

*На правах рукописи*

**Олюшина Екатерина Максимовна**

**Связь феномена микросателлитной нестабильности с интратуморальной лимфоидной инфильтрацией, PD-L1-статусом и суррогатным маркером HPV-инфекции в карциномах уrogenитальной зоны**

3.3.2. – патологическая анатомия

3.1.6. – онкология, лучевая терапия

## **АВТОРЕФЕРАТ**

диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва, 2024

Работа выполнена на кафедре патологической анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный доктор медицинских наук, профессор, академик РАН  
руководитель: **Франк Георгий Авраамович**

Научный доктор биологических наук  
руководитель: **Завалишина Лариса Эдуардовна**

Официальные **Асатулова Александра Вячеславовна**, доктор медицинских наук,  
оппоненты: заведующий 1-м патологоанатомическим отделением ФГБУ НМИЦ  
АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России

**Данилова Наталья Владимировна**, доктор медицинских наук, доцент  
кафедры физиологии и патологии факультета фундаментальной  
медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет  
имени М.В. Ломоносова».

**Раскин Григорий Александрович**, доктор медицинских наук,  
заместитель главного врача по лабораторной медицине ООО «Лечебно-  
диагностический центр Международного института биологических  
систем имени Сергея Березина».

Защита состоится «25» сентября 2024 г. в \_\_\_\_ на заседании Диссертационного  
совета ПДС 0300.006 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени  
Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Макля, д. 8.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО  
«Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (адрес: адрес: 117198,  
г. Москва, ул. Миклухо-Макля, д. 6; сайт: <http://dissovet.rudn.ru>)

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
ПДС 0300.006 кандидат медицинских наук

Горячев Вячеслав  
Александрович

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность исследования**

Шейка матки и мочевого пузыря – две анатомические локализации, относящиеся к урогенитальной зоне, высланные родственными типами эпителиев – плоским и переходноклеточным и подверженные воздействию вирусных инфекций, передающихся половым путем. Наиболее частые гистологические варианты карцином, развивающиеся в указанных локализациях в российской популяции – это плоскоклеточный рак шейки матки (РШМ) и уротелиальный рак мочевого пузыря (РМП).

Иммунотерапия в клинической онкологии – сравнительно новый подход к лечению пациентов с онкологическими заболеваниями, в том числе и РМП и РШМ, данный метод представляется одним из наиболее перспективных терапевтических направлений в современной онкологии. Основной проблемой иммунотерапии остается выявление предиктивных биологических маркеров, по уровню экспрессии которых можно было бы с высокой долей вероятности судить о степени чувствительности опухоли к данному методу лечения.

В настоящее время сформировалась проблема оценки взаимосвязи отдельных показателей взаимодействия опухоли и иммунной системы организма. Необходимо установить зависимости между данными биологическими маркерами и прогностическими факторами заболевания, а также предиктивными маркерами таргетной терапии и разработать рациональный алгоритм комплексного учета вышеупомянутых показателей, для организации эффективной практической работы врача-онкоморфолога.

Следовательно, в целях совершенствования эффективности диагностических и лечебных мероприятий, представляется актуальным проведение дальнейших исследований, направленных на установление возможных взаимосвязей между ключевым маркерами иммунотерапии и таргетной терапии, а также клинко-морфологическими характеристиками опухоли, в РШМ и РМП, как в наиболее широко распространенных в российской популяции и родственных по гистогенезу злокачественных опухолях единой анатомической зоны.

### **Степень разработанности проблемы**

Экспрессия опухолевыми клетками PD-L1 и последующее PD-1/PD-L1 взаимодействие, ингибирующее функцию Т-клеток, приводит к подавлению противоопухолевого иммунного ответа и последующей опухолевой прогрессии и метастазированию (Patel, S.P., et al. 2015). Восстановление иммунных реакций в микроокружении опухоли путем лекарственной блокады препаратами ингибиторами иммунных контрольных точек (ICIs) взаимодействия PD-1/PD-L1 способствует морфологическому регрессу опухоли (Patel, S.P., et al. 2015). Для рационального отбора пациентов для назначения ICIs необходимо определение ключевых предиктивных маркеров иммунотерапии, таких как: феномен MSI/dMMR, мутационная нагрузка опухоли (ТМБ), экспрессия PD-L1 опухолевыми и/или иммунными клетками (Gao, G., et al., 2021; Huang, R.S.P., et al. 2021; Wang, Y., et al. 2021).

Микросателлитная нестабильность (MSI) возникает при наличии мутаций в генах системы репарации неспаренных оснований ДНК (mismatch repair system, MMR-система) или же при эпигенетических механизмах формирования dMMR (mismatch repair deficient), (Раскин, Г.А., и соавт. 2014; Flaherty, К.Т., et al. 2017; Marcus, L., et al. 2019). MSI/dMMR рассматривается как суррогатный биологический маркер мутационной нагрузки опухоли (ТМВ) - количественной меры общего числа соматических несинонимичных мутаций на область кодирования опухолевого генома (Alexandrov, L.V., et al. 2013). Принято считать, что новообразования с более высокой ТМВ экспрессируют повышенное число неоантигенов и, следовательно, имеют повышенную иммуногенность (Jamieson, N.B., et al. 2017; Palmieri, G., et al. 2017). Остается открытым вопрос, насколько различные методы определения MSI/dMMR взаимозаменяемы и имеет ли значение органопринадлежность опухоли при выборе метода исследования, считается, что феномен MSI характерен для практически всех солидных опухолей, тем не менее, частота встречаемости MSI в различных опухолях значительно варьирует (Wang, Y., et al. 2021). Взаимосвязи между MSI, ТМВ и экспрессией PD-1/PD-L1 являются сложными и также различаются в зависимости от типа опухоли (Luchini, C., et al. 2019).

Количество и качественные характеристики опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TILs) – это отражение динамического процесса взаимодействия иммунной системы организма с опухолевыми клетками и микроокружением опухоли (Tang, Y., et al. 2021). На сегодняшний день не существует однозначных официальных рекомендаций по клинически значимому порогу TILs, можно предположить, что он будет различен для разных опухолей (Hendry, S., et al. 2017).

Исследования MSI/dMMR в РШМ немногочисленные, однако, в тех, что были проведены, данное явление диагностировалась относительно редко (Bonneville, R., et al. 2017; Lazo, P.A., et al. 1999; Ou, C.Y. et al. 1999; Rodriguez, J.A. et al. 1998; Steiniche, T., et al. 2020). Противоречивы данные о связи MSI/dMMR с прогностическими факторами заболевания и клинико-морфологическими характеристиками РШМ (Chung, T.K., et al. 2001; Clarke, B., et al. 2003; Ercoli, A., et al. 2005; Feng, Y.C., et al. 2018; Migdalska-Sek, M., et al. 2016; Nishimura, M., et al. 2000; Roa, S.Jc., et al. 2007). Feng и соавт. было показано, что наличие dMMR в РШМ ассоциировано с более высоким уровнем экспрессии PD-L1 в опухоли, по сравнению с карциномами с pMMR (Feng, Y.C., et al. 2018). Необходимо отметить, что число опубликованных научных работ, посвященных исследованию взаимосвязи между уровнем экспрессии PD-L1, наличием феномена MSI и TILs в РШМ ограничено, в настоящее время подобные исследования продолжаются. Представляет особый интерес зависимость между ключевыми маркерами иммунотерапии и HPV-статусом РШМ, предполагается, что продуктивная HPV-инфекция играет важную роль в индуцировании экспрессии PD-L1 (Mezache, L., et al. 2015).

Опубликованные данные о частоте встречаемости MSI/dMMR в РМП сильно разнятся (Chang, L., et al. 2018; Fraune, C., et al. 2020; Mongiat-Artus, P., et al. 2006; Vaish, M., et al. 2005). Различны результаты немногочисленных исследований связи MSI/dMMR с клинико-морфологическими параметрами РМП, отмечается небольшое число работ, в котором феномен MSI/dMMR был диагностирован иммуногистохимическим методом Catto, J.W., et al. 2003; Li, M., et al. 1996; Mylona, E., et al. 2008; Saetta, A.A., et al. 2004; Sardi,

I., et al. 1999; Vaish, M., et al. 2005). Deng et. al. предположили, что как высокая мутационная нагрузка, так и выраженная лимфоидная инфильтрация опухолевой ткани могут быть полезными предиктивными маркерами терапии ингибиторами иммунных контрольных точек у пациентов с РМП (Deng, B., et al. 2018). Исследования взаимосвязи между различными ключевыми маркерами, отражающими молекулярно-генетические механизмы взаимодействия иммунной системы организма и РМП на сегодняшний день немногочисленные и востребованы медицинским сообществом.

