

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Абдурашидова Руниза Равильевна

**Исследование aberrаций микросателлитных повторов у пациентов с
первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой**

3.1.28. – Гематология и переливание крови

3.3.8. – Клиническая лабораторная диагностика

Диссертация на соискание учёной степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:
кандидат медицинских наук Мангасарова Яна Константиновна
доктор биологических наук Судариков Андрей Борисович

Москва – 2025

Оглавление

<i>Введение</i>	5
Актуальность темы	5
Степень разработанности темы исследования	6
Цель работы	7
Задачи исследования	7
Научная новизна	8
Теоретическая и практическая значимость	8
Методология и методы исследования	9
Положения, выносимые на защиту	9
Степень достоверности и апробация результатов	10
Объем и структура диссертации	11
<i>Глава 1. Обзор литературы</i>	12
1.1. Эпидемиология и клиническая картина первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомы	12
1.2. Морфологические особенности и патогенез ПМВКЛ	14
1.3. Терапия и факторы прогноза при ПМВКЛ	19
1.4. Микросателлиты, микросателлитная нестабильность	23
1.4.1. Структура и биологическое значение микросателлитов	23
1.4.2. Микросателлитная нестабильность	24
1.4.3. Аберрации микросателлитных тетра nukлеотидных повторов.....	27
1.4.4. Потеря гетерозиготности микросателлитных повторов	28
1.4.5. Значение MSI, EMAST и LOH при гемобластозах.....	31
1.5. Заключение по литературному обзору	31
<i>Глава 2. Материалы и методы</i>	33
2.1. Дизайн исследования и клиническая характеристика больных	33
2.2. Лабораторные методики	38
2.2.1. Молекулярный и хромосомный анализ геномной нестабильности	38
2.2.2. Хромосомный микроматричный анализ.....	48
2.2.3. Иммуногистохимическая оценка экспрессии PD-L1, HLA-DR, PD-1, CTLA-4	48
2.3. Статистическая обработка данных	50

Глава 3. Результаты и обсуждение	52
3.1. Анализ aberrаций микросателлитных повторов по локусам панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus	52
3.1.1. Частота встречаемости MSI по локусам панели COrDIS MSI у больных первичной медиастинальной и диффузной В-клеточными крупноклеточными лимфомами	52
3.1.2. Частота встречаемости LOH и EMAST по локусам панели COrDIS Plus у больных первичной медиастинальной и диффузной В-клеточными крупноклеточными лимфомами	53
3.1.3. Сопоставление клинических данных и aberrаций микросателлитных повторов по локусам стандартных панелей у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой	56
3.2. Анализ aberrаций микросателлитных повторов по локусам оригинальной панели праймеров (6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13)	57
3.2.1. Анализ aberrаций микросателлитных повторов локуса 6p21.3	58
3.2.2. Анализ aberrаций микросателлитных повторов 9p24.1	61
3.2.3. Анализ aberrаций микросателлитных повторов 16p13.13	63
3.2.4. Сопоставление aberrаций микросателлитных повторов по локусам панели COrDIS Plus и оригинальной тест-системы	67
3.3. Результаты хромосомного микроматричного анализа у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой ...	70
3.3.1. Сопоставление результатов хромосомного микроматричного анализа и исследования микросателлитных повторов	75
3.4. Характеристика экспрессии PD-L1, HLA-DR, PD-1 и CTLA-4 у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой ...	78
3.4.1. Сопоставление клинических данных и экспрессии PD-L1, PD-1, HLA-DR и CTLA-4 у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой	83
3.4.2. Сопоставление экспрессии PD-L1, HLA-DR и аллельного дисбаланса локусов 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13	84
3.5. Результаты терапии больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой и ассоциация молекулярных и иммуногистохимических маркеров с прогнозом	86
3.5.1. Результаты терапии больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой	86
3.5.2. Прогностическая роль aberrаций микросателлитных повторов у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой	93
3.5.3. Прогностическая роль экспрессии PD-L1, HLA-DR, PD-1 и CTLA-4 ..	102

3.5.4. Эффективность терапии у больных первичной медиастинальной лимфомой в зависимости от хромосомных нарушений 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13	105
<i>Заключение</i>	<i>106</i>
<i>Выводы</i>	<i>108</i>
<i>Практические рекомендации</i>	<i>109</i>
<i>Список сокращений и условных обозначений</i>	<i>110</i>
<i>Список использованной литературы</i>	<i>114</i>
<i>ПРИЛОЖЕНИЕ</i>	<i>140</i>

Введение

Актуальность темы

Первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома (ПМВКЛ) является редким подтипом агрессивных В-клеточных лимфомы, составляя всего 2–4 % всех случаев неходжкинских лимфом (НХЛ). Заболевание преимущественно поражает молодых взрослых, чаще женщин, что делает особенно важным снижение долгосрочной токсичности терапии, в том числе в аспектах фертильности и качества жизни.

