клетки, эозинофилы и базофилы [275; 276], направлено на борьбу с грибами, бактериями и внеклеточными паразитами. Оно имеет некоторые общие черты с Th1 ответом, однако при этом ответе происходит секреция значительного количества противовоспалительных цитокинов и взаимодействие со стромальными клетками тканей для поддержания их гомеостаза. Этот же механизм, наряду с дуалистичной ролью NKT-клеток [274], может обеспечивать известную связь эффективности иммунотерапии с микробиотой [277].

Важной частью обработки сигнала является регуляция иммунного ответа, которая предотвращает развитие хронических патологических ответов и обеспечивает корректность его поляризации. К клеткам, обеспечивающим такую регуляторную поддержку, могут быть отнесены Treg, NKT-клетки, миелоидные супрессорные клетки и хелперные клетки врождённой иммунной системы [274-276; 278].

Проведённый в нашем исследовании анализ соответствий свидетельствует о возможности выделения трёх основных нарушений ИС, связанных с опухолевым ростом: анергии, иммуносупрессии и системного воспаления. Данные наблюдения согласуются с результатами других исследований в этой области [279], которые предполагают выделение среди этих основных компонентов нескольких возможных механизмов иммунопатогенеза опухолевого роста. Можно с уверенностью предполагать, что данные механизмы имеют взаимодополняющий характер.

8.2. Нарушение распознавания опухоли: точка приложения методов усиления презентации антигена

Существует несколько потенциальных механизмов ускользания опухоли от иммунного надзора [55; 280-283]. Причинами могут быть недостаточное распознавание опухоли, активация супрессивных механизмов иммунного ответа для предотвращения автоагрессии и подавление или контроль опухоли над поведением иммунных клеток. В нашем исследовании результаты анализа соответствий также показали три основных типа иммунологических синдромов, что соответствует описанному предположению.

Нарушения распознавания опухоли происходят на самом раннем этапе противоопухолевого иммунного ответа. Опухоль остаётся невидимой для иммунной системы благодаря активизации нескольких механизмов ускользания: потери экспрессии отдельных антигенов в процессе эволюции клонов опухоли [171; 279], формирования неоантигенов с мутациями в невидимой для ИС зоне, сниженной экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости [272; 279]. Потенциально в такой патогенез могут включаться и механизмы нарушения фагоцитарной активности антигенпрезентирующих клеток. В результате активации иммунной системы не происходит: не формируются эффекторные и хелперные клетки или не изменяется их содержание, не происходит их активация, а также не формируется пул регуляторных клеток. В результате формируется «холодная» опухоль [279]. Анергия иммунной системы ранее уже описывалась некоторыми авторами как негативный прогностический фактор [65; 102; 127].

Подобные изменения в периферической крови мы наблюдали в 3–5 и 10–12 кластерах. При этом в 4 и 5 кластерах (активация ИС при моноцитозе без понижения Т-клеток) отмечалось повышенное содержание Treg, что позволяет предположить смешанный характер иммунных нарушений с присутствием двух из указанных синдромов. Важно отметить, что в нашем исследовании переходы между этими кластерами представляли последовательное развитие процесса от активации к торможению иммунной системы с постепенным снижением уровня Т-клеток, что позволяет предполагать отсутствие адекватной антигенной стимуляции. Интересно отметить, что подобная ситуация, по нашим данным, чаще встречалась у больных СМТ – наименее иммуногенной опухоли, и редко – у больных меланомой и ПМО. Возможной причиной такого распределения являются особенности экспрессии иммуногенных антигенов, таких как раково-тестикулярные антигены, у больных СМТ, где они экспрессируются реже и в меньшей степени по сравнению с меланомой [251]. Возможным способом решения данных проблем является использование вакцин. Вакциноterapia направлена на индукцию противоопухолевого иммунного ответа путём обеспечения процесса распознавания антигена

и использованием, прежде всего, первого сигнала иммунного синапса, т.е. активируя взаимодействие Т- и В-клеточных рецепторов с антигенпрезентирующей клеткой [284]. Предполагается, что вакцины будут способствовать активации опухолеспецифического иммунного ответа благодаря использованию сильных антигенов или пептидов и методов привлечения клеток иммунной системы.

Такие принципы использовали вакцины первого поколения – НМВ – где опухолевые клетки просто инактивировались и вводились с неспецифическими адьювантами, стимулирующими пролиферацию в целом. Однако такой подход всецело зависел от сохранности последующих механизмов иммунного ответа и редко оказывался эффективным. Второе поколение вакцин шло по пути ещё большей активации взаимодействия между антигеном и иммунной системой [285]. Существовало несколько путей модернизации вакцин: генетическая модификация клеток опухоли (ГМВ), разработка средств доставки (ДКВ), комбинация вакцин с цитокинами и другими иммунотерапевтическими препаратами. Это решало проблемы локальной недостаточности концентрации цитокинов, и обеспечивало доставку вакцинного продукта в лимфатические узлы, и облегчало передачу информации другим клеткам – т.е. активировало сигнал первого типа в иммунологическом синапсе, который обеспечивает специфичность реакции.

Полученные нами данные в целом подтверждают наши предположения. Так, повышенное содержание CD38⁺ или CD71⁺ лимфоцитов резко увеличивало риск ПЗ при терапии ГМВ, тогда как при других видах лечения негативное влияние показателя было умеренным. Повышенный уровень HLA-DR⁺Th являлся фактором благоприятного прогноза при всех видах терапии, однако повышение уровня этих клеток до лечения при использовании ДКВ в 5 раз увеличивало риск ПЗ. Низкий уровень Т-лимфоцитов, причиной которого может быть ареактивность ИС, при применении вакцин оказывался благоприятным прогностическим фактором. Повышение уровня Т-лимфоцитов или ЦТЛ до использования ДКВ, наоборот, снижало вероятность ответа на терапию.

Фагоцитарная активность также может рассматриваться как одна из причин неэффективного иммунного ответа [286], которая может быть преодолена за счет вакцин. Мы изучали эти процессы у пациентов с меланомой и ПКР, получавших вакцинотерапию. Повышенная фагоцитарная активность являлась универсальным негативным фактором как при меланоме, так и при ПКР, что подтверждает наши предположения. Сниженный уровень НСТ у больных меланомой, получавших НМВ и ДКВ, был связан с повышенной частотой ПЗ, что противоречит полученным данным по связи его увеличения с повышенным риском смерти. При ПКР снижение функциональной активности фагоцитоза было ассоциировано с меньшей

частотой ПЗ, что транслировалось в увеличение выживаемости больных, получавших вакцины. Такое прогностическое значение фагоцитарной активности может быть обусловлено поляризацией макрофагов, происходящих из моноцитов периферической крови [287], на М1 и М2 подтипах, при которых последний обладает большей фагоцитарной активностью и проопухолевыми свойствами [286].

Низкий уровень Treg, который также отражает отсутствие активации адаптивной ИС, являлся благоприятным фактором повышения эффективности терапии ДКВ у больных меланомой и ПКР. При этом у пациентов со сниженным значением данного показателя показатели выживаемости ДКВ превосходили таковые при использовании ипилимумаба, тогда как при высоком уровне показателя наблюдалась обратная ситуация. Причиной может быть то обстоятельство, что ипилимумаб оказывает воздействие на Treg в ходе своего действия [288], поэтому их повышение, несмотря на негативное влияние на показатели выживаемости, в меньшей степени влияет на его эффективность.

Подобная тенденция, описанная нами у больных с меланомой, не вполне транслировалась в другие опухоли. Так, у пациентов с СМТ или ПКР снижение Treg ниже НГН не приводило к повышению эффективности терапии ДКВ, а наоборот, повышало вероятность ПЗ, не влияя при этом на показатели выживаемости. Рост уровня данных клеток, как и ожидалось, являлся фактором неблагоприятного прогноза как при СМТ, так и при ПКР. Мы можем предполагать, что негативное влияние пониженного уровня Treg у больных СМТ и ПКР на эффективность ДКВ является следствием общей иммуносупрессии, затрагивающей и эти клетки под воздействием третьих факторов, что подтверждается отсутствием влияния снижения уровня этих клеток на показатели ОВ и ВДП в группах пациентов, получавших ДКВ.

8.3. Роль механизмов контроля иммунного ответа в развитии противоопухолевого ответа

8.3.1. Роль моноцитов в противоопухолевом иммунном ответе

Моноциты представляют собой первые клетки, встречающиеся с антигеном и запускающие фактически его обработку иммунной системой [13; 289]. Среди производных этих клеток находятся как антигенпрезентирующие клетки (например, дендритные клетки), так и регуляторные, такие как опухоль-ассоциированные макрофаги и миелоидные супрессорные клетки [290]. В нашем исследовании оценивалось только общее содержание моноцитов и CD14⁺ клеток, т.е. субпопуляции классических моноцитов. Важно подчеркнуть, что кластер моноцитоза всегда ассоциировался со сниженным количеством Т-лимфоцитов и иммуносупрессией. Повышенное содержание моноцитов при СМТ и ПКР было

неблагоприятным прогностическим фактором. При меланоме в целом сохранялась такая тенденция с двумя исключениями. С повышением абсолютного уровня CD14⁺ клеток при адьювантной терапии меланомы, преимущественно за счёт применения ГМВ, но не при использовании ДКВ, и при повышении относительного уровня моноцитов выше РЗ у больных с меланомой наблюдалось улучшение показателей выживаемости. Возможной причиной такого наблюдения является существенная доля больных меланомой в нашем исследовании, получавших МИС, для которых повышенный уровень моноцитов с экспрессией регуляторных костимулирующих молекул является одной из мишеней воздействия, что подтверждается данными отдельных клинических исследований [67]. Негативная прогностическая роль моноцитов подтверждается также результатами проведённого нами систематического обзора [129].

8.3.2. Общая оценка Th и маркеров активации: возможность использования для прогнозирования эффективности терапии

Как уже говорилось ранее, поляризация иммунного ответа во многом определяется видом активированных Th. В нашем исследовании мы не определяли эти подвиды клеток, однако оценивали общее содержание Th и их соотношение с эффекторными CD8⁺ клетками – ИРИ. Сниженный уровень этих клеток практически всегда ассоциировался с ухудшением эффективности лечения. Лишь у больных меланомой, получавших ДКВ, и у пациентов с СМТ, получавших химиотерапию, отмечалось повышение ответа на терапию при сниженном уровне Th. При этом при СМТ, несмотря на ассоциацию с эффектом терапии, риски ПЗ и смерти у больных со сниженным уровнем Th тоже снижались. Снижение абсолютного и относительного уровней Th при меланоме и ПКР на фоне терапии ДКВ являлось благоприятным фактором прогноза, тогда как повышение этих показателей – наоборот, увеличивало риск ПЗ. Похожая ситуация наблюдалась у больных меланомой, получавших анти-PD1 терапию. Повышение уровня Th в целом являлось фактором неблагоприятного прогноза, за исключением пациентов, получавших адьювантную терапию меланомы кожи, соответствующие изменения мы наблюдали и при оценке ИРИ, где по мере его повышения у больных ПКР улучшался прогноз (преимущественно на фоне терапии ДКВ и НМВ).

Для СМТ сниженные значения ИРИ всегда имели негативное прогностическое значение. При меланоме такое значение показатели имели только при проведении адьювантной терапии и при проведении ТТ. При использовании цитокинов любые отклонения ИРИ от РЗ до начала лечения имели благоприятное значение. При использовании ДКВ и анти-PD-1 терапии при меланоме сниженный уровень ИРИ увеличивал вероятность достижения ответа на лечение.

Результаты проведённого нами систематического обзора [128] подтверждают неоднозначный характер повышенного уровня Th при различных заболеваниях и частично совпадают с полученными нами результатами, хотя в большинстве исследований связи уровня Th клеток с эффективностью терапии выявлено не было. Можно предполагать, что низкое содержание Th является проявлением вторичного иммунодефицита, связанного с опухолевым ростом, и приводит к дезорганизации иммунного ответа. При меланоме вероятным источником такой дезорганизации является ареактивность иммунной системы или активная иммуносупрессия, а также, возможно, неспецифическая активация других звеньев ИС, приводящая к снижению уровня Th на фоне активного системного воспаления и повышенного уровня Treg в 6 и 7 кластерах, а также на фоне истощения ИС – в 3 и 10 кластерах и активной иммуносупрессии – в 1 и 8 кластерах.

Общая экспрессия CD25 – маркера ранней активации лимфоцитов – на иммунных клетках имела неоднозначное прогностическое значение. В лечебных режимах любое отклонение от P3 абсолютного уровня этих клеток было ассоциировано с меньшей частотой ответов на лечение при использовании ДКВ и цитокинов, но не при использовании ГМВ. При этом изменение относительного уровня этих клеток относительно P3 при адьювантной терапии было связано с повышенными показателями выживаемости больных меланомой. Интересно отметить, что наибольшая частота отклонений показателя от P3 наблюдалась нами при III стадии заболевания. При анализе CD25⁺Th наблюдалась иная тенденция в той же группе больных: любое отклонение от P3 относительного уровня сопровождалось повышенной частотой объективных ответов, за исключением ТТ, где при снижении уровня CD4⁺CD25⁺ клеток в 2,2 раза увеличивалась частота ПЗ.

При СМТ наблюдалось повышение эффективности ДКВ при повышенном относительном уровне CD4⁺CD25⁺ до лечения и любой терапии по мере роста показателя на фоне лекарственного воздействия. При ПКР связи относительного уровня CD25⁺Th с показателями выживаемости выявлено не было, что, возможно, объясняется меньшей частотой данного отклонения при ПКР и, соответственно, недостаточной мощностью исследования. Снижение уровня CD25⁺Th при КРР было ассоциировано с повышением эффективности терапии.

Полученные нами данные согласуются с результатами проведённого нами ранее систематического обзора [128]. Поскольку CD25 экспрессируется на значительном числе иммунных клеток, включая Т- и В-лимфоциты, некоторые моноциты и ИС [13; 289], можно предполагать, что существенное повышение содержания CD25⁺ клеток в циркуляции является признаком неспецифической активации ИС и гомеостатической пролиферации, т.е. анергии [13].

CD38 изначально рассматривался как один из маркеров активации Т- и В-лимфоцитов [13; 289]. Однако впоследствии в ряде исследований была показана его связь с регуляторными субпопуляциями иммунных клеток, таких как Treg и миелоидные супрессорные клетки, как и негативное прогностическое значение при некоторых злокачественных солидных опухолях [291]. В нашем исследовании сниженный уровень этих клеток приводил к увеличению эффективности терапии ГМВ у больных меланомой, тогда как рост этого уровня значительно повышал риск ПЗ при любой терапии. При адъювантной терапии сохранялась подобная тенденция до лечения. При этом в целом на фоне лечения увеличение содержания этих клеток снижало риск ПЗ, но имело ассоциацию с ПЗ у больных, получавших адъювантную терапию ГМВ. Оценка уровня CD38⁺ЦТЛ при терапии ипилимумабом показала, что любое отклонение относительного уровня от РЗ существенно снижало вероятность достижения эффекта терапии, не влияя при этом на показатели выживаемости. И наоборот, применение анти-PD-1 терапии при повышенном уровне CD38⁺ЦТЛ было ассоциировано с увеличением вероятности достижения ОО. Подобные результаты в целом согласуются с представлениями о регуляторной функции данного маркера и позволяют рассматривать снижение количества экспрессирующих его клеток как признак анергии, тогда как повышенное содержание может свидетельствовать как об успешности активации иммунной системы, так и о подключении иммуносупрессорных механизмов.

Наше исследование показало выраженную негативную роль повышения уровня CD71⁺ клеток. Теоретически активация ИС должна рассматриваться как позитивный фактор иммунологической защиты. Сам CD71 рассматривается как маркер пролиферации, появляющийся примерно через сутки после антигенной стимуляции для обеспечения потребности железом пролиферирующих иммунных клеток [13; 289]. Однако в наше исследование были включены больные с распространенными стадиями процесса, с длительно текущими иммунологическими реакциями. Это и выраженная негативная роль повышения уровня этих клеток требуют другого объяснения выявленного феномена. Возможной причиной является общая оценка уровня CD71⁺ клеток в нашем исследовании, среди которых могут находиться некоторые регуляторные субпопуляции клеток, например – CD45⁺CD71⁺ эритроидные клетки, обладающие выраженным иммуносупрессорным потенциалом и представляющие один из механизмов ускользания опухоли от иммунного ответа, не связанный тесно с системой PD-1 [292].

HLA-DR является поздним маркером активации, который характеризует длительно протекающий иммунный ответ и расценивается некоторыми исследователями в контексте истощения иммунного ответа наряду с другими маркерами [13; 293]. Наши наблюдения

свидетельствуют о росте числа HLA-DR положительных CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов со стадией заболевания, что свидетельствует о длительно развивающемся иммунном ответе, однако противоречит некоторым данным в проведённом нами систематическом обзоре [155; 156]. При этом, если общий уровень экспрессирующих HLA-DR клеток чаще всего находился в пределах РЗ при всех выделенных нами синдромах, то относительное содержание как HLA-DR⁺Th, так и HLA-DR⁺ЦТЛ среди соответствующей субпопуляции клеток в центроидах кластеров было всегда повышенным. Поскольку в нашем исследовании мы не оценивали дополнительные маркеры истощения лимфоцитов на этих клетках, судить об их состоянии возможно лишь косвенно.

У больных ПКР повышение экспрессии HLA-DR на ЦТЛ и Th было ассоциировано со сниженной частотой ответа, прежде всего, на терапию ДКВ, что поддерживает выдвинутый нами ранее тезис о преимуществах использования вакцин при ареактивной ИС, а не при длительно развивающемся ответе. При этом общий уровень экспрессии HLA-DR на моноклеарах периферической крови был ассоциирован с более высокой частотой ответа на терапию. Возможной причиной таких находок является экспрессия HLA-DR на моноцитах, снижение которой коррелирует с усилением их иммуносупрессорных свойств, что было показано, например, у больных панкреатитом [294].

У больных СМТ так же, как и при ПКР, повышение доли HLA-DR⁺Th являлось фактором неблагоприятного прогноза, тогда как рост абсолютного содержания являлся предиктором ответа на терапию ДКВ и прогрессирования при МХТ. При этом у этих больных повышенная частота экспрессии данного маркера на ЦТЛ была ассоциирована с развитием ОО, что, однако, не транслировалось в изменение риска ПЗ или смерти больных. Возможно, количество оценённых больных было недостаточно для регистрации такого эффекта. При меланоме ещё более ярко проявились предиктивные функции данного маркера. Так, превышение РЗ HLA-DR⁺Th являлось фактором неблагоприятного прогноза для больных, получавших ДКВ, тогда как при применении модуляторов иммунного синапса, наоборот, повышало вероятность достижения ответа.

Низкий уровень HLA-DR⁺Th в адьювантной терапии меланомы значительно снижал показатели ОВ у больных, получавших цитокины, что согласуется с выдвинутыми нами предположениями о необходимости наличия предсуществующего иммунного ответа для реализации эффекта этого вида терапии. К сожалению, ни при систематическом обзоре, ни при дополнительном поиске информации в доступной литературе нам не удалось выявить публикаций, которые оценивали бы прогностическую и предиктивную роль экспрессии HLA-DR на ЦТЛ и Th.

Важно подчеркнуть, что в нашем исследовании повышенный уровень CTLA-4⁺Th до начала терапии также обладал негативным прогностическим значением как при оценке ОВ, так и при оценке ВДП. Нам, как при проведении метаанализа, так и при последующем поиске доступной литературы, не удалось выявить исследований, изучавших роль экспрессии CTLA-4 на Т-лимфоцитах периферической крови в качестве предиктивного маркера эффективности иммунотерапии у больных меланомой. В единственном выявленном нами исследовании у больных кастрационно-резистентным раком предстательной железы высокий уровень CTLA-4⁺Th до лечения повышал выживаемость пациентов [148], что противоречит полученным нами данным, однако может быть связано с другой локализацией злокачественной опухоли.

CD95 является маркером апоптоза иммунных клеток и, соответственно, поздних стадий активации иммунной системы. В нашем исследовании он имел негативное значение при любом отклонении от РЗ. Можно предположить, что недостаточное содержание активированных клеток является следствием недостаточной активации ИС, т.е. проявлением анергии, тогда как избыточное его содержание может быть компонентом одного из путей ускользания опухоли от иммунного надзора, описанного для меланомы и ряда других злокачественных новообразований [295].

Показатели спонтанной миграции лимфоцитов, которые являются неспецифическим тестом активации ИС, также показали своё предиктивное значение у больных меланомой и ПКР. При этом повышение показателя в процессе терапии (что говорит о недостаточной активации) выше РЗ всегда было ассоциировано со сниженной эффективностью лечения, тогда как его снижение на фоне вакцинотерапии, но не при лечении цитокинами, было ассоциировано с благоприятным прогнозом, что согласуется с данными литературы [151; 166].

8.3.3. Роль Treg в качестве предиктора ответа на лечение

В нашем исследовании мы изучали две субпопуляции регуляторных клеток: Treg и NKT-клетки. В обоих случаях мы оценивали лишь общее количество этих клеток, не разделяя их на отдельные субпопуляции, которые сами по себе могут обладать разными, и подчас антагонистическими функциями [274; 278]. В предыдущем разделе мы уже частично обсуждали особенности значения низкого уровня Treg. Здесь роль этих клеток будет разобрана более подробно.

В целом уровень Treg являлся в нашем исследовании фактором неблагоприятного прогноза ОВ и ВДП во всех анализируемых локализациях, что соответствует данным метаанализа исследований [296] и проведённому нами ранее систематическому обзору [128].

В отдельных исследованиях, анализировавших данные пациентов, получавших ипилимумаб, было отмечено благоприятное значение повышенного уровня этих клеток при терапии ипилимумабом [103; 297]. Однако в нашем исследовании мы определяли отдельные субпопуляции Treg, которые сами по себе могут иметь различное влияние на прогноз [278]. Учитывая динамический характер оценки состояния ИС, мы можем предполагать, что сниженный уровень Treg объясняет активацию иных механизмов подавления иммунного ответа, нежели активацию его торможения клетками иммунной системы, что объясняет недостаточную эффективность анти-CTLA-4 терапии, которая как раз и направлена на устранение данного блока, в том числе за счёт подавления этих клеток [298]. Интересно отметить, что в отношении Treg анти-CTLA-4 и анти-PD1 обладают разным действием [298]. Анти-PD1 препараты могут усиливать супрессивную функцию Treg, в связи с чем при их применении также, возможно, лучшие результаты будут получаться при сниженном уровне этих клеток. Однако мы не смогли проверить это предположение в нашем исследовании из-за малой доли пациентов, получавших анти-PD1 терапии.

Эффективность химиотерапии при повышенном содержании Treg может быть объяснена её известной особенностью в подавлении пролиферации регуляторных клеток [288; 299]. Ингибиторы BRAF могут обладать аналогичным действием [300]. Это, по всей видимости, объясняет значительно лучшую эффективность группы прочего лечения, в которую вошли пациенты, получавшие эту терапию. С другой стороны, отсутствие торможения со стороны Treg при применении ДКВ, наоборот, способствует развитию индуцированных терапией клонов лимфоцитов и помогает реализовать эффект лечения. Это же подтверждает выявленная нами негативная прогностическая роль высокого соотношения уровня ЦТЛ и Treg до лечения только у больных, получавших ДКВ. При всех остальных вариантах терапии данное соотношение имело положительное прогностическое значение как до, так и во время терапии, поскольку с ростом данного показателя снижались риски прогрессирования и смерти больных.

Необычным наблюдением в нашем исследовании является негативная прогностическая роль снижения уровня регуляторных субпопуляций – как, собственно, CD127^{low}Treg, так и абсолютного уровня CD25⁺ активированных Th. При этом снижение относительного уровня последних клеток носило явно позитивный прогностический характер и было ассоциировано с повышенной частотой ответа на лечение и снижением риска смерти. Подобные изменения свидетельствуют о необходимости гармоничной активации иммунной системы и о негативной роли дисбаланса в её работе при изолированном изменении количества отдельных субпопуляций лимфоцитов. Возможной причиной таких наблюдений является воздействие регуляторных субпопуляций на Th17, что способствует поддержанию нужной поляризации

иммунной системы для развития эффективного иммунного ответа [278]. Однако наше наблюдение лишь отчасти согласуется с результатами других исследователей, в которых наблюдалась противоположная по значению связь данного показателя с эффективностью лечения, не всегда подтверждавшаяся статистически [301].

Таким образом, уровень Treg в периферической крови может рассматриваться как предиктивный маркер и один из факторов при выборе терапии, а также, возможно, как основа для выбора комбинированных подходов к лечению.

8.3.4. Роль НКТ-клеток в качестве предиктора ответа на лечение

Уровень НКТ-клеток в нашем исследовании играл неоднозначную роль, зависящую от проводимого лечения, что позволяет расценивать данный фактор как предиктивный. Так, повышенный уровень данных клеток, равно как и пониженный, повышал риск прогрессирования и смерти практически при всех вариантах терапии меланомы. Единственным исключением являлась ХИТ, где повышенный уровень НКТ на 65% снижал риск ПЗ, но не влиял на продолжительность жизни пациентов или частоту ответа на лечение. Можно предполагать, что гематологическая токсичность химиотерапии, наряду с повышением экспрессии антигенов на фоне лечения и повышенной концентрации цитокинов при ХИТ, могут приводить к изменению баланса НКТ-клеток и корректной поляризации ИС, реализующейся в более высоких показателях эффективности лечения. Конкретный механизм реализации этих особенностей не может быть полностью раскрыт с использованными нами параметрами ИС. Можно предположить, что интерферон-альфа, входивший в состав любой ХИТ, активировал НКТ-клетки I типа [302]. Последние, в свою очередь, показали возможность, как усиливать эффекты химиотерапии при отдельных видах злокачественных опухолей [303; 304].

Важно заметить, что уровень CD1d лимфоцитов, являющийся основным активатором НКТ-клеток, являлся фактором благоприятного прогноза у пациентов, получавших ипилимумаб. Наши наблюдения в целом согласуются с представлениями о важности баланса между отдельными субпопуляциями НКТ-клеток [274]. Недостаточная стимуляция или малое содержание в крови способствует (или является признаком) работы иммуносупрессивных механизмов, тогда как высокое их содержание, вероятно, может отражать превалирование НКТ II типа, которые являются достаточно сильными иммуносупрессорными субпопуляциями. Это подтверждается и данными нашего исследования, в котором рост соотношения НКТ и ЦТЛ имел негативное прогностическое значение у больных меланомой, что соответствует соотношению ЦТЛ и Treg. Взаимосвязь между Treg и НКТ-клетками также подтверждается

повышенным содержанием обеих субпопуляций в 5 кластере в приведённом нами анализе иммунологических синдромов.

У больных ПКР и СМТ была выявлена совершенно иная роль НКТ-клеток, которая, скорее, отражала их эффекторный потенциал в подавлении опухолевого роста. В нашем исследовании НКТ-лимфоциты обладали благоприятным прогностическим значением в этих группах больных вне зависимости от вида проведённого лечения. Исследования М. Takamura-Ishi с соавт. [305] предполагают возможную эффекторную роль НКТ-клеток при применении виротерапии в экспериментальных моделях фибросаркомы. Подобная активность НКТ-клеток в отношении разных сарком и ранее была показана в некоторых доклинических исследованиях [306; 307]. Противоречивая роль НКТ у больных меланомой и ПКР была также показана в нашем систематическом обзоре [128] на основании данных отечественных исследований [147; 159].

В нашем исследовании изучались также DN, среди которых, благодаря особенностям гейтирования, могли быть представлены НКТ-клетки. Тем не менее современные данные компьютерного моделирования показывают возможность выделения «необычной» популяции DN-клеток у больных меланомой, глиобластомой и другими солидными опухолями [308]. Кроме того, данная популяция может быть представлена незрелыми Т-лимфоцитами, проходящими дифференцировку в периферических тканях [13]. Мы показали прогностическое значение относительного содержания этих клеток только у больных меланомой, у которых они повышали вероятность ответа на терапию при самостоятельных режимах лечения, но при этом увеличивали риск ПЗ и смерти в адьювантной терапии. При оценке иммунологических синдромов уровни двойных отрицательных Т-лимфоцитов и НКТ не совпадали, что позволяет предполагать отдельную функциональную роль этой субпопуляции иммунных клеток.

8.3.5. Косвенные методы оценки иммуносупрессии: роль сниженного уровня

Т-лимфоцитов

Представленные особенности регуляторных субпопуляций лимфоцитов представляют важную практическую информацию, поскольку позволяет выделить группу пациентов, наиболее выигрывающую от проведения ХИТ или использования современных клеточных технологий в лечении злокачественных опухолей. Вместе с тем изучение объектов воздействия регуляторных клеток также может быть полезным для анализа степени иммуносупрессии в опухоли.

Снижение общего уровня Т-лимфоцитов можно рассматривать как проявление иммуносупрессивного действия регуляторных субпопуляций. При приведённом нами

кластерном анализе повышенная активация Treg и NK приводит к дальнейшему снижению уровня Т-лимфоцитов, что является неблагоприятным фактором при практически любой терапии меланомы. Единственным исключением в нашем исследовании была адьювантная терапия ГМВ, при которой сниженный абсолютный уровень Т-лимфоцитов повышал ОВ и ВДП. Аналогичная картина наблюдалась у больных СМТ и ПКР, особенно до лечения. В процессе терапии у пациентов с СМТ, получавших химиотерапию, снижение уровня Т-лимфоцитов ассоциировалось с ОО, но не влияло на показатели выживаемости, тогда как при использовании ДКВ негативное влияние сниженного уровня Т-лимфоцитов сохранялось. При этом повышение Т-лимфоцитов выше ВГН до лечения или при терапии ДКВ у больных СМТ увеличивало эффективность лечения.

Подтверждением роли активной иммуносупрессии регулярными клетками служит наше наблюдение о снижении эффективности терапии ипилимуабом при повышенном уровне Т-лимфоцитов. Пониженный уровень Т-лимфоцитов, ассоциированный с эффективностью химиотерапии у больных СМТ, может отражать временный характер снижения, достигавшийся под действием цитостатиков и не являющийся свидетельством активизации супрессорных механизмов внутри ИС.

Выявленные в ходе исследования особенности в целом согласуются с результатами проведённого нами систематического обзора исследований [128] и дополняют их.

8.3.6. Косвенные методы оценки иммуносупрессии: созревание Т-лимфоцитов

Не менее важную информацию можно получить, изучая результат воздействия регуляторных механизмов, т.е. процесс созревания лимфоцитов, на фоне устранения супрессивных воздействий под влиянием иммунотерапии. Анти-CTLA-4 терапия снимает блокировку с центральных Т-клеток памяти, улучшая тем самым их активацию и созревание в эффекторные клетки [309]. В ходе исследования мы целенаправленно изучали субпопуляции иммунных клеток, характеризующих процесс созревания Т-лимфоцитов, в качестве предикторов ответа на иммунотерапию ипилимуабом.

Т-клетки памяти представляют собой гетерогенную популяцию клеток, которые в своём развитии от наивных Т-клеток до эффекторных Т-клеток претерпевают ряд изменений. На сегодняшний день существует несколько концепций и предположений о развитии этих клеток [63; 289], однако для целей настоящего исследования мы остановимся только на модели снижающегося потенциала, представленной на рисунке 53.

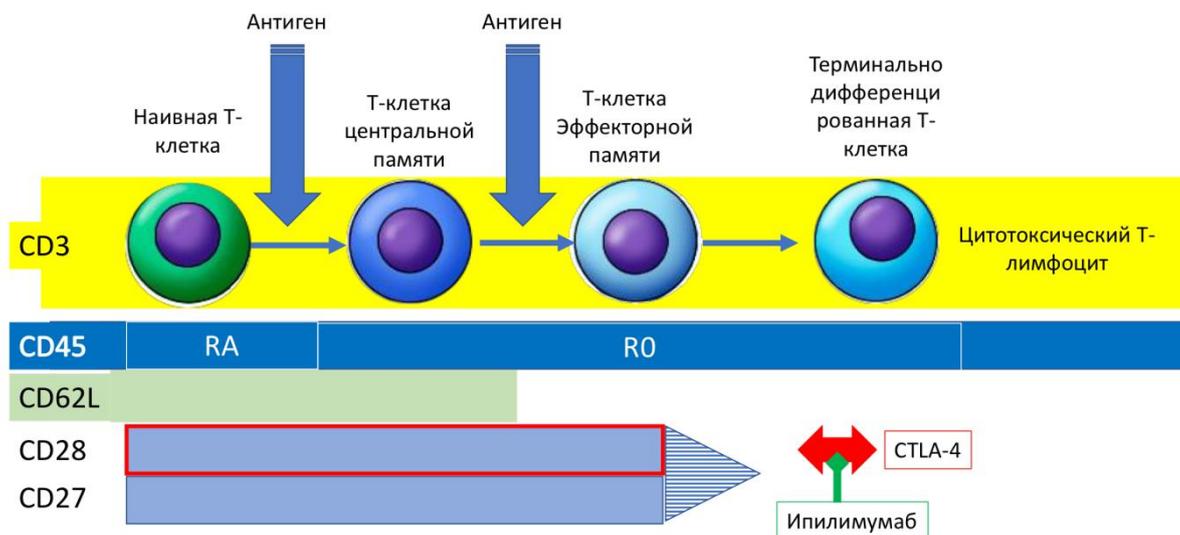


Рисунок 53 – Развитие цитотоксических лимфоцитов из клеток памяти и экспрессируемые ими маркеры: *красная 2-сторонняя стрелка* – антагонистическое взаимодействие между CTLA-4 и CD28

Важно подчеркнуть, что именно на клетках памяти экспрессируется рецептор CD28, который конкурирует с рецептором CTLA-4 за связывание с CD80. Данная связь является сигналом второго типа в иммунном синапсе при встрече наивной Т-клетки или Т-клетки центральной памяти, способной к длительной персистенции и пролиферации, с антигеном и обеспечивает пролиферативный и антиапоптотический сигнал. Напротив, активация CTLA-4, имеющего большую аффинность к CD80, индуцирует апоптоз клеток и не приводит к их активации.

Наивные Т-клетки $CD3^+/CD45RA^+/CD62L^+$ распознают чужеродные антигены, представленные в контексте молекул главного комплекса гистосовместимости, циркулируют в периферических органах иммунной системы, в Т-зависимых зонах вторичных лимфоидных органов и периферической крови, называются «наивными» до контакта с антигенпрезентирующими клетками. Изучаемые клетки ещё не приобрели эффекторные свойства, необходимые для реализации противоопухолевого иммунного ответа и, по всей вероятности, именно поэтому полученные нами результаты по увеличению доли этих клеток у пациентов с ПЗ позволяют нам рассматривать накопление в циркуляции Т-клеток, полностью лишённых эффекторных свойств, в качестве маркера неблагоприятного прогноза [63; 310-312].

8.4. Поляризация иммунного ответа – ключевой механизм выбора типа ответа

8.4.1. Роль основных эффекторов противоопухолевого иммунного ответа

Как было отмечено ранее, существует три ключевых направления поляризации иммунного ответа. Теоретически предполагается, что именно первое направление, главными эффекторами которого являются НК-клетки и ЦТЛ, является основным в реализации противоопухолевого иммунного ответа [13; 259; 271; 272; 276; 313]. При этом на отдельных, особенно ранних, этапах действия препарата возможно снижение содержания эффекторных популяций в крови, благодаря выходу клеток в ткани и их уходу из циркуляции, как это было показано для различных форм интерлейкина-2 [314].

Таким образом, ожидаемыми признаком активации противоопухолевого иммунного ответа является изменение содержания эффекторных популяций иммунных клеток на фоне лекарственного воздействия на иммунную систему. В нашем исследовании было выявлено несколько противоречащих этим предположениям наблюдений, требующих обсуждения. Например, как повышенный, так и сниженный уровень ЦТЛ, являются неблагоприятным фактором прогноза у больных ПКР, хотя при любом виде терапии у больных меланомой и СМТ повышение показателя являлось благоприятным фактором. Однако при проведении адъювантной терапии меланомы повышение уровня ЦТЛ повышало риск ПЗ и смерти пациентов при любом виде лечения. Снижение уровня ЦТЛ являлось благоприятным фактором прогноза при проведении ТТ меланомы и ХТ при СМТ, а также при адъювантной терапии ГМВ у больных меланомой. При применении ДКВ и анти-CTLA-4 терапии сниженный уровень ЦТЛ ожидаемо повышал риск ПЗ. Интересно отметить, что любое отклонение уровня CD38⁺ЦТЛ от РЗ в нашем исследовании ассоциировалось с большей вероятностью ПЗ при применении ипилиумаба. При оценке результатов кластерного анализа оказалось, что во всех кластерах со сниженным уровнем ЦТЛ были также снижены Th и общий уровень Т-лимфоцитов, тогда как уровень В-лимфоцитов оставался в пределах РЗ как в кластерах с лимфопенией, так и в кластерах воспалительного сдвига.