Для РМП этиопатогенетическая роль HPV-инфекции на сегодняшний день не доказана, а опубликованные результаты исследований связи экспрессии p16 и HPV-статуса противоречивы (Jørgensen, K.R., et al. 2020), однако, есть данные, свидетельствующие о том, что p16-ассоциированный сигнальный путь играет важную роль в прогрессировании РМП (Brunner, A., et al. 2008).

Аберрации генов *FGFR* часто встречаются в РМП, а передача сигналов от aberrантных FGF-рецепторов играет значительную роль в онкогенезе и прогрессировании опухоли (Dai, S., et al. 2019; Helsten, T., et al. 2016). Обсуждается возможность назначения пациентам с РМП комбинированной терапии, включающей FGFR-таргетную и иммунотерапию препаратами-блокаторами иммунных контрольных точек, что обуславливает необходимость дальнейших исследований (Kacaw, A., et al. 2020). Связь FGFR3-статуса РМП с предиктивными маркерами иммунотерапии в настоящее время мало исследована. Отмечается, что наличие генетических нарушений в *FGFR3* ассоциировано с более низкой экспрессией PD-L1 (Kacaw, A., et al. 2020). Предполагается, что делеция *CDKN2A*, гена, кодирующего белок p16, способствует мышечной инвазии FGFR3-позитивной опухоли, а снижение экспрессии белка p16 можно трактовать как предиктор прогрессирования немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря (Downes, M.R., et al. 2017; Worst, T.S., et al. 2018).

### **Цель исследования**

Стандартизация сопроводительной диагностики для определения перспектив лечения рака мочевого пузыря и шейки матки.

### **Задачи исследования**

1. Исследовать факторы иммунного ответа (феномен MSI/dMMR, TILs, PD-L1-статус) в раке мочевого пузыря (РМП) и раке шейки матки (РШМ).
2. Оценить соматический мутационный статус гена *FGFR3* в РМП.
3. Определить p16-статус РМП и HPV-статус РШМ.
4. Выявить взаимосвязь между исследуемыми биологическими маркерами РМП и РШМ, а также их связь с клинико-морфологическими характеристиками опухоли.
5. Разработать алгоритм исследования операционного материала РМП и РШМ для оптимизации сроков проводимых исследований и определения параметров, влияющих на тактику лечения.

**Методология и методы исследования.** Методология исследования построена на системном и комплексном анализе данных. Методы, использованные в работе: морфологический анализ, иммуногистохимическое исследование, молекулярно-

генетическое исследование, технология тканевых матриц (ТМА, tissue microarray), анализ ряда клинических данных, статистическая обработка результатов. Предмет исследования: Биомаркеры контрольных точек иммунитета и феномена MSI/dMMR плоскоклеточного и аденоплоскоклеточного рака шейки матки, а также уротелиального рака мочевого пузыря, отражающие молекулярно-генетические механизмы взаимодействия иммунной системы организма и опухоли. Объект исследования: парафиновые блоки из архивов кафедры патологической анатомии (материал пациентов клиники РМАНПО) и Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Областной клинический онкологический диспансер» (ГБУ РО ОКОД) с операционным материалом пациентов с РМП и РШМ за период с 2020 по 2021 гг. Объем исследования: 81 пациент.

### **Научная новизна**

В результате диссертационного исследования впервые на российской выборке получены данные о частоте встречаемости феномена MSI/dMMR, исследованного иммуногистохимическим методом, в раке мочевого пузыря и шейки матки. Впервые показано наличие явления внутриопухолевой иммуногистохимической гетерогенности белков MMR-системы в исследуемых карциномах уrogenитальной зоны.

Установлено наличие зависимости между PD-L1-статусом РМП, определенным с помощью клона SP142, и выраженностью лимфоидной инфильтрации опухоли, впервые определено пороговое значение TILs, при котором можно ожидать позитивный PD-L1-статус (SP142) РМП. Получены данные, свидетельствующие о высокой распространенности PD-L1-позитивных карцином шейки матки в российской популяции, также установлена зависимость уровня экспрессии PD-L1 (22C3) в РШМ от степени выраженности лимфоидной инфильтрации опухоли. Впервые определено пороговое значение TILs, при котором можно ожидать наличие позитивного PD-L1-статуса (22C3) в РШМ.

Впервые на образцах РМП пациентов российской популяции исследована зависимость между наличием генетических нарушений в *FGFR3* и PD-L1-статусом РМП, результаты анализа показывают, что уровень экспрессии PD-L1 в РМП находится в обратной зависимости от мутантного состояния *FGFR3*. Получены первые данные о связи иммуногистохимической экспрессии белка p16 с состоянием гена *FGFR3* в российской популяции.

### **Практическая и теоретическая значимость**

Разработан алгоритм исследования операционного материала РШМ и РМП при проведении патоморфологического исследования для оптимизации сроков проводимых исследований и выбора тактики лечения указанных карцином уrogenитальной зоны. Охарактеризованы связи между клинико-морфологическими характеристиками РМП и РШМ, уровнем экспрессии PD-L1, белков MMR-системы и p16, а также TILs и соматическим мутационным статусом гена *FGFR3*. Созданы рекомендации с обозначением наиболее важных клинико-морфологических параметров РШМ и РМП, на которые следует обращать внимание при планировании последовательности патологоанатомических и генетических исследований.

## **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Обнаружено, что феномен dMMR/MSI является редким событием для РМП и РШМ
2. Установлено, что для РШМ характерно наличие внутриопухолевой гетерогенной экспрессии белков системы репарации ДНК.
3. Доказано, что выраженная лимфоидная инфильтрация РМП и РШМ связана с PD-L1-статусом опухоли.
4. Выявлено, что уровень экспрессии PD-L1 в РМП находится в обратной зависимости от мутантного состояния гена *FGFR3*.
5. Установлено, что экспрессия белка p16 в РМП обладает прогностической значимостью.

## **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Область настоящего диссертационного исследования соответствует п.3 ("Исследование структурных, молекулярно-клеточных и молекулярно-генетических механизмов развития заболеваний в целом и отдельных их проявлений (симптомы, синдромы), создание основ персонализированной патогенетической терапии и профилактики") паспорта специальности 3.3.2. «Патологическая анатомия» и п.2 ("Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.)") паспорта специальности 3.1.6. - «Онкология, лучевая терапия».

## **Внедрение в практику и учебный процесс**

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность патологоанатомического отделения Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Областной клинический онкологический диспансер» и онкологического отделения №8 Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая онкологическая больница № 1 Департамента здравоохранения города Москвы»; учебные циклы кафедры патологической анатомии и кафедры онкологии и паллиативной медицины имени академика А.И. Савицкого Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения.

## **Степень достоверности и апробация результатов**

Выводы соответствуют задачам и логически следуют из результатов, полученных в ходе исследования. Достоверность результатов обоснована исследованием достаточного объема материала и использованием методов, отвечающих поставленным задачам.

Результаты диссертационного исследования доложены на 33 Конгрессе европейского общества патологов, онлайн формат (33<sup>rd</sup> European Congress Of Pathology, 2021, online), Форуме «Инновационная онкология» (Москва, 2022), XII Съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии им. Н.Н. Трапезникова, посвященный 25-летию АДИОР (онлайн, 2021), XI Конференции молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное», (онлайн, 2020), XII Конференции

молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное», (онлайн, 2021), XIII Конференции молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное», (Москва, 2022).

**Личный вклад автора** заключался в планировании и проведении исследования, обработке полученных результатов и их представлении, подготовке публикаций и написании текста диссертации.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе - 5 публикаций в рецензируемых периодических изданиях, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, из них 4 публикации в журналах, индексируемых в международных базах цитирования.

### **Объем и структура диссертации**

Объем диссертации составляет 238 страниц и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, 2 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы. Список литературы представлен 309 источниками отечественных и иностранных авторов. Работа иллюстрирована 83 рисунками и 51 таблицей.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **Материалы и методы**

В диссертационное исследование были включены 81 пациент: 40 пациентов с РМП и 41 пациентка с РШМ. Объектом исследования являлись парафиновые блоки из архивов кафедры патологической анатомии (материал пациентов клиники РМАНПО) и Рязанского областного онкологического диспансера с операционным материалом пациентов с РМП и РШМ за период с 2020 по 2021 гг. Критерии включения: наличие парафиновых блоков, содержащих достаточное количество опухолевой и окружающей ткани, наличие клинических данных. Критерии не включения: отсутствие парафиновых блоков с достаточным объемом материала для исследования, отсутствие или неполные клинические данные, критерии исключения: недостаточное количество ткани в опухолевых блоках для проведения дальнейших исследований.