Прогноз при ПМВКЛ благоприятный с общей выживаемостью (ОВ) более 90 % на стандартной терапии R-DA-EPOCH. Однако при развитии рецидивов или рефрактерности (Р/Р) прогноз крайне неблагоприятный, а эффективность противорецидивной терапии ограничена. В связи с этим особую актуальность приобретает разработка методов стратификации пациентов по рискам исхода заболевания и токсичности лечения. В настоящее время отсутствуют валидированные молекулярные или иммуногистохимические (ИГХ) маркеры, позволяющие надежно прогнозировать исход ПМВКЛ.

За последние 20 лет были изучены биологические особенности ПМВКЛ, показан схожий молекулярный портрет ПМВКЛ и классической лимфомы Ходжкина (КЛХ). Первично ПМВКЛ рассматривалась как вариант диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы (ДВКЛ), и лишь идентификация молекулярно-генетических особенностей позволила выделить её в самостоятельную нозологическую единицу. Одной из ключевых особенностей ПМВКЛ является способность опухоли избегать иммунного надзора, используя механизмы, направленные на индукцию Т-клеточной анергии и снижение иммуногенности. Эти процессы обусловлены специфическими генетическими абберациями в локусах 9p24.1 (вблизи генов *PD-L1/PD-L2*), 6p21.3 (вблизи генов *HLA*), 16p13.13 (вблизи гена *СИТА*).

Несмотря на определённые успехи в расшифровке молекулярных механизмов ПМВКЛ, оценка генетической нестабильности в рутинной клинической практике остаётся затрудненной. Ограничением является низкая информативность стандартных цитогенетических методов, что связано со скудной митотической активностью опухолевых клеток *in vitro* и невозможностью получения метафазных пластинок для классического кариотипирования. В этом контексте особый интерес представляют микросателлитные повторы (МСП, или STR — Short Tandem Repeats, короткие тандемные повторы). МСП могут выступать чувствительными маркерами потери гетерозиготности (ЛОН, Loss of Heterozygosity), хромосомных aberrаций, а также нарушений репарации ДНК — факторов, отражающих степень геномной нестабильности опухоли. На сегодняшний день структура и частота микросателлитных aberrаций при ПМВКЛ не изучена.

Таким образом, детальный анализ МСП в геноме при ПМВКЛ, особенно в ключевых патогенетических локусах, представляет собой перспективное направление поиска прогностических и потенциально предиктивных маркеров, которые могут быть использованы для стратификации риска, оценки ответа на терапию и мониторинга минимальной остаточной болезни.

Степень разработанности темы исследования

Микросателлитная нестабильность (MSI, microsatellite instability) и aberrации МСП наиболее изучены при солидных неоплазиях. В гематологической практике, в том числе при лимфомах, этот подход используется сравнительно редко. Aberrации МСП по стандартным панелям COrDIS MSI и COrDIS Plus уже изучены у больных фолликулярной лимфомой, ДВКЛ, лимфомой высокой степени злокачественности.

Учитывая высокую полиморфность микросателлитов и их способность отражать хромосомные нарушения, особый интерес представляет анализ МСП вблизи генов, вовлечённых в патогенез. При ПМВКЛ критически важными являются локусы 6p21.3 (*HLA*), 9p24.1 (*JAK2/PD-L1/PD-L2*) и 16p13.13 (*СИТА*), где

часто наблюдаются хромосомные нарушения, способствующие иммунному «ускользанию» опухоли.

На сегодняшний день отсутствуют исследования, оценивающие частоту aberrаций МСП при ПМВКЛ, а также их возможное прогностическое значение. Кроме того, не изучена корреляция между этими изменениями и экспрессией иммунорегуляторных белков (PD-L1 и HLA-DR). Таким образом, степень разработанности темы остаётся крайне ограниченной, что определяет научную новизну настоящего исследования.