В нашем исследовании прогностически наиболее благоприятными реакциями были изменения уровня эффекторных клеток – Т-лимфоцитов, за счёт ЦТЛ в процессе лечения. Это подтверждается снижением риска как прогрессирования, так и смерти при анализе данных показателей. При оценке результатов, полученных в систематическом обзоре [128], большинство исследований не подтверждали связи уровня ЦТЛ с результатами терапии или отражали улучшение результатов лечения при их более высоком уровне, что не позволяет объяснить снижение эффекта терапии при росте уровня ЦТЛ при адъювантной терапии. Можно предположить, что причиной данных наблюдений является истощение Т-лимфоцитов

при хронической стимуляции, что существенно снижает их функции [315]. Так, повышение уровня стимулированной ФГА и Кон-А миграции лимфоцитов в нашем исследовании имело негативное прогностическое значение именно при адьювантной терапии меланомы, тогда как при использовании цитокинов и ДКВ в самостоятельных режимах терапии распространённого опухолевого процесса оказывало благоприятное влияние на показатели ОВ в процессе, но не до начала терапии. Косвенным подтверждением истощения иммунного ответа при повышении ЦТЛ на фоне терапии ипилимумабом может также служить уровень CD38⁺ЦТЛ, который так же, как и уровень самих ЦТЛ, являлся неблагоприятным прогностическим маркером у больных меланомой, получавших ипилимумаб. Уровень длительно активированных ЦТЛ, экспрессирующих HLA-DR, носил при терапии ипилимумабом благоприятное прогностическое значение лишь в том случае, когда доля этих клеток среди ЦТЛ была относительно невелика, что тоже подтверждает наше предположение об истощении ЦТЛ на фоне терапии. Важно заметить, что рост относительного уровня HLA-DR⁺ЦТЛ у больных, получавших ДКВ, на фоне любого заболевания являлся благоприятным фактором прогноза, что может быть отражением разных механизмов активации ИС при иммунотерапии.

Роль НК-клеток как эффекторов противоопухолевого ответа оказалась неоднозначной при различных заболеваниях. Так, при ПКР рост уровня этих клеток и увеличение их относительного содержания, по сравнению с ЦТЛ, являлись благоприятными факторами прогноза любой терапии, и, прежде всего, применения ДКВ. При СМТ сохранялось позитивное прогностическое значение высокого абсолютного, но не относительного уровня НК-клеток. При меланоме позитивная роль повышенного уровня НК сохранялась лишь при применении ДКВ и МХТ в качестве самостоятельного лечения, а также ГМВ – при адьювантной терапии. Высокое соотношение НК и ЦТЛ было благоприятным только при использовании ГМВ в качестве адьювантной терапии меланомы. Активация НКТ-лимфоцитов и НК-клеток в динамике в начале терапии ассоциировалась с меньшей вероятностью эффекта и более высоким риском прогрессирования и смерти у больных меланомой.

Наши данные о роли НК-клеток у больных меланомой совпадают с исследованиями по применению ипилимумаба [103] и вакцин [159] у подобной категории больных. Связь эффекта ДКВ с повышенным уровнем НК-клеток также была показана в некоторых исследованиях при немелкоклеточном раке легкого [316]. В большинстве других исследований уровень НК-клеток играл позитивную прогностическую роль. Неоднозначная роль НК-клеток при различных заболеваниях подтверждаются данными доклинических и клинических исследований, свидетельствующих о разном прогностическом значении отдельных субпопуляций этих клеток как при отдельных заболеваниях, так и в пределах одной

нозологической единицы [272; 317]. Математическая модель сильной иммунной системы предполагает достаточное количество как НК, так и ЦТЛ [318], т.е. отсутствие дисбаланса между этими субпопуляциями, что подтверждается нашими данными. Возможно, при отдельных заболеваниях роль каждого из эффекторов различна, поскольку прогрессирование процесса происходит на разных стадиях иммунного цикла [272].

Роль двойных положительных Т-лимфоцитов с фенотипом $CD3^+CD4^+CD8^+$ не вполне ясна в настоящее время и подвергается существенному пересмотру [258]. Данные клетки рассматриваются как происходящие из зрелых $CD4^+$ или $CD8^+$ Т-лимфоцитов и могут обладать как эффекторными, так и иммуносупрессивными функциями при злокачественных опухолях [319]. В нашем исследовании данные показатели имели благоприятное прогностическое значение до лечения при ПХТ у больных СМТ и лечении цитокинами больных меланомой. На фоне терапии ипилимумабом при повышенном уровне $CD3^+CD4^+CD8^+$ клеток реже наблюдалось ПЗ. Во всех остальных случаях, как при меланоме, так и при СМТ, повышенный выше РЗ уровень таких клеток был ассоциирован с ухудшением эффективности терапии. Поскольку ранее мы отмечали, что ипилимумаб и химиотерапия могут проявлять большую активность в условиях иммуносупрессии, наши данные в целом предполагают, скорее, иммуносупрессивную роль DP при опухолевом росте.

8.4.2. Роль В-клеточного иммунного ответа и второго типа поляризации

Поляризация иммунного ответа по направлению гуморального иммунитета рассматривалась длительное время как второстепенная, что привело к недостаточной изученности данного вопроса [320; 321]. Однако в последнее время получено значительное количество данных, свидетельствующих о возможности двойного противоопухолевого действия В-клеток и необходимости их учёта при анализе противоопухолевого иммунного ответа [271; 322; 323].

В нашем исследовании В-клеточное звено ИС оценивалось по уровню В-лимфоцитов, иммуноглобулинов и ЦИК. Уровень В-лимфоцитов имел неоднозначное значение при различных злокачественных опухолях. Так, его повышение ассоциировалось с повышенной частотой ОО при ПКР, повышением ОВ при СМТ и носило выраженный негативный характер при меланоме. При сниженном уровне В-лимфоцитов мы не наблюдали ОО при ПКР. При меланоме сниженный уровень Ig имел благоприятное прогностическое значение только при использовании цитокинов, тогда как при всех других видах терапии у больных меланомой снижалась вероятность ответа на лечение и повышался риск ПЗ и смерти. При СМТ низкий уровень В-лимфоцитов, особенно низкий относительный уровень, ассоциировался

с повышенной частотой клинического эффекта, что при снижении относительного содержания В-лимфоцитов транслировалось в повышение уровня выживаемости больных.

Большинство исследований, приведённых в нашем систематическом обзоре, а также работ, оценивающих роль В-лимфоцитов при опухолях [324-326] свидетельствуют, скорее, о проопухолевым действии В-лимфоцитов, хотя механизм этого действия не вполне ясен. В пользу этого же факта говорит негативная роль повышенного содержания ЦИК, компонентами которых являются иммуноглобулины, показанная как в нашем исследовании, так и в работах других авторов [166]. Однако в других исследованиях, например, [327], показана роль В-лимфоцитов как благоприятного фактора прогноза.

Интересные отличия между различными вакцинами выявлены нами при анализе В-клеточного звена иммунной системы. Так, отклонения в уровне сывороточного IgA у пациентов, получавших адъювантную терапию меланомы, увеличивали риск ПЗ и смерти у пациентов, получавших НМВ и ГМВ, но при этом являлись фактором благоприятного прогноза у пациентов, получавших ДКВ. Повышение уровня IgM для пациентов, получавших ДКВ как самостоятельное лечение, являлось неблагоприятным фактором, тогда как при ГМВ в этих ситуациях снижался риск ПЗ и смерти. Высокий уровень НК-клеток являлся значимым благоприятным прогностическим фактором для больных меланомой, получавших ГМВ, и негативным для пациентов, получавших ДКВ в адъювантном режиме. Некоторые математические модели противоопухолевого иммунного ответа также поддерживают важность антител для его развития [321; 328].

Таким образом мы можем предполагать, что ГМВ поляризуют иммунный ответ, преимущественно по типу Th1/M1, благодаря продукции соответствующих цитокинов, и стимулируют пролиферацию Т-клеток, тогда как применение ДКВ вызывает смешанный Th1/Th2 иммунный ответ, т.е. позволяет ИС реагировать на более широкий спектр антигенов. Подобные предположения от возможности развития иммунного ответа, как при активации по Th1, так и при смешанной активации по Th1/Th2 пути, подтверждаются в работах R. Efimie и H. Namman [329], а также в некоторых клинических исследованиях [163]. Соответственно, наличие какой-либо активации гуморального или врождённого звеньев иммунной системы предполагает иной механизм нарушения работы ИС, помимо ареактивности, и снижает эффективность ДКВ.

ILC2 и эозинофилы в последнее время также рассматриваются как необходимые эффекторы в защите от опухоли при различных злокачественных опухолях, в том числе при меланоме [330]. В нашем исследовании пониженный уровень эозинофилов ассоциировался с повышенным риском смерти больных меланомой. По мере роста уровня этих клеток

при меланоме и ПКР риск ПЗ и смерти возрастал, тогда как при СМТ падал. При адьювантной терапии меланомы и при использовании ГМВ при ПКР наблюдалась обратная тенденция. Рост относительного уровня эозинофилов при меланоме, равно как и увеличение их выше ВГН ослабляли негативное влияние роста уровня этих клеток на ВДП. В исследованиях, обобщённых в нашем систематическом обзоре [129], таких связей выявлено не было. Подобные находки могут объясняться активностью ILC2 или ILC3 клеток, которые могут активировать иммуносупрессивные субпопуляции Т-лимфоцитов, в том числе благодаря экспрессии костимуляционных молекул, и влиять, таким образом, на развитие противоопухолевого иммунного ответа [270]. Данное предположение подтверждается негативным прогностическим значением повышенного абсолютного уровня базофилов у больных меланомой, получавших ДКВ и ХИТ, и ГМВ, но не другие виды терапии в нашем исследовании, тогда как в общем – повышение относительного уровня базофилов имело благоприятное значение как при меланоме, так и при СМТ и КРР.

8.4.3. Неспецифическая стимуляция и дезорганизация иммунной системы в противоопухолевом иммунном ответе

Негативная роль системного воспалительного ответа хорошо известна при многих злокачественных опухолях. Одним из способов его регистрации является учёт нейтрофильно-лимфоцитарных индексов. Большое количество исследований, представленных в нашем систематическом обзоре [129], и результаты нашего исследования свидетельствуют о негативном значении NLR и NMLR при всех оцениваемых заболеваниях. При оценке LMR у больных СМТ при любом виде лечения и у больных меланомой на фоне ТТ ожидаемо наблюдалось улучшение выживаемости по мере роста отношения лимфоцитов к моноцитам. Однако при оценке данного соотношения до начала терапии или при использовании НМВ в нашем исследовании наблюдалась обратная зависимость.

Рост уровня лимфоцитов ассоциировался с повышенной частотой ответа на лечение у больных КРР. У больных СМТ данная тенденция сохранялась только до лечения. При учёте всех иммунных статусов, включая оценённые на фоне лечения, было отмечено повышение эффективности ХТ, но не ДКВ у больных с лимфопенией, и повышение эффективности любого лечения при лимфоцитозе. Эффективность иммунотерапии ПКР и меланомы также возрастала по мере увеличения уровня лимфоцитов.

Уровень нейтрофилов, по мере своего роста, ассоциировался со снижением эффективности терапии у всех оценённых нами больных. Неожиданным для нас стало снижение риска прогрессирования у больных меланомой с нарастанием относительного уровня

нейтрофилов в динамике, поскольку эти клетки относятся к эффекторам врождённой иммунной системы и, следовательно, обычно отражают неблагоприятный прогноз, по данным многочисленных исследований [129]. Тем не менее в нашей работе, как повышение относительного уровня нейтрофилов, так и рост NLR в динамике, был ассоциирован с повышенной эффективностью лечения. Возможной причиной такой находки является поляризация нейтрофилов, определённые субпопуляции которых могут, по данным некоторых исследований, обладать противоопухолевыми функциями [331; 332].

Повышение уровня лейкоцитов до лечения чаще являлось негативным прогностическим фактором или не имело связи с терапией [129]. Необходимо отметить, что стабильный уровень лейкоцитов на фоне лечения встречался относительно редко. Ввиду этого полученные нами результаты, несмотря на значимость в многофакторном анализе, требуют подтверждения в дальнейших исследованиях.

В нашем исследовании признаки системного воспаления имели негативное прогностическое влияние на выживаемость больных и в целом снижали эффективность терапии. Это проявлялось в снижении частоты ответов на лечение у больных с воспалительными типами реакций и вариантами реагирования (активация врождённого иммунитета), в кластере системного воспаления, что совпадает также с данными проведённого нами систематического обзора [129] и данными исследований, оценивавших иммунологические синдромы при злокачественных опухолях [65; 102; 127; 333; 334] и роль нейтрофилов в развитии злокачественных опухолей [335; 336].

Мы показали, что большинство прогностически значимых изменений иммунологических показателей отмечаются у относительно небольшого числа пациентов. С одной стороны, это отражает реальную эффективность методов иммунотерапии, включённых в наше исследование. С другой – это даёт возможность использования оценок состояния иммунной системы без учёта их динамики для определения прогностической роли иммунологических показателей в процессе лечения.

В заключение данного раздела необходимо подчеркнуть, что мониторинг состояния иммунной системы в процессе терапии может предоставить важную информацию о развитии эффекта лечения до проведения рутинной радиологической оценки ответа по системе RECIST. Необходима комплексная оценка результата как с учётом состояния Т-клеточного звена адаптивной иммунной системы, так и с включением в анализ реакции врождённой иммунной системы и В-клеточного иммунного ответа.

8.5. Противоречивое прогностическое значение иммунологических показателей: роль опухоли и терапии

Выше мы рассмотрели роль отдельных показателей иммунного статуса в качестве предиктивных и прогностических факторов. В целом наши результаты совпадают с данными других экспериментальных и клинических исследований. При этом некоторые показатели имеют противоположное прогностическое значение в разных условиях. Именно такие противоречия будут рассмотрены в данном разделе.

В нашем исследовании уровень основных эффекторов противоопухолевого иммунного ответа – ЦТЛ и НК-клеток, а также DN при распространённой неоперабельной меланоме являлся фактором благоприятного прогноза ВДП, тогда как при местно-распространённом процессе при проведении адъювантной терапии, т.е. при отсутствии видимых опухолевых очагов, увеличивал риск ПЗ. Рост ИРИ также менял своё прогностическое значение с благоприятного – при адъювантной терапии на неблагоприятное – при проведении самостоятельного лечения. Уровень эозинофилов, наоборот, являлся фактором благоприятного прогноза при местно-распространённой, но не при метастатической меланоме.

С одной стороны, можно предположить, что объём опухолевой нагрузки может являться фактором, определяющим необходимое количество эффекторных клеток, а их избыточное количество может приводить к ослаблению иммунного ответа, т.е. реакция ИС должна быть гармоничной и адекватной. Подобные рассуждения при построении математических моделей работы ИС известны давно [321]. Наши собственные исследования также показывают важность взаимодействия различных компонентов ИС для достижения оптимального эффекта [337]. Сами опухоли способные и не способные давать отдалённые метастазы могут различаться на генетическом уровне [338], и, соответственно, требовать активации разных компонентов ИС для контроля над ними. Другим возможным объяснением наших наблюдений может быть рост опухоли, требующий повышенного содержания эффекторных субпопуляций, что объясняет выявленную нами связь с прогрессированием процесса. Частично подтверждает это и частота снижения показателей при разных стадиях меланомы, которая для указанных параметров была наибольшей при II–III стадиях заболевания, т.е. именно там, где проводится адъювантная терапия.

Сравнивая между собой показатели больных с различными видами противоопухолевого лечения, можно проанализировать иммунологические различия между отдельными заболеваниями. В нашем исследовании такими видами терапии были: применение ДКВ при всех оцениваемых локализациях солидных опухолей и применение химиотерапии для меланомы и СМТ. Различия обобщены на рисунке 54.

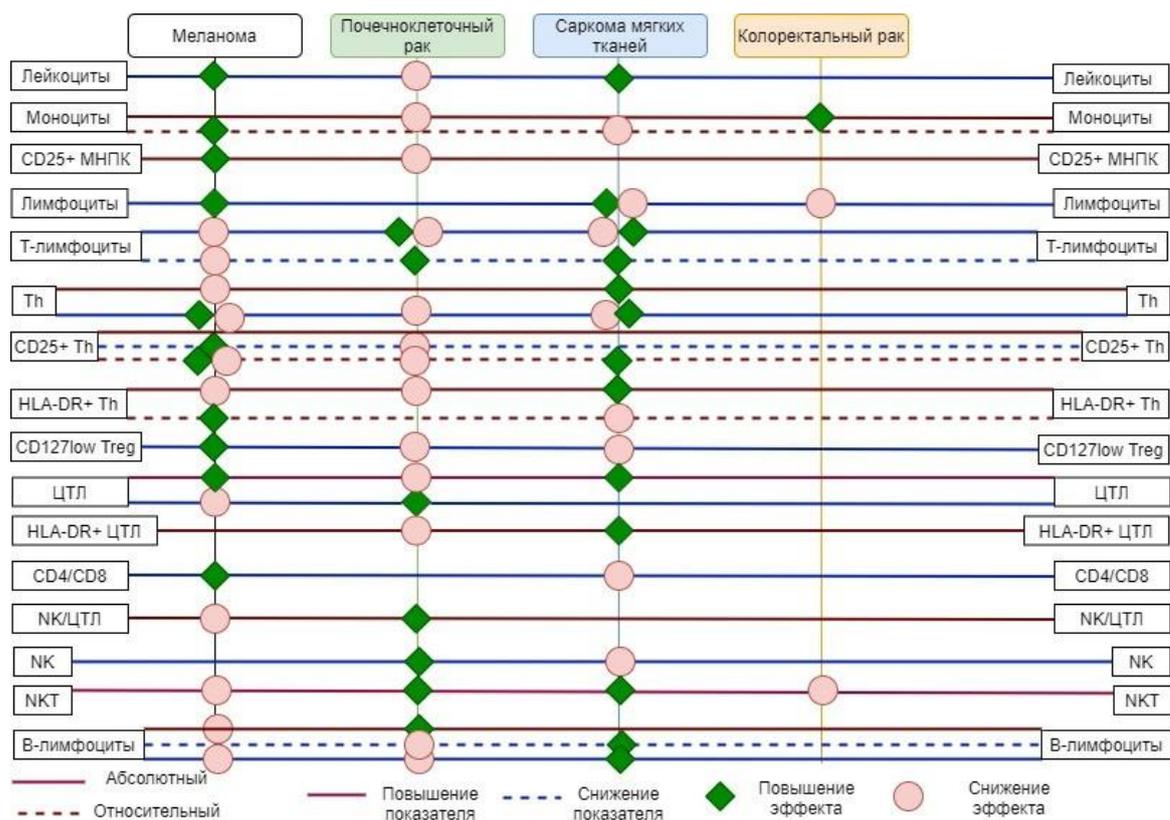


Рисунок 54 – Качественные иммунологические различия между отдельными типами солидных опухолей

Так, при СМТ большую роль играют NK-клетки, используются иные системы регуляции и другие варианты противоопухолевого иммунного ответа, о чем говорит важная роль Th, НКТ-клеток и негативное влияние сниженного уровня Treg на прогноз заболевания. При ПКР важным оказывается первый тип поляризации ответа, но именно клетки врождённой ИС являются его основными эффекторами. Анализ соответствий показал схожие группы иммунологических синдромов в нашем исследовании, при этом частота встречаемости отдельных из них была различна. На генетическом уровне подобные количественные, а не качественные различия в экспрессии иммуногенных раково-тестикулярных антигенов показаны в исследовании Даниловой А.Б. с соавт., в котором проводилось сравнение экспрессионных профилей в культурах меланомы и СМТ [251].

Анализируя различные методы терапии при одинаковой стадии заболевания можно выделить особенности иммунологического профиля отдельных злокачественных опухолей. Они суммированы на рисунках 55, 56.

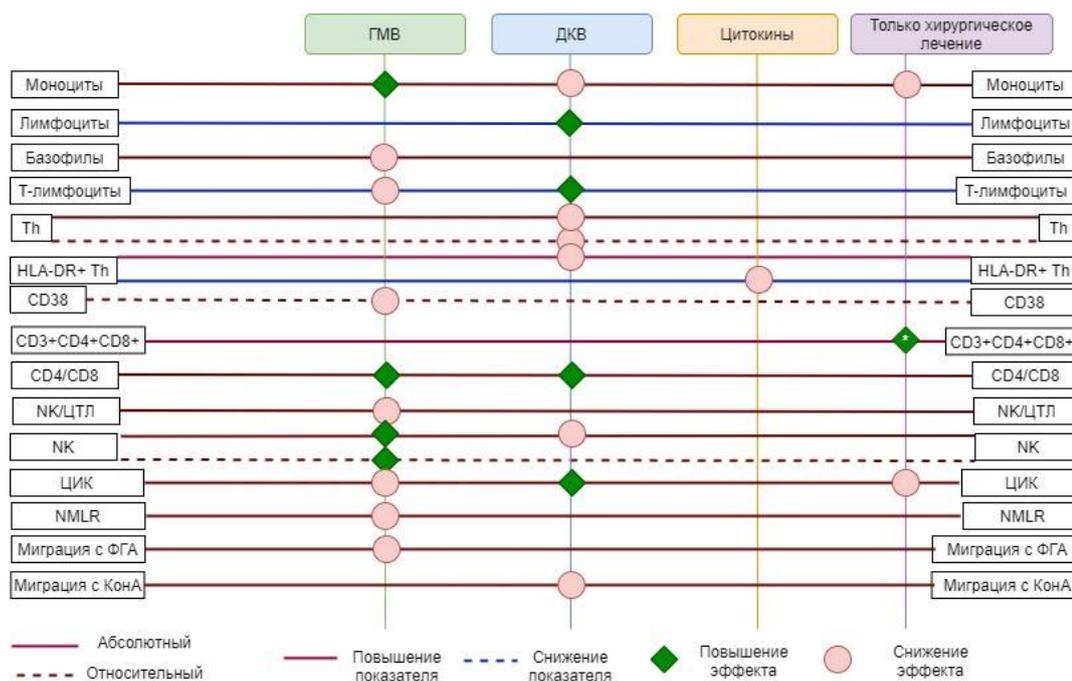


Рисунок 55 – Иммунологические профили различных видов терапии при адьювантной терапии меланомы

В адьювантной терапии наглядно проявляются различия между разными видами вакцин. Так, ГМВ, которые синтезируют поляризирующие только по первому (Th1) направлению цитокины, вероятно, активируют преимущественно клеточный противоопухолевый иммунный ответ. ДК-вакцины рассчитаны на более глубокую анергию ИС и способны активировать также гуморальный иммунный ответ.

Подобные сообщения о важности специфического противоопухолевого гуморального иммунного ответа и подключения эффекторов неспецифического звена иммунной системы при терапии ДКВ описаны в литературе [339-341], что подтверждает наши предположения. Кроме того, данные качественные особенности могут быть использованы для выбора оптимальной лечебной тактики.

Вопрос выбора терапии при метастатической меланоме на сегодняшний день ещё более актуален благодаря многообразию опций возможного лечения. Несмотря на то, что в наше исследование не вошли все возможные на сегодня виды терапии меланомы, иммунологическое профилирование различных вариантов терапии позволяет в достаточной мере отразить возможные ниши для применения каждого из видов лечения (см. рисунок 56).

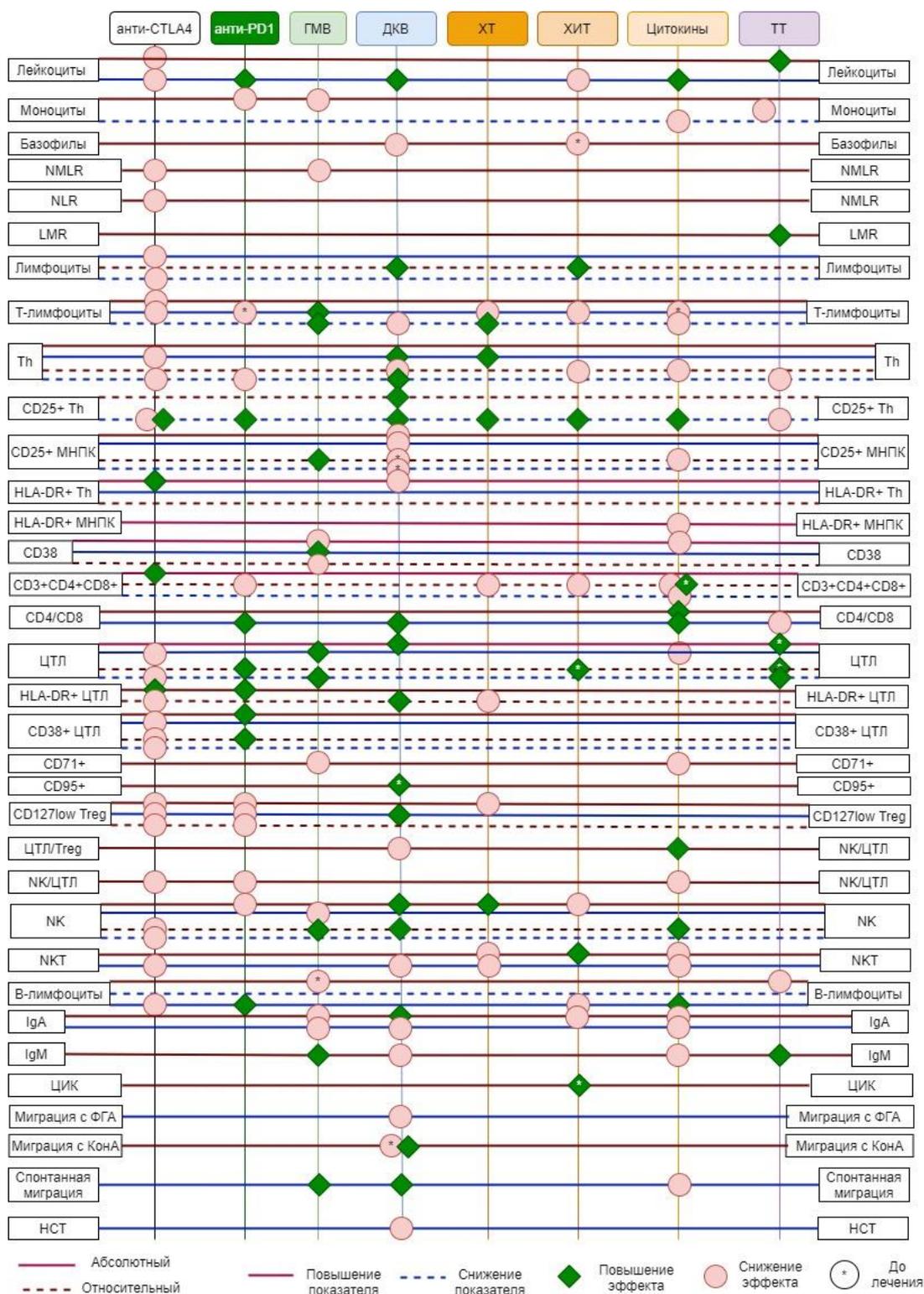


Рисунок 56 – Иммунные профили эффективности различных видов терапии у больных метастатической меланомой

Наши предположения о роли анергии в развитии эффекта вакцин и о неэффективности анти-PD-1 и анти-CTLA-4 терапии в этих условиях подтверждаются иммунными профилями

на рисунке 56. Это же показано на молекулярном уровне при изучении профилей экспрессии иммунных генов и детальном изучении субпопуляций иммунных клеток [342]. При этом такой профиль позволяет визуализировать различия между двумя видами МИС. Так, анти-PD-1 лучше работает в условиях иммуносупрессии и менее зависит от В-клеточного звена ИС, вероятно, за счёт лучшей индукции клонов Т-лимфоцитов, направленных на неоантигены [343].

Интересные особенности были выявлены при оценке иммунных профилей ХТ, иммунотерапии и ХИТ. Оказалось, что сочетание методов приводит к иной роли иммунологических показателей, не определявшейся при использовании методов по отдельности. Так, повышенная роль НКТ-клеток оказывала негативное влияние как на эффективность ХТ, так и на результаты иммунотерапии, но при совместном использовании методов подобное повышение являлось благоприятным фактором. В отношении В-лимфоцитов, наоборот, снижение их уровня при ХИТ было неблагоприятным, тогда как при монотерапии цитокинами – благоприятным фактором. Подобные сложные взаимодействия современной ТТ и иммунотерапии, включающими дозозависимость, отражаются в некоторых экспериментальных моделях [344; 345].

Математические модели поляризации иммунного ответа предполагают важность поляризации по одному из возможных направлений, при этом роль В-клеточного ответа связывается с ускользанием опухоли от иммунного ответа [329]. Наше исследование не подтверждает эти данные. Тем не менее представленная широкая сеть взаимодействий позволяет разрабатывать комбинированные стратегии с учётом осцилляций иммунологических показателей, позволяющих рационально усилить достигнутый эффект терапии, поскольку своевременность введения иммунологических препаратов с учётом текущего состояния иммунной системы и последовательное разностороннее воздействие на опухоль может иметь значение при проведении иммунотерапии [346; 347]. Кроме того, для реализации эффекта терапии иногда требуется достижение оптимального соотношения лечебных воздействий [345], которое может быть оценено посредством сети иммунологических параметров.

8.6. Комплексная оценка состояния иммунной системы

На сегодняшний день не существует единого представления об использовании оценки иммунологических параметров в онкологии в качестве биомаркеров. В разных исследованиях изучаются различные группы факторов, отражающих либо общее состояние иммунной системы, либо анализирующих целевые популяции клеток, на которых оказывается воздействие [63; 129; 348; 349]. Существуют различные способы оценки субпопуляций иммунных клеток – от микроскопии, применявшейся ранее [13], до проточной цитометрии, являющейся стандартом

измерения сейчас [63]. Сегодня развиваются все более новые методики, позволяющие оценивать до 40 маркеров на одной клетке [348]. Однако, несмотря на применение различных методов измерения, речь идёт о количественной оценке одних и тех же объектов измерения. И если точность измерения при различных методах разная, то вариабельность измерений каждого из используемых методов оценки нивелирует различия, обусловленные собственно методикой измерения. Кроме того, внутри одной методики – такой, например, как проточная цитометрия, существует несколько различных вариаций, связанных как с используемой аппаратурой и реагентами, так и с методами выделения и подсчёта субпопуляций лимфоцитов. При этом, согласно данным исследований, расхождения измерений между различными лабораториями являются одним из основных источников вариабельности [240; 248]. Поэтому при разработке практического метода клинические результаты его применения должны быть устойчивыми к возможной вариабельности оценки.

Новые методы позволяют существенно увеличить количество оцениваемых субпопуляций иммунных клеток. Однако перечень необходимых показателей для оценки состояния иммунной системы также является неопределённой величиной [350]. В ходе исследования, мы использовали несколько наборов показателей ИС, лишь частично пересекающихся между собой. В соответствии с рекомендациями по оценке состояния иммунной системы, они были нацелены на оценку различных её звеньев и состояния активации [54; 63]. При этом активность изучалась на разных уровнях – от общей экспрессии маркеров активации до их оценки на отдельных субпопуляциях клеток.

Число значимых связей отдельных групп иммунологических показателей представлено на рисунке 57.

Наибольшее число связей в нашем исследовании было выявлено при оценке наиболее крупных субпопуляций иммунных клеток – лейкоцитов и показателей первого уровня иммунного статуса, относящихся к Т-клеточному звену ИС. Роль остальных показателей была значительно ниже. Причиной этого может быть и меньший объем выборки при анализе относительно специализированных субпопуляций клеток, таких как клетки памяти. Тем не менее значимость большинства групп показателей не позволяет выделить какую-либо одну группу в качестве оптимального биомаркера.

Схожие результаты демонстрирует и систематический обзор иммунологических биомаркеров, проведённый W. Ouwerkerk с соавт. в 2019 году [301]. В этой работе авторы отразили различные подходы к оценке биомаркеров на фоне анти-PD1 и анти-CTLA-4 и противоречивое значение многих показателей, не позволяющее выделить единственно правильное решение из списка анализируемых показателей. Однако во многих исследованиях

подчёркивается, что иммунологические показатели дополняют известные прогностические факторы при анализе выживаемости [351; 352].

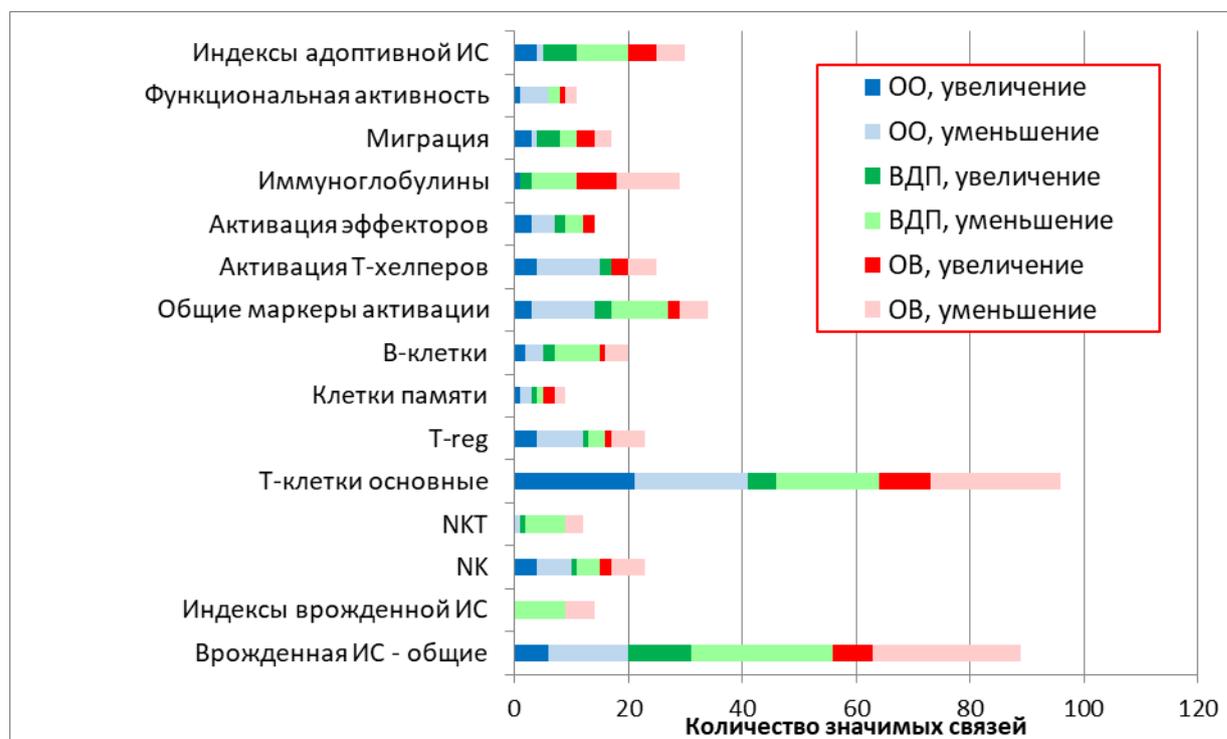


Рисунок 57 – Количество статистически значимых связей изменений иммунологических показателей с эффективностью лечения

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о высокой прогностической и предиктивной роли параметров иммунного статуса. Однако практическое использование данной информации требует разработки комплексной системы оценки как клинических, так и иммунологических факторов.

ГЛАВА 9. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ НА ГОРИЗОНТЕ Трёх месяцев на основании оценки состояния ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Для использования оценки состояния ИС в клинической практике мы создали модель прогнозирования прогрессирования опухоли в ближайшие 3 мес. от момента оценки состояния иммунной системы на основе клинических и иммунологических параметров. В качестве клинических параметров учитывались: заболевание, стадия, прогностическая группа заболевания, пол, возраст, время от начала терапии и от постановки диагноза злокачественной опухоли), а также характеристики проводимого лечения. В качестве иммунологических параметров использовались тесты первого уровня: Т- и В-лимфоциты, НК-клетки, ЦТЛ, Th, лимфоциты и ИРИ.

Для оценки модели были скринированы все наблюдения из исследования ПОЗИИС. После оценки пропущенных данных и экстремальных значений (по методу Тьюке), для разработки модели были отобраны 2298 наблюдений. Данные для обучения и тестирования изначально были случайным образом (с фиксированным начальным значением для генератора псевдослучайных чисел для воспроизводимости результатов) разделены в соотношении 3:1 с условием, что наблюдения одного пациента могут попасть только в тренировочную или тестовую часть. Характеристика больных в обучающей и тестовой группах представлены в таблице 21.

При сравнении обучающей и контрольной выборок был выявлен ряд статистически значимых различий по структуре заболеваний и проведённого лечения ($p < 0,05$). Также отмечалась большая доля больных с неблагоприятной прогностической подгруппой и меньшая доля пациентов с прогрессированием в течение 3 мес., на предсказание которого была рассчитана модель. Вместе с тем модель планировалась для расчёта индивидуального прогноза в каждом случае. Все различающиеся факторы учитывались в модели и были её важными компонентами. Ввиду этого подобные различия не должны были сказываться на характеристиках работы.

Моделирование производили с помощью метода Random Forest языка программирования python 3.7. В качестве бинарного классификатора была использована модель градиентного бустинга, реализованная в библиотеке «catboost» [353] (<https://github.com/catboost/catboost>). В качестве метрики оптимизации использовали площадь под ROC-кривой (Receiver Operating Characteristic Area Under the Curve, ROC AUC).