Проведение диссертационного исследования одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО (Протокол от 27 октября 2020 года № 14 и Протокол от 19 апреля 2023 года № 4).

Исследование MSI/dMMR проводилось ИГХ-методом; в карциномах мочевого пузыря с использованием следующих антител в рабочем разведении: Dako An Agilent Technologies Company: MLH1 (Clone ES05); MSH6 (Clone EP49); PMS2 (Clone EP51); в карциномах шейки матки с использованием следующих антител в рабочем разведении: VENTANA anti-MSH6 (SP93), VENTANA anti-PMS2 (A16-4), VENTANA anti-MLH1 (M1), VENTANA anti-MSH2 (G219-1129). В случае отсутствия ядерного ИГХ-окрашивания хотя бы одного маркера диагностировалась MSI/dMMR. Гетерогенное окрашивание определяли

при наличии в опухоли областей с отсутствием и/или заметным снижением интенсивности ядерного окрашивания опухолевых клеток при сохраненном ядерном окрашивании прилежащих к данной зоне клеток опухоли и клеток внутреннего позитивного контроля.

TILs оценивали как отношение площади стромы, занимаемой лимфоидными клетками к общей площади стромы опухоли, выраженное в процентах. Исследование PD-L1-статуса РМП и РШМ проводили ИГХ-методом с использованием набора PD-L1 IHC 22C3 PharmDx (Dako, Inc.), для РМП также использовали антитело PD-L1 SP142 с системой детекции OptiView DAB IHC Detection Kit с амплификацией сигнала (Ventana Medical Systems, Inc.). Для антитела 22C3 использовалась система оценки CPS, а для антитела SP142 – система IC.

Исследование экспрессии белка p16 проводилось ИГХ-методом с использованием клона Е6Н4 (Ventana) на срезах, выполненных с парафиновых ТМА-мультиблоков, изготовленных с помощью технологии тканевых матриц. Позитивный HPV-статус РШМ диагностировался при наличии диффузного ядерно-цитоплазматического ИГХ-окрашивания белка p16. Полное отсутствие экспрессии p16, а также его очень слабое фокальное окрашивание интерпретировалось как негативный HPV-статус. Для РМП позитивный p16-статус определяли при наличии любого ядерно-цитоплазматического иммуногистохимического окрашивания p16 в клетках опухоли.

Наличие мутаций в гене *FGFR3* в исследованных образцах РМП определяли молекулярно-генетическим методом с использованием ПЦР.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.8.8 (разработчик - ООО "Статтех", Россия) и программы STATISTICA 10 (разработчик - StatSoft. Inc).

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Микросателлитная нестабильность (MSI/dMMR) в РМП**

В данном исследовании феномен MSI/dMMR в РМП являлся крайне редким событием и был обнаружен только в 2,5% (1/40). В указанном образце наблюдалось сочетанное отсутствие экспрессии MLH1 и PMS2 в клетках опухоли, при этом отмечалось слабое ядерное окрашивание клеток стромы, что позволяет исключить ложнонегативный результат иммуногистохимической реакции (рис. 1). Опухоль имела высокую степень злокачественности, отмечался инфильтративный рост в мышечный слой стенки мочевого пузыря (pT2a) и незначительная лимфоидная инфильтрация (TILs 12%). Экспрессия PD-L1 (SP142 и 22C3) не определялась ни в опухолевых, ни в иммунных клетках, окрашивания p16 также не было выявлено, мутации в гене *FGFR3* в указанном образце не обнаружены. В связи с таким малым количеством MSI/dMMR позитивных РМП в данном исследовании, статистический анализ связи MSI/dMMR с клинико-морфологическими характеристиками опухоли, а также с TILs, уровнем экспрессии PD-L1 (SP142 и 22C3), экспрессией p16 и *FGFR3*-статусом не проводился.

Согласно данным научной литературы, для рака мочевого пузыря возможен значительный разброс частоты встречаемости MSI, в публикациях есть сообщения как об

1%, так и о более чем 70% MSI-положительных РМП (Chang, L., et al. 2018; Fraune, C., et al. 2020; Vaish, M., et al. 2005).

Подобная вариабельность наблюдений может объясняться тем, что дизайн различных научных работ подразумевал использование разных методик определения MSI/dMMR. Немаловажными являются и критерии включения в исследование, известно, что у пациентов, у которых развитие уротелиальной карциномы ассоциировано с синдромом Lynch, значительно чаще наблюдается явление dMMR и сочетанная MSI, чем у пациентов со спорадическими карциномами (Pignot, G., et al. 2015; Therikildsen, C., et al. 2018). Необходимо учитывать и тот факт, что результаты, полученные иммуногистохимическим методом, основаны на изучении экспрессии белков MMR-системы, и свидетельствуют в первую очередь о наличии дефекта работы системы репарации ДНК, которая, как известно, является биологической предпосылкой возникновения феномена микросателлитной нестабильности, однако, процесс накопления точечных мутаций в геноме развернут во времени. В ряде работ было показано, что отсутствие или же снижение экспрессии определенных MMR-белков в клетках опухоли не всегда коррелирует с наличием в них молекулярно-генетически доказанной MSI (Catto, J.W., et al. 2003; Saetta, A.A., et al. 2007; Therikildsen, C., et al. 2018).

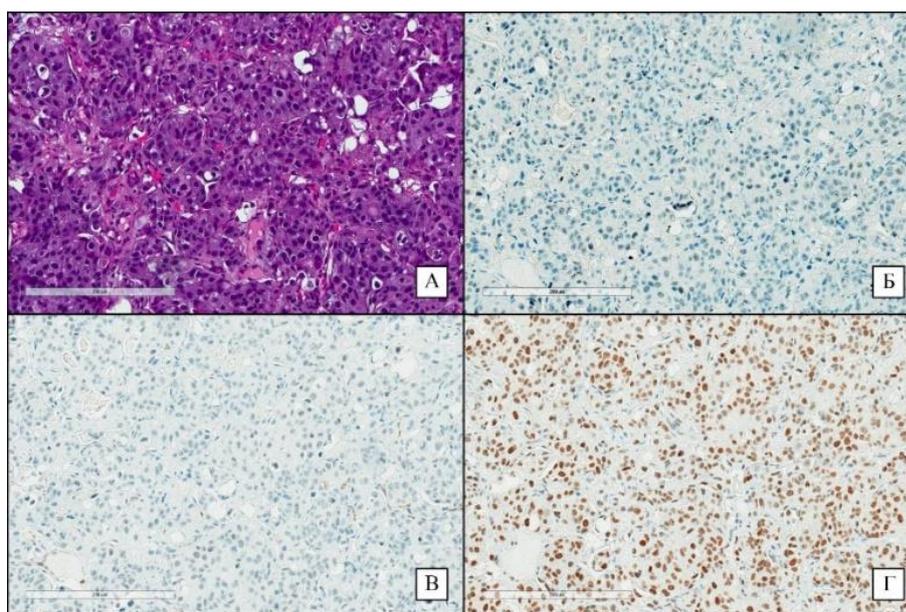


Рисунок 1. High grade РМП, стадия pT2a, увеличение x200, А – окрашивание гематоксилин и эозин; Б – ИГХ–реакция с антителом к PMS2, отсутствие экспрессии белка в клетках опухоли; В – ИГХ–реакция с антителом к MLH1, отсутствие экспрессии белка в клетках опухоли; Г – ИГХ–реакция с антителом к MSH6, диффузная экспрессия белка в клетках опухоли

#### **Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты и PD-L1-статус РМП, определенный иммуногистохимическим методом с использованием клонов SP142 и 22C3**

Количество TILs в данной работе значительно варьировало, от 1% до 80%, однако, не было связано ни с одним из исследованных клинико-морфологических параметров РМП, что не подтверждает прогностическую роль TILs, в одной из публикаций последних лет на данную тему также не было выявлено связи между степенью лимфоидной инфильтрации и

полом пациентов, стадией, а также степенью дифференцировки опухоли (Tural, D., et al. 2021).