Цель работы

Изучить прогностическую значимость маркеров нестабильности микросателлитных повторов у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой.

Задачи исследования

1. Определить частоту встречаемости aberrаций микросателлитных повторов у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой и диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой с использованием стандартных панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus;
2. Разработать оригинальную панель праймеров, включающую локусы, 6p21.3 (*HLA*), 9p24.1 (*PD-L1/PD-L2*), 16p13.13 (*CIITA*) и оценить частоту встречаемости aberrаций микросателлитных повторов указанных локусов у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой и диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой;
3. Сопоставить aberrации микросателлитных повторов с хромосомными нарушениями, выявленными с помощью хромосомного микроматричного анализа;
4. Оценить взаимосвязь aberrаций микросателлитных повторов ключевых иммунорегуляторных локусов 6p21.3 (*HLA*), 9p24.1 (*PD-L1/PD-L2*), 16p13.13

(СИТА) с экспрессией PD-L1 и HLA-DR у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой;

5. Определить прогностическую значимость исследованных маркеров у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой.

Научная новизна

В рамках диссертационной работы разработана и апробирована оригинальная панель праймеров для анализа микросателлитных повторов локусов 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13 (патент на изобретение «Тест-система и способ выявления геномной нестабильности локусов 9p24.1 и 16p13.13 при ПМВКЛ», № 2846219 от 02.09.2025). Впервые выполнен анализ частоты встречаемости aberrаций микросателлитных повторов при ПМВКЛ и диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме с использованием стандартных панелей и разработанной оригинальной панели, а также оценена их прогностическая значимость. Продемонстрировано, что различные хромосомные нарушения, включая амплификацию, делецию и потерю гетерозиготности при нейтральном числе копий (cnLOH), проявляются в виде aberrаций микросателлитных повторов.

Теоретическая и практическая значимость

Разработанный метод исследования aberrаций МСП в иммунорегуляторных локусах может использоваться в рутинной клинической практике в качестве скринингового исследования. В случае выявления aberrаций возможно проведение цитогенетического исследования для верификации хромосомного нарушения. Данные о наличии aberrаций МСП в одном или более локусах иммунной «привилегии» (6p21.3 (*HLA*), 9p24.1 (*PD-L1/PD-L2*) и 16p13.13 (*СИТА*)) в опухоли могут выделить группу больных ПМВКЛ с неблагоприятным прогнозом. Оценка экспрессии антигенов HLA-DR, aberrаций МСП локусов 6p21.3 и 16p13.13 в опухолевых клетках может использоваться для детализации механизмов развития резистентности к ингибиторам иммунных контрольных точек (ИИКТ).

Методология и методы исследования

Исследование выполнено на базе ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. В исследование включено 114 пациентов с ПМВКЛ и 78 больных ДВКЛ в качестве группы сравнения в молекулярном анализе. Клиническая часть работы была ретроспективной (с 2007 по 2021 гг.) и проспективной (с 2022 по 2025 гг.). Лабораторная работа была проспективной и состояла из 4 частей:

1. Исследование частоты MSI и aberrаций тетрануклеотидных повторов с использованием стандартных панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus;
2. Анализ частоты aberrаций MCP локусов 6p21.3 (вблизи генов *HLA*), 9p24.1 (вблизи генов *PD-L1/PD-L2*) и 16p13.13 (вблизи гена *CTLA*) с использованием оригинальной панели праймеров;
3. Цитогенетическое исследование методом ХМА;
4. Иммуногистохимическая оценка экспрессии PD-L1, PD-1, HLA-DR и CTLA-4.

Полученные результаты анализировали с применением описательных методов и анализа выживаемости.

Положения, выносимые на защиту

1. Стандартные панели COrDIS MSI и COrDIS Plus крайне редко выявляют aberrации микросателлитных повторов у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой и выявленные изменения не ассоциированы с прогнозом заболевания;
2. Различные хромосомные нарушения, выявляемые методом хромосомного микроматричного анализа, включая амплификацию, делецию и cnLOH проявляются aberrациями микросателлитных повторов у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой;
3. Aberrации микросателлитных повторов в локусах 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13 у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной

лимфомой встречаются значительно чаще, чем у больных диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой;