Таблица 21 – Характеристика больных в обучающей и контрольной группах, использованных для построения модели

Характеристика	Обучающая группа		Тестовая группа	
	абс.	%	абс.	%
Количество иммунных статусов	1682	100,0	616	100,0
Количество больных	354		124	
Количество иммунных статусов у одного больного (диапазон)	5(1–39)		5 (1–30)	
Заболевания:				
Меланома	1040	61,8	359	58,3
СМТ	212	12,6	79	12,8
ПКР	257	15,3	127	20,6*
КРР	39	2,3	17	2,8
Первично-множественные опухоли	134	8,0	34	5,5*
Стадия				
I	75	4,5	24	3,9
II	133	7,9	51	8,3
III	452	26,9	181	29,4
IV	1022	60,8	360	58,4
Режим лечения				
Адьювантная терапия	691	41,1	269	43,7
Самостоятельная терапия	991	58,9	347	56,3
Прогностическая группа				
Благоприятная	325	19,3	113	18,3
Промежуточная/неопределённая	722	42,9	298	48,4*
Неблагоприятная	635	37,8	205	33,3*
Пол:				
Мужской	940	55,9	312	50,6*
Женский	742	44,1	304	49,4*
Возраст				
Медиана (диапазон)	54	(23–85)	53	(21–86)
Медиана длительности заболевания, мес.	25		21	
Прогрессирование в течение 3 мес.	566	33,7	177	28,7*
Время оценки иммунного статуса:				
До лечения	405	24,1	134	21,8
На фоне терапии	989	58,8	351	57,0
Наблюдение после окончания лечения	288	17,1	131	21,3*
Проведённое лечение:				
Анти-CTLA-4	229	13,6	69	11,2
Анти-PD1	47	2,8	8	1,3*
ГМВ	236	14,0	76	12,3
ДКВ	502	29,8	250	40,6*
МХТ	45	2,7	14	2,3
НМВ	248	14,7	90	14,6
ПХТ	107	6,4	15	2,4*
ТТ	26	1,5	9	1,5
Хирургическое	66	3,9	41	6,7*
ХИТ	57	3,4	15	2,4
Цитокины	68	4,0	16	2,6
Прочее	51	3,0	13	2,1

Примечание: * – различия в группах значимы при $p < 0,05$.

Для подбора гиперпараметров модели (количество деревьев, их глубина, скорость обучения и параметр регуляризации модели) использовали библиотеку «hyperopt» [354] (<https://github.com/hyperopt/hyperopt>) и следующую схему валидации: исходная тренировочная часть 5 раз случайно разбивалась на тренировочную и валидационную в соотношении 3:1, таким образом, чтобы все наблюдения от одного больного попадали только в одну из частей. Для этого использовалась функция «GroupShuffleSplit» из библиотеки «scikit-learn» [355]

Окончательное тестирование модели производили следующим образом: на основе набора найденных гиперпараметров модель обучали на всем исходном тренировочном множестве, после чего использовали её для предсказания результата на тестовом множестве. Кроме ROC AUC, для оценки качества построенной модели применялись матрица неточности (confusion matrix), чувствительность (true positive rate, recall), специфичность (true negative rate), точность (precision), f1-значение, вычисление которых производилось с помощью библиотеки «scikit-learn». Важность признаков в модели напрямую оценивалась самой моделью. Визуализацию ROC-кривой и важности признаков производили с помощью библиотеки «matplotlib» [356].

9.1. Описание полученных прогностических моделей

Нами были построены две модели, включавшие в себя различные классификации методов воздействия, использовавшихся на каждом этапе лечения. Одна из них включала типы воздействия (хирургическое лечение, ХТ, гормонотерапия, ТТ, иммунотерапия), другая разделяла методы терапии по видам иммунологического действия методов лечения, в соответствии с предложенной нами классификацией (см. главу 1). Факторы, вошедшие в модели в порядке их значимости, представлены на рисунках 58 и 60, оценка их диагностической значимости по ROC AUC – на рисунках 59 и 61 соответственно.

Эффективность прогнозирования с использованием обеих моделей оказалась весьма близкой. Для модели, учитывающей вид лечебного воздействия, позитивное предсказательное значение для отсутствия прогрессирования в течение ближайших 3 мес. составило 87%, для наличия прогрессирования – 52%. Чувствительность для обеих категорий составила 73%. Общая диагностическая точность модели составила 73%, при этом ROC AUC была 80,15%.

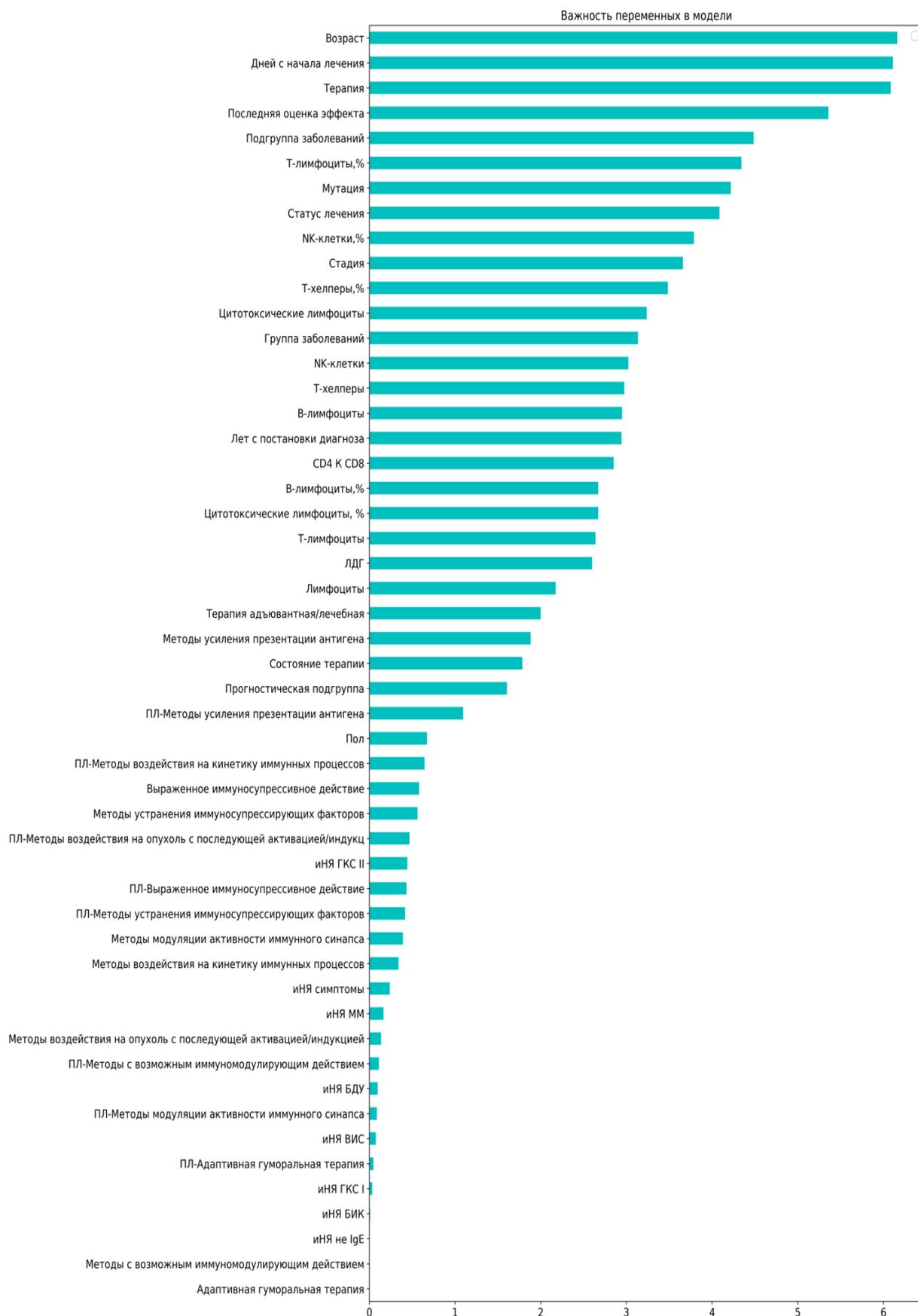


Рисунок 58 – Модель прогнозирования прогрессирования в ближайшие 3 мес. с учетом иммунологического действия терапии

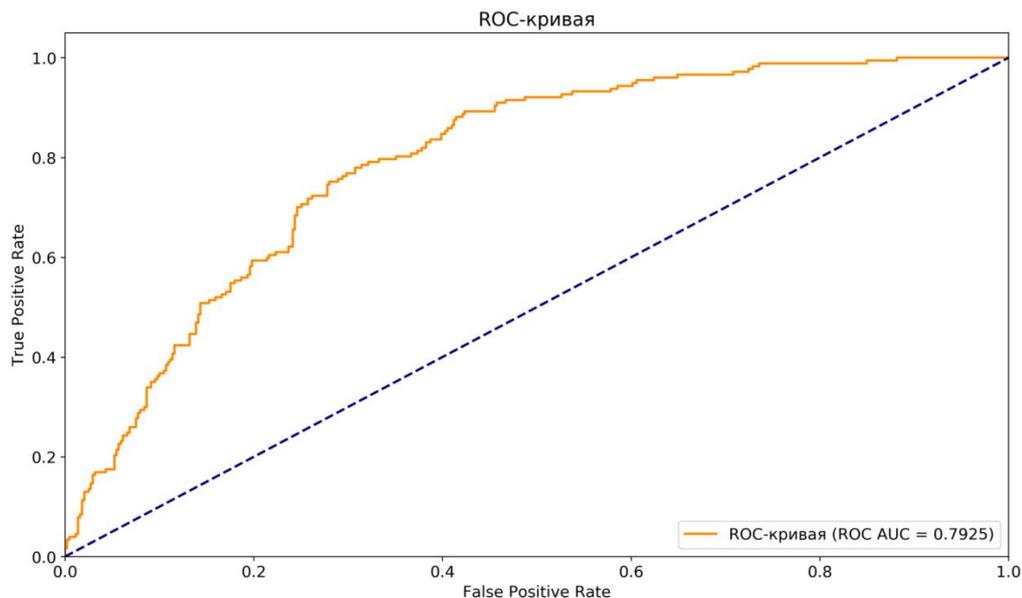


Рисунок 59 – ROC-кривая для модели прогнозирования с учетом иммунологического действия терапии

Для определения оптимальной точки отсечения был применён метод Юдена. При данном подходе оптимальной точкой отсечения являлось значение теста 0,3812, выше которого все результаты считались положительными. Интерпретация результатов модели относительно этого теста представлена на рисунке 62.

В модель попали несколько групп факторов, включающие клинические и лабораторные показатели. Наиболее значимым фактором являлись результаты последней оценки объективного ответа на лечение. Среди значимых факторов оказались: возраст, длительность лечения, прогностическая подгруппа заболевания (по стадии и по морфологическому подтипу), наличие мутаций, состояние терапии (продолжающееся лечение или завершённое лечение), длительность заболевания и его текущая стадия, уровень ЛДГ. Следует подчеркнуть, что для построения модели и унификации прогноза мы учитывали только четыре основные стадии заболевания (I, II, III, IV), тогда как подстадии и или существующие прогностические системы для соответствующей стадии заболевания кодировались в переменной прогноза.

Значимыми также оказались не только сами заболевания, но их отдельные подгруппы, характеризующие различные варианты течения болезни в рамках общего типа. При этом подобное разделение имело большее влияние на результат прогнозирования, чем само заболевание.

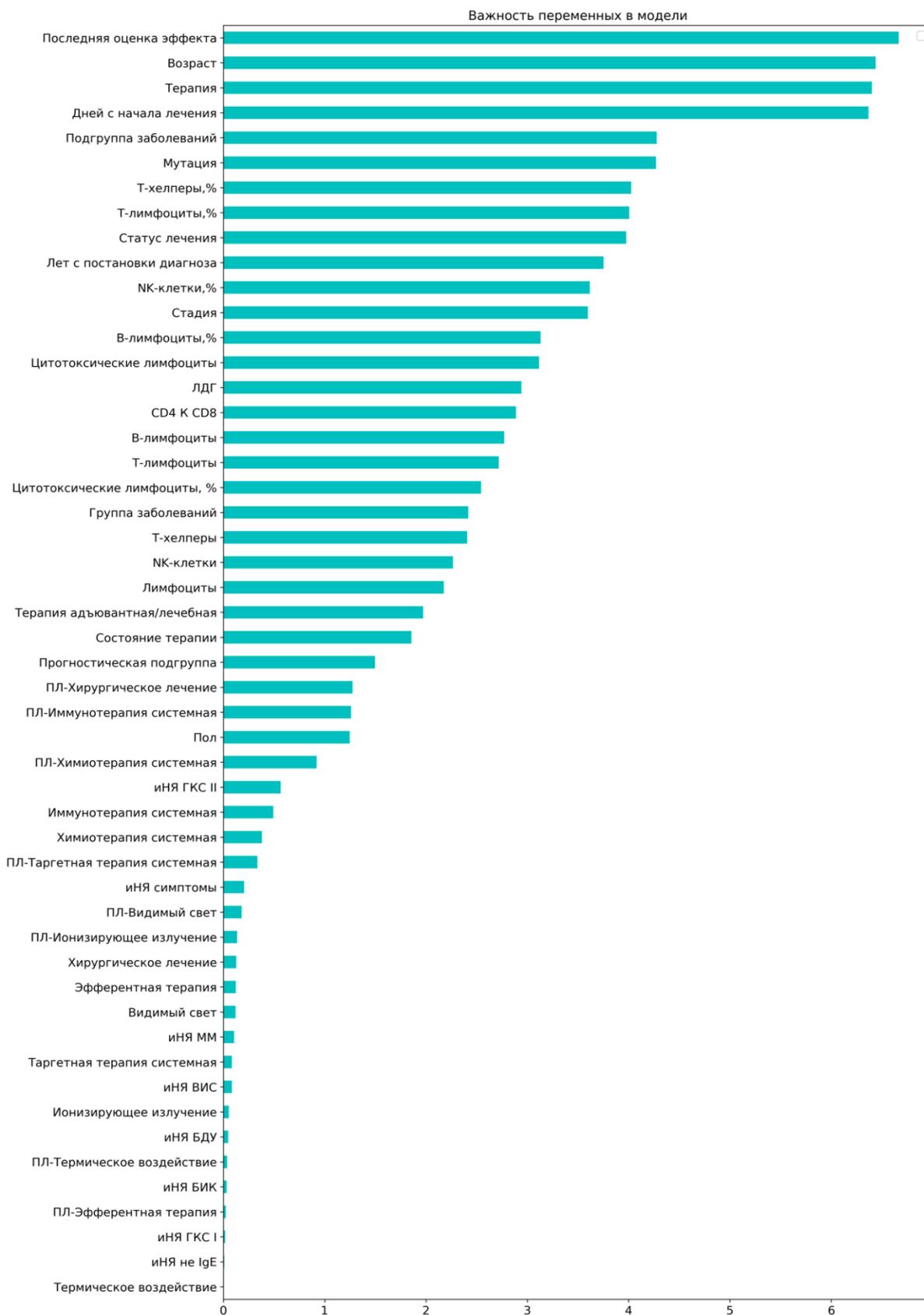


Рисунок 60 – Модель прогнозирования прогрессирования в ближайшие 3 мес. с учётом вида лечебного воздействия

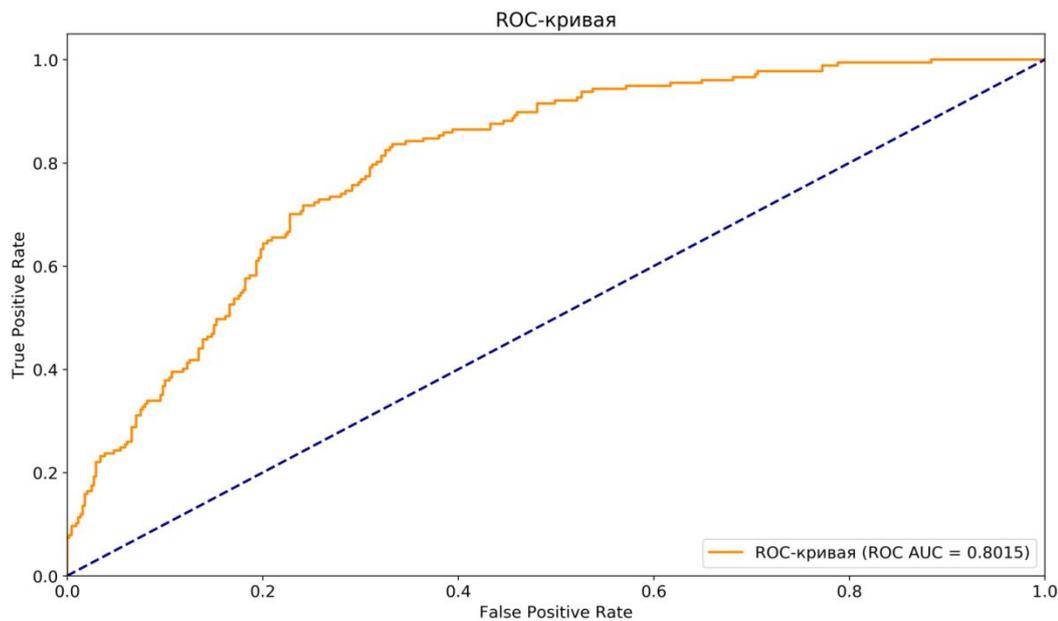


Рисунок 61 – ROC-кривая для модели прогнозирования с учетом вида лечебного воздействия

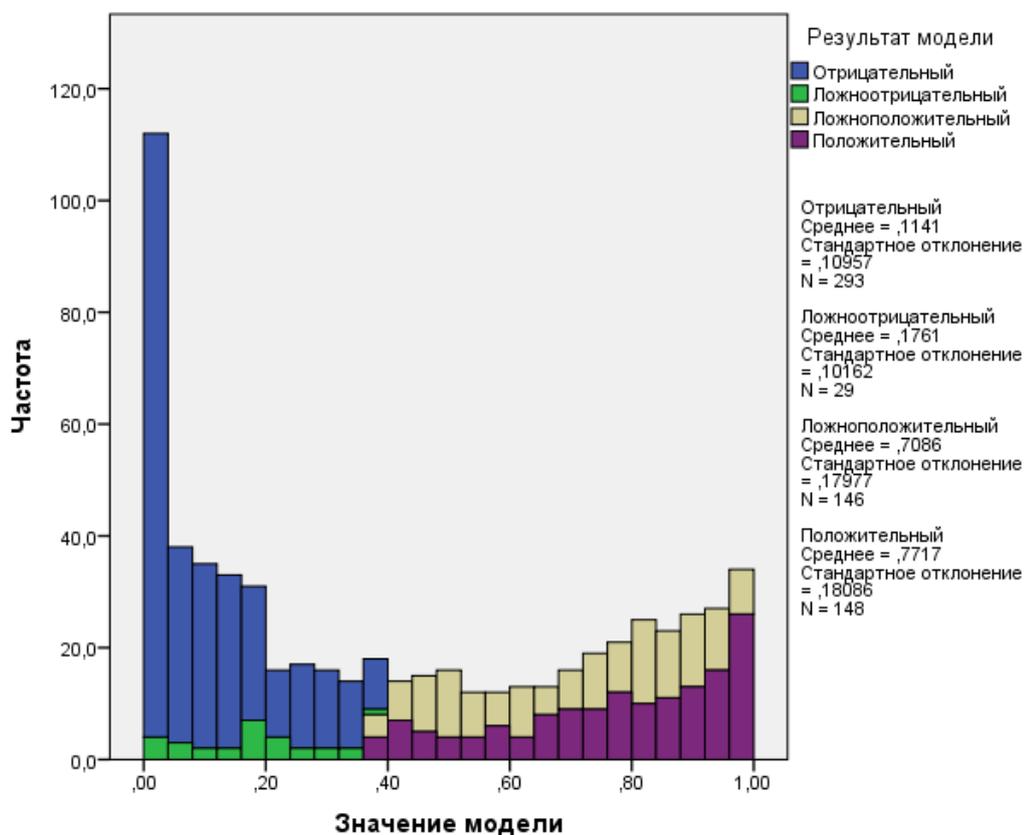


Рисунок 62 – Связь значений модели и прогрессирования в течение ближайших 3 мес.

К иммунологическим характеристикам, вошедшим в модели, может быть отнесено наличие определённого типа иНЯ (в соответствии с предложенной нами классификацией по механизму их возникновения), а также уровень лимфоцитов и их основных субпопуляций – Т- и В-клеток, ЦТЛ, Th, НК-клеток. Параметры иммунного статуса являлись одними из наиболее важных факторов, определявших риск прогрессирования процесса в ближайшие 3 мес. Важно отметить, что значимыми оказались преимущественно относительные значения показателей и уровни основных популяций лимфоцитов. Уровень Т- В- и НК-клеток имел практически равное прогностическое значение. При этом значимость уровней Т- и НК-клеток превосходила значимость текущей стадии в обеих моделях.

Кроме этого, вид планируемого лечения и его тип, а также возможность использования комплексного лечения тоже являлись значимыми факторами в модели. Таким образом, модель теоретически позволяет подбирать оптимальный вариант терапии. Это предположение требует отдельного изучения наряду с оценкой клинической значимости модели.

9.2. Определение клинической значимости полученных моделей

Разработанная модель прогнозирования предоставляет несколько видов данных, потенциально обладающих клинической значимостью. Во-первых, это дополнительный способ оценки эффективности терапии, позволяющий прогнозировать развитие опухоли на ближайшие 3 мес. Помимо прогностической информации, полученный в модели результат потенциально может быть использован для дополнительной характеристики пациентов с прогрессированием процесса, т.е. для принятия решения о продолжении или о прекращении лечения при прогрессировании процесса. С другой стороны, подобная информация может использоваться для своевременного выявления признаков прогрессирования у больных, достигших ответа. Во-вторых, модель позволяет выбирать лечение с наименьшей вероятностью прогрессирования в ближайшее время, т.е. потенциально – наиболее эффективное. Эта возможность может использоваться как до лечения, так и в процессе лечения для выбора наилучшего варианта терапии или своевременной остановки лечения. Однако все эти способы применения требуют проверки и подтверждения.

9.2.1. Определение прогностической значимости модели

Для определения прогностической значимости модели мы провели оценку ОВ пациентов в зависимости от результата прогнозирования с использованием наиболее эффективной из разработанных моделей. Истинно положительными считались результаты с вероятностью прогрессирования более 38,12% и ВДП от используемой оценки состояния ИС менее 3 мес.,

ложноположительным – при вероятности прогрессирования более 38,12% и ВДП более 3 мес., истинно отрицательными – соответственно, при вероятности прогрессирования по модели менее 38,12% и ВДП более 3 мес., ложноотрицательными при вероятности ПЗ менее 38,12% и ВДП менее 3 мес.

Для оценки влияния показателей на общую выживаемость мы провели однофакторный анализ общей выживаемости в зависимости от результатов прогнозирования (рисунки 63–68).

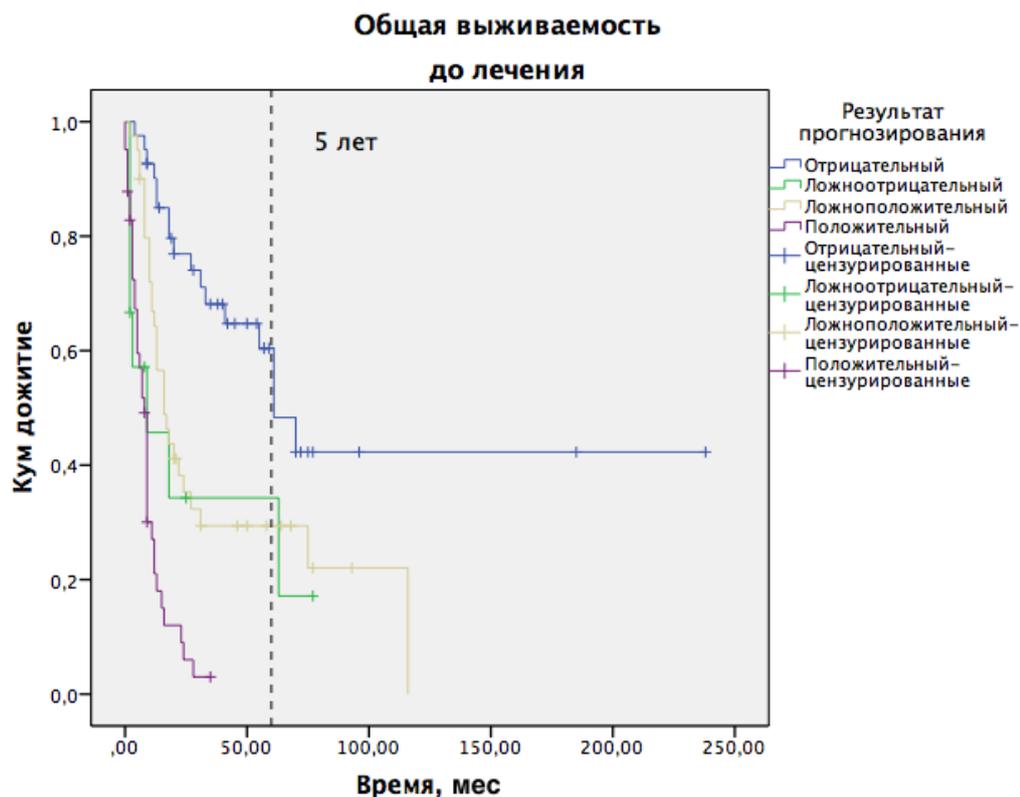


Рисунок 63 – ОВ больных, оценённых до начала терапии в зависимости от результата прогнозирования

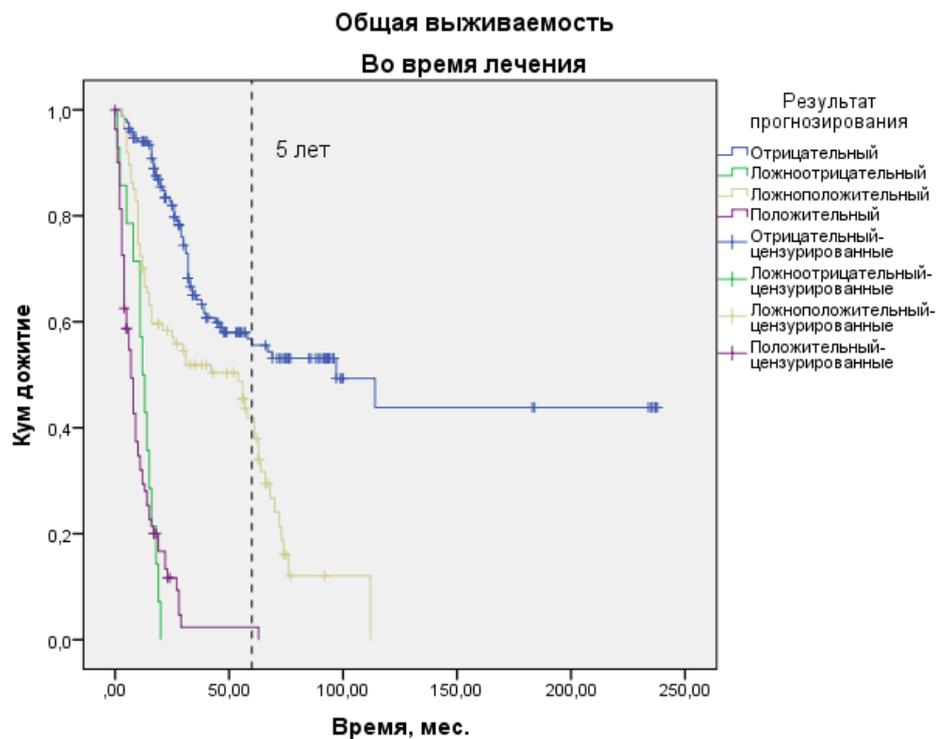


Рисунок 64 – Общая выживаемость больных, оценённых во время лечения в зависимости от результата прогнозирования

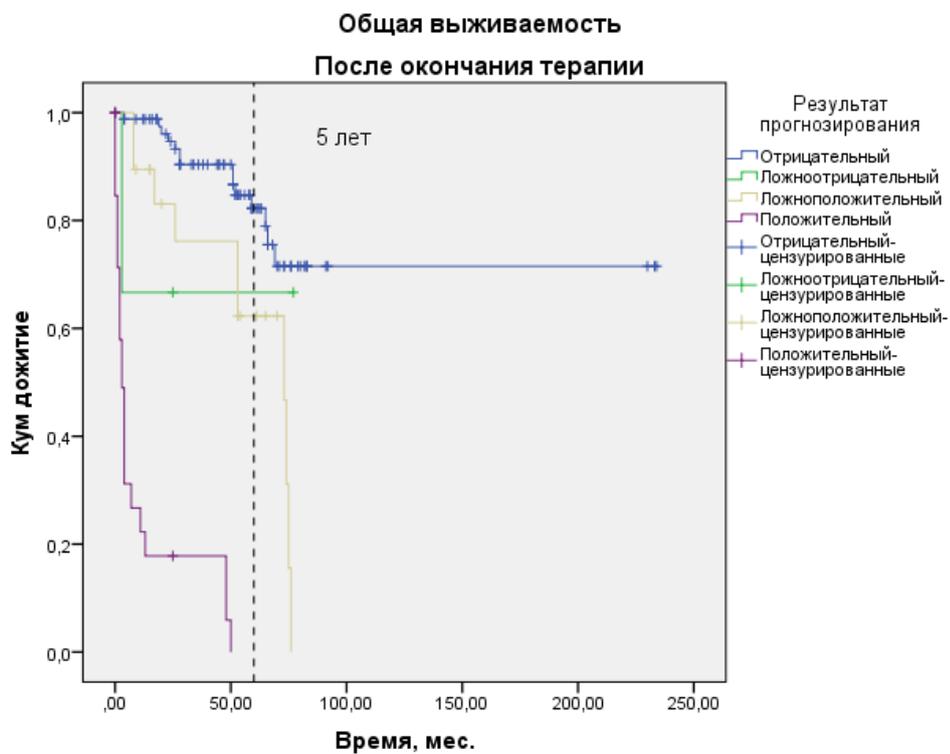


Рисунок 65 – ОВ больных, оценённых после завершения терапии в зависимости от результата прогнозирования

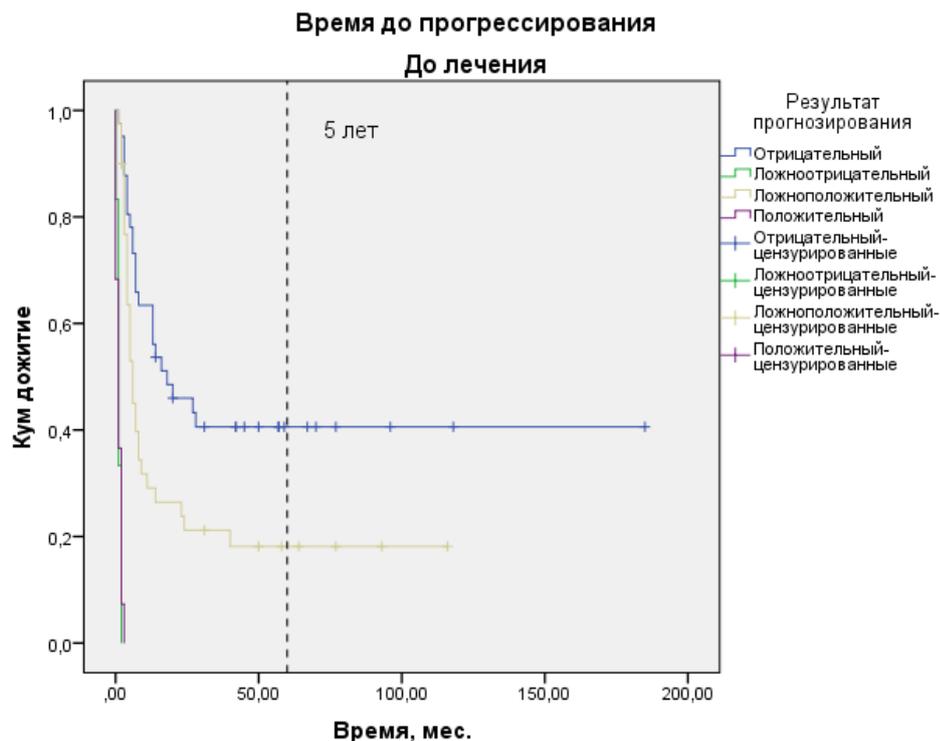


Рисунок 66 – ВДП больных, оценённых до начала терапии в зависимости от результата прогнозирования

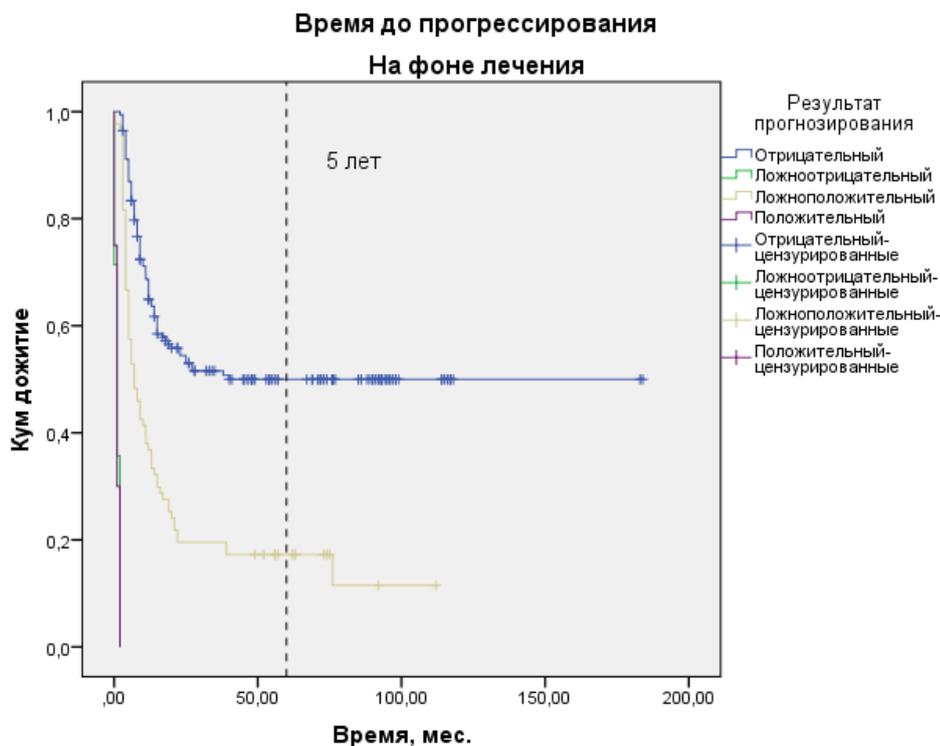


Рисунок 67 – Общая выживаемость больных, оценённых во время лечения в зависимости от результата прогнозирования

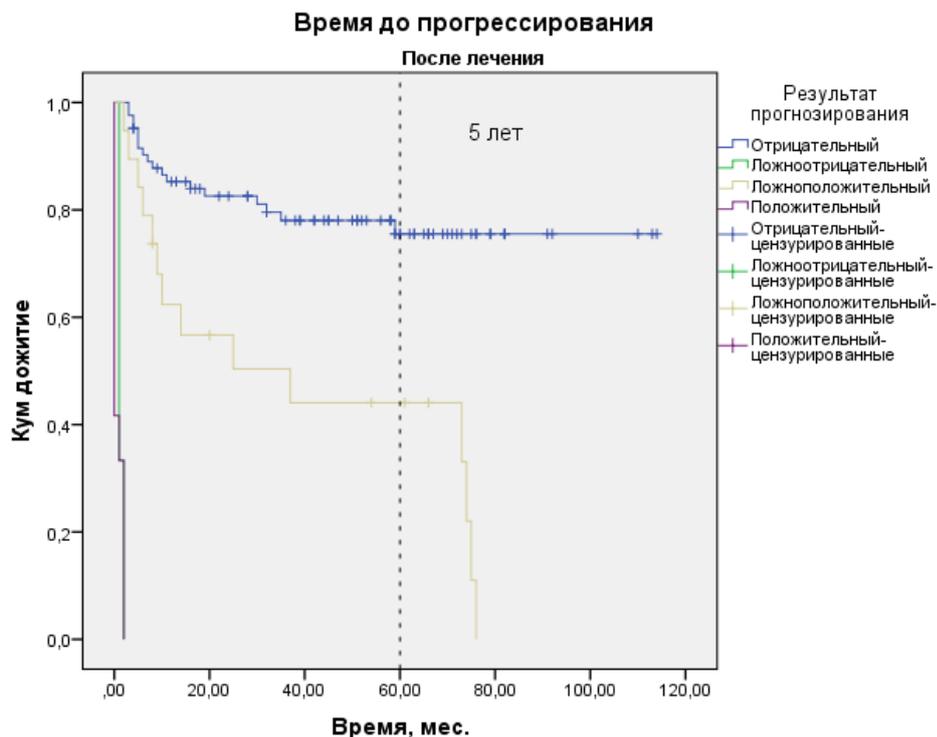


Рисунок 68 – ВДП больных, оценённых после завершения терапии в зависимости от результата прогнозирования

Сопоставление результатов прогнозирования с оценкой ВДП и ОВ показало, что ложноположительный результат теста имеет самостоятельное прогностическое значение и позволяет выделить среди отвечающих пациентов группу со значительно худшим прогнозом, требующую, вероятно, внесения коррекций в лечебную тактику. Так, при ложноположительном результате медиана ВДП составляла 6 мес., тогда как при истинно отрицательном результате – 18 мес. Для ОВ медианы в данных группах составляли 16 и 61 мес. соответственно. Ложноотрицательный результат не позволял выделить группу больных, отличающуюся по выживаемости от больных с положительным результатом. Все проведённые нами сравнения были значимы при Log rank $p < 0,00001$.