PD-L1-статус опухоли, обнаруженный с помощью клона SP142, в данном исследовании зависел от количества опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов ( $p = 0,010$ ). При этом необходимо отметить, что для PD-L1-статуса, диагностированного с помощью клона 22C3 подобной связи обнаружено не было ( $p = 0,309$ ), хотя для показателей IC (22C3) и CPS (22C3), также как и для IC (SP142) и TC (SP142), была выявлена умеренной тесноты прямая корреляционная связь с TILs, что подтверждает, что уровень экспрессии PD-L1 в РМП зависит от выраженности лимфоидной инфильтрации.

С помощью ROC-анализа была получена статистически значимая модель, согласно которой, пороговое значение TILs при котором можно прогнозировать позитивный PD-L1-статус, диагностированный с помощью клона SP142, составляет 60% (рис. 2). данный результат достаточно интересен, так как на сегодняшний день нет формальных рекомендаций, какой уровень TILs является клинически значимым (Hendry, S., et al. 2017).

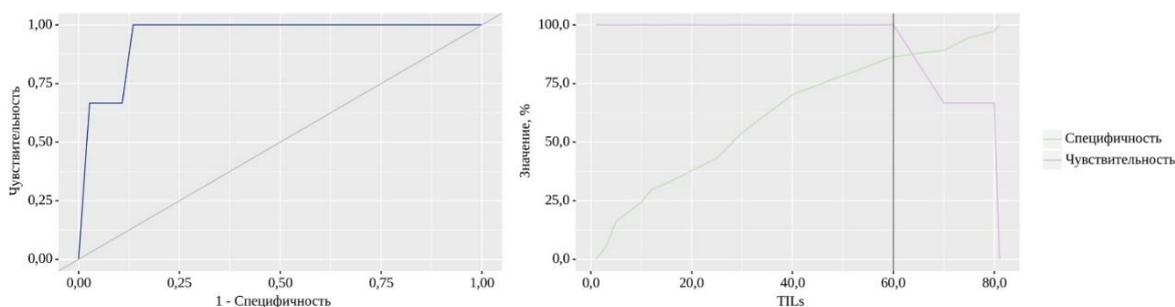


Рисунок 2. ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности PD-L1-статуса (SP142) от TILs и анализ чувствительности и специфичности модели в зависимости от пороговых значений TILs.

В данной работе, все PD-L1-позитивные карциномы мочевого пузыря имели низкую степень дифференцировки, а показатель IC (22C3) был статистически значимо связан со степенью злокачественности опухоли ( $p = 0,012$ ); также было показано, что для мышечно-инвазивных карцином мочевого пузыря характерны более высокие показатели TC (22C3 чем для немusечно-инвазивных, различия были статистически значимыми ( $p=0,002$ ). Все вышеперечисленное подтверждает, что уровень экспрессии PD-L1, определенный с помощью клона 22C3 в РМП обладает определенной прогностической ролью, хотя значение самого статуса с исследованными клинико-морфологическими параметрами не связано.

В исследовании был затронут вопрос взаимозаменяемости иммуногистохимических методов диагностики PD-L1-статуса РМП, подразумевающих использование двух различных клонов антител (SP142 и 22C3). В проведенной работе выявлена прямая корреляционная связь между уровнями экспрессии PD-L1 опухолевыми и иммунными клетками, определенными с помощью 2-х антител - SP142 и 22C3. Однако возможны расхождения интерпретации PD-L1-статуса при получении значений CPS и IC, близких к пороговым (рис. 3). При выявлении негативного PD-L1-статуса РМП, диагностированного на основании «пограничных» CPS и IC, целесообразно проведение дополнительного

иммуногистохимического исследования с другим клоном с учетом того, какой иммунотерапевтический препарат планируется для лечения.

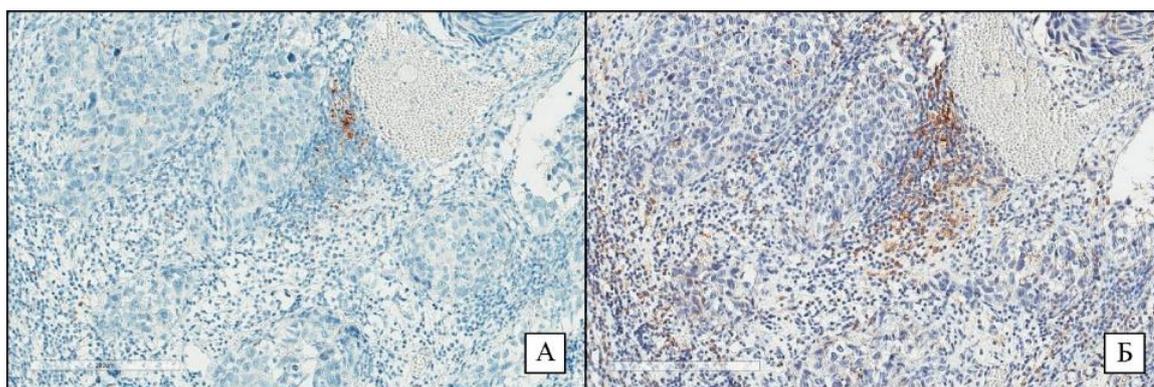


Рисунок 3. High grade РМП, стадия pT2a, экспрессия PD-L1 иммунными клетками микроокружения опухоли, увеличение x200, А – ИГХ–реакция с антителом к PD-L1 (SP142), IC = 4%, негативный PD-L1-статус опухоли; Б – ИГХ–реакция с антителом к PD-L1 (22C3), IC = 20%, CPS = 15; позитивный PD-L1-статус опухоли.

### Характер экспрессии p16 и мутационный статус гена *FGFR3* в РМП

Известно, что генетические аномалии в *FGFR3* связаны с подавлением иммунных реакций в микроокружении опухоли. Активирующие мутации в *FGFR3* приводят к фосфорилированию NEDD4, убиквитинлигазы E3, регулирующей процесс убиквитинирования PD-L1, а ингибирование *FGFR3* при РМП с позитивным мутантным статусом данного гена позволяет увеличить экспрессию PD-L1 (Jing, W., et al. 2022). Генетические изменения в *FGFR3*, включая мутации и слияния генов, в настоящее время приняты в качестве предиктивного маркера таргетной терапией ингибиторами *FGFR* (Cathomas, R., et al. 2022). Молекулярно-биологическая связь *FGFR3* и PD-L1 является основанием для комбинированной терапии РМП, предполагающей использование как таргетных лекарственных ингибиторов *FGFR*, так и иммунотерапию ингибиторами иммунных контрольных точек (Jing, W., et al. 2022, Kacew, A., et al. 2020).

В нашей работе *FGFR3*-позитивные карциномы характеризовались более низкой степенью лимфоидной инфильтрации, чем *FGFR3*-негативные, однако данные различия не были статистически значимыми. При этом позитивный PD-L1-статус был характерен только для тех карцином мочевого пузыря, в которых отсутствовали генетические нарушения в *FGFR3*, нами было отмечено, что более высокий уровень экспрессии PD-L1 опухолевыми клетками (ТС), выявленный с помощью клона 22C3, более характерен для карцином, в которых отсутствуют мутации в гене *FGFR3* ( $p=0,036$ ). Также мутантный статус гена *FGFR3* статистически значимо чаще наблюдался в группе папиллярных высокодифференцированных немышечно-инвазивных РМП ( $p < 0,001$ ; 0,018 и 0,001 соответственно), что подтверждает данные литературы (Al-Obaidy, K.I., et al. 2021, Ertl, I.E., et al. 2020, Poyet, C., et al. 2015, Siracusano, S., et al. 2020).

Особенности иммуногистохимической экспрессии белка p16 представляются интересными: иммуногистохимическое окрашивание исследуемых образцов РМП могло носить как диффузный, так и преимущественно базальный характер окрашивания, либо

отсутствовать вовсе. Статистический анализ показал связь данных вариантов экспрессии p16 и некоторых важных клинико-морфологических параметров РМП. Базальное окрашивание p16 отмечалось преимущественно в папиллярных ( $p = 0,026$ ) и немышечно-инвазивных карциномах мочевого пузыря ( $p = 0,009$ ), в которых также присутствовали мутации в гене *FGFR3* ( $p = 0,049$ ), а «маргинальные» варианты, такие как диффузная экспрессия p16 или же полное ее отсутствие, наблюдались в опухолях с преимущественно эндофитным ростом и мышечной инвазией, генетические нарушения в *FGFR3* в указанной группе карцином отсутствовали (рис. 4). Также мы отметили, что для PD-L1-позитивных карцином, определенных как с помощью клона SP142, так и с помощью клона и 22C3, характерно либо полное отсутствие иммуногистохимического окрашивания p16, либо диффузная экспрессия данного белка.