4. LOH в локусе 9p24.1 (вблизи гена *PD-L1*) ассоциируется со снижением бессобытийной выживаемости (БСВ) у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой на протоколах R-DA-EPOCH/R-mNHL-BFM-90.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования подтверждается достаточным объемом выборки и методами статистической обработки полученных данных, которые в полной мере соответствовали поставленным задачам. Основные положения диссертации представлены в материалах и докладах на следующих конференциях:

1. XIX, XX и XXI Российские конференции с международным участием «Злокачественные лимфомы» (Москва, 2022–2024 гг.);
2. 10-я и 11-я ежегодные конференции *Society of Hematologic Oncology* (Хьюстон, США, 2022 г.; 2023 г.);
3. II и III Научно-практические конференции имени академика В. Г. Савченко (Москва, 2023 г.; 2024 г.);
4. Научно-практическая конференция «Агрессивные лимфомы. Разговор с экспертом – от простого к сложному» «Новые возможности в лечении первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомы (ПМВКЛ)» (Москва, 2025 г.).

Апробация диссертации состоялась на объединенном заседании проблемных комиссий «Клинические исследования в гематологии (гемобластозы, депрессии кроветворения; ТКМ; миело- и лимфопролиферативные заболевания; опухоли лимфатической системы; патология красной крови; ИТП; порфирии), трансфузиологии, патологии гемостаза, хирургической гематологии, анестезиологии и интенсивной терапии» и «Фундаментальные исследования в гематологии, трансплантологии, трансфузиологии: Гемопоз, молекулярная

биология, биотехнология, иммуногематология; биохимия; биофизика» ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России 14.07.2025 года.

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, 1 статья на английском языке, а также 4 тезисных сообщений.

Объем и структура диссертации

Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 141 странице машинописного текста и содержит разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы». Работа содержит список условных сокращений, список литературы и приложение. Иллюстративный материал представлен в виде 36 рисунков и 19 таблиц.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Эпидемиология и клиническая картина первичной медиастиальной В-клеточной крупноклеточной лимфомы

ПМВКЛ представляет собой редкую форму агрессивных В-клеточных лимфом и встречается в 2–4 % случаев среди всех НХЛ [1]. Редкость ПМВКЛ изначально усложняла ее диагностику, но благодаря специфическим клиническим, морфологическим, иммунологическим и генетическим характеристикам эта опухоль была выделена из ДВКЛ. Впервые этот подтип лимфомы был описан в 1980-х гг. А. Лихтенштейном и соавторами [2]. Согласно пересмотру европейско-американской классификации лимфоидных неоплазий, ПМВКЛ была отнесена к подтипам ДВКЛ с преимущественной локализацией в средостении [3]. В 1990-х гг. международная исследовательская группа по изучению экстранодальных лимфом предложила рассматривать ПМВКЛ как самостоятельный клинико-иммуноморфологический вариант. С 2008 года в классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) данный вид лимфомы признан отдельной нозологической формой [4].

ПМВКЛ – экстранодальная В-клеточная лимфома, происходящая из клеток мозгового слоя тимуса [5]. Клетки-предшественницы ПМВКЛ проходят стадию герминального центра, но в процессе постгерминальной дифференцировки утрачивают экспрессию поверхностных иммуноглобулинов [6]. Геномное профилирование, включая данные анализа экспрессии генов, подтверждает её обособленное происхождение по сравнению с ДВКЛ [7–9]. В течение последних двух десятилетий молекулярные исследования выявили сходство в профиле мутаций между ПМВКЛ и КЛХ, включая амплификацию 9p24.1 (*PD-L1/PD-L2*), мутации *СIТА*, *В2М*, *SOCS1* и активацию пути JAK/STAT [9,10]. На Рисунке 1.1 представлена схема дифференцировки В-клеток, ключевые генетические нарушения, определяющие развитие ДВКЛ, ПМВКЛ и КЛХ.