Нами проведён анализ частоты расхождений результатов прогнозирования с фактическим результатом лечения в зависимости от анализа иммунного статуса до, во время и после завершения терапии. Оказалось, что частота истинно отрицательных результатов увеличивалась от 30,6% – до лечения до 48,1% – на фоне терапии и 63,4% – после лечения, тогда как частота ложноположительных результатов снижалась в группе больных, завершивших лечение, почти в 2 раза ($p = 10^{-5}$), что говорит о большей точности модели в прогнозировании прогрессирования в процессе лечения и после окончания терапии. Различий в других вариантах ответа выявлено не было.

Мы попытались оценить значение результата классификации модели в качестве фактора прогноза эффективности лечения. При сравнении положительного результата теста, под которым понималось значение параметра более 0,3812 (38,12%), по данным иммунного статуса, оцененного до лечения, с эффектом терапии была выявлена значимая статистическая связь между ответом на лечение и результатами прогнозирования ($p=0,016$; $\eta=0,327$; $KoC=0,331$). У больных с высокой вероятностью ПЗ в 62% случаев наблюдалось ПЗ и в 29,6% случаев – СЗ, тогда как при низкой вероятности ПЗ вероятность этих событий была 37,5% и 25% соответственно. Частота ОО при высокой вероятности ПЗ составляла всего 8,4%, тогда как при низкой вероятности ПЗ – 37,5% ($p<0,05$). Соотношение ответов на терапию в зависимости от результата теста представлено на рисунке 69.

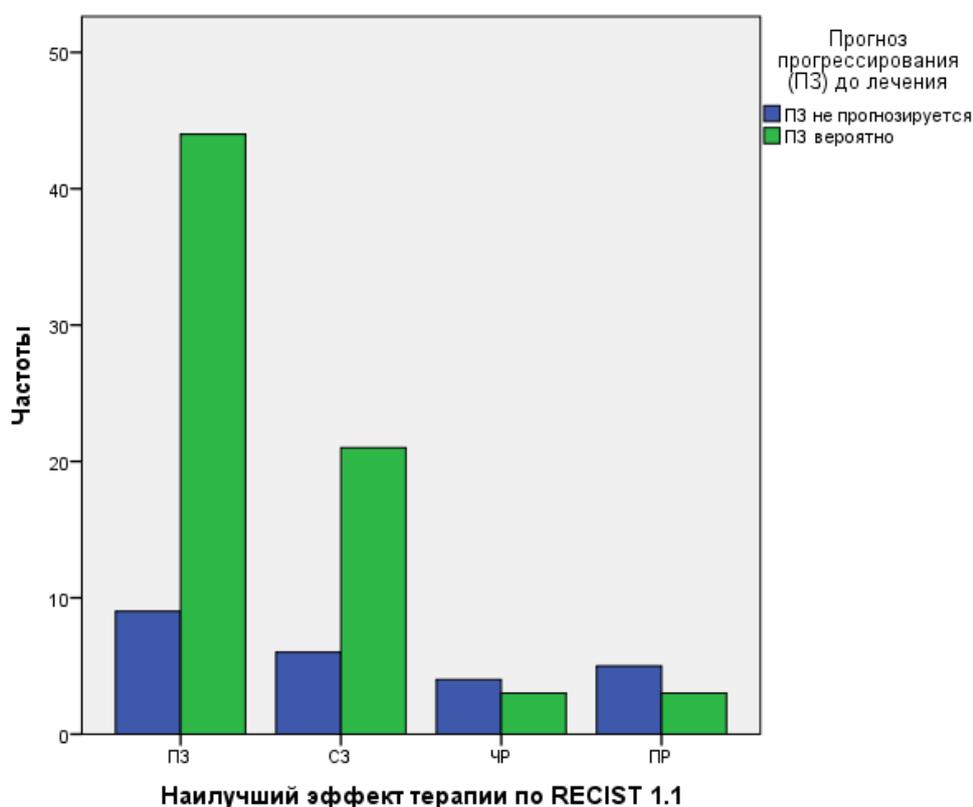


Рисунок 69 – Ответ на лечение в зависимости от результата модели прогнозирования

Для оценки независимой прогностической значимости результатов модели мы оценили связь результата с показателями ОВ и ВДП в многофакторной модели у больных меланомой как наибольшей из групп. Ввиду ограниченного числа наблюдений в анализируемой тестовой группе мы использовали лишь основные известные факторы прогноза, такие как стадия заболевания, подстадия (благоприятная или нет), последний эффект терапии, возраст. Модель была стратифицирована по типу лечения (адъювантная терапия и самостоятельное лечение). В качестве изучаемых факторов оценивались как качественный, так и количественный

результат модели и их взаимодействия с типом лечения. Результат прогнозирования не добавлял новой информации при учёте известных факторов прогноза ОВ ($p>0,05$). При анализе ВДП выявление признаков ПЗ, по данным модели, являлось независимым фактором, увеличивающим риск ПЗ в 2,204 раза ($p=0,011$).

9.2.2. Оценка подбора терапии на основании результатов прогнозирования в модели

Для оценки возможности подбора метода лечения мы провели ряд анализов. Во-первых, была проведена оценка самой возможности улучшения результата прогноза по модели и значимость этой возможности для ОВ и ВДП. При однофакторном анализе ОВ и ВДП оказалось, что пациенты с низкой вероятностью ПЗ вне зависимости от лечения имеют значительно лучший прогноз, чем пациенты с высокой вероятностью ПЗ вне зависимости от лечения ($p<0,0001$). Пациенты, у которых была возможность улучшения результатов лечения при изменении терапии, представляли собой отличающуюся от больных с ПЗ при любом лечении группу при оценке ИС до лечения и практически не отличающуюся от них группу при анализе ИС на фоне и после лечения. Медианы ОВ и ВДП и результаты сравнения этих показателей представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Сравнение выживаемости больных в зависимости от возможности изменения результата прогноза по модели

Время анализа	Результат подбора параметров	ВДП			ОВ				
		Медиана, мес.	P (Log Rank)	95% ДИ	Медиана, мес.	P (Log Rank)	95% ДИ		
До лечения	ПЗ при всех вариантах	2	$1,7 \times 10^{-5}$	1,3	2,7	10	24×10^{-6}	8,3	11,7
	Улучшение возможно	3		0,7	5,3	13		6,127	19,9
	КЭ при всех вариантах	8		0,9	15,1	61		39,1	82,9
На фоне терапии	ПЗ при всех вариантах	2	$7,3 \times 10^{-25}$	1,2	2,8	12	$1,5 \times 10^{-16}$	9,6	14,4
	Улучшение возможно	3		1,6	4,4	22		7,2	36,8
	КЭ при всех вариантах	25		–	–	67		26,7	107,3
После лечения	ПЗ при всех вариантах	0	$9,7 \times 10^{-16}$	–	–	3	$1,5 \times 10^{-14}$	0,9	5,1
	Улучшение возможно	5		2,1	7,9	48		17,5	78,5
	КЭ при всех вариантах	НД		–	–	НД		–	–

Примечание: НД – не достигнута; «–» – невозможно рассчитать.

При проведении многофакторного анализа выживаемости с использованием всех возможных параметров модели методом принудительного включения выделение оптимального и субоптимального лечения не имело прогностического значения при анализе ОВ ($p=0,124$). Лишь в группе пациентов с прогнозируемым эффектом терапии при любом виде лечения результат подбора показывал уровень альфа-ошибки, близкий к порогу значимости в нашем исследовании ($p=0,053$). Более значимым оказался параметр возможных различий от оптимального лечения ($p=10^{-5}$) и максимальный разброс результатов модели в зависимости от метода лечения ($p=0,03$).

При использовании метода условного включения отличия от оптимального лечения не добавляли дополнительной прогностической информации, равно как и сама оценка модели. Значимыми оказались только возможность улучшения результатов лечения ($p=3 \times 10^{-24}$) и наибольший разброс результатов в зависимости от модели ($p=0,001$). С увеличением этих параметров рос риск смерти больных. Ввиду этого мы не проводили анализ предложений модели по смене метода лечения. Вместе с тем потенциальная возможность улучшения результата терапии, на основании полученных в модели результатов, существует, поскольку с использованием результата прогноза удаётся выделить группы пациентов с разным прогнозом. Вероятно, для подбора оптимального вида терапии необходимо использование других математических подходов и моделей и включение в анализ новых методов терапии.

9.2.3. Оценка использования модели для определения нестандартных ответов на лечение

Ранее мы уже писали о возможности развития нестандартных ответов на лечение при проведении иммунотерапии. Для определения возможности разделения пациентов с истинным прогрессированием и псевдопрогрессированием мы оценили результаты работы модели у пациентов, для которых оценка иммунного статуса проводилась до лечения или до первой оценки эффективности терапии по системе RECIST 1.1 и у которых зарегистрировано прогрессирование процесса. Было выявлено 110 таких пациентов (54 на фоне терапии), среди которых у 14 (5 на фоне терапии) ПЗ не предполагалось. В этой группе пациентов наблюдалась несколько лучшая медиана ОВ (18 мес.) по сравнению с 7 мес. у больных с ПЗ как по данным радиологического обследования, так и по данным оценки иммунного статуса (Log Rank $p=0,033$).

Кривые выживаемости этих больных представлены на рисунке 70.

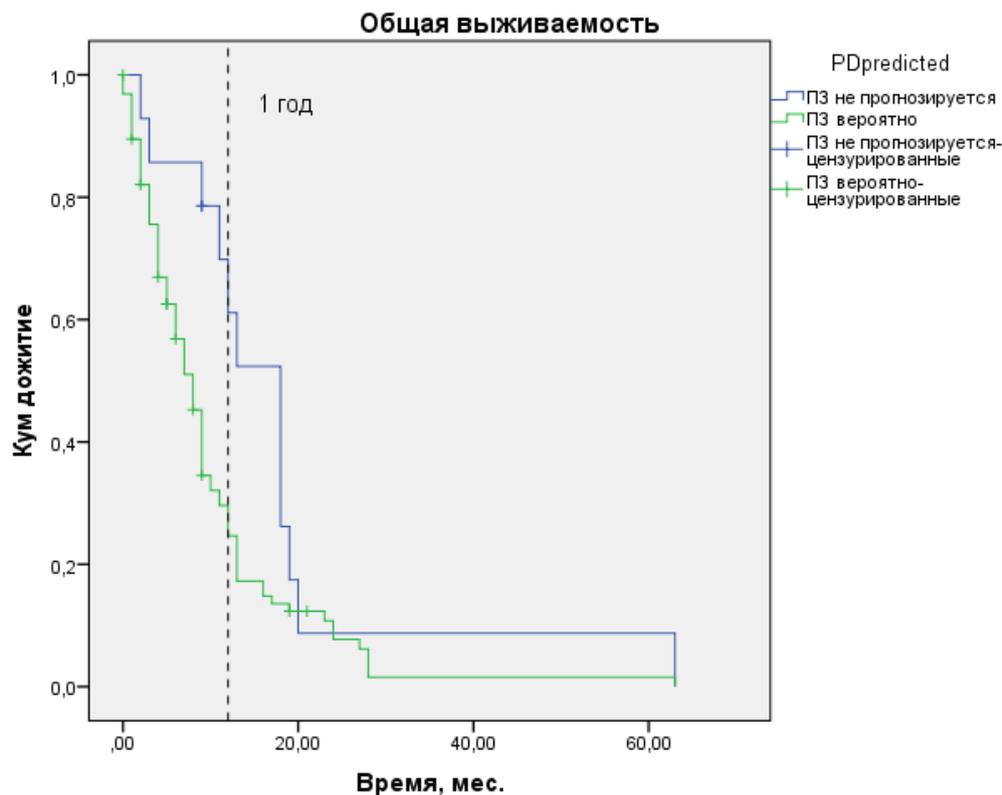


Рисунок 70 – Общая выживаемость больных в зависимости от результатов прогнозирования при ПЗ по системе RECIST 1.1

Среди 14 больных, для которых, по результатам прогнозирования, не предполагалось прогрессирование процесса, было по два пациента, получавших ипилимумаб, ниволумаб или ГМВ, четверо пациентов с ДКВ, один больной, получавший МХТ, и трое, получавших ПХТ. Таким образом, данный феномен чаще (71,5%) встречался при проведении иммунотерапии, однако наблюдался и при отдельных видах химиотерапии. В целом частота возможных расхождений ответов составила 12,7%, что сопоставимо с частотой расхождения результатов оценки по различным системам, разработанным как для химиотерапии [173; 357; 358], так и для иммунотерапии [12; 34; 359; 360]. Таким образом, модель может быть полезна для выделения нестандартных ответов на иммунотерапию.

9.2.4. Определение возможности использования модели для раннего возобновления или смены терапии на фоне ответа на лечение

Для определения возможности прогнозирования ранней смены терапии или раннего возобновления наблюдения мы отобрали из тестовой группы пациентов с достигнутым эффектом терапии. Была оценена ОВ в зависимости от полученного качественного результата

модели и построена модель пропорциональных рисков Кокса, включавшая все доступные клинические параметры.

При анализе ОВ методом Каплана–Майера пациенты, у которых ПЗ не прогнозировалось в ближайшие 3 мес., характеризовались значительно лучшими показателями ОВ (медиана 18 мес.) по сравнению с больными, у которых ПЗ в ближайшее время было вероятно (медиана 8 мес., Log Rank $p=0,03$), рисунок 71 и 72. В многофакторном анализе наиболее значимым из всех факторов оказалось отличие текущего от наилучшего значения модели. С увеличением значения показателя на 1% риск смерти увеличивался на 3,4% ($p=1,6 \times 10^{-10}$).

Таким образом, использование модели позволяет своевременно изменить лечебную тактику в процессе проведения или после завершения терапии, т.е. отменить проводимое лечение или возобновить терапию, не дожидаясь ПЗ и, таким образом, избежать роста опухолевой нагрузки.

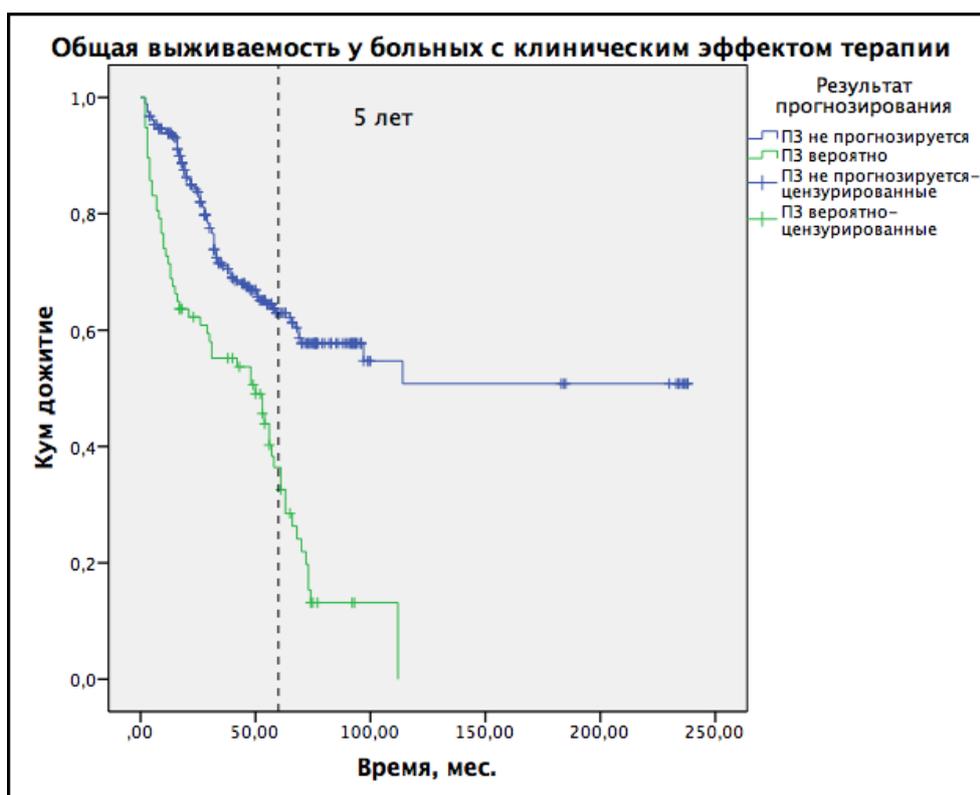


Рисунок 71 – ОВ больных при оценке иммунного статуса на фоне сохраняющегося эффекта терапии в зависимости от результата прогнозирования с использованием модели

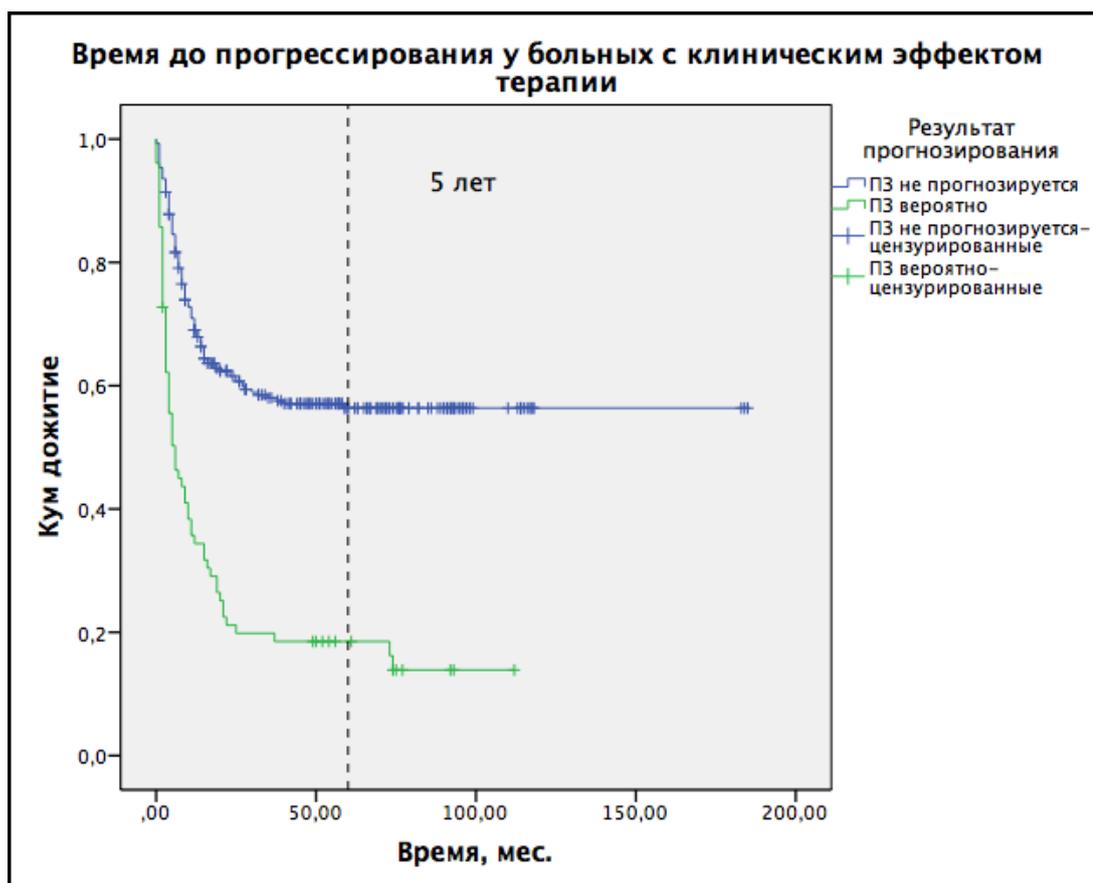


Рисунок 72 – ВДП больных при оценке иммунного статуса на фоне сохраняющегося эффекта терапии в зависимости от результата прогнозирования с использованием модели

9.2.5. Оценка использования модели для определения возможности прекращения терапии

На завершающем этапе работы с моделью мы сравнили результаты прогнозирования при продолжении терапии у пациентов, и в том гипотетическом случае, если бы лечение было прервано в момент оценки состояния ИС. В результате было получено два новых параметра моделирования. Один определял, увеличится ли вероятность ПЗ по результату прогноза при завершении лечения или нет. Результаты такого анализа представлены на рисунках 73 и 74. Второй сопоставлял результат прогнозирования при остановке лечения с выбранной нами точкой отсечения 0,3812, в результате чего было получено четыре группы пациентов: больные, у которых вне зависимости от проведения или остановки терапии прогрессирование не прогнозировалось; те пациенты, у которых ПЗ прогнозировалось также вне зависимости от продолжения терапии; пациенты, которые теряли достигнутый эффект при прекращении лечения и больные, у которых результат прогнозирования был лучше при завершении лечения.

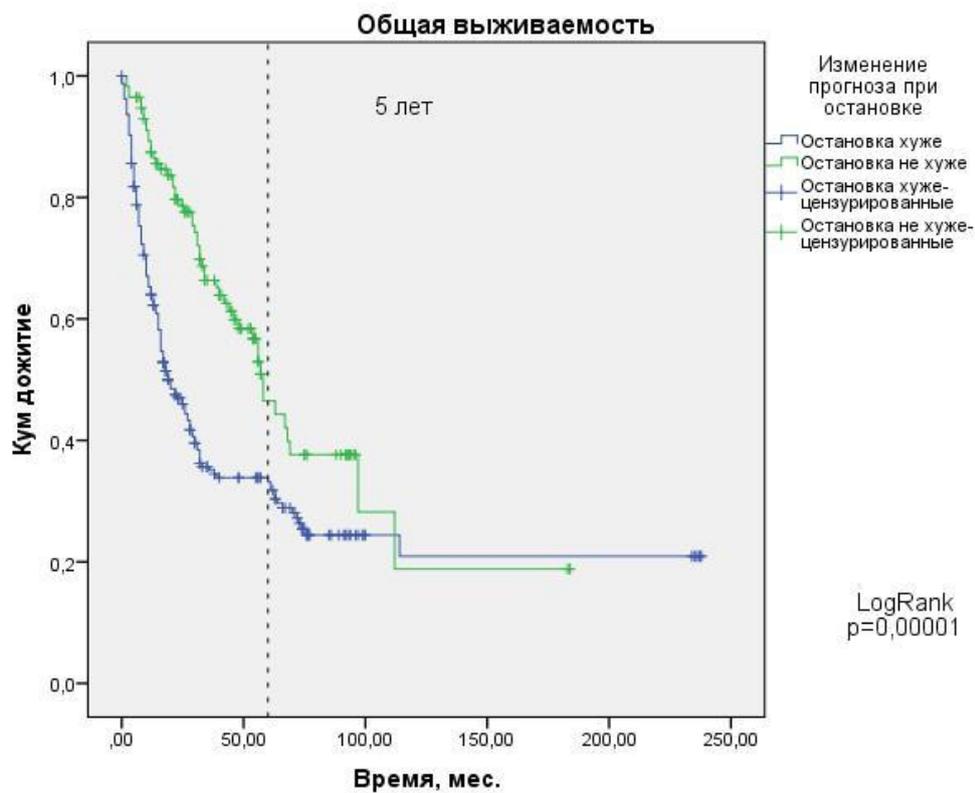


Рисунок 73 – Общая выживаемость при сравнении значений прогноза при продолжении лечения и остановке терапии

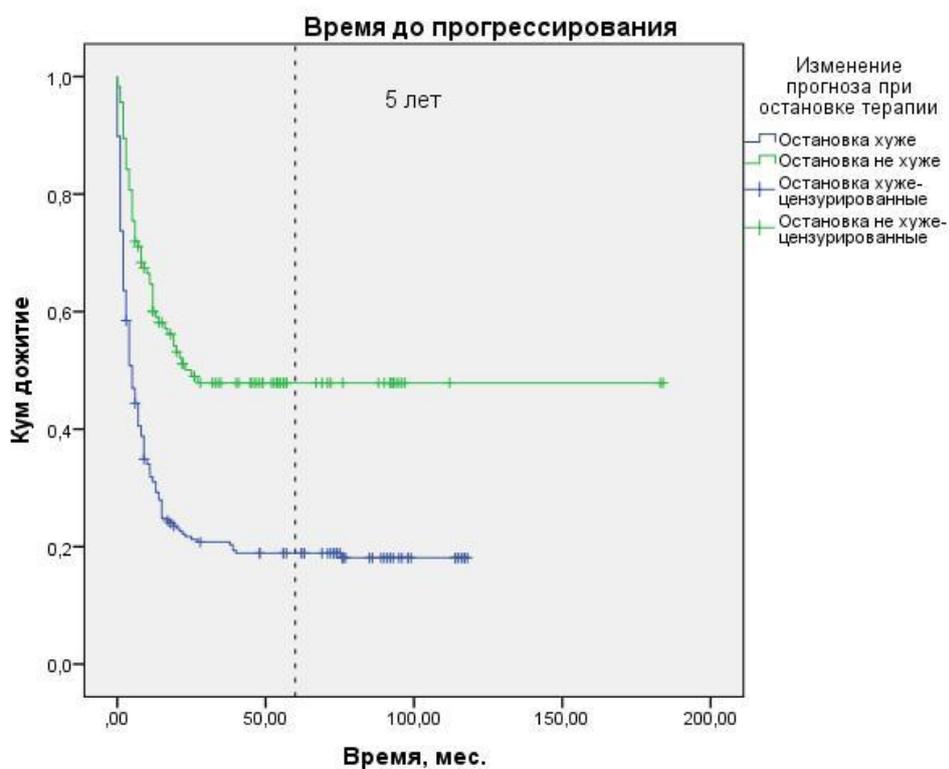


Рисунок 74 – Время до прогрессирования при сравнении значений прогноза при продолжении лечения и остановке терапии

Показатели выживаемости данных пациентов представлены на рисунках 75 и 76.

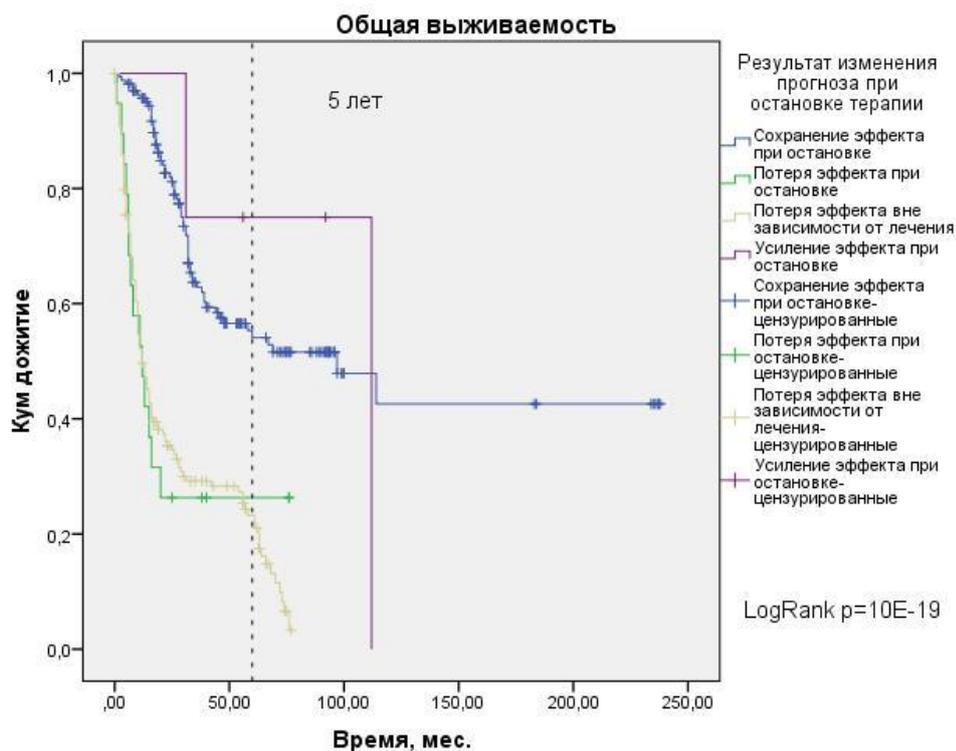


Рисунок 75 – Общая выживаемость в зависимости от изменения результата прогноза при планировании остановки терапии

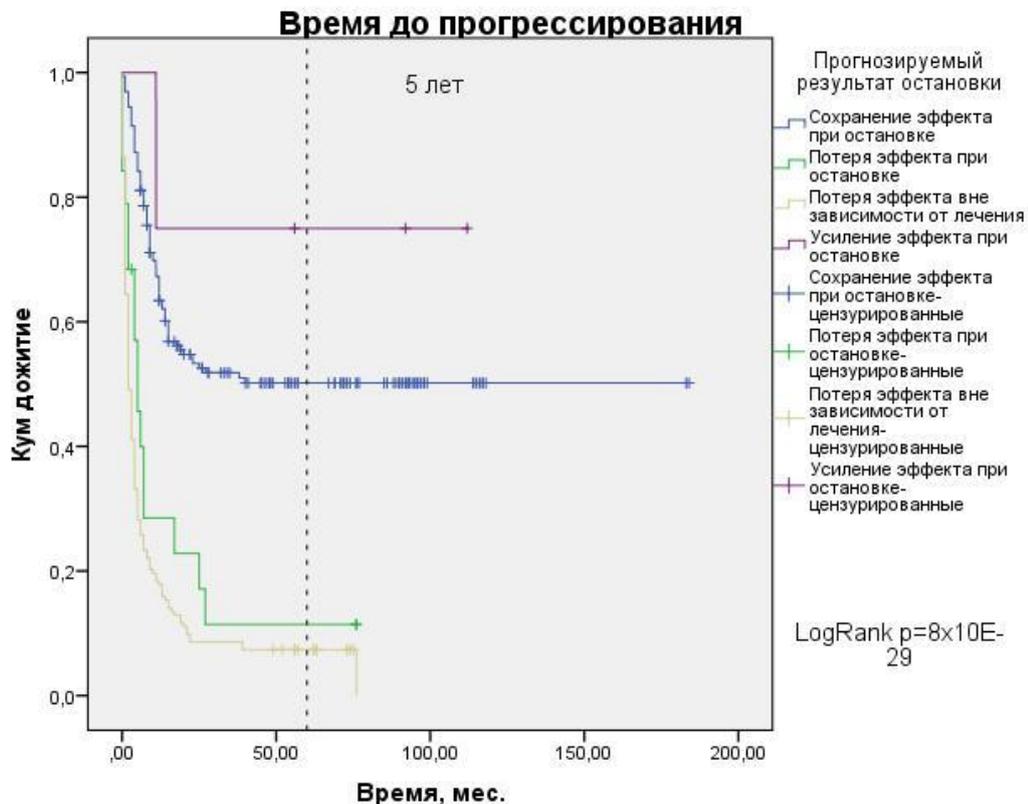


Рисунок 76 – Время до прогрессирования в зависимости от изменения результата прогноза при планировании остановки терапии

При сравнении полученных результатов значения прогноза при остановке лечения оказались не хуже, чем при продолжении терапии у 32,5% пациентов. При этом данная группа больных характеризовалась лучшими результатами как общей выживаемости (медиана 25 мес. против 5, Log Rank $p=10^{-5}$), так и ВДП ($p=2\times 10^{-9}$).

При сопоставлении полученных значений с точкой отсечения оказалось, что лишь у 5,4% пациентов прогнозировалась потеря эффекта при завершении терапии в случае её остановки. Пациенты, у которых вне зависимости от лечения эффект сохранялся или терялся, представляли собой равные по числу группы (примерно 46,7% каждая). Важно отметить, что как ОВ, так и ВДП у этих пациентов существенно различались. При этом выживаемость больных, у которых при завершении лечения, в момент оценки состояния ИС, терялся эффект терапии, не отличалась от больных, у которых ожидалась потеря эффекта в любом случае.

В нашем наборе данных оказалось 4 случая, при которых результат прогнозирования был лучше при остановке терапии, нежели при её продолжении. Все эти случаи были представлены пациентами, получавшими вакцинотерапию. Из них двое получали ГМВ в лечебном режиме, по одному пациенту получали НМВ и ДКВ в адъювантном режиме. Таким образом, прогнозирование с использованием полученной нами модели прогноза позволяет выделить группу пациентов, для которых завершение лечения возможно без потери эффективности терапии. Однако это утверждение требует проверки в проспективном исследовании.

ГЛАВА 10. ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целью нашего исследования является определение возможности использования оценки состояния ИС для индивидуализации лечения пациентов, что должно привести к повышению эффективности лечения. Полученные результаты подтверждают как само прогностическое и предиктивное значение параметров иммунного статуса, так и возможность его использования для изменения тактики терапии. Рассмотрим важные методологические и клинические аспекты проведённого исследования и его результатов.

В ходе исследования при оценке параметров иммунного статуса мы использовали как абсолютные, так и относительные показатели. С одной стороны, относительные показатели являются первичными данными, которые измеряют при оценке состояние ИС, тогда как абсолютные получаются путём пересчёта, что теоретически позволяет накапливать ошибку измерений. Тем не менее наши данные свидетельствуют о меньшем размере вариабельности абсолютных показателей. С другой стороны, как абсолютные, так и относительные иммунологические показатели используются в клинических исследованиях и в реальной клинической практике большинства лабораторий [361].

Относительные показатели предоставляют дополнительную информацию о соотношении субпопуляций иммунных клеток. Фактически их изменение свидетельствует о синхронности реакций различных звеньев иммунной системы. В наших ранних исследованиях [337] было показано, что взаимосвязь параметров ИС сама по себе является фактором прогноза эффективности терапии. Однако в реальной практике эти связи оценить затруднительно. Поэтому единственно возможный способ оценки взаимосвязи параметров в одном иммунном статусе является оценка относительных показателей и индексов, т.е. соотношений различных клеток, которые показали своё значение как в нашем исследовании, так и в ряде других. Важно подчеркнуть, что при построении многофакторных прогностических моделей как относительные, так и абсолютные уровни показателей оказались статистически значимыми и не имели высоких корреляций регрессионных остатков, что говорит об их независимости в модели. При этом в ряде случаев влияние отклонений показателей было разнонаправленно. Так, в нашем исследовании рост абсолютного уровня CD14⁺ моноцитов значительно снижал риск смерти пациентов с меланомой, получавших адъювантную терапию. Повышение относительного уровня при этом повышало вероятность ПЗ, уменьшая влияние абсолютных показателей. Разнонаправленное влияние на риск ПЗ и смерти оказывали относительные и абсолютные уровни лимфоцитов, эозинофилов, базофилов, CD38⁺ лимфоцитов, HLA-DR⁺ЦТЛ у больных меланомой, уровни NKT у больных с саркомами мягких тканей. Таким образом,

представляется рациональным при оценке значимости изменений иммунологических показателей учитывать их значения как в абсолютных, так и в относительных единицах.

В нашем исследовании мы использовали все доступные оценки состояния ИС, что отличается от большинства исследований, где многие потенциальные предиктивные и прогностические маркеры изучаются до лечения. Такой подход требует обсуждения в нескольких аспектах.

ИС – динамически изменяющаяся система. Для инфекционного процесса динамика соотношения и активности отдельных компонентов ИС уже хорошо описана [13]. Для злокачественной опухоли начало заболевания остаётся неизвестным фактором. Таким образом, мы оцениваем состояние ИС в неопределённой фазе развития противоопухолевого иммунного ответа, пытаясь предсказать долговременный успех или неудачу терапии. С одной стороны, своевременность воздействия может являться определяющим фактором эффективности лечения. С другой стороны, хорошо описаны осцилляции состояния ИС с периодами, измеряющимися неделями, тогда как длительность иммунотерапии может превышать несколько лет [13; 271]. Таким образом, мы можем предполагать изменение значения фактора в динамике, что нарушает иначе предположение о равной степени действия фактора с течением времени, заложенное в основу метода пропорциональных рисков Кокса, который чаще всего используется для выявления важных факторов прогноза [362]. То есть мониторинг и оценка состояния ИС в динамике являются методологически обоснованными.

Учёт динамических маркеров эффективности иммунотерапии позволяет отражать разные аспекты механизмов действия препаратов [363]. Большинство воздействий на ИС оказывают множественные эффекты, отличающиеся в зависимости от её состояния в момент воздействия, что подтверждается результатами математического моделирования [348]. Клинические данные о применении современной иммунотерапии свидетельствуют о возможности достижения стабильного эффекта иммунотерапии после относительно короткого и, что более важно, конечного по длительности курса терапии [364-368].

Таким образом, мы можем предполагать наличие стабильного состояния иммунной системы, достижимого на фоне терапии, при наличии которого пациент будет излечен. При этом повторная оценка иммунного статуса становится инструментом оценки эффективности проводимого лечения и как таковая должна проводиться регулярно. Наше исследование, включая разработанный способ прогнозирования эффекта, представляет один из способов такой оценки. Необходимость углублённого изучения состояния ИС для оценки достигнутого эффекта также подчёркивается и другими исследователями [9].

Применение иммунотерапии позволило выделить ряд нетипичных ответов на лечение – псевдопрогрессирование и гиперпрогрессирование – клиническая диагностика которых представляет собой труднорешаемую на сегодняшний день задачу [18]. Создание адаптированных к этим феноменам систем оценки ответа на лечение [36; 369] позволяет в какой-то степени оценить состояние псевдопрогрессирования, но не даёт достаточно инструментов для выявления гиперпрогрессирования, во многом благодаря неоднозначности клинического определения данного феномена [9; 18; 370]. Оценка состояния иммунной системы в динамике может являться дополнительным фактором оценки эффекта в таких ситуациях, что требует ее динамической оценки. Полученные нами результаты подтверждают данное предположение и могут быть использованы как дополнительные факторы при дифференциальной диагностике между прогрессированием процесса и псевдопрогрессированием.