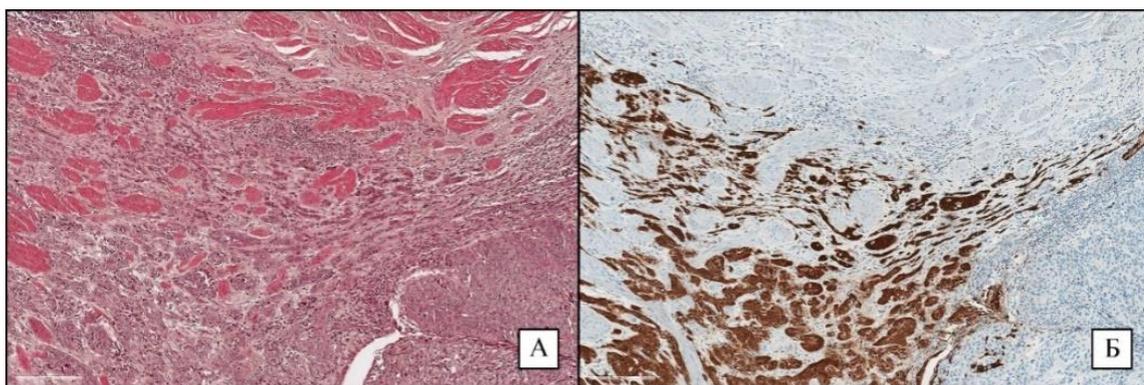


Рисунок 4. High grade РМП, стадия pT3b, негативный FGFR3-статус, увеличение x100.

А – окрашивание гематоксилин и эозин; Б – ИГХ–реакция с антителом к p16, диффузная экспрессия p16 в клетках эндофитного компонента опухоли, отсутствие экспрессии в экзофитном компоненте опухоли.

Можно предположить, что именно «краевые» вариации иммуногистохимического окрашивания белка p16 (диффузное или полное отсутствие) связаны с генетическими или эпигенетическими аномалиями гена, его кодирующего, и отражают существенные для онкогенеза РМП изменения функции p16, связанные с сигнальными путями, в которых данный белок принимает участие. В одном из последних опубликованных исследований на данную тему высокая экспрессия *CDKN2A/p16* и низкая экспрессия *FGFR3* были статистически значимо связаны с неблагоприятным прогнозом (Breyer, J., et al. 2018). Результаты ряда исследований показывают, что гомозиготная делеция *CDKN2A* связана с прогрессированием немышечно-инвазивной FGFR3-позитивной карциномы мочевого пузыря (Reboissou, S., et al. 2012). Считается, что делеция *CDKN2A* способствуют мышечной инвазии FGFR3-позитивной опухоли, а снижение экспрессии белка p16 трактуется как предиктор прогрессирования немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря (Downes, M.R., et al. 2017; Worst, T.S., et al. 2018).

#### Микросателлитная нестабильность (MSI/dMMR) в РШМ

В данном исследовании микросателлитная нестабильность (MSI/dMMR), выявленная путем оценки иммуногистохимической экспрессии 4-х белков MMR-системы (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6), была определена в небольшом проценте случаев РШМ

(4,9%), в каждом отсутствовала экспрессия пары MLH1/PMS2 (рис. 5). Результаты опубликованных научных работ последних лет свидетельствуют о том, что процент MSI/dMMR-карцином шейки матки колеблется на уровне 2,3% - 11,3%, хотя в более ранних публикациях есть сообщения и о 25% и более (Bonneville, R., et al. 2017; Chung, T.K., et al. 2001, Noh, J.J., et al. 2021; Steiniche, T., et al. 2020). Также есть сообщения о том, что изменения экспрессии белков MMR-системы не всегда коррелируют с наличием MSI (Chung, T.K., et al. 2001; Feng, Y.C., et al. 2018).

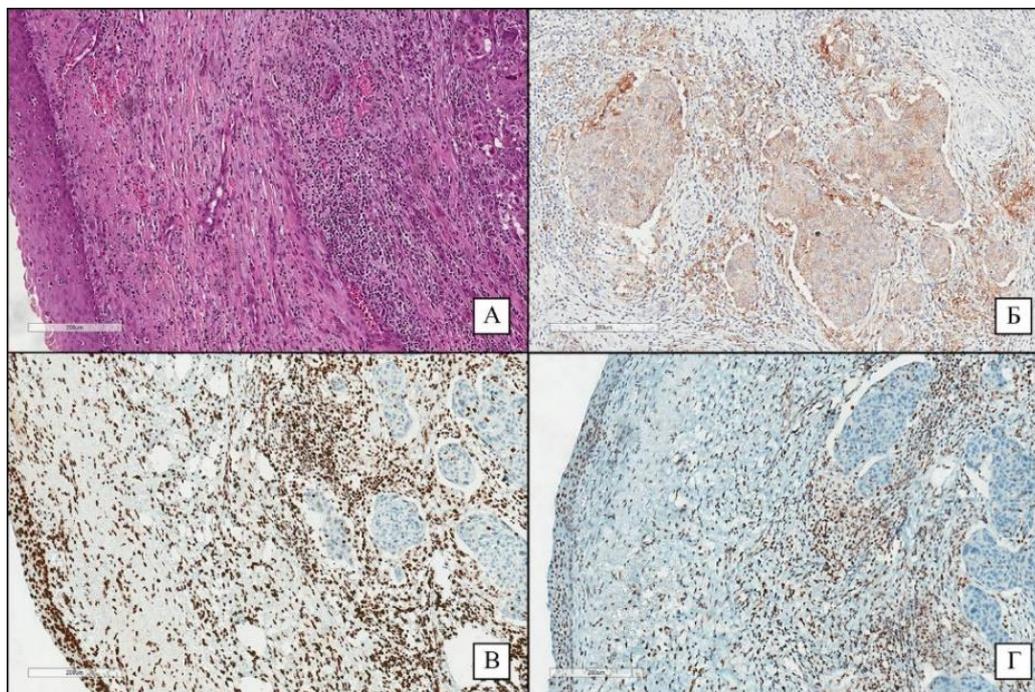


Рисунок 5. Плоскоклеточный рак шейки матки, G2, стадия T1, увеличение x100.

А – окрашивание гематоксилин и эозин; Б – ИГХ–реакция с антителом к PD-L1 (22C3), экспрессия PD-L1 (IC -1%; TC - 69%, CPS 70); В- ИГХ–реакция с антителом к MLH1, отсутствие экспрессии MLH1 в клетках опухоли (справа), с сохраненной экспрессией в покровном эпителии (слева), лимфоидных и стромальных клетках; Г - ИГХ–реакция с антителом к PMS2, отсутствие экспрессии PMS2 в клетках опухоли (справа), с сохраненной экспрессией в покровном эпителии (слева), лимфоидных и стромальных клетках.

Нами в 29,3% случаях РШМ была выявлена внутриопухолевая гетерогенность иммуногистохимической экспрессии исследуемых белков MMR-системы. Подобное явление описано в нескольких исследованиях колоректального рака и эндометриодной аденокарциномы (Graham, R.P., et al. 2015; Halvarsson, B., et al. 2004; Joost, P., et al. 2014; McCarthy, A.J., et al. 2019). Для РШМ данные, касающиеся рассматриваемой темы, фактически отсутствуют. Неоднородность окрашивания наблюдалась по всем 4 изученным белкам, наиболее часто гетерогенную экспрессию демонстрировал MLH1 (26,8%), реже всего подобное окрашивание отмечалось у MSH6 (4,9%). При этом внутриопухолевая неравномерная экспрессия в образце редко отмечалась только по одному исследованному белку. Наиболее частым событием оказалось сочетанное гетерогенное окрашивание пары MLH1/PMS2 (рис. 6). Также было выявлено, что характер экспрессии PMS2 зависит от

экспрессии MLH1 ( $p < 0,001$ ), подобная статистически значимая зависимость наблюдалась также и для пары MSH2/MSH6 ( $p = 0,034$ ).