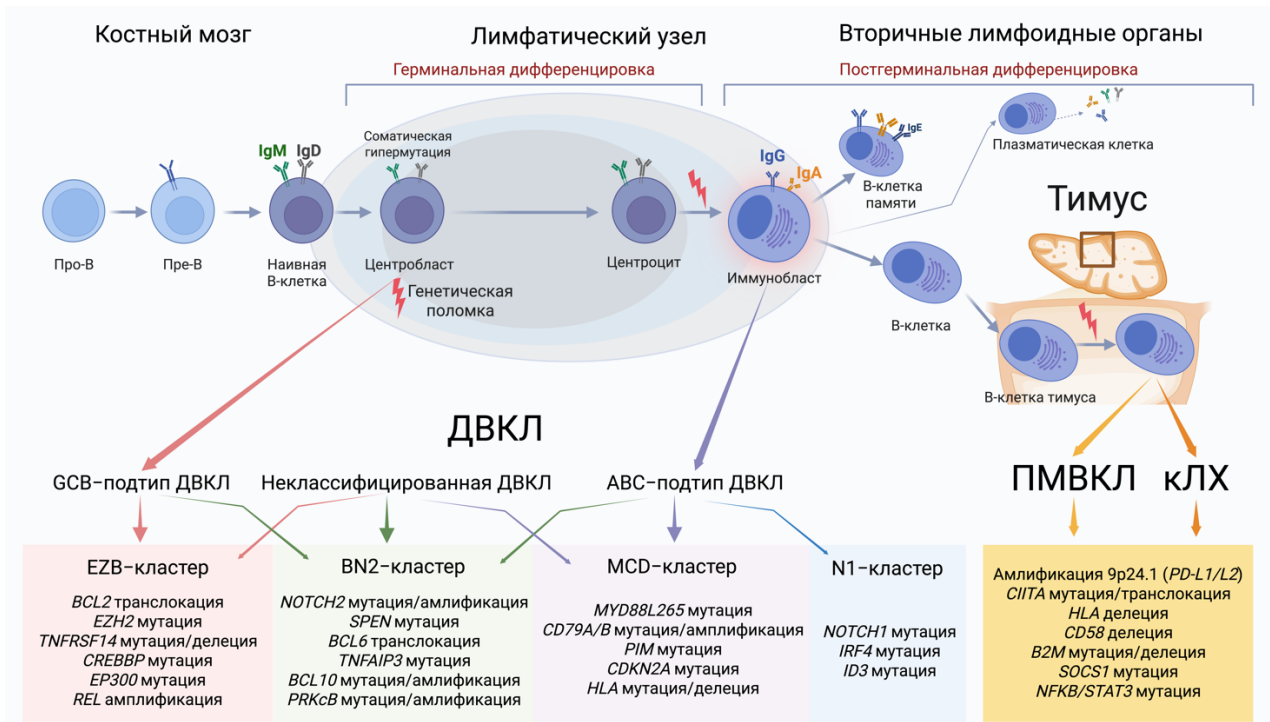


Рисунок 1.1 – Созревание В-клеток и молекулярные события, приводящие к развитию ДВКЛ, ПМВКЛ и кЛХ. Схема создана с использованием сервиса BioRender.com

ПМВКЛ чаще диагностируется в группе молодых женщин с медианой возраста 35 лет [11–13]. Заболевание манифестирует в виде массивной опухоли переднего средостения, размер которой на момент диагностики превышает 10 см в 50—70 % случаев [14,15]. В опухолевый процесс вовлекаются прежде всего органы и ткани переднего верхнего средостения. Характерен инфильтративный местнораспространенный рост, вовлекающий легкие и прилегающие мягкие ткани в передневерхнем средостении [16,17]. Клиническая симптоматика обусловлена быстрым ростом опухоли в средостении, что приводит к сдавлению дыхательных путей и магистральных кровеносных сосудов [16,18]. У пациентов в дебюте ПМВКЛ часто отмечаются одышка, кашель, клинические проявления синдрома верхней полой вены (20–40 % случаев), плевральный или перикардальный выпот (в 30–40 % случаев) [16,17,19].

Несмотря на агрессивное течение заболевания, большие размеры опухоли и крайне тяжелое состояние пациентов на момент верификации диагноза, по распространенности процесса в 80 % случаев устанавливается I и II стадия по Ann

Arbor (1971 г.) [17,20]. Крайне редко среди больных ПМВКЛ встречаются В-симптомы [20]. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) повышена у большинства больных [20].

Поражение отдаленных лимфатических узлов и костного мозга встречается редко [21]. Экстрamediастинальные очаги при ПМВКЛ встречаются примерно в 10 % случаев, чаще поражаются почки, надпочечники, яичники, поджелудочная железа, печень [11]. Поражение центральной нервной системы (ЦНС) при ПМВКЛ крайне редкое событие, обычно развивающееся при раннем рецидиве заболевания, чаще встречается в виде изолированного паренхиматозного поражения головного мозга [22,23].