Мониторинг состояния ИС и иммунологических изменений на фоне различных методов иммунотерапии свидетельствует о быстром развитии изменений в иммунном статусе на фоне лечения – уже в первые несколько недель [314; 371]. Таким образом, именно динамическая оценка состояния ИС может являться ранним маркером эффективности или неэффективности лечения. Однако изучение динамики состояния ИС является более сложной задачей в клинических исследованиях. Необходимость учёта нескольких последовательных измерений может внести существенную селекционную ошибку в результаты исследования, поскольку у пациентов с ПЗ будет определено меньшее количество точек, чем у больных с ОО. Поэтому при оценке динамики мы использовали лишь относительно краткосрочные изменения в начале терапии. Кроме того, в нашем исследовании мы показали значительное влияние вариабельности измерений на повторную оценку. Известной сложностью в последовательных наблюдениях является разделение клинически значимых и незначимых изменений. Применённый нами подход, заимствованный из систем оценки радиологического ответа опухоли на лечение [32; 37; 359], позволил выделить границы клинической значимости и подтвердил полезность данной информации для прогнозирования течения заболевания.

Важным компонентом разработки прогностических моделей, особенно в исследованиях по иммунотерапии, является выбор конечной точки исследования. Общепринятым подходом во всех исследованиях, включённых в наш систематический обзор, был выбор бинарного исхода для определения факторов, связанных с благоприятным и неблагоприятным течением заболевания. В нашем исследовании мы использовали несколько общепринятых делений исходов: по непосредственному эффекту, по ВДП и ОВ. Различная методология, используемая в таких расчётах, позволяет использовать результаты в качестве внутреннего контроля

при совпадении прогностического значения, оценённого по разным методам. С другой стороны, большее количество сравнений может привести к известной переоценке результатов, вызванной проблемой множественных сравнений. Тем не менее биологическая обоснованность многих наблюдений, с одной стороны, и сопоставление полученных результатов с литературными данными, с другой, подтверждают сделанные нами выводы о прогностической значимости параметров периферической ИС и свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения данного направления для разработки оптимальных схем индивидуального лечения.

Возможность оценивать эффективность иммунотерапии на кратких отрезках времени и своевременно изменять вид и направление иммунологического воздействия может стать основой для адаптивного проведения терапии на основании достижения или недостижения целевого состояния ИС. Исследования адаптивных стратегий, основанных на изменении биомаркеров, считаются наиболее перспективными, но в то же время наиболее сложными и малоизученными в связи с сопряжёнными с ними рисками [131]. Они требуют разработки риск-адаптированных подходов к лечению, основанных на повторных оценках состояния ИС. Предложенные в нашем исследовании способы решения подобной задачи могут быть использованы как отправная точка для разработки подобных стратегий персонализированной терапии, которая в перспективе может позволить излечивать значительное число больных.

Мы показали высокую частоту отклонений в показателях иммунного статуса у больных солидными опухолями. Однако более важно, что данные отклонения являются прогностически (т.е. клинически) значимыми, с одной стороны, и могут быть объектом иммунокорректирующих воздействий, с другой. Важными являются различия в профилях отклонений между различными заболеваниями и отдельными стадиями одного заболевания. Подобная гетерогенность описана как на генетическом уровне, так и на уровне опухолевого микроокружения [372-374]. Эти же исследования подтверждают значительную эволюцию данного процесса с развитием опухоли. Таким образом, выявленные нами различия в иммунных профилях заболеваний не только подтверждаются данными других исследований, но и свидетельствуют о возможности использования параметров периферической ИС для оценки этих процессов.

Мы также показали нарастание частоты неблагоприятных в прогностическом плане отклонений показателей иммунного статуса с ростом стадии заболевания, что согласуется с результатами проведённого нами систематического обзора [128; 129]. Выявленные нами качественные изменения в прогностической значимости отдельных показателей ИС ставят перед нами иной вопрос: является ли состояние ИС или иммунологические синдромы и механизмы иммунопатогенеза на разных стадиях различными или общими? Теоретические

исследования по применению адьювантной терапии предполагают, что формирование преметастатической ниши при разных стадиях процесса может иметь разные особенности, а эффективность препаратов в подавлении роста опухолевых очагов и контроле над дремлющими опухолевыми клетками, которые являются более резистентными к воздействиям и, в конечном счете, приводят к прогрессированию системного злокачественного процесса и летальному исходу, может быть различной [375]. Возможно, этим объясняется разная эффективность ГМВ, показанная нами в исследовании РЕПРИЗА. Этот метод лечения был ассоциирован с самыми лучшими результатами адьювантной терапии меланомы, при этом в метастатическом процессе показывал наихудшие результаты выживаемости.

Можно предположить, что проведение иммунокоррекции на ранних стадиях будет обладать иной эффективностью, но при этом требовать иных, отличных от сегодняшних, подходов к проведению лечения, как в плане препаратов, так и в отношении длительности воздействия. Необходимость иммунокорректирующих воздействий, изменяющихся в динамике, с учётом механизмов иммунопатогенеза, поддерживается и другими исследователями [373].

Кроме того, изучение динамики иммунологических показателей позволяет выявлять необычную динамику иммунологических показателей, что даёт основу для новых направлений научного поиска. Так, неожиданным для нас стало снижение риска прогрессирования у больных с нарастанием относительного уровня нейтрофилов в динамике, поскольку эти клетки относятся к эффекторам врождённой иммунной системы и, следовательно, обычно отражают неблагоприятный прогноз по данным многочисленных исследований [129]. Тем не менее в нашей работе как повышение относительного уровня нейтрофилов, так и рост NLR в динамике был ассоциирован с повышенной эффективностью лечения. Возможной причиной такой находки является поляризация нейтрофилов, определённые субпопуляции которых могут, по данным некоторых исследований, обладать противоопухолевыми функциями [331; 332].

Другим необычным наблюдением в нашем исследовании является негативная прогностическая роль снижения уровня регуляторных субпопуляций – как, собственно, Treg, так и абсолютного уровня CD25⁺Th. При этом снижение относительного уровня последних клеток носило явно позитивный прогностический характер и было ассоциировано с повышенной частотой ответа на лечение и снижением риска смерти. Подобные изменения свидетельствуют о необходимости гармоничной активации иммунной системы и о негативной роли дисбаланса в её работе при изолированном изменении количества отдельных субпопуляций лимфоцитов. Однако наше наблюдение лишь отчасти согласуется с результатами других исследователей, в которых наблюдалась противоположная по значению связь данного показателя с эффективностью лечения, не всегда подтверждавшаяся статистически [301].

Различные профили и разная прогностическая значимость иммунологических параметров при разных заболеваниях подчёркивают проблему свободной экстраполяции данных и перенесения эффектов терапии одним препаратом с одной локализации злокачественных опухолей на другую. Возможно, именно различия в иммунных профилях приводят к возникновению нескольких паттернов ответа на иммунотерапию, представленных в работе K. Suda [17], а также к неэффективности некоторых иммунотерапевтических подходов при различных солидных опухолях, например – анти-PD1 терапии при саркомах [376-378].

С другой стороны, наше исследование показало как количественные, так и качественные различия в основных иммунологических параметрах. С учётом прогностической значимости выявленных отклонений в показателях ИС в периферической крови и продемонстрированной нами структуре иммунологических нарушений можно предполагать, что изучение направленных воздействий на иммунную систему должно проводиться как минимум с учётом подобных синдромов и механизмов иммунопатогенеза заболевания. Из опыта применения таргетной терапии известно, что она эффективна только у пациентов с известным нарушением сигнальных путей, управляемых конкретным видом лечения. Иммунотерапия также обладает свойствами таргетной терапии и эффективна только при определённых нарушениях в работе периферической ИС. Мы показали разную частоту встречаемости иммунологических синдромов при отдельных заболеваниях. Поэтому отсутствие информации о иммунопатогенезе может привести к ошибочным выводам о неэффективности того или иного метода лечения. Примером такой недооценки могут быть ранние этапы изучения ингибиторов EGFR, где до открытия мутаций в этом гене современные и эффективные препараты признавались неэффективными [379].

Ранее мы предложили разделить методы лекарственного лечения на основании их первичного иммунологического воздействия на ряд категорий, из которых в нашем исследовании изучалось четыре: методы усиления презентации антигена, методы модуляции активности иммунного синапса, методы усиления кинетики иммунных процессов и методы воздействия на опухоль с последующей активацией иммунной системы [19]. Наше исследование отчасти подтвердило общность закономерностей для препаратов из одной группы, однако был выявлен и ряд внутригрупповых различий. Так, например, гуморальный иммунный ответ играл разную, и подчас противоположную роль в достижении эффекта ГМВ и ДКВ. Прогностическое значение сниженного уровня В-лимфоцитов и повышенного содержания CD38⁺ЦТЛ было разным для ипилиумаба и анти-PD1 терапии. Подобные различия в механизмах иммунологического действия препаратов разных классов

поддерживаются и результатами некоторых зарубежных исследований [342], что подтверждает выявленные нами внутригрупповые различия.

Нами показана зависимость значимости отклонения показателей иммунного статуса от проводимого лечения, как в количественном, так и в качественном отношении. Таким образом, мы можем предполагать, прежде всего, предиктивную значимость параметров ИС. Систематические обзоры подтверждают подобное неоднозначное взаимодействие для большинства факторов, характеризующих состояние ИС, при оценке периферической крови [128; 129; 301; 380]. Интересно подчеркнуть, что в некоторых из включённых в указанные обзоры исследованиях не была отмечена связь исследованных нами субпопуляций клеток, например, Treg, с эффективностью анти-PD1 терапии. Данные результаты могут объясняться как относительно небольшим количеством пациентов в исследованиях, так и особенностями их дизайна (использованные конечные точки, методы измерения параметра и т.д.).

Большое количество выявленных нами предиктивных факторов и нелинейное изменение прогностического значения отдельных показателей, т.е. одинаковая прогностическая значимость их повышения и понижения, объясняются обширной сетью взаимодействия иммунных клеток, которая лишь начинает расширяться в настоящее время и по сложности своей не уступает нервной системе [317; 333; 381-383]. Наличие такой сети приводит к ряду важных моментов, требующих понимания при интерпретации результатов исследований прогностических и предиктивных факторов. Так, разные взаимодействующие параметры несут одинаковую информацию и могут приводить к исключению друг друга из прогностических моделей. Но значит ли это, что их изменения не могут использоваться для получения информации о состоянии иммунной системы? Вероятно, для понимания состояния может использоваться ограниченный перечень параметров, достаточных для его определения. Фактически мы можем рассматривать отдельные симптомы нарушений иммунной системы, позволяющие уверенно говорить о целых комплексах иммунопатологических механизмов, происходящих у больного. Для выделения таких синдромов, равно как и для поиска новых субпопуляций иммунных клеток, могут быть использованы методы многофакторного анализа с использованием биоинформационных решений для оценки результата [384].

Существует несколько подходов для исследования взаимодействия компонентов сложных систем. Один из них заключается в применении математических методов анализа корреляционных связей с использованием сложных математических и вычислительных алгоритмов [108; 271; 321], которые достаточно сложно интерпретировать и ещё сложнее применить к одному конкретному случаю. Корреляционные связи у одного пациента требуют большого числа наблюдений. Поэтому, несмотря на показанную нами значимость таких связей

[337], для решения поставленных в работе задач мы вынуждены были отказаться от такого подхода.

Второй подход заключается в использовании методов редукции данных, позволяющих представить имеющуюся дисперсию признаков в пространстве меньшей размерности. К ним относятся методы кластерного и факторного анализов. Мы в своей работе, как и коллеги в других исследованиях [65; 127; 334], использовали методы кластерного анализа для выделения иммунологических синдромов, и при этом столкнулись с определёнными трудностями. Сам процесс выделения иммунологических синдромов является сложной задачей, что подтверждается в некоторых исследованиях [385]. Количество синдромов, которые могут быть обнаружены, весьма велико, и в некоторых методах современного анализа речь заходит уже о десятках отдельных кластеров при использовании методов масс-цитометрии [384].

Мы применили некоторые из классификаций на наших данных [65; 127] и сравнили их с полученными нами результатами, в том числе с использованием модели пропорциональных рисков Кокса. Отдельные классификации при этом лучше характеризовали показатели, чем другие. Однако использованный нами метод анализа – последовательное добавление переменных – имеет свои ограничения, одним из которых является включение в модель первого по списку значимого фактора. Последующие факторы включались только в том случае, если они добавляли что-либо в модель. Проведённый нами анализ соответствий показал два принципиальных компонента, отражающих степень активации ИС и степень супрессии, внутри которых многие из групп указанных классификаций могли быть объединены. P. Kandola с соавт. пришли к аналогичному выводу о наличии двух главных компонент с использованием факторного анализа [385]. Теоретические обобщения, проведённые в обзоре D.S. Chen и I. Mellman также выделяют три группы синдромов, для каждого из которых существует несколько механизмов нарушения работы ИС [279].

Таким образом, данные нашего исследования о наличии трёх основных групп иммунологических синдромов и важности оценки механизма действия конкретного препарата находят своё подтверждение в литературе.

Само выделение иммунологических синдромов и механизмов их возникновения может быть использовано для разработки новых методов иммунотерапии и более широкого внедрения методов воздействия на иммунную систему в комплексном лечении злокачественных опухолей. Важно отметить, что в нашем исследовании была показана относительная стабильность некоторых состояний и переходов между состояниями, что подтверждает возможность таргетного воздействия, с одной стороны, и необходимость своевременной смены тактики лечения, с другой. Такое предположение поддерживается результатами экспериментов *in silico*,

где была показана важность времени и режима применения различных иммунотерапевтических методов лечения, что в дальнейшем было подтверждено экспериментальными и клиническими данными [346; 386; 387].

Выделение трёх основных компонентов иммунологических синдромов является важным, но лишь начальным шагом для практического применения данных знаний. Можно предположить, что использование иммунологических данных в прогнозе потребует меньшего числа показателей. Для этих целей могут использоваться методы дискриминантного анализа и построение деревьев решений. Первый используется для непрерывных переменных, тогда как для второго возможно использование и категоризированных или номинальных данных. Необходимость классифицировать больных на «благоприятный» и «неблагоприятный» прогноз поставила два дополнительных вопроса: как определить благоприятность прогноза и как учитывать иммунологические показатели с учётом их вариабельности и наличия естественных колебаний? Второй вопрос осложняется ещё и сведениями, полученными при построении математических моделей иммунной системы, многие из которых включают нелинейные компоненты взаимодействия клеток [255; 321; 346; 388].

Первый вопрос по-разному решается в клинических исследованиях. В отдельных анализах в качестве благоприятного исхода расценивают одну произвольно выбранную точку [203], в других – оценивают сразу несколько показателей [367]. При выборе точки прогнозирования мы выбрали практический подход. Поскольку при иммунотерапии оценка эффекта часто проводится с интервалом в 3 мес., мы взяли именно этот показатель, позволяющий, с одной стороны, получить клинически значимую информацию о лечении, с другой – отражающий динамику изменения иммунологических показателей.

При анализе выживаемости мы учитывали одновременно как непрерывные, так и шкалированные показатели, исключая из многофакторных моделей именно непрерывные переменные при наличии значимых корреляций регрессионных остатков. В разработанной нами модели прогноза прогрессирования, наоборот, использовались непрерывные исходные числа для передачи в ассамблею деревьев решений полного объёма информации. Подобный подход используют многие исследователи как при определении прогноза (что отражено в нашем систематическом обзоре [128; 129] и в ряде исследований, например [389], и при построении математических моделей [321] соответственно. Важным оказалось использование обоих вариантов шкалирования для получения полного представления и учёта нелинейности иммунологических взаимоотношений.

Для построения многомерных моделей в последнее время используются различные технологии машинного обучения. В нашем исследовании мы использовали метод Random

Forest, успешно применяющийся во многих областях онкологии [390-392]. Несмотря на то, что метод не позволяет оценить внутренние связи между факторами, он имеет ярко выраженную практическую направленность, позволяя точнее решать поставленную практическую задачу, преодолевая ряд препятствий, описанных ранее, в том числе обусловленных обилием возможных показателей.

В ходе нашего исследования мы обнаружили, что увеличение числа факторов в модели ухудшает её работу и точность. В итоговом результате в модель вошло лишь содержание основных субпопуляций иммунных клеток, которое позволяло охарактеризовать состояние иммунной системы с достаточной точностью, не уступающей, и даже превышающей, результаты геномных методов, оценивающих успешность иммунотерапии [393]. К подобному выводу пришли и исследователи при построении математической модели работы ИС, где было показано, что сложные модели менее воспроизводимы [328]. Это исследование также подтверждает наш тезис о возможности выделения иммунологических синдромов на основании ограниченного числа параметров ИС. Различные практически ориентированные исследования, использующие номограммы для определения прогноза, также подтверждают возможность успешного прогнозирования течения заболевания с использованием ограниченного числа иммунологических тестов [394; 395] и характеризуются сопоставимой с нашими результатами точностью прогнозирования.

Полученная нами модель позволяет не только прогнозировать прогрессирование процесса в ближайшем будущем. Проведённая нами оценка выживаемости в зависимости от результатов прогнозирования показывает, что даже ложноположительный результат позволяет выделить пациентов с более коротким ответом на лечение и худшим прогнозом, т.е. тех, кому, возможно, потребуется дополнительное воздействие для сохранения устойчивого эффекта. В тех случаях, когда клинических признаков прогрессирования нет, врачу предоставляется окно возможностей для предотвращения прогрессирования злокачественной опухоли, чего без знания иммунологических параметров сделать крайне сложно. Заложенные в модель возможности подбора параметров позволяют также оценивать значимость изменения лечебной тактики и возможность её влияния на прогноз. Важно подчеркнуть, что подобное использование информации не предполагалось при разработке модели, однако может быть весьма полезным в клинической практике. Прежде всего, это касается двух основных вопросов, не решённых на сегодняшний момент. Это вопрос о длительности терапии и вопрос выбора оптимального лечения.

Вопрос оптимальной продолжительности терапии трудно разрешим на сегодняшний день. Проведённые ранее исследования с интерлейкином-2, ипилимумабом и TIL свидетельствуют

о возможности сохранения эффекта терапии более пяти лет при однократном или очень коротком по времени иммунотерапевтическом воздействии [7]. Анализ результатов лечения больных, преждевременно завершивших терапию анти-PD1 препаратами, также позволяет предполагать отсутствие негативного эффекта от остановки терапии, и косвенно – дополнительную пользу в виде отсутствия необходимости лечения и отсутствия новых нежелательных явлений, связанных с длительным продолжением терапии [396-399]. Отсутствие дополнительного эффекта при продолжении терапии также поддерживается некоторыми клиническими исследованиями [371]. Известно, что прекращение терапии у некоторых пациентов приводит к прогрессированию процесса, однако известны лишь клинические факторы такого прогноза, не позволяющие уверенно принимать решение о прекращении или продолжении терапии [400; 401].

Наше исследование предоставляет инструмент прогнозирования, который более точно позволяет принимать решения о роли прекращения или продолжения терапии. При этом важной особенностью нашей модели, в отличие от других изучающихся биомаркеров, таких как циркулирующая опухолевая ДНК [402], является выделение групп пациентов, у которых эффект терапии будет утрачен в ближайшее время вне зависимости от продолжения или прекращения текущего лечения. Важно подчеркнуть, что модель позволяет предполагать достижение стабильного состояния с использованием разных методов лечения на основании параметров иммунного статуса и клинических факторов, т.е. потенциально достижение состояния излеченности.

Таким образом, наш инструмент позволяет оценить данное состояние на индивидуальном уровне, что делает возможным использование этой информации для принятия решения. Это выгодно отличает наш подход от анализов рисков рецидива, которые подтверждают возможность достижения излечения через несколько лет, но при этом не могут быть использованы для планирования терапии у отдельного больного [403]. Другим важным аспектом применения нашей модели может быть своевременность возобновления терапии, что позволит сохранить достигнутые эффекты и обеспечить достаточную эффективность реиндукции терапии, которая на сегодняшний день достигается не у всех пациентов [401], что служит дополнительным аргументом для бесконечного продолжения лечения.

Вопрос выбора терапии также потенциально может быть решён с использованием методов искусственного интеллекта, применённого нами. Несмотря на то, что нам не удалось оценить влияние «оптимального» и «неоптимального» выбора лечения на продолжительность жизни пациентов, исследование показало наличие состояний, в которых успешно могут применяться разные лечебные подходы. Дальнейшее использование алгоритмов машинного обучения,

направленное на решение именно этого вопроса, может в перспективе дать инструмент для определения оптимальной тактики лечения в конкретной клинической ситуации и определить оптимальный момент для смены режима терапии. Следует отметить, что плановое переключение тактики лечения расценивается в настоящее время как перспективный клинический подход к повышению эффективности лечения. Однако момент смены при этом определяется, не исходя из достигнутого пациентом состояния, а на основании теоретических рассуждений и подбора приемлемой для большинства точки переключения режимов, как это делается, например, в исследовании SECOMBIT [404].

Разработанная нами модель, конечно, требует дополнительной оценки и, возможно, включения дополнительных, специфичных для каждого лечения, параметров в целях прогнозирования оптимальности того или иного лечения. Однако уже сейчас эта модель позволяет достаточно точно определять прогноз пациента и предоставляет дополнительную информацию для поиска новых направлений терапии до развития клинического прогрессирования процесса при его высоком риске, с одной стороны, и дополнительное основание для завершения терапии при низком риске прогрессирования, с другой.

Безусловным преимуществом модели является возможность её простого и многократного использования у одного пациента: модель предоставляет инструмент для определения времени введения препарата, что является критически важным для достижения или поддержания эффекта терапии [347]. Предложенный нами комплексный подход в дальнейшем может позволить оценивать оптимальное соотношение лечебных воздействий для усиления или достижения эффекта терапии, которое, как об этом свидетельствуют математические модели взаимодействия методов иммунотерапии [345], могут оказывать существенное влияние на эффективность комбинированной терапии.

Таким образом, для оценки состояния иммунной системы необходима оценка её основных звеньев и выделение отдельных иммунологических синдромов на основании полученных результатов. При этом целесообразно использование как абсолютных, так и относительных значений показателей с учётом их референсных значений. Для учёта многообразия взаимодействий иммунологических и клинических параметров возможно применение технологий искусственного интеллекта.

ВЫВОДЫ

1. Эффективность терапии включённых в исследование больных меланомой, саркомами мягких тканей, раком почки и колоректальным раком соответствует данным реальной клинической практики, что подтверждает релевантность выборки в исследовании.

2. Лекарственная терапия является независимым фактором прогноза выживаемости пациентов ($p < 0,05$). Отсутствие эффективности самостоятельной (паллиативной) лекарственной терапии не свидетельствует о её неэффективности в адъювантном режиме. Так, терапия геномодифицированной вакциной у больных меланомой кожи в нашем исследовании была неэффективна как самостоятельный вид лечения ($p > 0,05$) и эффективна в адъювантном режиме ($p < 0,05$).

3. Иммунологические аспекты механизма действия лекарственных препаратов являются важными динамическими прогностическими маркерами эффективности терапии у больных меланомой, раком почки и саркомами мягких тканей ($p < 0,05$), независимыми от стадии, пола, подтипа опухоли и достигнутого эффекта терапии.

4. Отклонения в иммунологических параметрах (фракции лейкоцитов, субпопуляции лимфоцитов, функциональные тесты активности иммунной системы, уровни иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов) возникают у всех пациентов с изученными локализациями злокачественных опухолей в процессе развития заболевания. Профили иммунологических нарушений и их значимость отличаются при различных злокачественных опухолях и их стадиях как качественно, так и количественно ($p < 0,05$).

5. Вариабельность измерений основных субпопуляций лимфоцитов (Т-лимфоциты, В-лимфоциты, цитотоксические лимфоциты, НК-клетки, НКТ-клетки, регуляторные Т-лимфоциты):

- колеблется в пределах от 0,89 до 2,81%, от 0,02 до $0,07 \times 10^9/\text{л}$ и от 0,06 до 0,16 при оценке соотношения показателей методом проточной цитометрии;

- зависит от размера популяции и характера оцениваемого показателя (относительный, абсолютный, соотношение показателей) $p < 0,05$;

- не зависит от пола, возраста, состояния заболевания ($p > 0,05$);

- может быть спрогнозирована на основании размера субпопуляции лимфоцитов;

- оказывает значимое влияние на результаты статистической обработки зависимых ($p < 0,05$) наблюдений;

- не влияет в подавляющем большинстве случаев на оценку независимых наблюдений ($p > 0,05$);

- должна учитываться при оценке изменений иммунологических показателей в динамике.

6. Изменения в иммунологических показателях могут быть объединены в отдельные иммунологические синдромы на основании степени активации и супрессии иммунной системы. Иммунологические тесты первого уровня (содержание лимфоцитов, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, НК-клеток, Th, ЦТЛ) являются интегральными показателями состояния иммунной системы, достаточными для определения иммунологических синдромов.

7. Иммунологические параметры, характеризующие состояние врождённой и адаптивной иммунной системы, в том числе Т-клеточного и В-клеточного звеньев, маркеры активации иммунных клеток, регуляторные субпопуляции (Treg, НКТ), и соотношение клеток ИС являются важными независимыми факторами прогноза эффективности терапии, общей выживаемости и времени до прогрессирования у больных с изученными злокачественными опухолями ($p < 0,05$) и несут дополнительную прогностическую информацию при использовании совместно с известными факторами прогноза (стадия, пол, возраст, проведённое и предшествующее лечение и его эффективность, молекулярно-генетические маркеры).

8. Прогностическая и предиктивная роль некоторых факторов, таких как общий уровень Т-лимфоцитов, Th, ЦТЛ, CD25⁺ и HLA-DR⁺ активированных лимфоцитов, НК и НКТ, В-лимфоцитов и их соотношений и функциональной активности зависит от типа первичной опухоли (меланомы, саркома мягких тканей, рак почки), характера (адьювантное или самостоятельное) и вида проводимого лечения ($p < 0,05$).

9. Изучение иммунологических показателей, ассоциированных с механизмом действия ипилимумаба, позволило выявить дополнительные маркеры эффективности лечения: уровень клеток памяти у больных меланомой являлся важным независимым фактором прогноза ОБ и ВДП ($p < 0,05$).

10. Ранняя оценка динамики изменений иммунологических параметров на фоне противоопухолевого лечения с учётом минимально определяемых различий является важным прогностическим (CD14⁺ моноциты, лейкоциты, эозинофилы, активированные лимфоциты, НКТ, Treg, лимфоциты, нейтрофилы, Т-лимфоциты, ЦТЛ, ИРИ, NLR) и предиктивным (НК, ЦТЛ, В-лимфоциты) фактором у больных меланомой и саркомами мягких тканей ($p < 0,05$).

11. Совместное использование клинических и иммунологических факторов позволяет прогнозировать прогрессирование заболевания в течение 3 мес. с точностью 80%. Расчётный показатель является фактором прогноза общей выживаемости и времени до прогрессирования ($p < 0,00001$) и может быть использован для своевременного изменения лечебной тактики у конкретного больного.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется проводить оценку состояния ИС в процессе проведения любой терапии для определения прогноза заболевания и эффективности проводимого лечения.

2. Для корректной оценки эффективности терапии и разработки факторов прогноза в многофакторных моделях необходимо учитывать состояние ИС, наличие и характер иммуноопосредованных нежелательных явлений и иммунологический аспект механизма действия препарата.

3. Использование иммунологических тестов первого уровня является минимально необходимым для оценки состояния ИС и определения прогноза заболевания.

4. Оценка параметров ИС, характеризующих иммунологический механизм действия применяемого препарата, необходима для прогнозирования эффективности лечения.

5. Рекомендована комплексная оценка состояния ИС в сочетании с клиническими факторами для прогнозирования дальнейшего эффекта терапии и принятия клинических решений о возобновлении, смене или прекращении терапии.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Комплексные сведения о состоянии иммунной системы при различных злокачественных опухолях расширяют фундаментальные представления об иммунологических изменениях, сопровождающих прогрессирование заболевания и развитие ответа на лечение. Полученные данные подчёркивают необходимость индивидуальной оценки заболеваний на основе выделения отдельных иммунологических синдромов и патогенетических механизмов, участвующих в их развитии. Данная информация может быть использована для оптимизации применения существующих методов лечения, не ограничиваясь иммунотерапевтическими подходами. Кроме того, представленные в работе данные о зависимости значения иммунологических изменений от заболевания, режима терапии представляют основу для рационального комбинирования существующих и новых методов терапии.

Использование методов машинного обучения для комплексного анализа иммунологических данных позволит проводить подбор оптимального метода лечения в данной клинической ситуации. Возможность многократной оценки состояния ИС в процессе терапии создаёт уникальные возможности риск-адаптированного изменения лечебного воздействия для оптимизации методов комплексного лечения, что позволит исключить длительное применение неэффективных подходов к терапии. Последнее, помимо клинического, может иметь и экономический эффект в виде снижения стоимости года качественной жизни и экономии ресурсов здравоохранения. Однако для использования полученных результатов в клинической практике необходимо проведение проспективной оценки и валидации полученных результатов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- Анти-CTLA-4 – препараты, блокирующие четвёртый антиген Т-лимфоцитов (ипилимумаб, тремилимумаб)
- Анти-PD1 – препараты, блокирующие рецептор программируемой клеточной гибели-1 (ниволумаб, пембролизумаб)
- ВГН – верхняя граница нормы
- ВДП – время до прогрессирования
- ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
- ГКГС – главный комплекс гистосовместимости
- ГМВ – вакцины на основе геномодифицированных (*Tag-7* трансфицированных) опухолевых клеток
- ДИ – доверительный интервал
- ДКВ – дендритноклеточная вакцина
- ИЛ-2 – интерлейкин-2
- иНЯ – иммуноопосредованное нежелательное явление
- ИРИ – иммунорегуляторный индекс – отношение CD4⁺ к CD8⁺ лимфоцитам
- ИС – иммунная система
- ИФН – интерфероны
- КАК – клинический анализ крови
- Кон-А – конконовалин-А
- КоС – коэффициент сопряжённости
- КРР – колоректальный рак,
- КЭ – клинический эффект (объединяет все эффекты, за исключением прогрессирования заболевания)
- ЛДГ – лактатдегидрогеназа
- МИС – модуляторы иммунного синапса (анти-PD1 и анти-CTLA-4)
- МНПК – мононуклеары периферической крови
- МХТ – монокимиотерапия
- НГН – нижняя граница нормы
- НИР – научно-исследовательская работа
- НМВ – немодифицированные вакцины из инактивированных аутологичных опухолевых клеток
- НЯ – нежелательное явление
- ОВ – общая выживаемость

- ОО – объективный ответ
- ОР – относительный риск
- ПЗ – прогрессирование заболевания
- ПКР – почечноклеточный рак
- ПМО – первично-множественная опухоль
- ПР – полный регресс
- ПХТ – полихимиотерапия
- РЗ – референсные значения
- СЗ – стабилизация заболевания
- СМТ – саркомы мягких тканей
- ТКИ – ингибиторы тирозинкиназ
- ТТ – таргетная терапия
- ФГА – фитогемагглютинин
- ХИТ – химиоиммунотерапия
- ХТ – химиотерапия
- ЦТЛ – цитотоксические лимфоциты ($CD3^+CD4^+$)
- ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы
- ЧР – частичный регресс
- CD – кластер дифференцировки
- $CD25^+Th$ – $CD25$ активированные Th ($CD3^+CD4^+CD25^+$)
- $CD38^+Th$ – $CD38$ активированные Th ($CD3^+CD4^+CD38^+$)
- $CD38^+$ ЦТЛ – $CD38$ активированные ЦТЛ ($CD3^+CD8^+CD38^+$)
- $CD127^{low}Treg$ – Т-регуляторные клетки, не экспрессирующие $CD127$ ($CD3^+CD4^+CD25^{high}CD127^{low}$)
- CTLA4 – четвертый антиген цитотоксических лимфоцитов
- DN – двойные негативные Т-лимфоциты ($CD3^+CD4^-CD8^-$)
- dNLR – дериват нейтрофильно-лимфоцитарного индекса (соотношение нейтрофилов и разницы между лейкоцитами и нейтрофилами)
- DP – двойные позитивные Т-лимфоциты ($CD3^+CD4^+CD8^+$)
- $FOXP3^+Treg$ – Т-регуляторные клетки, экспрессирующие $FOXP3^+$ ($CD3^+CD4^+CD25^{high}FOXP3^+$)
- FT – критерий Фишера
- $HLA-DR^+Th$ – $HLA-DR$ активированные Th ($CD3^+CD4^+HLA-DR^+$)
- $HLA-DR^+$ ЦТЛ – $HLA-DR$ активированные ЦТЛ ($CD3^+CD8^+HLA-DR^+$)
- $HLA-DR$ – человеческий лейкоцитарный антиген II класса семейства DR

- irRC – критерии ответа, адаптированные для иммунотерапии (immune related Response Criteria)
- Ig – иммуноглобулины; следующая буква обозначает класс иммуноглобулина, например, IgM – иммуноглобулины класса M
- LMR – лимфоцитарно-моноцитарный индекс (отношение уровня лимфоцитов к уровню моноцитов)
- LOA – границы согласия (Limits of Agreement)
- LRT – Likelihood ratio test – тест максимального правдоподобия (отношение правдоподобия)
- LY – лимфоциты
- MDD – минимально определяемые различия (Minimal Detectable Difference)
- NK – естественные киллеры (CD3⁻CD16⁺CD56⁺)
- NKG2D⁺NK – NKG2D активированные NK (CD3⁻CD16⁺CD56⁺NKG2D⁺)
- NKG2D⁺ЦТЛ – NKG2D активированные ЦТЛ (CD3⁺CD8⁺NKG2D⁺)
- NKT – Т-лимфоциты с маркерами естественных киллеров (CD3⁺CD16⁺CD56⁺)
- NLR – нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (отношение уровня нейтрофилов к уровню лимфоцитов)
- NMR – отношение нейтрофилов к моноцитам
- NMRL – отношение нейтрофилов и моноцитов к лимфоцитам
- NPS – прогностический индекс нейтрофилов и тромбоцитов
- PD-1 – рецептор программируемой клеточной гибели-1 (program death-1)
- PD-L1 – первый лиганд рецептора программируемой клеточной гибели-1 (PD-1 ligand-1)
- PLR – тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс (отношение уровня тромбоцитов к уровню лимфоцитов)
- PMR – отношение тромбоцитов к моноцитам
- RECIST – Система оценки ответа на лечение при солидных опухолях (Response Evaluation System for Solid Tumors)
- ROC-кривая – Площадь под кривой ошибок (Receiver Operating Characteristic Area Under the Curve, ROC AUC)
- T_{cm} – клетки центральной памяти (CD3⁺CD45RA⁻CD62L⁺)
- T_{em} – клетки эффекторной памяти (CD3⁺CD45RA⁻CD62L⁻)
- T_h – Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺)
- T_{naïv} – наивные Т-лимфоциты (CD3⁺CD45RA⁺CD62L⁺)
- Treg – Т-регуляторные клетки, включают CD127^{low}Treg и FOXP3⁺Treg
- U – коэффициент неопределенности (Uncertainty Coefficient, Theils U-coefficient)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tumor evolution: Linear, branching, neutral or punctuated? / A. Davis, R. Gao, N. Navin // *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer.* – 2017. – Vol. 1867, No 2. – P. 151-161. – DOI: 10.1016/j.bbcan.2017.01.003.
2. Intratumor heterogeneity: evolution through space and time / C. Swanton // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72, No 19. – P. 4875-82. – DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2217.
3. Acquired resistance and clonal evolution in melanoma during BRAF inhibitor therapy / H. Shi, W. Hugo, X. Kong [et al.] // *Cancer Discov.* – 2014. – Vol. 4, No 1. – P. 80-93. – DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0642.
4. Intratumour heterogeneity in urologic cancers: from molecular evidence to clinical implications / M. Gerlinger, J.W. Catto, T.F. Orntoft [et al.] // *Eur. Urol.* – 2015. – Vol. 67, No 4. – P. 729-37. – DOI: 10.1016/j.eururo.2014.04.014.
5. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy / J. Couzin-Frankel // *Science.* – 2013. – Vol. 342, No 6165. – P. 1432-3. – DOI: 10.1126/science.342.6165.1432.
6. Systematic review of combinations of targeted or immunotherapy in advanced solid tumors / A.C. Tan, S.J. Bagley, P.Y. Wen [et al.] // *J. Immunother. Cancer.* – 2021. – Vol. 9, No 7. – Art. e002459. – DOI: 10.1136/jitc-2021-002459.
7. DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology / V.T. DeVita, T.S. Lawrence, S.A. Rosenberg. – 11th edition. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2019. – 2390 p.
8. История иммунотерапии рака / В.М. Моисеенко, Н.М. Волков // *Практическая онкология.* – 2016. – Т. 17, № 2. – С. 53-61. – DOI: 10.31917/1702053.
9. Cancer Immunotherapies: From Efficacy to Resistance Mechanisms – Not Only Checkpoint Matters / S. Wang, K. Xie, T. Liu // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 690112. – DOI: 10.3389/fimmu.2021.690112.
10. Cancer immunology. The «cancer immunogram» / C.U. Blank, J.B. Haanen, A. Ribas, T.N. Schumacher // *Science.* – 2016. – Vol. 352, No 6286. – P. 658-60. – DOI: 10.1126/science.aaf2834.
11. Perspective on immune oncology with liquid biopsy, peripheral blood mononuclear cells, and microbiome with non-invasive biomarkers in cancer patients / A. Mitsuhashi, Y. Okuma // *Clin. Transl. Oncol.* – 2018. – Vol. 20, No 8. – P. 966-974. – DOI: 10.1007/s12094-017-1827-7.
12. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria / J.D. Wolchok, A. Hoos, S. O'Day [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2009. – Vol. 15, No 23. – P. 7412-20. – DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-09-1624.