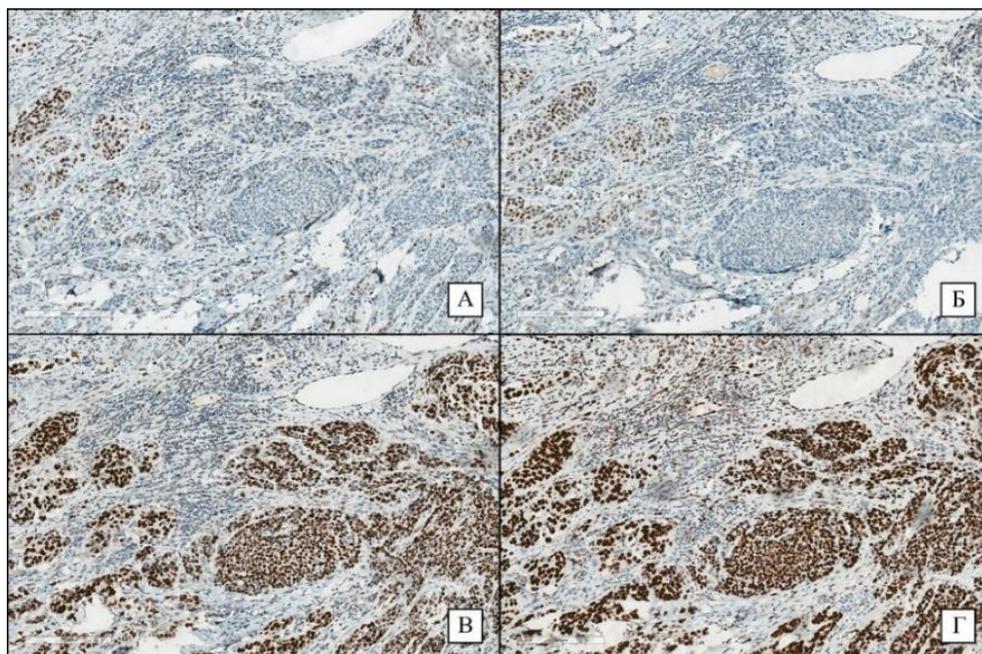


Рисунок 6. Плоскоклеточный рак шейки матки, G3, стадия T4, увеличение x100.

А – ИГХ–реакция с антителом к MLH1, гетерогенная экспрессия MLH1 в клетках опухоли с сохраненной экспрессией в лимфоидных и стромальных клетках; Б - ИГХ–реакция с антителом к PMS2, гетерогенная экспрессия PMS2 в клетках опухоли с сохраненной экспрессией в лимфоидных и стромальных клетках; В - ИГХ–реакция с антителом к MSH2, диффузная экспрессия MSH2 в опухолевых, стромальных и лимфоидных клетках; Г - ИГХ–реакция с антителом к MSH6, диффузная экспрессия MSH6 в опухолевых, стромальных и лимфоидных клетках.

Необходимо отметить, что описанная в этом исследовании внутриопухолевая неоднородность иммуногистохимического окрашивания наблюдалась преимущественно в зонах инвазии РШМ, а также при нарастании степени ядерного полиморфизма, что позволяет предположить, что при увеличении злокачественности опухолевых клеток возможно возникновение дефектов MMR-системы, носящих очаговый характер.

### **Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты и PD-L1-статус РШМ, определенный иммуногистохимическим методом с использованием клона 22С3**

Степень лимфоидной инфильтрации РШМ в нашей выборке колебалась от 5% до 90%. Показатель TILs не зависел от наличия в опухоли железистой дифференцировки, а также от стадии pT и pN, однако, была обнаружено, что выраженная лимфоидная инфильтрация стромы опухоли более характерна для карцином шейки матки низкой и умеренной степени злокачественности ( $p=0,040$ ), а также для опухолей, в которых отсутствовали очаги лимфоваскулярной инвазии (0,027). В литературе последних лет есть данные о том, что характер лимфоидной инфильтрации карциномы шейки матки, ее интенсивность и клеточный состав имеют значение для онкогенеза РШМ, предполагается, что снижение числа CD4 + T-клеток в РШМ является плохим прогностическим признаком

и связано с наличием метастазов и более крупных опухолей (Tang, Y., et al. 2021). Результаты Gultekin et al. подтверждают, что стромальный компартмент TILs имеет высокую прогностическую ценность, авторы рекомендуют оценивать степень стромальной лимфоидной инфильтрации в РШМ в рамках рутинной клинической практики (Gultekin, M., et al. 2022).

В нашей работе было выявлено 51,2% PD-L1-положительных РШМ. Отмечено, что положительный PD-L1-статус несколько более характерен для чисто плоскоклеточных карцином шейки матки, а также для опухолей со стадией pN0, однако, различия не были статистически значимыми. При оценке вероятности положительного PD-L1-статуса в зависимости от наличия эмболов в лимфатических сосудах было обнаружено, что подобная вероятность значимо выше в группе опухолей, в которых фокусы лимфоваскулярной инвазии отсутствуют, хотя подтвердить данные различия между выборками статистическим анализом не удалось. Также при оценке PD-L1-статуса РШМ не было обнаружено статистически значимых различий между выборками в зависимости от возраста пациенток, гистологического варианта опухоли, стадии pT и pN, а также характера экспрессии белка p16. Однако, в исследуемой выборке, положительный PD-L1-статус чаще отмечался в умеренно дифференцированных РШМ ( $p = 0,027$ ), преимущественно за счет высокой экспрессии PD-L1 опухолевыми клетками ( $p = 0,005$ ).

Также в представленной работе PD-L1-положительные РШМ имели более выраженную лимфоидную инфильтрацию, чем PD-L1-негативные, описанная зависимость расценена как статистически значимая ( $p = 0,038$ ), а при оценке связи показателей TC (22C3) и CPS (22C3) с TILs была установлена умеренной тесноты прямая корреляционная связь, что подтверждает данные научной литературы о том, что уровень TILs прямо коррелирует с уровнем экспрессии PD-L1. С помощью ROC-анализа нами получена статистически значимая модель, согласно которой, пороговое значение TILs при котором можно прогнозировать положительный PD-L1-статус РШМ, диагностированный с помощью клона 22C3, составляет 50% (рис. 7). Данный результат можно считать полезным для клинической практики, так как в настоящее время для РШМ отсутствуют четкие критерии, какое значение TILs является клинически значимым (Hendry, S., et al. 2017).

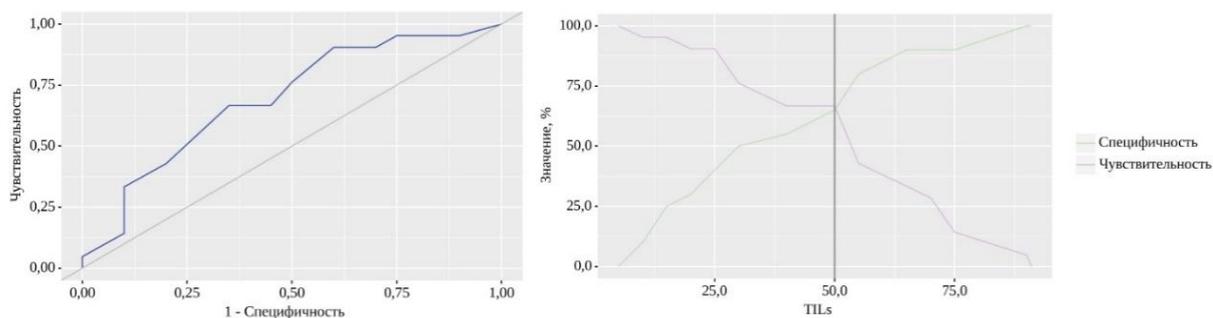


Рисунок 7. ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности положительного PD-L1-статуса РШМ от TILs и анализ чувствительности и специфичности модели в зависимости от пороговых значений TILs.

### HPV-статус опухоли и экспрессия p16 в РШМ

В нашем исследовании обращает на себя внимание малочисленность HPV-негативных карцином шейки матки в изученной выборке, что подтверждает данные научной литературы, о том, что большинство РШМ ассоциированы с инфекцией, вызываемой вирусом папилломы человека (Fernandes, A., et al. 2022).

В исследовании не удалось выявить зависимости между HPV-статусом РШМ и гистологическим вариантом опухоли, степенью ее злокачественности, лимфоваскулярной инвазией и стадией рN. Пациентки с HPV-независимыми опухолями шейки матки были старше нежели чем пациентки с HPV-ассоциированными раками ( $p < 0,001$ ). Позитивный HPV-статус РШМ и диффузная экспрессия p16 оказались характерны для карцином стадии рT1-2 ( $p = 0,002$  и  $0,003$  соответственно), а HPV-независимые раки выявлены на разных стадиях рT.

В данном исследовании не было обнаружено статистически значимых различий при сопоставлении показателя TILs и PD-L1-статуса РШМ в зависимости от HPV-статуса опухоли. Однако, обращает на себя внимание тот факт, что в нашей выборке частота позитивного PD-L1-статуса и более высокие значения показателя TILs в группе HPV-ассоциированных карцином была несколько выше по сравнению с группой HPV-независимых опухолей.

## ВЫВОДЫ

1. Наличие феномена dMMR/MSI – редкое явление для РМП (2,5%) и РШМ (4,9%).
2. Внутриопухолевая гетерогенная экспрессия белков системы репарации ДНК в РШМ является характерным онкогенетическим событием для данных карцином.
3. PD-L1-статус (SP142) РМП зависит от степени выраженности лимфоидной инфильтрации опухоли ( $p = 0,010$ ), показатели IC и TC коррелируют со значением TILs, а позитивный PD-L1-статус ожидается при TILs 60% и выше. Показатель IC, определенный клоном 22C3, также коррелирует с TILs, однако, сам PD-L1-статус (22C3) РМП не связан с лимфоидной инфильтрацией опухоли ( $p = 0,309$ ). PD-L1-статус (22C3) РШМ зависит от уровня TILs ( $p = 0,038$ ), позитивный PD-L1-статус ожидается при TILs 50% и выше, TC и CPS коррелируют с TILs.
4. Мышечно-инвазивные карциномы мочевого пузыря низкой степени дифференцировки с преобладающим эндофитным ростом характеризуются высокими уровнями экспрессии PD-L1 опухолевыми и иммунными клетками ( $p = 0,002$ ;  $0,012$ ;  $0,007$  для TC, IC, TC соответственно). Позитивный PD-L1-статус (22C3) РШМ и повышенные значения показателя TC характерны для умеренно дифференцированных карцином шейки матки ( $p = 0,027$  и  $0,005$  соответственно).
5. Показатель TILs в РШМ зависит от степени дифференцировки опухоли и лимфоваскулярной инвазии ( $p = 0,040$  и  $0,027$  соответственно).
6. Папиллярные высокодифференцированные немышечно-инвазивные РМП характеризуются наличием мутаций в гене *FGFR3* ( $p < 0,001$ ;  $0,018$  и  $0,001$  соответственно). Уровень экспрессии PD-L1 в РМП находится в обратной зависимости от мутантного состояния *FGFR3*, отмечена статистическая связь между показателем TC (22C3) и *FGFR3*-статусом РМП ( $p = 0,036$ ).
7. Диффузная экспрессия белка p16 или ее полное отсутствие в РМП являются неблагоприятным признаком, характерным для карцином с агрессивным инфильтративным ростом, мышечной инвазией и негативным мутационным статусом гена *FGFR3* ( $p = 0,026$ ;  $0,009$  и  $0,049$ ). Базальная экспрессия p16 наоборот ассоциирована с папиллярными немышечно-инвазивными опухолями с генетическими нарушениями в *FGFR3*.
8. Позитивный HPV-статус РШМ и диффузная экспрессия p16 характерны для карцином стадии pT1-2 ( $p = 0,002$  и  $0,003$ ), HPV-независимые раки выявлены на разных стадиях pT.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для рака мочевого пузыря с выраженной лимфоидной инфильтрацией (TILs 60% и выше) рекомендуется определять PD-L1-статус опухоли с помощью клона SP142.
2. Для рака шейки матки с выраженной лимфоидной инфильтрацией РШМ (TILs 50% и выше) рекомендуется определять PD-L1-статус опухоли с помощью клона 22C3.
3. При негативном PD-L1-статусе РМП, диагностированном на основании близких к пороговым значениям CPS или IC, целесообразно провести дополнительное иммуногистохимическое исследование с другим клоном с учетом того, какой иммунотерапевтический препарат планируется для лечения.
4. В папиллярных высокодифференцированных немышечно-инвазивных РМП с базальной экспрессией p16, рекомендуется выявлять мутации в гене *FGFR3*, так как высока вероятность позитивного FGFR3-статуса опухоли.
5. Рекомендуется использовать стандартный алгоритм исследования операционного материала для оптимизации сроков проводимых исследований и выбора тактики лечения рака мочевого пузыря и рака шейки матки (рис. 8 и 9).

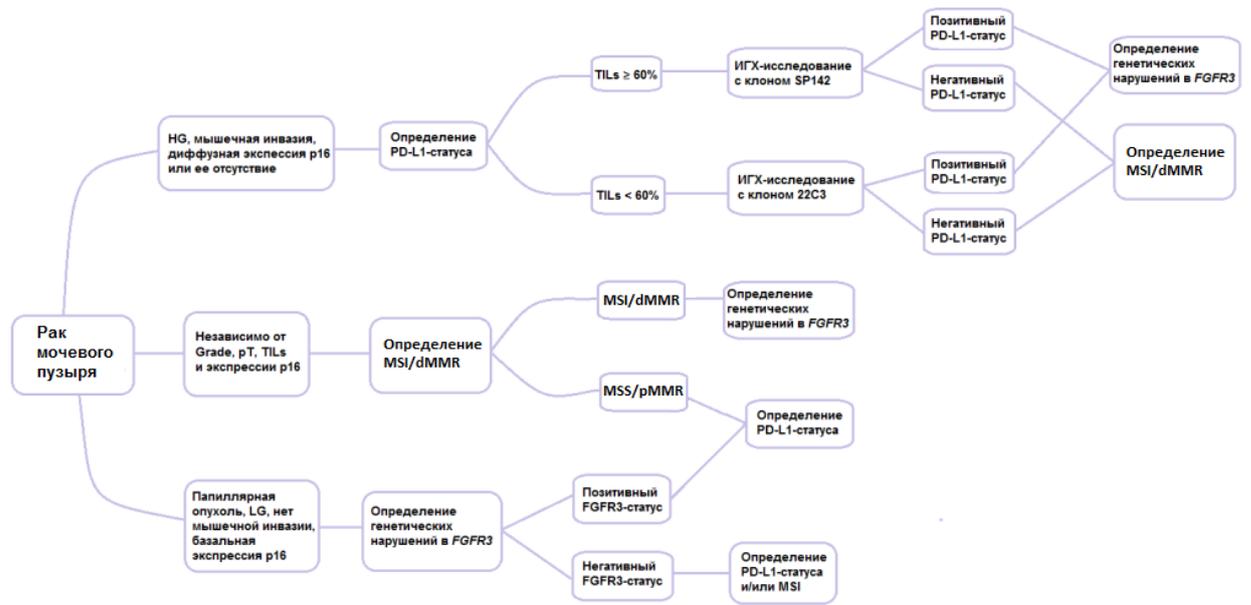


Рисунок 8. Алгоритм исследования операционного материала рака мочевого пузыря.