13. Иммунология по Ярилину: учебник / К.-С.Н.К. Атретханы, А.С. Байсангуров, А.В. Боголюбова [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – DOI: 10.33029/9704-4552-5-IA-2021-1-808. – 808 с.
14. Tumour escape mechanisms and their therapeutic implications in combination tumour therapy / S.K. Bhutia, S.K. Mallick, T.K. Maiti // *Cell. Biol. Int.* – 2010. – Vol. 34, No 5. – P. 553-563. – DOI: 10.1042/cbi20090206.
15. Cancer immunotherapy: Opportunities and challenges in the rapidly evolving clinical landscape / L.A. Emens, P.A. Ascierto, P.K. Darcy [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2017. – Vol. 81. – P. 116-129. – DOI: 10.1016/j.ejca.2017.01.035.
16. Devita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology / V.T. DeVita T.S. Lawrence, S.A. Rosenberg. – 10th ed. – Philadelphia: Wolters Kluwer Health, 2015. – 2280 p.
17. The ABCs of preventing hyperprogressive disease after immunotherapy: awareness, biomarkers, and combination / K. Suda // *J. Thorac. Dis.* – 2019. – Vol. 11, Suppl 3. – P. S347-S351. – DOI: 10.21037/jtd.2018.12.112.
18. Pseudoprogression and hyperprogression after checkpoint blockade / Q. Wang, J. Gao, X. Wu // *Int. Immunopharmacol.* – 2018. – Vol. 58. – P. 125-135. – DOI: 10.1016/j.intimp.2018.03.018.
19. Принципы современной иммунотерапии / А.В. Новик // *Фарматека.* – 2018. – Т. 7, № 360. – С. 10-18. – DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/pharmateca.2018.7.10-18>.
20. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion / R.D. Schreiber, L.J. Old, M.J. Smyth // *Science.* – 2011. – Vol. 331, No 6024. – P. 1565-70. – DOI: 10.1126/science.1203486.
21. Signatures of mutational processes in human cancer / L.B. Alexandrov, S. Nik-Zainal, D.C. Wedge [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 500, No 7463. – P. 415-21. – DOI: 10.1038/nature12477.
22. Принципы применения современной иммунотерапии в онкологии / А.В. Новик, И.А. Балдуева, Т.Л. Нехаева // *Клеточные технологии практическому здравоохранению / Под общ. ред. проф. Леонтьева С.Л.* – Екатеринбург: ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий; Екатеринбург: Вестник Уральской медицинской академической науки, 2016. – С. 98-100.
23. Beyond PD-L1 Markers for Lung Cancer Immunotherapy / K. Wojas-Krawczyk, E. Kalinka, A. Grenda [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, No 8. – Art. 1915. – DOI: 10.3390/ijms20081915.
24. Biomarkers for predicting efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors / M. Yi, D. Jiao, H. Xu [et al.] // *Mol. Cancer.* – 2018. – Vol. 17, No 1. – P. 129. – DOI: 10.1186/s12943-018-0864-3.

25. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance / P.C. Tumeh, C.L. Harview, J.H. Yearley [et al.] // *Nature*. – 2014. – Vol. 515, No 7528. – P. 568-71. – DOI: 10.1038/nature13954.

26. Approaches to treat immune hot, altered and cold tumours with combination immunotherapies / J. Galon, D. Bruni // *Nat. Rev. Drug. Discov.* – 2019. – Vol. 18, No 3. – P. 197-218. – DOI: 10.1038/s41573-018-0007-y.

27. Effect of the lymphocyte-to-monocyte ratio on the clinical outcome of chemotherapy administration in advanced melanoma patients / A.A. Leontovich, R.S. Dronca, W.K. Nevala [et al.] // *Melanoma Res.* – 2017. – Vol. 27, No 1. – P. 32-42. – DOI: 10.1097/cmr.0000000000000290.

28. Principles of Immunotherapy in Melanoma / A.A. Onitilo, J.A. Wittig // *Surg. Clin. North Am.* – 2020. – Vol. 100, No 1. – P. 161-173. – DOI: 10.1016/j.suc.2019.09.009.

29. iRECIST: how to do it / T. Persigehl, S. Lennartz, L.H. Schwartz // *Cancer Imaging*. – 2020. – Vol. 20, No 1. – P. 2. – DOI: 10.1186/s40644-019-0281-x.

30. «Finding NEMO» in NRAS-mutant melanoma: a step towards a sequential strategy? / M. Bersanelli, A. Leonetti, S. Buti, M. Michiara // *Lancet Oncol.* – 2017. – Vol. 18, No 6. – P. e298. – DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30349-2.

31. Pooled Analysis of Long-Term Survival Data From Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma / D. Schadendorf, F.S. Hodi, C. Robert [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33, No 17. – P. 1889-94. – DOI: 10.1200/jco.2014.56.2736.

32. Observer variability in RECIST-based tumour burden measurements: a meta-analysis / S.H. Yoon, K.W. Kim, J.M. Goo [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2016. – Vol. 53. – P. 5-15. – DOI: 10.1016/j.ejca.2015.10.014.

33. A Simulation Study to Evaluate the Impact of the Number of Lesions Measured on Response Assessment / C.S. Moskowitz, X. Jia, L.H. Schwartz, M. Gönen // *Eur. J. Cancer*. – 2009. – Vol. 45, No 2. – P. 300-10. – DOI: 10.1016/j.ejca.2008.11.010.

34. Optimizing immune-related tumor response assessment: does reducing the number of lesions impact response assessment in melanoma patients treated with ipilimumab? / M. Nishino, M. Gargano, M. Suda [et al.] // *J. Immunother. Cancer*. – 2014. – Vol. 2. – Art. 17. – DOI: 10.1186/2051-1426-2-17.

35. Developing a common language for tumor response to immunotherapy: immune-related response criteria using unidimensional measurements / M. Nishino, A. Giobbie-Hurder, M. Gargano [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2013. – Vol. 19, No 14. – P. 3936-43. – DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-13-0895.

36. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics / L. Seymour, J. Bogaerts, A. Perrone [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2017. – Vol. 18, No 3. – P. e143-e152. – DOI: 10.1016/s1470-2045(17)30074-8.

37. Comparison of the RECIST 1.0 and RECIST 1.1 in patients treated with targeted agents: a pooled analysis and review / J.H. Kim // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7, No 12. – P. 13680-7. – DOI: 10.18632/oncotarget.7322.

38. Значение плоидности ДНК в определении прогноза диссеминированной меланомы кожи и оценке эффективности лечения интерлейкином-2 / А.В. Новик, В.И. Новик, В.М. Моисеенко // *Вопросы онкологии.* – 2007. – Т. 53, № 2. – С. 158-163.

39. Pembrolizumab as Second-Line Therapy for Advanced Urothelial Carcinoma / J. Bellmunt, R. de Wit, D.J. Vaughn [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2017. – Vol. 376, No 11. – P. 1015-1026. – DOI: 10.1056/NEJMoa1613683.

40. Incidence rates of immune-related adverse events and their correlation with response in advanced solid tumours treated with NIVO or NIVO+IPI: a systematic review and meta-analysis / P. Xing, F. Zhang, G. Wang [et al.] // *J. Immunother. Cancer.* – 2019. – Vol. 7, No 1. – P. 341. – DOI: 10.1186/s40425-019-0779-6.

41. ClinicalTrials.gov for Facilitating Rapid Understanding of Potential Harms of New Drugs: The Case of Checkpoint Inhibitors / A. Yang, S. Baxi, D. Korenstein // *J. Oncol. Pract.* – 2018. – Vol. 14, No 2. – P. 72-76. – DOI: 10.1200/jop.2017.025114.

42. Fatal Toxic Effects Associated With Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Meta-analysis / D.Y. Wang, J.E. Salem, J.V. Cohen [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2018. – Vol. 4, No 12. – P. 1721-1728. – DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.3923.

43. Emerging PD-1 and PD-1L inhibitors-associated myopathy with a characteristic histopathological pattern / A. Matas-Garcia, J.C. Milisenda, A. Selva-O'Callaghan [et al.] // *Autoimmun. Rev.* – 2020. – Vol. 19, No 2. – P. 102455. – DOI: 10.1016/j.autrev.2019.102455.

44. Neurological Immune Related Adverse Events Associated with Nivolumab, Ipilimumab, and Pembrolizumab Therapy-Review of the Literature and Future Outlook / N. Mohn, G. Beutel, R. Gutzmer [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2019. – Vol. 8, No 11. – Art. 1777. – DOI: 10.3390/jcm8111777.

45. Cardiac Complications in Immune Checkpoint Inhibition Therapy / K. Tajiri, M. Ieda // *Front. Cardiovasc. Med.* – 2019. – Vol. 6. – P. 3. – DOI: 10.3389/fcvm.2019.00003.

46. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). – 2018 [Electronic resource]. – URL: https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm (дата обращения: 09.01.2020).

47. Практические рекомендации по управлению иммуноопосредованными нежелательными явлениями / С.А. Проценко, Н.Ю. Антимоник, Л.М. Берштейн [и др.] // Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO. – 2019. – Т. 9, № 3s2. – С. 704–734. – DOI: 10.18027 / 2224-5057-2019-9-3s2-704-734.

48. ClinicalTrials.gov for Facilitating Rapid Understanding of Potential Harms of New Drugs: The Case of Checkpoint Inhibitors / A. Yang, S. Baxi, D. Korenstein // J. Oncol. Pract. – 2018. – Vol. 14, No 2. – P. 72-76. – DOI: 10.1200/jop.2017.025114.

49. Application of the immunological disease continuum to study autoimmune and other inflammatory events after vaccination / H.C. Koenig, A. Sutherland, H.S. Izurieta, D. McGonagle // Vaccine. – 2011. – Vol. 29, No 5. – P. 913-9. – DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.10.044.

50. Tumour- and class-specific patterns of immune-related adverse events of immune checkpoint inhibitors: a systematic review / L. Khoja, D. Day, T. Wei-Wu Chen [et al.] // Ann. Oncol. – 2017. – Vol. 28, No 10. – P. 2377-2385. – DOI: 10.1093/annonc/mdx286.

51. Adverse Renal Effects of Immune Checkpoint Inhibitors: A Narrative Review / R. Wanchoo, S. Karam, N.N. Uppal [et al.] // Am. J. Nephrol. – 2017. – Vol. 45, No 2. – P. 160-169. – DOI: 10.1159/000455014.

52. Immunity feedback and clinical outcome in colon cancer patients undergoing chemoimmunotherapy with gemcitabine + FOLFOX followed by subcutaneous granulocyte macrophage colony-stimulating factor and aldesleukin (GOLFIG-1 Trial) / P. Correale, P. Tagliaferri, A. Fioravanti [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2008. – Vol. 14, No 13. – P. 4192-9. – DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-07-5278.

53. Вторичные иммунодефициты: Клинико-лабораторная диагностика / И.А. Новикова // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – № 1 (19). – С. 29-34.

54. Аллергология и иммунология: национальное руководство / Под ред. Хаитова Р.М., Ильиной Н.И. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 656 с.

55. The tumor immunoenvironment / Ed. by Shurin M.R., Umansky V., Malyguine A. – New York: Springer, 2013. – 745 p.

56. The Immunoscore: Colon Cancer and Beyond / H.K. Angell, D. Bruni, J.C. Barrett [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2020. – Vol. 26, No 2. – P. 332-339. – DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-18-1851.

57. Cancer: evolution within a lifetime / M. Gerlinger, N. McGranahan, S.M. Dewhurst [et al.] // Ann. Rev. Genet. – 2014. – Vol. 48. – P. 215-36. – DOI: 10.1146/annurev-genet-120213-092314.

58. [Increased serum IL-6 and soluble IL-6 receptor in breast cancer patients after radiotherapy are correlated with proportions of immune cells] / S. Xu, J. Yan, W. Xu, Z. Wang // Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. – 2019. – Vol. 35, No 8. – P. 738-743.

59. A decrease of regulatory T cells correlates with overall survival after sunitinib-based antiangiogenic therapy in metastatic renal cancer patients / O. Adotevi, H. Pere, P. Ravel [et al.] // *J. Immunother.* – 2010. – Vol. 33, No 9. – P. 991-8. – DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181f4c208.

60. Predictors of Response to Autologous Dendritic Cell Therapy in Glioblastoma Multiforme / C.I. Jan, W.C. Tsai, H.J. Harn [et al.] // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 727. – DOI: 10.3389/fimmu.2018.00727.

61. The prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes and hematologic parameters in patients with breast cancer / K.H. Lee, E.Y. Kim, J.S. Yun [et al.] // *BMC Cancer.* – 2018. – Vol. 18, No 1. – P. 938. – DOI: 10.1186/s12885-018-4832-5.

62. Programmed death ligand 1 expression in esophageal cancer following definitive chemoradiotherapy: Prognostic significance and association with inflammatory biomarkers / Y. Tang, G. Li, S. Wu [et al.] // *Oncol. Lett.* – 2018. – Vol. 15, No 4. – P. 4988-4996. – DOI: 10.3892/ol.2018.7984.

63. Проточная цитометрия в медицине и биологии / А.В. Зурочка, С.В. Хайдуков, И.В. Кудрявцев, В.А. Черешнев. – Екатеринбург: Ред.-изд. отдел Уральского отделения РАН, 2019. – 552 с.

64. Validation of biomarkers to predict response to immunotherapy in cancer: Volume I – pre-analytical and analytical validation / G.V. Masucci, A. Cesano, R. Hawtin [et al.] // *J. Immunother. Cancer.* – 2016. – Vol. 4. – P. 76. – DOI: 10.1186/s40425-016-0178-1.

65. Иммунологическое обеспечение онкологических больных: медицинская технология / А.А. Савченко, Э.В. Каспаров, А.А. Модестов [и др.]. – Красноярск: Версона, 2019. – 41 с.

66. Prognostic Significance of Preoperative Systemic Cellular Inflammatory Markers in Gliomas: A Systematic Review and Meta-Analysis / D.P. Wang, K. Kang, Q. Lin, J. Hai // *Clin. Transl. Sci.* – 2020. – Vol. 13, No 1. – P. 179-188. – DOI: 10.1111/cts.12700.

67. Prognostic significance of elevated pretreatment systemic inflammatory markers for patients with prostate cancer: a meta-analysis / H. Peng, X. Luo // *Cancer Cell. Int.* – 2019. – Vol. 19. – P. 70. – DOI: 10.1186/s12935-019-0785-2.

68. Naples Prognostic Score Is a Useful Prognostic Marker in Patients With Metastatic Colorectal Cancer / Y. Miyamoto, Y. Hiyoshi, N. Daitoku [et al.] // *Dis. Colon. Rectum.* – 2019. – Vol. 62, No 12. – P. 1485-1493. – DOI: 10.1097/dcr.0000000000001484.

69. Absolute granulocyte, lymphocyte, and monocyte counts. Useful determinants of prognosis for patients with metastatic cancer of the stomach / H.W. Bruckner, P.T. Lavin, S.C. Plaxe [et al.] // *JAMA.* – 1982. – Vol. 247, No 7. – P. 1004-1006.

70. Derived neutrophil lymphocyte ratio is predictive of survival from intermittent therapy in advanced colorectal cancer: a post hoc analysis of the MRC COIN study / T. Grenader, S. Nash, R. Adams [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2016. – Vol. 114, No 6. – P. 612-5. – DOI: 10.1038/bjc.2016.23.

71. Independent predictors of survival in endometrium cancer: platelet-to-lymphocyte ratio and platelet/neutrophil/monocyte-to-lymphocyte ratio / G. Kimyon Comert, O. Turkmen, I. Kar [et al.] // *J. Turk. Ger. Gynecol. Assoc.* – 2018. – Vol. 19, No 2. – P. 78-86. – DOI: 10.4274/jtgga.2017.0112.

72. Prognostic significance of pretreatment lymphocyte/monocyte ratio in retroperitoneal liposarcoma patients after radical resection / P. Luo, W. Cai, L. Yang [et al.] // *Cancer Manag. Res.* – 2018. – Vol. 10. – P. 4727-4734. – DOI: 10.2147/cmar.s171602.

73. Low pretreatment lymphocyte/monocyte ratio is associated with the better efficacy of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients / Y. Peng, R. Chen, F. Qu [et al.] // *Cancer Biol. Ther.* – 2020. – Vol. 21, No 2. – P. 189-196. – DOI: 10.1080/15384047.2019.1680057.

74. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio plus platelet-to-lymphocyte ratio in predicting survival for patients with stage I-II gastric cancer / X. Sun, X. Liu, J. Liu [et al.] // *Chin. J. Cancer.* – 2016. – Vol. 35, No 1. – P. 57. – DOI: 10.1186/s40880-016-0122-2.

75. Fibrinogen-Albumin Ratio Index (FARI): A More Promising Inflammation-Based Prognostic Marker for Patients Undergoing Hepatectomy for Colorectal Liver Metastases / Y.Y. Wang, Z.Z. Liu, D. Xu [et al.] // *Ann. Surg. Oncol.* – 2019. – Vol. 26, No 11. – P. 3682-3692. – DOI: 10.1245/s10434-019-07586-3.

76. Systemic Inflammatory Markers and Oncologic Outcomes in Patients with High-risk Non-muscle-invasive Urothelial Bladder Cancer / F. Cantiello, G.I. Russo, M.D. Vartolomei [et al.] // *Eur. Urol. Oncol.* – 2018. – Vol. 1, No 5. – P. 403-410. – DOI: 10.1016/j.euo.2018.06.006.

77. The ratios of CD8⁺ T cells to CD4⁺CD25⁺ FOXP3⁺ and FOXP3⁻ T cells correlate with poor clinical outcome in human serous ovarian cancer / C.C. Preston, M.J. Maurer, A.L. Oberg [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, No 11. – Art. e80063. – DOI: 10.1371/journal.pone.0080063.

78. CTL ELISPOT assay / E. Ranieri, I. Popescu, M. Gigante // *Methods Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 1186. – P. 75-86. – DOI: 10.1007/978-1-4939-1158-5_6.

79. Association of Depressed Anti-HER2 T-Helper Type 1 Response With Recurrence in Patients With Completely Treated HER2-Positive Breast Cancer: Role for Immune Monitoring / J. Datta, M. Fracol, M.T. McMillan [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2016. – Vol. 2, No 2. – P. 242-6. – DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.5482.

80. Blood immune cell biomarkers in lung cancer / D. Riemann, M. Cwikowski, S. Turzer [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2019. – Vol. 195, No 2. – P. 179-189. – DOI: 10.1111/cei.13219.

81. Состояние иммунитета и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при раке гортани / Ю.А. Витковский, Л.В. Ильиных, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Медицинская иммунология. – 2007. – Т. 9, № 6. – С. 653-659.
82. Circulating T cell subsets are associated with clinical outcome of anti-VEGF-based 1st-line treatment of metastatic colorectal cancer patients: a prospective study with focus on primary tumor sidedness / B. Bencsikova, E. Budinska, I. Selingerova [et al.] // BMC Cancer. – 2019. – Vol. 19, No 1. – Art. 687. – DOI: 10.1186/s12885-019-5909-5.
83. Imbalance in the Th17/Treg and cytokine environment in peripheral blood of patients with adenocarcinoma and squamous cell carcinoma / L. Zhao, J. Yang, H.P. Wang, R.Y. Liu // Med. Oncol. – 2013. – Vol. 30, No 1. – P. 461-7. – DOI: 10.1007/s12032-013-0461-7.
84. Clinical Implications of CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Regulatory T Cell Frequencies After CHP-MAGE-A4 Cancer Vaccination / M. Wada, T. Tsuchikawa, N. Kyogoku [et al.] // Anticancer Res. – 2018. – Vol. 38, No 3. – P. 1435-1444. – DOI: 10.21873/anticancerres.12368.
85. T-cell subtypes in bronchoalveolar lavage fluid and in peripheral blood from patients with primary lung cancer / J. Domagala-Kulawik, G. Hoser, P. Droszcz [et al.] // Diagn. Cytopathol. – 2001. – Vol. 25, No 4. – P. 208-13. – DOI: 10.1002/dc.2040.
86. Intense Foxp3⁺ CD25⁺ regulatory T-cell infiltration is associated with high-grade cutaneous squamous cell carcinoma and counterbalanced by CD8⁺/Foxp3⁺ CD25⁺ ratio / B. Azzimonti, E. Zavattaro, M. Provasi [et al.] // Br. J. Dermatol. – 2015. – Vol. 172, No 1. – P. 64-73. – DOI: 10.1111/bjd.13172.
87. Prognostic significance of immunological parameters in patients with esophageal cancer / S. Tsutsui, K. Sonoda, K. Sumiyoshi [et al.] // Hepatogastroenterology. – 1996. – Vol. 43, No 9. – P. 501-9.
88. Phenotype of peripheral blood leukocytes and survival of patients with metastatic colorectal cancer / P. Vesely, M. Touskova, B. Melichar // Int. J. Biol. Markers. – 2005. – Vol. 20, No 2. – P. 126-33.
89. Клиническая иммунология: Учебник для студентов медицинских вузов / А.М. Земсков, В.М. Земсков, А.В. Караулов / Под. ред. Караулова А.В. – М.: Медицинское информационное агентство, 1999. – 604 с.
90. Клиническая иммунология: учебник / А.М. Земсков, В.М. Земсков, А.В. Караулов / Под ред. Земскова А. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 432 с. с.
91. The role of the systemic inflammatory response in predicting outcomes in patients with operable cancer: Systematic review and meta-analysis / R.D. Dolan, J. Lim, S.T. McSorley [et al.] // Sci. Rep. – 2017. – Vol. 7, No 1. – P. 16717. – DOI: 10.1038/s41598-017-16955-5.

92. The clinical use of the platelet/lymphocyte ratio and lymphocyte/monocyte ratio as prognostic predictors in colorectal cancer: a meta-analysis / Y.H. Guo, H.F. Sun, Y.B. Zhang [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, No 12. – P. 20011-20024. – DOI: 10.18632/oncotarget.15311.

93. Prognostic value of the lymphocyte monocyte ratio in patients with colorectal cancer: A meta-analysis / W. Song, K. Wang, R.J. Zhang, S.B. Zou // *Medicine (Baltimore)*. – 2016. – Vol. 95, No 49. – P. e5540. – DOI: 10.1097/md.00000000000005540.

94. The lymphocyte-to-monocyte ratio as a prognostic indicator in head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis / T. Tham, C. Olson, J. Khaymovich [et al.] // *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* – 2018. – Vol. 275, No 7. – P. 1663-1670. – DOI: 10.1007/s00405-018-4972-x.

95. Pretreatment Lymphocyte Monocyte Ratio Predicts Long-Term Outcomes in Patients with Digestive System Tumor: A Meta-Analysis / J. Zhang, L. Chen, R. Zhou [et al.] // *Gastroenterol. Res. Pract.* – 2016. – Vol. 2016. – Art. 9801063. – DOI: 10.1155/2016/9801063.

96. Absolute numbers of regulatory T cells and neutrophils in corticosteroid-free patients are predictive for response to bevacizumab in recurrent glioblastoma patients / V. Quillien, A.F. Carpentier, A. Gey [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2019. – Vol. 68, No 6. – P. 871-882. – DOI: 10.1007/s00262-019-02317-9.

97. Peripheral CD8⁽⁺⁾ T cell proliferation is prognostic for patients with advanced thoracic malignancies / M.J. McCoy, A.K. Nowak, R.G. van der Most [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2013. – Vol. 62, No 3. – P. 529-39. – DOI: 10.1007/s00262-012-1360-z.

98. Defective levels of both circulating dendritic cells and T-regulatory cells correlate with risk of recurrence in cutaneous melanoma / M. Tucci, L.S. Stucci, F. Mannavola [et al.] // *Clin. Transl. Oncol.* – 2019. – Vol. 21, No 7. – P. 845-854. – DOI: 10.1007/s12094-018-1993-2.

99. Prognostic performance of inflammation-based prognostic indices in patients with resectable colorectal liver metastases / C.P. Neal, V. Cairns, M.J. Jones [et al.] // *Med. Oncol.* – 2015. – Vol. 32, No 5. – P. 144. – DOI: 10.1007/s12032-015-0590-2.

100. Lymphocyte-Monocyte Ratio Significantly Predicts Recurrence in Papillary Thyroid Cancer / M. Yokota, H. Katoh, H. Nishimiya [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2020. – Vol. 246. – P. 535-543. – DOI: 10.1016/j.jss.2019.09.034.

101. Thyroid function alters during neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients: results from the NEOZOTAC trial (BOOG 2010-01) / S. de Groot, L.G. Janssen, A. Charehbili [et al.] // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2015. – Vol. 149, No 2. – P. 461-6. – DOI: 10.1007/s10549-014-3256-4.

102. Варианты иммунного реагирования при раке почки / А.Г. Борисов, А.А. Савченко, И.В. Кудрявцев [и др.] // *Медицинская иммунология*. – 2017. – Т. 19, № 5. – С. 227.

103. Влияние ипилимумаба на субпопуляционную структуру лимфоцитов больных диссеминированной меланомой / З.Г. Кадагидзе, Т.Н. Заботина, О.В. Короткова [и др.] // Практическая онкология. – 2017. – Т. 18, № 3. – С. 285-297.

104. Prognostic value of pre-treatment peripheral blood markers in pancreatic ductal adenocarcinoma and their association with S100A4 expression in tumor tissue / H. Li, X. Tian, Y. Xu [et al.] // *Oncol. Lett.* – 2019. – Vol. 18, No 5. – P. 4523-4534. – DOI: 10.3892/ol.2019.10809.

105. Prognostic and predictive role of neutrophil/lymphocytes ratio in metastatic colorectal cancer: a retrospective analysis of the TRIBE study by GONO / E. Dell'Aquila, C. Cremolini, T. Zeppola [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2018. – Vol. 29, No 4. – P. 924-930. – DOI: 10.1093/annonc/mdy004.

106. Defining an Optimal Cut-Point Value in ROC Analysis: An Alternative Approach / I. Unal // *Comput. Math. Methods Med.* – 2017. – Vol. 2017. – Art. 3762651. – DOI: 10.1155/2017/3762651.

107. Пособие по анализу медико-биологических данных (с примерами в R) / О. Краско. – 2017. – 278 с.

108. Взаимосвязь количества Т-регуляторных клеток с уровнями содержания цитотоксических Т-лимфоцитов и НКТ-клеток у больных раком почки / А.А. Савченко, А.Г. Борисов, И.В. Кудрявцев, А.В. Мошев // *Вопросы онкологии.* – 2017. – Т. 63, № 1. – С. 104-109.

109. Интегральная оценка иммунной системы как новый критерий для назначения эффективной иммунотерапии у больных со злокачественными новообразованиями / М.Н. Стахеева, Д.В. Эйдензон, Н.В. Чердынцева [и др.] // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2018. – Т. 17, № 5. – С. 68-69.

110. *Data Science for Immunologists* / N. Thomas, L. Pallett. – CreateSpace Independent Publishing Platform, 2018. – 159 p.

111. Influence of preoperative treatment and surgical operation on immune function of patients with esophageal carcinoma / S. Tsutsui, M. Morita, H. Kuwano [et al.] // *J. Surg. Oncol.* – 1992. – Vol. 49, No 3. – P. 176-81. – DOI: 10.1002/jso.2930490310.

112. Neoadjuvant chemoradiotherapy of rectal carcinoma: Baseline hematologic parameters influencing outcomes / M. Hodek, I. Sirak, A. Ferko [et al.] // *Strahlenther. Onkol.* – 2016. – Vol. 192, No 9. – P. 632-40. – DOI: 10.1007/s00066-016-0988-6.

113. Иммунофенотип лимфоцитов периферической крови больных первично-операбельным раком молочной железы / Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, Ш.Г. Хакимова [и др.] // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2016. – Т. 15, № 4. – С. 37-39. – DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-4-37-39.

114. The predictive role of preoperative and postoperative neutrophil-lymphocyte ratio in sarcomatoid renal cell carcinoma / R. Mano, J. Flynn, K.A. Blum [et al.] // *Urol. Oncol.* – 2019. – Vol. 37, No 12. – P. 916-923. – DOI: 10.1016/j.urolonc.2019.09.006.

115. Lehnert, B. Plots (Slightly Extended) Bland-Altman Plots. Version 0.3.1. / B. Lehnert. – 2015. – 8 p. – URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/BlandAltmanLeh/BlandAltmanLeh.pdf> (дата обращения 15.03.2016).

116. Biological variation of peripheral blood T-lymphocytes / M. Falay, M. Senes, S. Korkmaz [et al.] // *J. Immunol. Methods.* – 2019. – Vol. 470. – P. 1-5. – DOI: 10.1016/j.jim.2019.04.002.

117. Проточная цитометрия в медицине и биологии / А.В. Зурочка, С.В. Хайдуков, И.В. Кудрявцев, В.А. Черешнев. – Екатеринбург: Ред.-изд. отдел Уральского отделения РАН, 2013. – 552 с.

118. Relationship between sleep disorders and lymphocyte subsets and cytokines in patients with lung cancer / Y. Wang, X.J. Cheng, A.H. Yin [et al.] // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* – 2018. – Vol. 32, No 5. – P. 1231-1237.

119. A psychological intervention reduces inflammatory markers by alleviating depressive symptoms: secondary analysis of a randomized controlled trial / L.M. Thornton, B.L. Andersen, T.A. Schuler, W.E. Carson, 3rd // *Psychosom. Med.* – 2009. – Vol. 71, No 7. – P. 715-24. – DOI: 10.1097/PSY.0b013e3181b0545c.

120. Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids plus vitamin E restore immunodeficiency and prolong survival for severely ill patients with generalized malignancy: a randomized control trial / C.A. Gogos, P. Ginopoulos, B. Salsa [et al.] // *Cancer.* – 1998. – Vol. 82, No 2. – P. 395-402. – DOI: 10.1002/(sici)1097-0142(19980115)82:2<403::aid-cnrcr21>3.0.co;2-1.

121. Does subjective burden of early breast cancer and its treatment affect immune measures during adjuvant therapy? / M.E. Sabbioni, J. Bernhard, H.P. Siegrist [et al.] // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2004. – Vol. 87, No 1. – P. 75-86. – DOI: 10.1023/B:BREA.0000041584.53863.a7.

122. Automated Analysis of Flow Cytometry Data to Reduce Inter-Lab Variation in the Detection of Major Histocompatibility Complex Multimer-Binding T Cells / N.W. Pedersen, P.A. Chandran, Y. Qian [et al.] // *Front. Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – Art. 858. – DOI: 10.3389/fimmu.2017.00858.

123. Improved Standardization of Flow Cytometry Diagnostic Screening of Primary Immunodeficiency by Software-Based Automated Gating / E. Linskens, A.M. Diks, J. Neirinck [et al.] // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – Art. 584646. – DOI: 10.3389/fimmu.2020.584646.

124. Drug development: Raise standards for preclinical cancer research / C.G. Begley, L.M. Ellis // *Nature.* – 2012. – Vol. 483, No 7391. – P. 531-3. – DOI: 10.1038/483531a.

125. Standardization of 8-color flow cytometry across different flow cytometer instruments: A feasibility study in clinical laboratories in Switzerland / H. Glier, I. Heijnen, M. Hauwel [et al.] // *J. Immunol. Methods.* – 2017. – Vol. 475. – Art. 112348. – DOI: 10.1016/j.jim.2017.07.013.

126. Biological variation – reliable data is essential / A.K. Aarsand, T. Roraas, S. Sandberg // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2015. – Vol. 53, No 2. – P. 153-4. – DOI: 10.1515/cclm-2014-1141.

127. Kā vērtēt imunitāti: (melanomas modelis) / A. Muceniece, D. Venskus. – Rīga: Iespīests a/s «Poligrafists», 2007. – 200 p.

128. Использование оценки состояния адаптивной иммунной системы у больных со злокачественными солидными опухолями в качестве предиктивных или прогностических факторов: систематический обзор / А.В. Новик, С.А. Проценко, И.А. Балдуева // *Эффективная фармакотерапия.* – 2020. – Т. 16, № 33. – С. 58-78. – DOI: 10.33978/2307-3586-2020-16-33-58-75.

129. Использование оценки состояния врожденной иммунной системы у больных со злокачественными солидными опухолями в качестве предиктивных или прогностических факторов: систематический обзор / А.В. Новик, С.А. Проценко, И.А. Балдуева // *Эффективная фармакотерапия.* – 2020. – Т. 16, № 8. – С. 58-77. – DOI: 10.1007/s00262-014-1605-0.

130. Prognostic versus predictive value of biomarkers in oncology / C.N. Oldenhuis, S.F. Oosting, J.A. Gietema, E.G. de Vries // *Eur. J. Cancer.* – 2008. – Vol. 44, No 7. – P. 946-53. – DOI: 10.1016/j.ejca.2008.03.006.

131. A conceptual framework for prognostic research / P. Kent, C. Cancelliere, E. Boyle [et al.] // *BMC Med. Res. Methodol.* – 2020. – Vol. 20, No 1. – P. 172. – DOI: 10.1186/s12874-020-01050-7.

132. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource / O. Adeniyi, F. Aguel, A. Agyeman [et al.] – Silver Spring (MD), 2016. – 58 p. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/n/biomarkers/pdf/> (дата обращения 16.04.2019).

133. Blood-Based Biomarkers Are Associated with Disease Recurrence and Survival in Gastrointestinal Stroma Tumor Patients after Surgical Resection / M. Stotz, B. Liegl-Atzwanger, F. Posch [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, No 7. – Art. e0159448. – DOI: 10.1371/journal.pone.0159448.

134. Immunomodulatory effects of high-dose and low-dose interferon alpha2b in patients with high-risk resected melanoma: the E2690 laboratory corollary of intergroup adjuvant trial E1690 / J.M. Kirkwood, T. Richards, H.M. Zarour [et al.] // *Cancer.* – 2002. – Vol. 95, No 5. – P. 1101-12. – DOI: 10.1002/encr.10775.

135. Preoperative Lymphocyte-Monocyte Ratio Is a Predictor of Suboptimal Cytoreduction in Stage III–IV Epithelial Ovarian Cancer / W. Eo, H.B. Kim, Y.J. Lee [et al.] // *Cancer.* – 2016. – Vol. 7, No 13. – P. 1772-1779. – DOI: 10.7150/jca.15724.

136. Immune-Phenotyping and Transcriptomic Profiling of Peripheral Blood Mononuclear Cells From Patients With Breast Cancer: Identification of a 3 Gene Signature Which Predicts Relapse of Triple Negative Breast Cancer / G.A. Foulds, J. Vadakekolathu, T.M.A. Abdel-Fatah [et al.] // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 2028. – DOI: 10.3389/fimmu.2018.02028.

137. Взаимосвязь эффективной цитостатической терапии с состоянием иммунной системы у больных злокачественными новообразованиями / М.Н. Стахеева, Н.В. Чердынцева // *Исследования и практика в медицине.* – 2018. – Т. 5, № S2. – С. 267.

138. Inflammation-based prognostic scores as indicators to select candidates for primary site resection followed by multimodal therapy among colorectal cancer patients with multiple metastases / T. Shimura, Y. Toiyama, S. Saigusa [et al.] // *Int. J. Clin. Oncol.* – 2017. – Vol. 22, No 4. – P. 758-766. – DOI: 10.1007/s10147-017-1113-2.

139. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts recurrence of patients with single-nodule small hepatocellular carcinoma following curative resection: a retrospective report / R. Liao, Z.W. Tang, D.W. Li [et al.] // *World J. Surg. Oncol.* – 2015. – Vol. 13. – P. 265. – DOI: 10.1186/s12957-015-0670-y.

140. Neutrophil:lymphocyte ratios and serum cytokine changes after hepatic artery chimeric antigen receptor-modified T-cell infusions for liver metastases / A. Saied, L. Licata, R.A. Burga [et al.] // *Cancer Gene Ther.* – 2014. – Vol. 21, No 11. – P. 457-62. – DOI: 10.1038/cgt.2014.50.

141. Baseline immune biomarkers as predictors of MBSR(BC) treatment success in off-treatment breast cancer patients / R.R. Reich, C.A. Lengacher, K.E. Kip [et al.] // *Biol. Res. Nurs.* – 2014. – Vol. 16, No 4. – P. 429-37. – DOI: 10.1177/1099800413519494.

142. Иммунологические критерии развития отдаленных метастазов рака толстой кишки / Е.А. Никипелова, О.И. Кит, А.В. Шапошников [и др.] // *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки.* – 2017. – № 3-2 (195-2). – С. 96-101.

143. Ipilimumab treatment decreases monocytic MDSCs and increases CD8 effector memory T cells in long-term survivors with advanced melanoma / Y.P. de Coana, M. Wolodarski, I. Poschke [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, No 13. – P. 21539-21553. – DOI: 10.18632/oncotarget.15368.

144. Субпопуляционный состав лимфоцитов при HER2⁺ и трижды-негативном раке молочной железы / А.И. Черткова, Е.Г. Славина, Л.Г. Жукова [и др.] // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2015. – Т. 14, № 2. – С. 47-52.

145. Рефнот® – новый иммуномодулятор для лечения онкологических больных / М.Р. Личиницер, М.Е. Абрамов, З.Г. Кадагидзе, Е.Г. Славина // *Фарматека.* – 2013. – Т. 17, № 270. – С. 30-33.

146. Psychological, behavioral, and immune changes after a psychological intervention: a clinical trial / B.L. Andersen, W.B. Farrar, D.M. Golden-Kreutz [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2004. – Vol. 22, No 17. – P. 3570-80. – DOI: 10.1200/jco.2004.06.030.

147. Влияние иммунологических параметров на эффективность системной и локо-регионарной иммунотерапии больных диссеминированным раком почки / А.М. Гранов, О.Е. Молчанов, М.И. Карелин [и др.] // *Вопросы онкологии.* – 2009. – Т. 55, № 5. – С. 580-585.

148. T cell profiling reveals high CD4⁺CTLA-4⁺ T cell frequency as dominant predictor for survival after prostate GVAX/ipilimumab treatment / S.J. Santegoets, A.G. Stam, S.M. Loughheed [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2013. – Vol. 62, No 2. – P. 245-56. – DOI: 10.1007/s00262-012-1330-5.

149. Increased Tim-3⁽⁺⁾ T cells in PBMCs during nivolumab therapy correlate with responses and prognosis of advanced esophageal squamous cell carcinoma patients / R. Kato, M. Yamasaki, S. Urakawa [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2018. – Vol. 67, No 11. – P. 1673-1683. – DOI: 10.1007/s00262-018-2225-x.

150. Оценка состояния иммунной системы у больных, получавших первую линию химиотерапии метастатической меланомы кожи в исследовании MMM-1 / А.В. Новик, С.А. Проценко, И.А. Балдуева [и др.] // Тезисы IV Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2018». – СПб.: АНМО «Вопросы онкологии», 2019. – С. 121.

151. Некоторые показатели состояния иммунного статуса у больных раком вульвы / Г.А. Неродо, Е.Ю. Златник, Г.И. Загора, Е.А. Неродо // *Современные проблемы науки и образования.* – 2012. – № 3. – С. 60-66.

152. Effect of treatment on the immunological status of women with advanced breast cancer / D.J. Webster, G. Richardson, M. Baum [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 1979. – Vol. 39, No 6. – P. 676-80. – DOI: 10.1038/bjc.1979.119.

153. Связь иммунологических показателей с эффективностью неoadъювантной химиотерапии у больных раком молочной железы / Я.В. Кухарев, М.Н. Стахеева, А.В. Дорошенко [и др.] // *Сибирский онкологический журнал.* – 2013. – № 2. – С. 50-57.

154. Иммунологические показатели как потенциальные маркеры злокачественности опухолевых клеток и выживаемости пациентов при супратенторальных глиомах головного мозга / С.В. Мишинов, О.Ю. Леплина, Т.В. Тыринова [и др.] // *Российский нейрохирургический журнал им. профессора А.Л. Поленова.* – 2012. – Т. 4, № 1. – С. 29-35.

155. Параметры иммунитета у больных раком желудка / И.Г. Соловьева, Д.Н. Егоров, К.В. Вардосанидзе [и др.] // *Вопросы онкологии.* – 2006. – Т. 52, № 3. – С. 305-308.

156. Состояние иммунной системы и метаболизм здоровых и опухолевых клеток легочной ткани у больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от метастазирования / А.А. Савченко, П.В. Лапешин, Ю.А. Дыхно // Российский биотерапевтический журнал. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 106-112.

157. Особенности состояния иммунного статуса в зависимости от стадии рака желудка / Н.Н. Казакова, А.А. Савченко, М.В. Яцинов // Медицинская иммунология. – 2009. – Т. 11, № 4-5. – С. 429.

158. Динамика уровня CD95⁺-клеток в периферической крови у больных раком яичников в процессе комбинированного лечения / Н.Г. Кормощ, Т.Н. Заботина // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2013. – № 1-2. – С. 82-93.

159. Основные субпопуляции регуляторных лимфоцитов у больных злокачественной меланомой и раком молочной железы / З.Г. Кадагидзе, А.И. Черткова, Т.Н. Заботина [и др.] // Иммунология. – 2014. – Т. 35, № 2. – С. 64-67.

160. Закономерности нарушений активности клеточного звена иммунитета в динамике заболевания раком молочной железы / В.Ю. Барсуков, В.Н. Плохов, Н.П. Чеснокова, И.Н. Павлова // Вестник Волгоградского гос. мед. ун-та. – 2007. – № 1 (21). – С. 47-51.

161. Relationship between immunological parameters and the severity of neutropenia and effect of enteral nutrition on immune status during neoadjuvant chemotherapy on patients with advanced esophageal cancer / M. Motoori, M. Yano, T. Yasuda [et al.] // Oncology. – 2012. – Vol. 83, No 2. – P. 91-100. – DOI: 10.1159/000339694.

162. Reduction in Peripheral CD19⁺CD24^hCD27⁺ B Cell Frequency Predicts Favourable Clinical Course in XELOX-Treated Patients with Advanced Gastric Cancer / W. Li, D. Song, H. Li [et al.] // Cell. Physiol. Biochem. – 2017. – Vol. 41, No 5. – P. 2045-2052. – DOI: 10.1159/000475435.

163. Взаимосвязь эффективности противоопухолевого лечения с состоянием иммунной системы у больных раком гортани и гортаноглотки / М.Н. Стахеева, Е.Л. Чойнзонов, С.Ю. Чижевская, В.А. Бычков // Медицинская иммунология. – 2013. – Т. 15, № 6. – С. 553-562.

164. Прогноз прогрессирования рака желудка на основании оценки состояния иммунной системы как взаимосвязанного целого / М.Н. Стахеева, Д.В. Эйдензон, С.А. Тузиков, А.Ю. Кишкина // Российский онкологический журнал. – 2013. – Т. 4. – С. 55.

165. Зависимость состояния иммунного статуса и метаболизма лимфоцитов от метастазирования при немелкоклеточном раке легкого / А.А. Савченко, Ю.А. Дыхно, П.В. Лапешин // Медицинская иммунология. – 2009. – Т. 11, № 4-5. – С. 434.

166. Состояние иммунной системы как прогностический фактор у больных раком вульвы / Г.А. Неродо, Е.Ю. Златник, Е.А. Неродо, Г.И. Загора // Международный журнал экспериментального образования. – 2013. – № 11-1. – С. 42-45.

167. Recent Development and Clinical Application of Cancer Vaccine: Targeting Neoantigens / R.Y. Pan, W.H. Chung, M.T. Chu [et al.] // J. Immunol. Res. – 2018. – Vol. 2018. – Art. 4325874. – DOI: 10.1155/2018/4325874.

168. Иммунологические параллели при беременности и злокачественных новообразованиях / Н.В. Чердынцева, К.И. Жордания // Онкогинекология. – 2013. – № 3. – С. 4-14.

169. Sunitinib inhibition of Stat3 induces renal cell carcinoma tumor cell apoptosis and reduces immunosuppressive cells / H. Xin, C. Zhang, A. Herrmann [et al.] // Cancer Res. – 2009. – Vol. 69, No 6. – P. 2506-13. – DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4323.

170. Иммунная система и эффективность противоопухолевого лечения / Ю.Г. Кжышковска, М.Н. Стахеева, Н. Литвяков [и др.]. – Томск: Изд-во Томского ун-та. – 2015. – 164 с. – DOI: 10.17223/978-5-7511-2391-8.

171. Иммуногистохимическое изучение экспрессии антигенов клетками меланомы кожи, культивируемыми для приготовления вакцин / В.М. Моисеенко, А.Б. Данилова, А.О. Данилов [и др.] // Вопросы онкологии. – 2008. – Т. 54, № 3. – С. 303-14.

172. TNM classification of malignant tumours / Eighth Edition. Brierley J., Gospodarowicz M. K., Wittekind C. – Oxford, UK; Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc., 2017. – 212 p.

173. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) / E.A. Eisenhauer, P. Therasse, J. Bogaerts [et al.] // Eur. J. Cancer. – 2009. – Vol. 45, No 2. – P. 228-47. – DOI: 10.1016/j.ejca.2008.10.026.

174. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES U.S. – Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5. – 2017. – 155 p.

175. Trial Reporting in Immuno-Oncology (TRIO): an American society of clinical oncology-society for immunotherapy of cancer statement / A.M. Tsimberidou, L.A. Levit, R.L. Schilsky [et al.] // J. Immunother. Cancer. – 2018. – Vol. 6, No 1. – P. 108. – DOI: 10.1186/s40425-018-0426-7.

176. Tukey, John W. Exploratory Data Analysis. Addison-Wesley Publishing Company Reading, Mass. – Menlo Park, Cal., London, Amsterdam, Don Mills, Ontario, Sydney 1977, XVI, 688 S. / H. Beyer // Biometrical Journal. – 1981. – Vol. 23, No 4. – P. 413-414. – DOI: 10.1002/bimj.4710230408.

177. Measuring agreement in method comparison studies / J.M. Bland, D.G. Altman // *Stat. Methods Med. Res.* – 1999. – Vol. 8, No 2. – P. 135-60. – DOI: 10.1177/096228029900800204.

178. *Bootstrap Methods and their Application* / A.C. Davison, D.V. Hinkley. – Cambridge: Cambridge University Press, 1997. – 582 p.

179. Тридцатилетний опыт лекарственного лечения меланомы в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова: важные уроки для будущих исследований / А.В. Новик, С.А. Проценко, Е.М. Анохина [и др.] // *Эффективная фармакотерапия.* – 2020. – Т. 16, № 33. – С. 58-75. – DOI: 10.33978/2307-3586-2020-16-18-20-29.

180. Десятилетний опыт лекарственной терапии сарком мягких тканей / А.В. Новик, Т.Л. Нехаева, А.И. Семенова [и др.] // *Фарматека.* – 2020. – № 11. – С. 30-34. – DOI: 10.18565/pharmateca.2020.11.30-34.

181. Longer Follow-Up Confirms Relapse-Free Survival Benefit With Adjuvant Dabrafenib Plus Trametinib in Patients With Resected BRAF V600-Mutant Stage III Melanoma / A. Hauschild, R. Dummer, D. Schadendorf [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2018. – Vol. 36, No 35. – Art. JCO1801219. – DOI: 10.1200/JCO.18.01219.

182. Adjuvant Pembrolizumab versus Placebo in Resected Stage III Melanoma / A.M.M. Eggermont, C.U. Blank, M. Mandala [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2018. – Vol. 378, No 19. – P. 1789-1801. – DOI: 10.1056/NEJMoa1802357.

183. Adjuvant immunotherapy with nivolumab (Nivo) alone or in combination with ipilimumab (Ipi) versus placebo in stage IV melanoma patients with no evidence of disease (NED): A randomized, double-blind phase 2 trial (IMMUNED) / D. Schadendorf, J.C. Hassel, M. Fluck [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2019. – Vol. 30, Suppl. 5. – P. v851-v934. – DOI: 10.1093/annonc/mdz394.

184. Randomized, Placebo-Controlled, Phase III Trial of Yeast-Derived Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Versus Peptide Vaccination Versus GM-CSF Plus Peptide Vaccination Versus Placebo in Patients With No Evidence of Disease After Complete Surgical Resection of Locally Advanced and/or Stage IV Melanoma: A Trial of the Eastern Cooperative Oncology Group-American College of Radiology Imaging Network Cancer Research Group (E4697) / D.H. Lawson, S. Lee, F. Zhao [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33, No 34. – P. 4066-76. – DOI: 10.1200/jco.2015.62.0500.

185. Эффективность профилактической химиотерапии препаратами ДТГС и араноза у больных с региональными метастазами меланомы кожи / Н.Н. Трапезников, Л.В. Демидов, И.Н. Халястов [и др.] // *Вестник ОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.* – 1998. – Т. 1 – С. 77-80.

186. The effect of tamoxifen and cisplatin on the disease-free and overall survival of patients with high risk malignant melanoma / E.F. McClay, M.E. McClay, L. Monroe [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2000. – Vol. 83, No 1. – P. 16-21. – DOI: 10.1054/bjoc.1999.1220.

187. A randomized phase III trial of biochemotherapy versus interferon-alpha-2b for adjuvant therapy in patients at high risk for melanoma recurrence / K.B. Kim, S.S. Legha, R. Gonzalez [et al.] // *Melanoma Res.* – 2009. – Vol. 19, No 1. – P. 42-9. – DOI: 10.1097/CMR.0b013e328314b84a.

188. Adjuvant low-dose interferon {alpha2a with or without dacarbazine compared with surgery alone: a prospective-randomized phase III DeCOG trial in melanoma patients with regional lymph node metastasis / C. Garbe, P. Radny, R. Linse [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2008. – Vol. 19, No 6. – P. 1195-201. – DOI: 10.1093/annonc/mdn001.

189. Mature results of a phase III randomized trial of bacillus Calmette-Guerin (BCG) versus observation and BCG plus dacarbazine versus BCG in the adjuvant therapy of American Joint Committee on Cancer Stage I-III melanoma (E1673): a trial of the Eastern Oncology Group / S.S. Agarwala, D. Neuberg, Y. Park, J.M. Kirkwood // *Cancer.* – 2004. – Vol. 100, No 8. – P. 1692-1698. – DOI: 10.1002/cncr.20166.

190. Практические рекомендации по лекарственному лечению меланомы кожи / Д.Л. Строяковский, М.Е. Абрамов, Л.В. Демидов [и др.] // *Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO.* – 2019. – Т. 9, № 3s2. – С. 243–258. – DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-3s2-243-258.

191. Adjuvant interferon-alpha for the treatment of high-risk melanoma: An individual patient data meta-analysis / N.J. Ives, S. Suci, A.M.M. Eggermont [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2017. – Vol. 82. – P. 171-183. – DOI: 10.1016/j.ejca.2017.06.006.

192. MAGE-A3 immunotherapeutic as adjuvant therapy for patients with resected, MAGE-A3-positive, stage III melanoma (DERMA): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial / B. Dreno, J.F. Thompson, B.M. Smithers [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2018. – Vol. 19, No 7. – P. 916-929. – DOI: 10.1016/s1470-2045(18)30254-7.

193. Unexpected high response rate to traditional therapy after dendritic cell-based vaccine in advanced melanoma: update of clinical outcome and subgroup analysis / L. Ridolfi, M. Petrini, L. Fiammenghi [et al.] // *Clin. Dev. Immunol.* – 2010. – Vol. 2010. – Art. 504979. – DOI: 10.1155/2010/504979.

194. Применение ипилимумаба у больных диссеминированной меланомой в рамках программы расширенного доступа: Опыт ФГБУ «НМИЦ онкологии им. И.И. Петрова» Минздрава России / Е.М. Анохина, А.В. Новик, С.А. Проценко [и др.] // *Вопросы онкологии.* – 2018. – Т. 64, № 3. – С. 388-393.

195. Adjuvant Autologous Melanoma Vaccine for Macroscopic Stage III Disease: Survival, Biomarkers, and Improved Response to CTLA-4 Blockade / M. Lotem, S. Merims, S. Frank [et al.] // *J. Immunol. Res.* – 2016. – Vol. 2016. – Art. 8121985. – DOI: 10.1155/2016/8121985.

196. Relapse-Free Survival as a Surrogate for Overall Survival in the Evaluation of Stage II–III Melanoma Adjuvant Therapy / S. Suciú, A.M.M. Eggermont, P. Lorigan [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2018. – Vol. 110, No 1. – P. 87-96. – DOI: 10.1093/jnci/djx133.

197. Adjuvant nivolumab (NIVO) versus ipilimumab (IPI) in resected stage III/IV melanoma: 3-year efficacy and biomarker results from the phase 3 CheckMate 238 trial / J. Weber, M. Mandala, M. Del Vecchio [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2019. – Suppl. 5, No 19. – P. v533-v563. – DOI: 10.1093/annonc/mdz255.

198. Survival outcomes in patients with multiple primary melanomas / C.J. Rowe, M.H. Law, J.M. Palmer [et al.] // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2015. – Vol. 29, No 11. – P. 2120-7. – DOI: 10.1111/jdv.13144.

199. Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual / J.E. Gershenwald, R.A. Scolyer, K.R. Hess [et al.] // *CA Cancer J. Clin.* – 2017. – Vol. 67, No 6. – P. 472-492. – DOI: 10.3322/caac.21409.

200. NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma / J.A. Jakob, R.L. Bassett, Jr., C.S. Ng [et al.] // *Cancer.* – 2012. – Vol. 118, No 16. – P. 4014-23. – DOI: 10.1002/cncr.26724.

201. Mucosal Melanoma: Epidemiology, Biology and Treatment / K.R. Spencer, J.M. Mehnert // *Cancer Treat. Res.* – 2016. – Vol. 167. – P. 295-320. – DOI: 10.1007/978-3-319-22539-5_13.

202. Immunotherapies for the Treatment of Uveal Melanoma-History and Future / T.E. Schank, J.C. Hassel // *Cancers (Basel).* – 2019. – Vol. 11, No 8. – Art. 1048. – DOI: 10.3390/cancers11081048.

203. Systemic treatments for metastatic cutaneous melanoma / S. Pasquali, A.V. Hadjinicolaou, V. Chiarion Sileni [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2018. – Vol. 2. – Art. CD011123. – DOI: 10.1002/14651858.CD011123.pub2.

204. Five-Year Outcomes with Dabrafenib plus Trametinib in Metastatic Melanoma / C. Robert, J.J. Grob, D. Stroyakovskiy [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2019. – Vol. 381, No 7. – P. 626-636. – DOI: 10.1056/NEJMoa1904059.

205. Real-world survival of patients with advanced BRAF V600 mutated melanoma treated with front-line BRAF/MEK inhibitors, anti-PD-1 antibodies, or nivolumab/ipilimumab / J.C. Moser, D. Chen, S. Hu-Lieskovan [et al.] // *Cancer Med.* – 2019. – Vol. 8, No 18. – P. 7637-7643. – DOI: 10.1002/cam4.2625.

206. Overall Survival in Patients With Advanced Melanoma Who Received Nivolumab Versus Investigator's Choice Chemotherapy in CheckMate 037: A Randomized, Controlled, Open-Label Phase III Trial / J. Larkin, D. Minor, S. D'Angelo [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2018. – Vol. 36, No 4. – P. 383-390. – DOI: 10.1200/jco.2016.71.8023.

207. Pembrolizumab versus ipilimumab for advanced melanoma: final overall survival results of a multicentre, randomised, open-label phase 3 study (KEYNOTE-006) / J. Schachter, A. Ribas, G.V. Long [et al.] // *Lancet.* – 2017. – Vol. 390, No 10105. – P. 1853-1862. – DOI: 10.1016/s0140-6736(17)31601-x.

208. Ipilimumab 10 mg/kg versus ipilimumab 3 mg/kg in patients with unresectable or metastatic melanoma: a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 trial / P.A. Ascierto, M. Del Vecchio, C. Robert [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2017. – Vol. 18, No 5. – P. 611-622. – DOI: 10.1016/s1470-2045(17)30231-0.

209. Long-term survival in patients (pts) with locally advanced or disseminated Malignant Melanoma (MM) or Renal cell carcinoma (RCC), treated with tag-7 gene-modified (GMV) tumor cells: a Phase II trial / A.V. Novik, A.B. Danilova, I.A. Baldueva [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2019. – Vol. 37, Suppl. – Abstr. e14022.

210. Concurrent versus non-concurrent immune checkpoint inhibition with stereotactic radiosurgery for metastatic brain disease: a systematic review and meta-analysis / V.M. Lu, A. Goyal, R.A. Rovin [et al.] // *J. Neurooncol.* – 2019. – Vol. 141, No 1. – P. 1-12. – DOI: 10.1007/s11060-018-03020-y.

211. Thrombocytopenia in patients with melanoma receiving immune checkpoint inhibitor therapy / E. Shiuan, K.E. Beckermann, A. Ozgun [et al.] // *J. Immunother. Cancer.* – 2017. – Vol. 5. – P. 8. – DOI: 10.1186/s40425-017-0210-0.

212. Clinical and economic outcomes associated with treatment sequences in patients with BRAF-mutant advanced melanoma / A. Tarhini, D. McDermott, A. Ambavane [et al.] // *Immunotherapy.* – 2019. – Vol. 11, No 4. – P. 283-295. – DOI: 10.2217/imt-2018-0168.

213. Cancer immunotherapy efficacy and patients' sex: a systematic review and meta-analysis / F. Conforti, L. Pala, V. Bagnardi [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2018. – Vol. 19, No 6. – P. 737-746. – DOI: 10.1016/s1470-2045(18)30261-4.

214. Gender and other survival predictors in patients with metastatic melanoma on Southwest Oncology Group trials / J.M. Unger, L.E. Flaherty, P.Y. Liu [et al.] // *Cancer.* – 2001. – Vol. 91, No 6. – P. 1148-55. – DOI: 10.1002/1097-0142(20010315)91:6<1148::aid-cnrcr1111>3.0.co;2-#.

215. Salvage Therapy in Advanced Adult Soft Tissue Sarcoma: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Trials / A. Comandone, F. Petrelli, A. Boglione, S. Barni // *Oncologist*. – 2017. – Vol. 22, No 12. – P. 1518-1527. – DOI: 10.1634/theoncologist.2016-0474.
216. Multi-agent chemotherapy in advanced soft tissue sarcoma (STS) – A systematic review and meta-analysis / A. Zer, R.M. Prince, E. Amir, A.R. Abdul Razak // *Cancer Treat. Rev.* – 2018. – Vol. 63. – P. 71-78. – DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.12.003.
217. Surrogacy of intermediate endpoints for overall survival in randomized controlled trials of first-line treatment for advanced soft tissue sarcoma in the pre- and post-pazopanib era: a meta-analytic evaluation / K. Tanaka, M. Kawano, T. Iwasaki [et al.] // *BMC Cancer*. – 2019. – Vol. 19, No 1. – P. 56. – DOI: 10.1186/s12885-019-5268-2.
218. A meta-analysis of randomized controlled trials that compare standard doxorubicin with other first-line chemotherapies for advanced/metastatic soft tissue sarcomas / K. Tanaka, M. Kawano, T. Iwasaki [et al.] // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14, No 1. – P. e0210671. – DOI: 10.1371/journal.pone.0210671.
219. Predictive and prognostic factors associated with soft tissue sarcoma response to chemotherapy: a subgroup analysis of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer 62012 study / R.J. Young, S. Litiere, M. Lia [et al.] // *Acta Oncol.* – 2017. – Vol. 56, No 7. – P. 1013-1020. – DOI: 10.1080/0284186x.2017.1315173.
220. Biologic Activity of Autologous, Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Secreting Alveolar Soft-Part Sarcoma and Clear Cell Sarcoma Vaccines / J.M. Goldberg, D.E. Fisher, G.D. Demetri [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2015. – Vol. 21, No 14. – P. 3178-86. – DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-14-2932.
221. A phase I trial combining decitabine/dendritic cell vaccine targeting MAGE-A1, MAGE-A3 and NY-ESO-1 for children with relapsed or therapy-refractory neuroblastoma and sarcoma / D.K. Krishnadas, S. Shusterman, F. Bai [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2015. – Vol. 64, No 10. – P. 1251-60. – DOI: 10.1007/s00262-015-1731-3.
222. Adjuvant Therapy in High-Risk Renal Cell Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis / I.B. Riaz, W. Faridi, M. Husnain [et al.] // *Mayo Clin. Proc.* – 2019. – Vol. 94, No 8. – P. 1524-1534. – DOI: 10.1016/j.mayocp.2019.01.045.
223. Adjuvant Tyrosine Kinase Inhibitors in Treatment of Renal Cell Carcinoma: A Meta-Analysis of Available Clinical Trials / F. Massari, V. Di Nunno, V. Mollica [et al.] // *Clin. Genitourin. Cancer*. – 2019. – Vol. 17, No 2. – P. e339-e344. – DOI: 10.1016/j.clgc.2018.12.011.
224. Adjuvant autologous tumour cell-lysate vaccine versus no adjuvant treatment in patients with M0 renal cell carcinoma after radical nephrectomy: 3-year interim analysis of a German

multicentre phase-III trial / C. Doehn, A. Richter, W. Lehmacher, D. Jocham // *Folia Biol. (Praha)*. – 2003. – Vol. 49, No 2. – P. 69-73.

225. Adjuvant Sunitinib for High-risk Renal Cell Carcinoma After Nephrectomy: Subgroup Analyses and Updated Overall Survival Results / R.J. Motzer, A. Ravaud, J.J. Patard [et al.] // *Eur. Urol.* – 2018. – Vol. 73, No 1. – P. 62-68. – DOI: 10.1016/j.eururo.2017.09.008.

226. Axitinib versus placebo as an adjuvant treatment of renal cell carcinoma: results from the phase III, randomized ATLAS trial / M. Gross-Goupil, T.G. Kwon, M. Eto [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2018. – Vol. 29, No 12. – P. 2371-2378. – DOI: 10.1093/annonc/mdy454.

227. Radiofrequency ablation versus partial nephrectomy for treatment of renal masses: A systematic review and meta-analysis / X.W. Pan, X.M. Cui, H. Huang [et al.] // *Kaohsiung J. Med. Sci.* – 2015. – Vol. 31, No 12. – P. 649-58. – DOI: 10.1016/j.kjms.2015.09.007.

228. Adoptive transfer of vaccine-induced peripheral blood mononuclear cells to patients with metastatic melanoma following lymphodepletion / D.J. Powell, Jr., M.E. Dudley, K.A. Hogan [et al.] // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177, No 9. – P. 6527-39. – DOI: 10.4049/jimmunol.177.9.6527.

229. First-line axitinib versus sorafenib in Asian patients with metastatic renal cell carcinoma: exploratory subgroup analyses of Phase III data / X. Sheng, F. Bi, X. Ren [et al.] // *Future Oncol.* – 2019. – Vol. 15, No 1. – P. 53-63. – DOI: 10.2217/fon-2018-0442.

230. Pembrolizumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma / B.I. Rini, E.R. Plimack, V. Stus [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2019. – Vol. 380, No 12. – P. 1116-1127. – DOI: 10.1056/NEJMoa1816714.

231. A phase 2, randomized trial evaluating the combination of dalantercept plus axitinib in patients with advanced clear cell renal cell carcinoma / M.H. Voss, R.S. Bhatt, N.J. Vogelzang [et al.] // *Cancer.* – 2019. – Vol. 125, No 14. – P. 2400-2408. – DOI: 10.1002/cncr.32061.

232. Long-term follow-up of overall survival for cabozantinib versus everolimus in advanced renal cell carcinoma / R.J. Motzer, B. Escudier, T. Powles [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2018. – Vol. 118, No 9. – P. 1176-1178. – DOI: 10.1038/s41416-018-0061-6.

233. Treatment sequence with either irinotecan/cetuximab followed by FOLFOX-4 or the reverse strategy in metastatic colorectal cancer patients progressing after first-line FOLFIRI/bevacizumab: An Italian Group for the Study of Gastrointestinal Cancer phase III, randomised trial comparing two sequences of therapy in colorectal metastatic patients / S. Cascinu, G. Rosati, G. Nasti [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2017. – Vol. 83. – P. 106-115. – DOI: 10.1016/j.ejca.2017.06.029.

234. Effect of Fruquintinib vs Placebo on Overall Survival in Patients With Previously Treated Metastatic Colorectal Cancer: The FRESCO Randomized Clinical Trial / J. Li,

S. Qin, R.H. Xu [et al.] // JAMA. – 2018. – Vol. 319, No 24. – P. 2486-2496. – DOI: 10.1001/jama.2018.7855.

235. Second-line systemic therapy for metastatic colorectal cancer / S. Mocellin, Z. Baretta, I.F.M. Roque [et al.] // Cochrane Database Syst. Rev. – 2017. – Vol. 1. – Art. Cd006875. – DOI: 10.1002/14651858.CD006875.pub3.

236. Choosing a new CD4 technology: Can statistical method comparison tools influence the decision? / L.E. Scott, L. Kestens, K. Pattanapanyasat [et al.] // Cytometry. B: Clin. Cytom. – 2017. – Vol. 92, No 6. – P. 465-475. – DOI: 10.1002/cyto.b.21522.

237. Validation of biomarkers to predict response to immunotherapy in cancer: Volume II – clinical validation and regulatory considerations / K.K. Dobbin, A. Cesano, J. Alvarez [et al.] // J. Immunother. Cancer. – 2016. – Vol. 4. – P. 77. – DOI: 10.1186/s40425-016-0179-0.

238. А.В. Зурочка, С.В. Хайдуков, И.В. Кудрявцев, В.А. Черешнев. Основные этапы пробоподготовки образцов при исследовании лейкоцитов периферической крови в клинической практике // Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. – Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018. – С. 37-47.

239. Standardizing Flow Cytometry Immunophenotyping Analysis from the Human ImmunoPhenotyping Consortium / G. Finak, M. Langweiler, M. Jaimes [et al.] // Sci. Rep. – 2016. – Vol. 6. – Art. 20686. – DOI: 10.1038/srep20686.

240. Data analysis as a source of variability of the HLA-peptide multimer assay: from manual gating to automated recognition of cell clusters / C. Gouttefangeas, C. Chan, S. Attig [et al.] // Cancer Immunol. Immunother. – 2015. – Vol. 64, No 5. – P. 585-98. – DOI: 10.1007/s00262-014-1649-1.

241. The Immunology Quality Assessment Proficiency Testing Program for CD3⁽⁺⁾4⁽⁺⁾ and CD3⁽⁺⁾8⁽⁺⁾ lymphocyte subsets: a ten year review via longitudinal mixed effects modeling / J. Bainbridge, C.L. Wilkening, W. Rountree [et al.] // J. Immunol. Methods. – 2014. – Vol. 409. – P. 82-90. – DOI: 10.1016/j.jim.2014.05.017.

242. Flow cytometric lymphocyte subset enumeration: 10 years of external quality assessment in the Benelux countries / W.H. Levering, W.N. van Wieringen, J. Kraan [et al.] // Cytometry. B: Clin. Cytom. – 2008. – Vol. 74, No 2. – P. 79-90. – DOI: 10.1002/cyto.b.20370.

243. Immunophenotyping of cerebrospinal fluid cells by Chipcytometry / M.W. Hummert, S. Alvermann, S. Gingele [et al.] // J. Neuroinflammation. – 2018. – Vol. 15, No 1. – P. 160. – DOI: 10.1186/s12974-018-1176-7.

244. CD4 results with a bias larger than hundred cells per microliter can have a significant impact on the clinical decision during treatment initiation of HIV patients / G. Daneau, J. Buyze,

D. Wade [et al.] // *Cytometry. B: Clin. Cytom.* – 2017. – Vol. 92, No 6. – P. 476-484. – DOI: 10.1002/cyto.b.21366.

245. Comparison of two methodologies for CD4⁽⁺⁾ T lymphocytes relative counting on immune monitoring of patients with human immunodeficiency virus / D.C. Kalva Borato, E. Carraro, S.R. Weber Ribas [et al.] // *Sci. World J.* – 2012. – Vol. 2012. – Art. 906873. – DOI: 10.1100/2012/906873.

246. CD4⁺ T-lymphocyte enumeration with a flow-rate based method in three flow cytometers with different years in service / K. Pattanapanyasat, P. Chikka, P. Sratongno, S. Lerdwana // *Cytometry. B: Clin. Cytom.* – 2008. – Vol. 74, No 5. – P. 310-8. – DOI: 10.1002/cyto.b.20425.

247. Multi-site evaluation of the BD Stem Cell Enumeration Kit for CD34⁽⁺⁾ cell enumeration on the BD FACSCanto II and BD FACSCalibur flow cytometers / R.A. Preti, W.S. Chan, J. Kurtzberg [et al.] // *Cytotherapy.* – 2014. – Vol. 16, No 11. – P. 1558-1574. – DOI: 10.1016/j.jcyt.2014.03.006.

248. Accurate and reproducible enumeration of T-, B-, and NK lymphocytes using the BD FACSLyric 10-color system: A multisite clinical evaluation / I. Omana-Zapata, C. Mutschmann, J. Schmitz [et al.] // *PLoS One.* – 2019. – Vol. 14, No 1. – Art. e0211207. – DOI: 10.1371/journal.pone.0211207.

249. Comparison of the RECIST and PERCIST criteria in solid tumors: a pooled analysis and review / S.J. Min, H.J. Jang, J.H. Kim // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7, No 19. – P. 27848-54. – DOI: 10.18632/oncotarget.8425.

250. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy / M. Binnewies, E.W. Roberts, K. Kersten [et al.] // *Nat. Med.* – 2018. – Vol. 24, No 5. – P. 541-550. – DOI: 10.1038/s41591-018-0014-x.

251. Cancer/testis antigens expression during cultivation of melanoma and soft tissue sarcoma cells / A. Danilova, V. Misyurin, A. Novik [et al.] // *Clin. Sarcoma Res.* – 2020. – Vol. 10. – P. 3. – DOI: 10.1186/s13569-020-0125-2.

252. A Robust and Scalable Clustering Algorithm for Mixed Type Attributes in Large Database Environment / T. Chiu, D. Fang, J. Chen [et al.]. – 2001. – P. 263-268. – DOI:10.1145/502512.502549.

253. Mathematical modelling of the spatio-temporal response of cytotoxic T-lymphocytes to a solid tumour / A. Matzavinos, M.A. Chaplain, V.A. Kuznetsov // *Math. Med. Biol.* – 2004. – Vol. 21, No 1. – P. 1-34. – DOI: 10.1093/imammb/21.1.1.

254. Mathematical Modeling, Analysis, and Simulation of Tumor Dynamics with Drug Interventions / P. Unni, P. Seshaiyer // *Comput. Math. Methods Med.* – 2019. – Vol. 2019. – Art. 4079298. – DOI: 10.1155/2019/4079298.

255. Динамика иммунных процессов при опухолевом росте / В.А. Кузнецов. – М.: Наука, 1992. – 340 с.
256. Analysis of Categorical Data Dual Scaling and its Applications / S. Nishisato. – University of Toronto Press, 1980. – 276 p.
257. Stress Management: Death Receptor Signalling and Cross-Talks with the Unfolded Protein Response in Cancer / E. Lafont // *Cancers (Basel)*. – 2020. – Vol. 12, No 5. – Art. 1113. – DOI: 10.3390/cancers12051113.
258. CD4⁺/CD8⁺ double-positive T cells: more than just a developmental stage? / N.H. Overgaard, J.W. Jung, R.J. Steptoe, J.W. Wells // *J. Leukoc. Biol.* – 2015. – Vol. 97, No 1. – P. 31-8. – DOI: 10.1189/jlb.1RU0814-382.
259. The circulating pool of functionally competent NK and CD8⁺ cells predicts the outcome of anti-PD1 treatment in advanced NSCLC / G. Mazzaschi, F. Facchinetti, G. Missale [et al.] // *Lung Cancer*. – 2019. – Vol. 127. – P. 153-163. – DOI: 10.1016/j.lungcan.2018.11.038.
260. Double Positive CD4⁽⁺⁾CD8⁽⁺⁾ T Cells Are Enriched in Urological Cancers and Favor T Helper-2 Polarization / P. Bohner, M.F. Chevalier, V. Cesson [et al.] // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – Art. 622. – DOI: 10.3389/fimmu.2019.00622.
261. Importance of events per independent variable in proportional hazards regression analysis. II. Accuracy and precision of regression estimates / P. Peduzzi, J. Concato, A.R. Feinstein, T.R. Holford // *J. Clin. Epidemiol.* – 1995. – Vol. 48, No 12. – P. 1503-10. – DOI: 10.1016/0895-4356(95)00048-8.
262. Immunological Paradigms, Mechanisms, and Models: Conceptual Understanding Is a Prerequisite to Effective Modeling / Z. Grossman // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – Art. 2522. – DOI: 10.3389/fimmu.2019.02522.
263. Coley's immunotherapy revived: Innate immunity as a link in priming cancer cells for an attack by adaptive immunity / O. Uher, V. Caisova, P. Hansen [et al.] // *Semin. Oncol.* – 2019. – Vol. 46, No 4-5. – P. 385-392. – DOI: 10.1053/j.seminoncol.2019.10.004.
264. Monocytes in the Tumor Microenvironment / S. Ugel, S. Canè, F. De Sanctis, V. Bronte // *Ann. Rev. Pathol.* – 2021. – Vol. 16. – P. 93-122. – DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-013058.
265. ILC regulation of T cell responses in inflammatory diseases and cancer / K. Warner, P.S. Ohashi // *Semin. Immunol.* – 2019. – Vol. 41. – Art. 101284. – DOI: 10.1016/j.smim.2019.101284.

266. Myeloid cell heterogeneity in cancer: not a single cell alike / M. Kiss, S. Van Gassen, K. Movahedi [et al.] // *Cell. Immunol.* – 2018. – Vol. 330. – P. 188-201. – DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.02.008.

267. Innate lymphoid cell sensing of tissue vitality / A.D. Barrow, M. Colonna // *Curr. Opin. Immunol.* – 2019. – Vol. 56. – P. 82-93. – DOI: 10.1016/j.coi.2018.11.004.

268. Type II NKT Cells and Their Emerging Role in Health and Disease / M.V. Dhodapkar, V. Kumar // *J. Immunol.* – 2017. – Vol. 198, No 3. – P. 1015-1021. – DOI: 10.4049/jimmunol.1601399.

269. Mathematical model of the humoral immune response: focusing on Th17 autoimmunity / S.R. Kuznetsov // *Mat. Biolog. Bioinform.* – 2015. – Vol. 10, No 2. – P. 455-472. – DOI: <https://doi.org/10.17537/2015.10.455>.

270. The role of helper innate lymphoid cells in cancer / S. Hu, X. Wang // *Immunotherapy.* – 2019. – Vol. 11, No 12. – P. 1067-1081. – DOI: 10.2217/imt-2019-0048.

271. Cancer immune control dynamics: a clinical data driven model of systemic immunity in patients with metastatic melanoma / H.P. Frisch, A. Sprau, V.F. McElroy [et al.] // *BMC Bioinformatics.* – 2021. – Vol. 22, No 1. – P. 197. – DOI: 10.1186/s12859-021-04025-7.