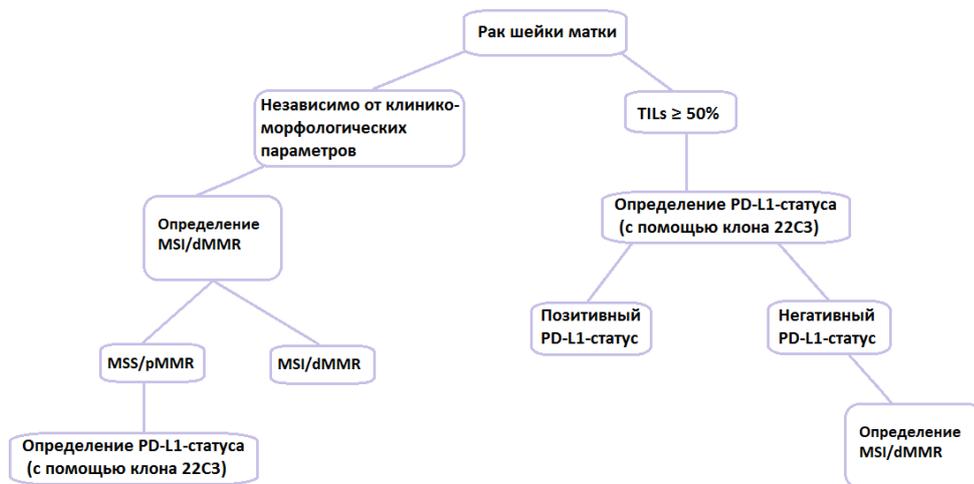


Рисунок 9. Алгоритм исследования операционного материала рака шейки матки.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Завалишина, Л.Э., Андреева Ю.Ю., Олюшина Е.М., Тимофеев И.В., Тюляндин С.А., Франк Г.А. Проблемы определения PD-L1 статуса рака мочевого пузыря с использованием разных клонов антител (22C3 и SP142) // Уральский медицинский журнал. - 2019. - 10(178). - С. 28-33 (**Перечень ВАК (до 01.01.2020) по спец. 14.03.02 – Патологическая анатомия (медицинские науки), 14.01.12 – Онкология (медицинские науки), 14.01.13 – Лучевая диагностика, лучевая терапия (медицинские науки)**).
2. Завалишина, Л.Э., Андреева, Ю.Ю., Олюшина, Е.М., Франк, Г.А., Кузнецова, О.А., Тележникова, И.М., Виноградов, И.И., Москвина, Л.В. Исследование MSI-фенотипа уротелиального рака мочевого пузыря иммуногистохимическим методом// Архив патологии. - 2020. – 82(1). - С. 5-14 (**Scopus**).
3. Олюшина, Е.М.,Завалишина, Л.Э.,Алексеев, Е.Ю., Оськина, Н.А., Андреева, Ю.Ю.,Кузнецова, О.А., Филипенко, М.Л., Франк, Г.А. Исследование мутационного статуса гена FGFR3 в уротелиальной карциноме мочевого пузыря// Архив патологии. - 2023. – 85(2). - С. 5-12 (**Scopus**).
4. Олюшина, Е.М., Завалишина, Л.Э., Андреева, Ю.Ю., Кузнецова, О.А., Москвина, Л.В., Франк, Г.А.Предиктивные маркеры иммунотерапии в раке шейки матки// Архив патологии. - 2023. – 85(5). - С. 5-12 (**Scopus**).
5. Олюшина, Е.М. Исследование микросателлитной нестабильности в уротелиальном раке мочевого пузыря//XI Конференция молодых ученых с международным участием«Трансляционная медицина: возможное и реальное»: сборник материаловконференции; ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывногопрофессионального образования» Минздрава России. – М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 2019.- С. 199 – 200 (**Конференция**).
6. Олюшина, Е.М., Завалишина Л.Э. Изучение роли микросателлитной нестабильности в уротелиальном раке мочевого пузыря //Евразийский онкологический журнал. - 2020. - № 8 (2): Приложение. Тезисы XI Съезда онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии. - С. 545-546 (**Конференция**).
7. Олюшина, Е.М. Исследование микросателлитной нестабильности в плоскоклеточных и аденоплоскоклеточных карциномах шейки матки // XII Конференция молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное»: сборник материалов конференции ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 2021. С. 173 – 174 (**Конференция**).
8. Kuznetsova O., Zavalishina L., Olyushina E., Andreeva Y., Vyakhova M., Frank G. Immunohistochemical study of microsatellite instability in tumours of the urogenital zone // VirchowsArch. - 2021. - №479 (Suppl 1). - P. 174-175 (**WoS**).
9. Олюшина, Е.М., Завалишина, Л.Э., Франк, Г.А. Исследование мутационного статуса гена FGFR3 в уротелиальном раке мочевого пузыря // XIII Конференция молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное»: сборник материалов конференции /ФГБОУ ДПО «Российская медицинская

академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России. – М.:  
ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 2022. С. 177 – 178 (**Конференция**).

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Сокращение	Расшифровка
CDKN2A	Ингибитор циклин-зависимой киназы 2A, кодируемый геном <i>CDKN2A</i> (от англ. cyclin-dependent kinase inhibitor 2A)
CPS	Комбинированный позитивный балл (от англ. Combined Positive Score)
dMMR	Дефицит (недостаток) системы репарации неспаренных оснований (от англ. Mismatch repair deficient)
FGFR3	Рецептор фактора роста фибробластов 3 (от англ. Fibroblast growth factor receptor 3)
HPV	Вирус папилломы человека (от англ. Human papillomavirus)
IC	Методика подсчета иммунных клеток (от англ. Immune Cells)
ICIs	Ингибиторы контрольных точек иммунитета (от англ. Immune checkpoint inhibitors)
MLH1	Гомолог 1 белка MutL, кодируемый геном <i>MLH1</i> (от англ. MutL homolog 1)
MMR	Система репарации неспаренных оснований ДНК (от англ. Mismatch repair system, MMR-система)
MSH2	Гомолог 2 белка MutS, кодируемый геном <i>MSH2</i> (от англ. MutS homolog 2)
MSH6	Гомолог 6 белка MutS, кодируемый геном <i>MSH6</i> (от англ. MutS homolog 6)
MSI	Микросателлитная нестабильность (от англ. Microsatellite instability)
MSS	Микросателлитная стабильность (от англ. Microsatellite stability)
p16	Ингибитор циклин-зависимой киназы 2A
PD-1	Рецептор программируемой клеточной гибели (от англ. Programmed death 1)
PD-L1	Лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1 (от англ. Programmed death-ligand 1)
PMS2	Белок 2 с повышенной постмейотической сегрегацией, кодируемый геном <i>PMS2</i> (от англ. Postmeiotic segregation increased protein 2)
pMMR	Нормальное функционирование MMR-системы (от англ. Mismatch repair proficient, pMMR)
TC	Опухолевые клетки (Tumor Cells)
TILs	Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (от англ. Tumor-infiltrating lymphocytes)
TMA	Тканевая матрица (от англ. Tissue microarray)
TMB	Мутационное бремя опухоли (от англ. Tumor mutation burden)
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ИГХ	Иммуногистохимия
ПЦР	Полимеразная цепная реакция
РМП	Рак мочевого пузыря
РШМ	Рак шейки матки

**Олюшина Екатерина Максимовна**

**Связь феномена микросателлитной нестабильности с интратуморальной лимфоидной инфильтрацией, PD-L1-статусом и суррогатным маркером HPV-инфекции в карциномах урогенитальной зоны**

Диссертация представляет собой исследование биологических маркеров рака мочевого пузыря и шейки матки, отражающих молекулярно-генетические механизмы взаимодействия иммунной системы организма и опухоли (феномен MSI/dMMR, TILs, PD-L1-статус, соматический мутационный статус гена *FGFR3* и экспрессия белка p16). Выявлены и описаны зависимости между исследуемыми биологическими маркерами и их связь с клинико-морфологическими характеристиками опухоли, что позволило разработать алгоритм сопроводительной диагностики, необходимой для назначения персонализированной терапии. В ходе исследования было обнаружено, что феномен dMMR/MSI является редким событием для исследованных карцином, а для рака шейки матки характерно наличие внутриопухолевой гетерогенной экспрессии белков MMR-системы; доказано, что выраженная лимфоидная инфильтрация рака мочевого пузыря и рака шейки матки связана с PD-L1-статусом опухоли; выявлено, что уровень экспрессии PD-L1 в карциномах мочевого пузыря находится в обратной зависимости от мутантного состояния гена *FGFR3*; установлено, что экспрессия белка p16 в раке мочевого пузыря обладает прогностической значимостью.

**Oliushina Ekaterina M.**

**Correlation of microsatellite instability with intratumoral lymphoid infiltration, PD-L1-status and surrogate marker of HPV infection in urogenital carcinomas**

The dissertation is a study of biological markers of bladder and cervical cancer reflecting molecular and genetic mechanisms of interaction between the immune system of the body and tumor (MSI/dMMR phenomenon, TILs, PD-L1 status, somatic mutation status of the *FGFR3* gene and p16 protein expression). The correlations between the biological markers studied and their relationship with clinical and morphological characteristics of the tumor were identified and described, which allowed us to develop an algorithm of accompanying diagnostics necessary for prescribing personalized therapy. The study revealed that the dMMR/MSI phenomenon is a rare event for the studied carcinomas, and cervical cancer is characterized by the presence of intratumoral heterogeneous expression of MMR-system proteins; it was proved that marked lymphoid infiltration of bladder cancer and cervical cancer is associated with PD-L1 status of the tumor; PD-L1 expression level in bladder carcinomas was found to be in inverse dependence on the mutant state of *FGFR3* gene; p16 protein expression in bladder cancer was found to have prognostic significance.