272. The cancer-natural killer cell immunity cycle / N.D. Huntington, J. Cursons, J. Rautela // *Nat. Rev. Cancer.* – 2020. – Vol. 20, No 8. – P. 437-454. – DOI: 10.1038/s41568-020-0272-z.

273. Физиология иммунной системы: Клеточные и молекулярно-биологические механизмы / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, В.А. Черешнев // *Вестник Российского фонда фундаментальных исследований.* – 2017. – № S1. – С. 96-119.

274. Tissue-Specific Roles of NKT Cells in Tumor Immunity / M. Terabe, J.A. Berzofsky // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 1838. – DOI: 10.3389/fimmu.2018.01838.

275. Innate lymphoid cells in the initiation, regulation and resolution of inflammation / G.F. Sonnenberg, D. Artis // *Nat. Med.* – 2015. – Vol. 21 (7). – P. 698-708. – DOI: 10.1038/nm.3892.

276. Иммунология: учебник / Р.М. Хаитов. – 3-е изд., перераб. И доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 496 с.

277. Gut microbiota and cancer immunotherapy: prognostic and therapeutic implications / D.C. Guven, B.Y. Aktas, C. Simsek, S. Aksoy // *Future Oncol.* – 2020. – Vol. 16, No 9. – P. 497-506. – DOI: 10.2217/fon-2019-0783.

278. Regulatory T-cell heterogeneity and the cancer immune response / K.A. Ward-Hartstonge, R.A. Kemp // *Clin. Transl. Immunology.* – 2017. – Vol. 6 (9). – P. e154. – DOI: 10.1038/cti.2017.43.

279. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point / D.S. Chen, I. Mellman // *Nature.* – 2017. – Vol. 541, No 7637. – P. 321-330. – DOI: 10.1038/nature21349.

280. Antigen presentation in cancer: insights into tumour immunogenicity and immune evasion / S. Jhunjhunwala, C. Hammer, L. Delamarre // *Nat. Rev. Cancer.* – 2021. – Vol. 21, No 5. – P. 298-312. – DOI: 10.1038/s41568-021-00339-z.
281. Immune Escape Mechanisms and Their Clinical Relevance in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma / B. Seliger, C. Massa, B. Yang [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, No 19. – Art. 7032. – DOI: 10.3390/ijms21197032.
282. Immune Escape in Prostate Cancer: Known and Predicted Mechanisms and Targets / B.A. Reva, T. Omelchenko, S.S. Nair, A.K. Tewari // *Urol. Clin. North Am.* – 2020. – Vol. 47, No 4s. – P. e9-e16. – DOI: 10.1016/j.ucl.2020.10.004.
283. Клеточные механизмы «ускользания» опухоли от иммунного ответа / З.Г. Кадагидзе // *Иммунология гемопоеза.* – 2017. – Т. 15, № 1. – С. 98-106.
284. Attacking Tumors From All Sides: Personalized Multiplex Vaccines to Tackle Intratumor Heterogeneity / F.L. Fennemann, I.J.M. de Vries, C.G. Figdor, M. Verdoes // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 824. – DOI: 10.3389/fimmu.2019.00824.
285. Therapeutic cancer vaccines / M. Saxena, S.H. van der Burg, C.J.M. Melief, N. Bhardwaj // *Nat. Rev. Cancer.* – 2021. – Vol. 21, No 6. – P. 360-378. – DOI: 10.1038/s41568-021-00346-0.
286. The Role of Macrophages in Cancer Development and Therapy / E. Cendrowicz, Z. Sas, E. Bremer, T.P. Rygiel // *Cancers (Basel).* – 2021. – Vol. 13, No 8. – DOI: 10.3390/cancers13081946.
287. How Macrophages Become Transcriptionally Dysregulated: A Hidden Impact of Antitumor Therapy / G.F. Medvedeva, D.O. Kuzmina, J. Nuzhina [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, No 5. – Art. 2662. – DOI: 10.3390/ijms22052662.
288. Regulatory T cells in the immunotherapy of melanoma / Z. Ouyang, H. Wu, L. Li [et al.] // *Tumour Biol.* – 2016. – Vol. 37, No 1. – P. 77-85. – DOI: 10.1007/s13277-015-4315-0.
289. *Janeway's Immunobiology* / K. Murphy, C. Weaver, C. Janeway. – 9th edition. – New York, NY: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC, 2017. – 906 p.
290. Functional crosstalk between T cells and monocytes in cancer and atherosclerosis / L.E. Padgett, D.J. Araujo, C.C. Hedrick, C.E. Olingy // *J. Leukoc. Biol.* – 2020. – Vol. 108, No 1. – P. 297-308. – DOI: 10.1002/jlb.1mir0420-076r.
291. CD38: T Cell Immuno-Metabolic Modulator / A. Kar, S. Mehrotra, S. Chatterjee // *Cells.* – 2020. – Vol. 9, No 7. – Art. 1716. – DOI: 10.3390/cells9071716.
292. Intratumoral CD45⁽⁺⁾CD71⁽⁺⁾ erythroid cells induce immune tolerance and predict tumor recurrence in hepatocellular carcinoma / J. Chen, Y.D. Qiao, X. Li [et al.] // *Cancer Lett.* – 2021. – Vol. 499. – P. 85-98. – DOI: 10.1016/j.canlet.2020.12.003.

293. Vitamin D supplementation decreases immune activation and exhaustion in HIV-1-infected youth / A.R. Eckard, M.A. O’Riordan, J.C. Rosebush [et al.] // *Antivir. Ther.* – 2018. – Vol. 23, No 4. – P. 315-324. – DOI: 10.3851/imp3199.

294. Expanded CD14(hi)CD16(–) Immunosuppressive Monocytes Predict Disease Severity in Patients with Acute Pancreatitis / R. Zhang, J. Shi, R. Zhang [et al.] // *J. Immunol.* – 2019. – Vol. 202, No 9. – P. 2578-2584. – DOI: 10.4049/jimmunol.1801194.

295. Apoptosis of tumor-infiltrating T lymphocytes: a new immune checkpoint mechanism / J. Zhu, P.F. Petit, B.J. Van den Eynde // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2019. – Vol. 68, No 5. – P. 835-847. – DOI: 10.1007/s00262-018-2269-y.

296. Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3⁺ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis / B. Shang, Y. Liu, S.J. Jiang, Y. Liu // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5. – Art. 15179. – DOI: 10.1038/srep15179.

297. Baseline Peripheral Blood Biomarkers Associated with Clinical Outcome of Advanced Melanoma Patients Treated with Ipilimumab / A. Martens, K. Wistuba-Hamprecht, M. Geukes Foppen [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2016. – Vol. 22, No 12. – P. 2908-18. – DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-15-2412.

298. Regulatory T cells in cancer immunosuppression – implications for anticancer therapy / Y. Togashi, K. Shitara, H. Nishikawa // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2019. – Vol. 16, No 6. – P. 356-371. – DOI: 10.1038/s41571-019-0175-7.

299. Gemcitabine treatment enhanced the anti-tumor effect of cytokine induced killer cells by depletion of CD4⁽⁺⁾CD25^(br) regulatory T cells / P. Zhao, D. Zhu, Z. Zhang [et al.] // *Immunol. Lett.* – 2017. – Vol. 181. – P. 36-44. – DOI: 10.1016/j.imlet.2016.11.009.

300. Oncogenic BRAF(V600E) Governs Regulatory T-cell Recruitment during Melanoma Tumorigenesis / T.B. Shabaneh, A.K. Molodtsov, S.M. Steinberg [et al.] // *Cancer Res.* – 2018. – Vol. 78, No 17. – P. 5038-5049. – DOI: 10.1158/0008-5472.can-18-0365.

301. Biomarkers, measured during therapy, for response of melanoma patients to immune checkpoint inhibitors: a systematic review / W. Ouwkerk, M. van den Berg, S. van der Niet [et al.] // *Melanoma Res.* – 2019. – Vol. 29, No 5. – P. 453-464. – DOI: 10.1097/cmr.0000000000000589.

302. Impact of Interferon-alpha1b (IFN-α1b) on Antitumor Immune Response: An Interpretation of the Promising Therapeutic Effect of IFN-alpha1b on Melanoma / Y. Liu, J. Ma, Y. Yang [et al.] // *Med. Sci. Monit.* – 2020. – Vol. 26. – P. e922790. – DOI: 10.12659/msm.922790.

303. Invariant NKT cells increase drug-induced osteosarcoma cell death / S. Fallarini, T. Paoletti, N. Orsi Battaglini, G. Lombardi // *Br. J. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 167, No 7. – P. 1533-49. – DOI: 10.1111/j.1476-5381.2012.02108.x.

304. Type I natural killer T cells suppress tumors caused by p53 loss in mice / J.B. Swann, A.P. Uldrich, S. van Dommelen [et al.] // *Blood*. – 2009. – Vol. 113, No 25. – P. 6382-5. – DOI: 10.1182/blood-2009-01-198564.

305. Induction of antitumor response to fibrosarcoma by Newcastle disease virus-infected tumor vaccine / M. Takamura-Ishii, T. Miura, T. Nakaya, K. Hagiwara // *Med. Oncol.* – 2017. – Vol. 34, No 10. – P. 171. – DOI: 10.1007/s12032-017-1034-y.

306. NK cells and NKT cells collaborate in host protection from methylcholanthrene-induced fibrosarcoma / M.J. Smyth // *Int. Immunol.* – 2008. – Vol. 20, No 4. – P. 631. – DOI: 10.1093/intimm/dxn028.

307. CD1d-restricted natural killer T cells can down-regulate tumor immunosurveillance independent of interleukin-4 receptor-signal transducer and activator of transcription 6 or transforming growth factor-beta / M. Terabe, C. Khanna, S. Bose [et al.] // *Cancer Res.* – 2006. – Vol. 66, No 7. – P. 3869-75. – DOI: 10.1158/0008-5472.can-05-3421.

308. Computational Immune Monitoring Reveals Abnormal Double-Negative T Cells Present across Human Tumor Types / A.R. Greenplate, D.D. McClanahan, B.K. Oberholtzer [et al.] // *Cancer Immunol. Res.* – 2019. – Vol. 7, No 1. – P. 86-99. – DOI: 10.1158/2326-6066.cir-17-0692.

309. Ipilimumab treatment decreases monocytic MDSCs and increases CD8 effector memory T cells in long-term survivors with advanced melanoma / Y.P. de Coaña, M. Wolodarski, I. Poschke [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, No 13. – P. 21539-21553. – DOI: 10.18632/oncotarget.15368.

310. Т-клетки памяти: основные популяции и стадии дифференцировки / И.В. Кудрявцев // *Российский иммунологический журнал*. – 2014. – Т. 8 (17), № 4. – С. 947-964.

311. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade / A. Ribas, J.D. Wolchok // *Science*. – 2018. – Vol. 359, No 6382. – P. 1350-1355. – DOI: 10.1126/science.aar4060.

312. T Cell Dysfunction in Cancer Immunity and Immunotherapy / A. Xia, Y. Zhang, J. Xu [et al.] // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – Art. 1719. – DOI: 10.3389/fimmu.2019.01719.

313. T-cell and NK-cell infiltration into solid tumors: a key limiting factor for efficacious cancer immunotherapy / I. Melero, A. Rouzaut, G.T. Motz, G. Coukos // *Cancer Discov.* – 2014. – Vol. 4, No 5. – P. 522-6. – DOI: 10.1158/2159-8290.cd-13-0985.

314. Sequential immune monitoring in patients with melanoma and renal cell carcinoma treated with high-dose interleukin-2: immune patterns and correlation with outcome / D.M. Foureau, A. Amin, R.L. White [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2014. – Vol. 63, No 12. – P. 1329-40. – DOI: 10.1007/s00262-014-1605-0.

315. CD8⁽⁺⁾ T cell exhaustion / M. Kurachi // *Semin. Immunopathol.* – 2019. – Vol. 41, No 3. – P. 327-337. – DOI: 10.1007/s00281-019-00744-5.

316. Immunological markers of anti-tumor dendritic cells vaccine efficiency in patients with non-small cell lung cancer / O.V. Skachkova, N.M. Khranovska, O.I. Gorbach [et al.] // *Exp. Oncol.* – 2013. – Vol. 35, No 2. – P. 109-13.

317. Circulating immune cell phenotype dynamics reflect the strength of tumor-immune cell interactions in patients during immunotherapy / J.I. Griffiths, P. Wallet, L.T. Pflieger [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2020. – Vol. 117, No 27. – P. 16072-16082. – DOI: 10.1073/pnas.1918937117.

318. Mathematical model of tumor-immune surveillance / K.J. Mahasa, R. Ouifki, A. Eladdadi, L. Pillis // *J. Theor. Biol.* – 2016. – Vol. 404. – P. 312-330. – DOI: 10.1016/j.jtbi.2016.06.012.

319. Dabrafenib and trametinib versus dabrafenib and placebo for Val600 BRAF-mutant melanoma: a multicentre, double-blind, phase 3 randomised controlled trial / G.V. Long, D. Stroyakovskiy, H. Gogas [et al.] // *Lancet.* – 2015. – Vol. 386, No 9992. – P. 444-51. – DOI: 10.1016/s0140-6736(15)60898-4.

320. Mathematical modeling of cancer-immune system, considering the role of antibodies / S. Ghosh, S. Banerjee // *Theory Biosci.* – 2018. – Vol. 137, No 1. – P. 67-78. – DOI: 10.1007/s12064-018-0261-x.

321. Mathematical Models for Immunology: Current State of the Art and Future Research Directions / R. Eftimie, J.J. Gillard, D.A. Cantrell // *Bull. Math. Biol.* – 2016. – Vol. 78, No 10. – P. 2091-2134. – DOI: 10.1007/s11538-016-0214-9.

322. Duality of B Cell-CXCL13 Axis in Tumor Immunology / A.J. Rubio, T. Porter, X. Zhong // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – Art. 521110. – DOI: 10.3389/fimmu.2020.521110.

323. B cell and B cell-related pathways for novel cancer treatments / R. Tokunaga, M. Naseem, J.H. Lo [et al.] // *Cancer Treat. Rev.* – 2019. – Vol. 73. – P. 10-19. – DOI: 10.1016/j.ctrv.2018.12.001.

324. An Individualized Immune Prognostic Index is a Superior Predictor of Survival of Hepatocellular Carcinoma / X. Wang, Y. Wu, D. Wen [et al.] // *Med. Sci. Monit.* – 2020. – Vol. 26. – Art. e921786. – DOI: 10.12659/msm.921786.

325. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression / H. Gonzalez, C. Hagerling, Z. Werb // *Genes Dev.* – 2018. – Vol. 32, No 19-20. – P. 1267-1284. – DOI: 10.1101/gad.314617.118.

326. Patterns of immune infiltration in gastric cancer and their clinical significance / Y. Jin, L. Tao, S. Jin, W. Cai // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2021. – Vol. 51, No 7. – P. 1067-1079. – DOI: 10.1093/jjco/hyab054.

327. The combined presence of CD20⁺ B cells and PD-L1⁺ tumor-infiltrating lymphocytes in inflammatory breast cancer is prognostic of improved patient outcome / H. Arias-Pulido,

A. Cimino-Mathews, N. Chaher [et al.] // *Breast. Cancer Res. Treat.* – 2018. – Vol. 171, No 2. – P. 273-282. – DOI: 10.1007/s10549-018-4834-7.

328. A structural methodology for modeling immune-tumor interactions including pro- and anti-tumor factors for clinical applications / A. Arabameri, D. Asemani, J. Hadjati // *Math. Biosci.* – 2018. – Vol. 304. – P. 48-61. – DOI: 10.1016/j.mbs.2018.07.006.

329. Modelling and investigation of the CD4⁽⁺⁾ T cells – Macrophages paradox in melanoma immunotherapies / R. Eftimie, H. Hamam // *J. Theor. Biol.* – 2017. – Vol. 420. – P. 82-104. – DOI: 10.1016/j.jtbi.2017.02.022.

330. Type 2 innate lymphoid cells: a novel actor in anti-melanoma immunity / N. Jacquelot, G.T. Belz // *Oncoimmunology.* – 2021. – Vol. 10, No 1. – Art. 1943168. – DOI: 10.1080/2162402x.2021.1943168.

331. Neutrophils in cancer: neutral no more / S.B. Coffelt, M.D. Wellenstein, K.E. de Visser // *Nat. Rev. Cancer.* – 2016. – Vol. 16, No 7. – P. 431-46. – DOI: 10.1038/nrc.2016.52.

332. Tumour-associated neutrophils in patients with cancer / M.E. Shaul, Z.G. Fridlender // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2019. – Vol. 16, No 10. – P. 601-620. – DOI: 10.1038/s41571-019-0222-4.

333. Mathematical modeling of tumor-immune cell interactions / G.E. Mahlbacher, K.C. Reihmer, H.B. Frieboes // *J. Theor. Biol.* – 2019. – Vol. 469. – P. 47-60. – DOI: 10.1016/j.jtbi.2019.03.002.

334. Prognostic significance of immune landscape in tumour microenvironment of endometrial cancer / B.L. Li, X.P. Wan // *J. Cell. Mol. Med.* – 2020. – Vol. 24, No 14. – P. 7767-7777. – DOI: 10.1111/jcmm.15408.

335. Neutrophil: A New Player in Metastatic Cancers / M. Wu, M. Ma, Z. Tan [et al.] // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – Art. 565165. – DOI: 10.3389/fimmu.2020.565165.

336. Neutrophils escort circulating tumour cells to enable cell cycle progression / B.M. Szczerba, F. Castro-Giner, M. Vetter [et al.] // *Nature.* – 2019. – Vol. 566, No 7745. – P. 553-557. – DOI: 10.1038/s41586-019-0915-y.

337. Оценка взаимодействия звеньев иммунной системы в качестве факторов прогноза общей выживаемости у больных диссеминированными солидными опухолями / А.Р. Oganesyanyan, Д.В. Гирдюк, А.В. Новик [и др.] // *Материалы IV Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2018».* – СПб., 2018. – С. 311.

338. Validation of Melanoma Immune Profile (MIP), a Prognostic Immune Gene Prediction Score for Stage II-III Melanoma / R.D. Gartrell, D.K. Marks, E.M. Rizk [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2019. – Vol. 25, No 8. – P. 2494-2502. – DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-18-2847.

339. Нехаева, Т.Л. Мониторинг поствакцинального специфического иммунного ответа у больных с диссеминированными солидными опухолями / Т.Л. Нехаева, А.В. Новик, О.Л. Фахрутдинова // Актуальные вопросы клинической и экспериментальной онкологии: сб. тез. X юбилейной науч.-практ. конф. молодых ученых. – СПбМАПО, 2010. – С. 132-133.

340. NK Cell Activation in the Antitumor Response Induced by IFN- α Dendritic Cells Loaded with Apoptotic Cells from Follicular Lymphoma Patients / C. Lapenta, S. Donati, F. Spadaro [et al.] // J. Immunol. – 2016. – Vol. 197, No 3. – P. 795-806. – DOI: 10.4049/jimmunol.1600262.

341. Vaccination with Melanoma Helper Peptides Induces Antibody Responses Associated with Improved Overall Survival / C.M. Reed, N.D. Cresce, I.S. Mauldin [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2015. – Vol. 21, No 17. – P. 3879-87. – DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-15-0233.

342. Distinct Immune Cell Populations Define Response to Anti-PD-1 Monotherapy and Anti-PD-1/Anti-CTLA-4 Combined Therapy / T.N. Gide, C. Quek, A.M. Menzies [et al.] // Cancer Cell. – 2019. – Vol. 35, No 2. – P. 238-255.e6. – DOI: 10.1016/j.ccell.2019.01.003.

343. Our current understanding of checkpoint inhibitor therapy in cancer immunotherapy / E. Goleva, T. Lyubchenko, L. Kraehenbuehl [et al.] // Ann. Allergy Asthma Immunol. – 2021. – Vol. 126, No 6. – P. 630-638. – DOI: 10.1016/j.anai.2021.03.003.

344. Combination therapy for melanoma with BRAF/MEK inhibitor and immune checkpoint inhibitor: a mathematical model / X. Lai, A. Friedman // BMC Syst. Biol. – 2017. – Vol. 11, No 1. – P. 70. – DOI: 10.1186/s12918-017-0446-9.

345. Combination therapy of cancer with cancer vaccine and immune checkpoint inhibitors: A mathematical model / X. Lai, A. Friedman // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, No 5. – Art. e0178479. – DOI: 10.1371/journal.pone.0178479.

346. A switching control law approach for cancer immunotherapy of an evolutionary tumor growth model / A.I. Doban, M. Lazar // Math. Biosci. – 2017. – Vol. 284. – P. 40-50. – DOI: 10.1016/j.mbs.2016.09.008.

347. An extended mathematical model of tumor growth and its interaction with the immune system, to be used for developing an optimized immunotherapy treatment protocol / M. Qomlaqi, F. Bahrami, M. Ajami, J. Hajati // Math. Biosci. – 2017. – Vol. 292. – P. 1-9. – DOI: 10.1016/j.mbs.2017.07.006.

348. Systems immune monitoring in cancer therapy / A.R. Greenplate, D.B. Johnson, P.B. Ferrell, Jr., J.M. Irish // Eur. J. Cancer. – 2016. – Vol. 61. – P. 77-84. – DOI: 10.1016/j.ejca.2016.03.085.

349. New cytometry tools for immune monitoring during cancer immunotherapy / S. Sanjabi, S. Lear // *Cytometry B Clin. Cytom.* – 2021. – Vol. 100, No 1. – P. 10-18. – DOI: 10.1002/cyto.b.21984.

350. Интерпретация иммунограммы при воспалительных процессах: учебное пособие / А.А. Корженевский. – Уфа: ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2017. – 117 с.

351. A novel risk stratification model, involving preoperative lymphocyte-monocyte ratio and standard pathological factors, for overall survival in patients with bladder cancer undergoing radical cystectomy / T. Yoshida, H. Kinoshita, K. Yoshida [et al.] // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 45, No 12. – P. 1162-7. – DOI: 10.1093/jjco/hyv146.

352. A mathematical prognosis model for pancreatic cancer patients receiving immunotherapy / X. Li, J.X. Xu // *J. Theor. Biol.* – 2016. – Vol. 406. – P. 42-51. – DOI: 10.1016/j.jtbi.2016.06.021.

353. CatBoost: gradient boosting with categorical features support / A.V. Dorogush, V. Ershov, A. Gulin // *ArXiv.* – 2018. – Abs/1810.11363v1.

354. Making a Science of Model Search: Hyperparameter Optimization in Hundreds of Dimensions for Vision Architectures / B. James, Y. Daniel, C. David // *Proceedings of the 30th International Conference on Machine Learning.* – 2013. – Vol. V, No 28. – P. 115-123.

355. Scikit-learn: Machine Learning in Python / F. Pedregosa, G. Varoquaux, A. Gramfort [et al.] // *J. Mach. Learn. Res.* – 2011. – Vol. 12, No 2011. – P. 2825–2830.

356. Matplotlib: A 2D Graphics Environment / J.D. Hunter // *Computing in Science and Engg.* – 2007. – Vol. 9, No 3. – P. 90–95. – DOI: 10.1109/mcse.2007.55.

357. Comparison of RECIST 1.0 and RECIST 1.1 in Patients with Metastatic Cancer: A Pooled Analysis / J.H. Kim, S.J. Min, H.J. Jang [et al.] // *J. Cancer.* – 2015. – Vol. 6, No 4. – P. 387-93. – DOI: 10.7150/jca.11316.

358. Variability in response assessment in solid tumors: effect of number of lesions chosen for measurement / L.H. Schwartz, M. Mazumdar, W. Brown [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2003. – Vol. 9, No 12. – P. 4318-23.

359. Comparison of the RECIST 1.1 and irRC response assesment systems in patients with disseminated melanoma treated with ipilimumab (IPI) or dendritic cell vaccine (DCV) / A.V. Novik, E.V. Yaremenko, E.M. Anohina [et al.] // *8th European Post-Chicago Melanoma/Skin Cancer Meeting.* – Munich, 2018. – P. 17.

360. Использование систем RECIST 1.1 и irRc для оценки ответа на терапию ипилимумабом или дендритноклеточными вакцинами у пациентов с диссеминированной меланомой кожи / А.В. Новик, Е.В. Яременко, Е.М. Анохина [и др.] // *Сибирский онкол. журнал.* – 2019. – Т. 18, № 4. – С. 13-20. – DOI: doi:10.21294/1814-4861-2019-18-4-13-20.

361. Current laboratory practices in flow cytometry for the enumeration of CD 4⁽⁺⁾ T-lymphocyte subsets / L. Whitby, A. Whitby, M. Fletcher, D. Barnett // *Cytometry. B: Clin. Cytom.* – 2015. – Vol. 88, No 5. – P. 305-11. – DOI: 10.1002/cyto.b.21241.

362. Применение регрессии Кокса в здравоохранении с использованием пакета статистических программ SPSS / Е.Е. Шарашова, К.К. Холматова, М.А. Горбатова, А.М. Гржибовский // *Наука и здравоохранение.* – 2017. – № 6. – С. 5-27.

363. Arnouk, H., Hassan, B. *Advances in Precision Medicine Oncology* / H. Arnouk, B. Hassan. – London: InTechOpen, 2021. – 260 p.

364. Efficacy of adoptive therapy with tumor-infiltrating lymphocytes and recombinant interleukin-2 in advanced cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis / U. Dafni, O. Michielin, S.M. Lluesma [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2019. – Vol. 30, No 12. – P. 1902-1913. – DOI: 10.1093/annonc/mdz398.

365. Efficacy and Safety of Nivolumab in Patients With BRAF V600 Mutant and BRAF Wild-Type Advanced Melanoma: A Pooled Analysis of 4 Clinical Trials / J. Larkin, C.D. Lao, W.J. Urban [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2015. – Vol. 1, No 4. – P. 433-40. – DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.1184.

366. Efficacy and Safety of First-Line Immunotherapy Combinations for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: A Systematic Review and Network Meta-Analysis / L. Liu, H. Bai, C. Wang [et al.] // *J. Thorac. Oncol.* – 2021. – Vol. 16, Iss. 7. – P. 1099-1117. – DOI: 10.1016/j.jtho.2021.03.016.

367. 3556 – Long-term efficacy of combination nivolumab and ipilimumab for first-line treatment of advanced melanoma: a network meta-analysis / P. Mohr, K. Toor, S. Goring [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2019. – Vol. 30, Suppl. 5. – P. v533-v563. – DOI: 10.1093/annonc/mdz255.

368. Comparative efficacy and safety of adjuvant nivolumab versus other treatments in adults with resected melanoma: a systematic literature review and network meta-analysis / K. Toor, M.R. Middleton, K. Chan [et al.] // *BMC Cancer.* – 2021. – Vol. 21, No 1. – P. 3. – DOI: 10.1186/s12885-020-07538-1.

369. Сравнение систем оценки эффективности современной иммунотерапии / А.П. Оганесян, С.А. Проценко, И.А. Балдуева [et al.] // *Фарматека.* – 2020. – Т. 27 (7). – P. 58-61.

370. Hyperprogressive Disease Is a New Pattern of Progression in Cancer Patients Treated by Anti-PD-1/PD-L1 / S. Champiat, L. Dercle, S. Ammari [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2017. – Vol. 23, No 8. – P. 1920-1928. – DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-16-1741.

371. A phase II study to evaluate the need for > two doses of nivolumab + ipilimumab combination (combo) immunotherapy / M.A. Postow, D.A. Goldman, A.N. Shoushtari [et al.] // *Clin. Oncol.* – 2020. – Vol. 38, No 15_suppl. – Art. 10003. – DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.10003.

372. Immunologic and immunogenomic aspects of tumor progression / A. Ladányi, J. Tímár // *Semin. Cancer Biol.* – 2020. – Vol. 60. – P. 249-261. – DOI: 10.1016/j.semcancer.2019.08.011.

373. Dynamic Immune/Inflammation Precision Medicine: The Good and the Bad Inflammation in Infection and Cancer / J.F. Rossi, Z.Y. Lu, C. Massart, K. Levon // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 595722. – DOI: 10.3389/fimmu.2021.595722.

374. Roles of the Dynamic Tumor Immune Microenvironment in the Individualized Treatment of Advanced Clear Cell Renal Cell Carcinoma / E. Lin, X. Liu, Y. Liu [et al.] // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 653358. – DOI: 10.3389/fimmu.2021.653358.

375. Innovative Approaches in the Battle Against Cancer Recurrence: Novel Strategies to Combat Dormant Disseminated Tumor Cells / S. Sauer, D.R. Reed, M. Ihnat [et al.] // *Front. Oncol.* – 2021. – Vol. 11. – P. 659963. – DOI: 10.3389/fonc.2021.659963.

376. Pembrolizumab in advanced osteosarcoma: results of a single-arm, open-label, phase 2 trial / K. Boye, A. Longhi, T. Guren [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2021. – Vol. 70, No 9. – P. 2617-2624. – DOI: 10.1007/s00262-021-02876-w.

377. Immunotherapy with single agent nivolumab for advanced leiomyosarcoma of the uterus: Results of a phase 2 study / E. Ben-Ami, C.M. Barysaukas, S. Solomon [et al.] // *Cancer.* – 2017. – Vol. 123, No 17. – P. 3285-3290. – DOI: 10.1002/cncr.30738.

378. Nivolumab with or without ipilimumab treatment for metastatic sarcoma (Alliance A091401): two open-label, non-comparative, randomised, phase 2 trials / S.P. D'Angelo, M.R. Mahoney, B.A. Van Tine [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2018. – Vol. 19, No 3. – P. 416-426. – DOI: 10.1016/s1470-2045(18)30006-8.

379. What went wrong with Iressa? / A. Burton // *Lancet Oncol.* – 2002. – Vol. 3, No 12. – P. 708. – DOI: 10.1016/s1470-2045(02)00938-5.

380. Biomarkers for Response of Melanoma Patients to Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review / C.A.C. Jessurun, J.A.M. Vos, J. Limpens, R.M. Luiten // *Front. Oncol.* – 2017. – Vol. 7. – P. 233. – DOI: 10.3389/fonc.2017.00233.

381. Full Spectrum Flow Cytometry as a Powerful Technology for Cancer Immunotherapy Research / D.L. Bonilla, G. Reinin, E. Chua // *Front. Mol. Biosci.* – 2020. – Vol. 7. – Art. 612801. – DOI: 10.3389/fmolb.2020.612801.

382. A mathematical model of cell-mediated immune response to tumor / G. Song, T. Tian, X. Zhang // *Math Biosci Eng.* – 2020. – Vol. 18, No 1. – P. 373-385. – DOI: 10.3934/mbe.2021020.

383. Interactions between immunity, proliferation and molecular subtype in breast cancer prognosis / S. Nagalla, J.W. Chou, M.C. Willingham [et al.] // *Genome Biol.* – 2013. – Vol. 14, No 4. – Art. r34. – DOI: 10.1186/gb-2013-14-4-r34.

384. High-Dimensional Mass Cytometric Analysis Reveals an Increase in Effector Regulatory T Cells as a Distinguishing Feature of Colorectal Tumors / S.E. Norton, K.A. Ward-Hartstonge, J.L. McCall [et al.] // *J. Immunol.* – 2019. – Vol. 202, No 6. – P. 1871-1884. – DOI: 10.4049/jimmunol.1801368.

385. Characterization of biological variation of peripheral blood immune cytome in an Indian cohort / P. Kanodia, G. Kaur, P. Coshic [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, No 1. – Art. 14735.

386. Analysis of tumour-immune evasion with chemo-immuno therapeutic treatment with quadratic optimal control / N.S. Ravindran, M.M. Sheriff, P. Krishnapriya // *J. Biol. Dyn.* – 2017. – Vol. 11, No 1. – P. 480-503. – DOI: 10.1080/17513758.2017.1381280.

387. Addressing current challenges in cancer immunotherapy with mathematical and computational modelling / A. Konstorum, A.T. Vella, A.J. Adler, R.C. Laubenbacher // *J. R. Soc. Interface.* – 2017. – Vol. 14, No 131. – Art. 20170150. – DOI: 10.1098/rsif.2017.0150.

388. A mathematical approach to effects of CTLs on cancer virotherapy in the second injection of virus / A. Ashyani, O. RabieiMotlagh, H.M. Mohammadinejad // *J. Theor. Biol.* – 2018. – Vol. 453. – P. 78-87. – DOI: 10.1016/j.jtbi.2018.05.018.

389. Non-linear association between long-term outcome and preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients undergoing curative resection for gastric cancer: a retrospective analysis of 1335 cases in a tetrachotomous manner / M. Urabe, H. Yamashita, Y. Uemura [et al.] // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2018. – Vol. 48, No 4. – P. 343-349. – DOI: 10.1093/jjco/hyy005.

390. Involvement of Machine Learning for Breast Cancer Image Classification: A Survey / A.A. Nahid, Y. Kong // *Comput. Math. Methods Med.* – 2017. – Vol. 2017. – Art. 3781951. – DOI: 10.1155/2017/3781951.

391. Evolution of Machine Learning Algorithms in the Prediction and Design of Anticancer Peptides / S. Basith, B. Manavalan, T.H. Shin [et al.] // *Curr. Protein Pept. Sci.* – 2020. – Vol. 21, No 12. – P. 1242-1250. – DOI: 10.2174/1389203721666200117171403.

392. Computational analysis of flow cytometry data in hematological malignancies: future clinical practice? / C. Duetz, C. Bachas, T.M. Westers, A.A. van de Loosdrecht // *Curr. Opin. Oncol.* – 2020. – Vol. 32, No 2. – P. 162-169. – DOI: 10.1097/cco.0000000000000607.

393. Integrative molecular and clinical modeling of clinical outcomes to PD1 blockade in patients with metastatic melanoma / D. Liu, B. Schilling, D. Liu [et al.] // *Nat. Med.* – 2019. – Vol. 25, No 12. – P. 1916-1927. – DOI: 10.1038/s41591-019-0654-5.

394. A nomogram to predict prognostic values of various inflammatory biomarkers in patients with esophageal squamous cell carcinoma / J.S. Liu, Y. Huang, X. Yang, J.F. Feng // *Am. J. Cancer Res.* – 2015. – Vol. 5, No 7. – P. 2180-9.

395. Integrative nomogram of CT imaging, clinical, and hematological features for survival prediction of patients with locally advanced non-small cell lung cancer / L. Wang, T. Dong, B. Xin [et al.] // *Eur. Radiol.* – 2019. – Vol. 29, No 6. – P. 2958-2967. – DOI: 10.1007/s00330-018-5949-2.

396. Treatment-Free Survival: A Novel Outcome Measure of the Effects of Immune Checkpoint Inhibition-A Pooled Analysis of Patients With Advanced Melanoma / M.M. Regan, L. Werner, S. Rao [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2019. – Vol. 37, No 35. – P. 3350-3358. – DOI: 10.1200/JCO.19.00345.

397. Response Efficacy of PD-1 and PD-L1 Inhibitors in Clinical Trials: A Systematic Review and Meta-Analysis / S. Chen, Z. Zhang, X. Zheng [et al.] // *Front. Oncol.* – 2021. – Vol. 11. – Art. 562315. – DOI: 10.3389/fonc.2021.562315.

398. Efficacy and Safety Outcomes in Patients With Advanced Melanoma Who Discontinued Treatment With Nivolumab and Ipilimumab Because of Adverse Events: A Pooled Analysis of Randomized Phase II and III Trials / D. Schadendorf, J.D. Wolchok, F.S. Hodi [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2017. – Vol. 35, No 34. – P. 3807-3814. – DOI: 10.1200/jco.2017.73.2289.

399. Long-term immune-related adverse events under PD-1 inhibitors: a multicenter prospective cohort study (MELBASE) / C. Nardin, S. Dalle, M.T. Leccia [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2020. – Vol. 38, No 15_suppl. – Art. 10057. – DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.10057.

400. Discontinuation of anti-PD-1 antibody therapy in the absence of disease progression or treatment limiting toxicity: clinical outcomes in advanced melanoma / Y.J.L. Jansen, E.A. Rozeman, R. Mason [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2019. – Vol. 30, No 7. – P. 1154-1161. – DOI: 10.1093/annonc/mdz110.

401. Real-world experience with elective discontinuation of PD-1 inhibitors at 1 year in patients with metastatic melanoma / R. Pokorny, J.P. McPherson, B. Haaland [et al.] // *J. Immunother. Cancer.* – 2021. – Vol. 9, No 1. – Art. e001781. – DOI: 10.1136/jitc-2020-001781.

402. Circulating Tumour DNA in Advanced Melanoma Patients Ceasing PD1 Inhibition in the Absence of Disease Progression / L. Warburton, L. Calapre, M.R. Pereira [et al.] // *Cancers (Basel).* – 2020. – Vol. 12, No 11. – Art. 3486. – DOI: 10.3390/cancers12113486.

403. Mixture-cure modeling for resected stage III/IV melanoma in the phase III CheckMate 238 trial / J.S. Weber, M. Kurt, M. Edmondson-Jones [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2019. – Vol. 30. – P. v542. – DOI: 10.1093/annonc/mdz255.020.

404. LBA40 SECOMBIT: The best sequential approach with combo immunotherapy [ipilimumab (I) /nivolumab (N)] and combo target therapy [encorafenib (E)/binimetinib (B)] in patients with BRAF mutated metastatic melanoma: A phase II randomized study / P.A. Ascierto, M. Mandala, P.F. Ferrucci [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2021. – Vol. 32. – P. S1316-S1317. – DOI: 10.1016/j.annonc.2021.08.2118.