1.2. Морфологические особенности и патогенез ПМВКЛ

Морфологически ПМВКЛ демонстрирует черты, сочетающие признаки ДВКЛ и КЛХ, преимущественно её нодулярно-склерозирующего варианта [1]. Характерным гистологическим признаком является выраженный фиброз с диффузным ростом опухолевых клеток, что может визуализироваться как компартментализация и затруднять морфологическую интерпретацию [24,25]. Опухолевые клетки среднего или крупного размера, с умеренно базофильной цитоплазмой, округлыми, овальными или плеоморфными ядрами [1,26]. Микроокружение опухоли представлено разнообразной реактивной лейкоцитарной инфильтрацией (лимфоциты, гистиоциты, эозинофилы, плазматические клетки) [24].

Опухолевые клетки экспрессируют основные В-клеточные маркеры — CD19, CD20, CD22, CD79a, а также транскрипционные факторы зрелых В-клеток: PAX5, BOB1, OCT2 и PU.1 [17]. Экспрессия CD23 и CD30 выявляется в более чем 70 % случаев, хотя окрашивание может быть гетерогенным и слабым [27]. Выражена экспрессия MUM1, реже — BCL6 и BCL2. Экспрессия CD10 и CD21 встречается крайне редко, в то время как экспрессия поверхностных иммуноглобулинов М отсутствует [17]. Для ДВКЛ, в отличие от ПМВКЛ, более типичны экспрессия CD10 и BCL6 и наличие поверхностных иммуноглобулинов; экспрессия CD23

встречается редко, экспрессия CD30, как правило, не определяется. Таким образом, сочетание CD23+, CD30+, MUM1+ при отсутствии CD10 и поверхностных иммуноглобулинов на опухолевых клетках позволяет дифференцировать ПМВКЛ от ДВКЛ [17].

Высокая экспрессия иммунных контрольных точек PD-L1 ($\approx 78\%$) и PD-L2 ($\approx 50\%$) служит дополнительным диагностическим и потенциально терапевтическим маркером [28–31]. Хотя путь PD-1/PD-L1 является основным объектом изучения при ПМВКЛ, другие контрольные точки также играют важную роль в иммуномодуляции. Например, CTLA-4 — негативный регулятор активации Т-клеток — конкурирует с CD28 за связывание с лигандами B7 на антигенпрезентирующих клетках, подавляя пролиферацию Т-клеток и секрецию цитокинов [32–34].

В редких случаях при ПМВКЛ может наблюдаться экспрессия CD15 ($\approx 6\%$), что требует настороженности при дифференциальной диагностике с КЛХ [35,36]. Маркеры MAL и CD200 представляют интерес для повышения специфичности диагностической панели, однако их применение ограничено из-за технических сложностей и интерпретационных ограничений [37]. У части пациентов с ПМВКЛ наблюдается потеря экспрессии HLA-DR ($\approx 65\%$), что может быть связано с механизмами иммунного уклонения опухоли [38,39].

Патогенез ПМВКЛ

Под влиянием селективного давления Т-лимфоцитов тимуса в опухолевых клетках ПМВКЛ накапливаются генетические повреждения, способствующие «маскировке» от Т-клеточного распознавания путем блокирования их активации и/или нарушения экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС).

Ключевой особенностью ПМВКЛ, является развитие Т-клеточной анергии, обусловленной множественными генетическими aberrациями, включая активацию сигнальных путей JAK-STAT и NF- κ B (Рисунки 1.2 и 1.3) [40]. Подавление

функциональной активности Т-клеток обеспечивается экспрессией опухолевыми клетками контрольных точек иммунного ответа PD-L1 и PD-L2 [41]. Для ПМВКЛ характерна гиперэкспрессия генов *PD-L1* и *PD-L2*, обусловленная амплификацией 9p24.1 и активацией сигнального каскада JAK-STAT (Рисунок 1.3) [10,40–42]. Активация JAK-STAT пути опосредована различными механизмами, включая появление нонсенс-мутаций и мутаций сдвига рамки считывания в генах супрессоров цитокинового сигнала — *SOCS1* (16p13.13) и *PTPN1* (20q13.13), а также активирующие мутации в генах *STAT6* и *IL4R* (16p12.1) [10,43–45]. Эти изменения усиливают экспрессию медиаторов, влияющих на ось PD-1/PD-L1 и иммунную супрессию.

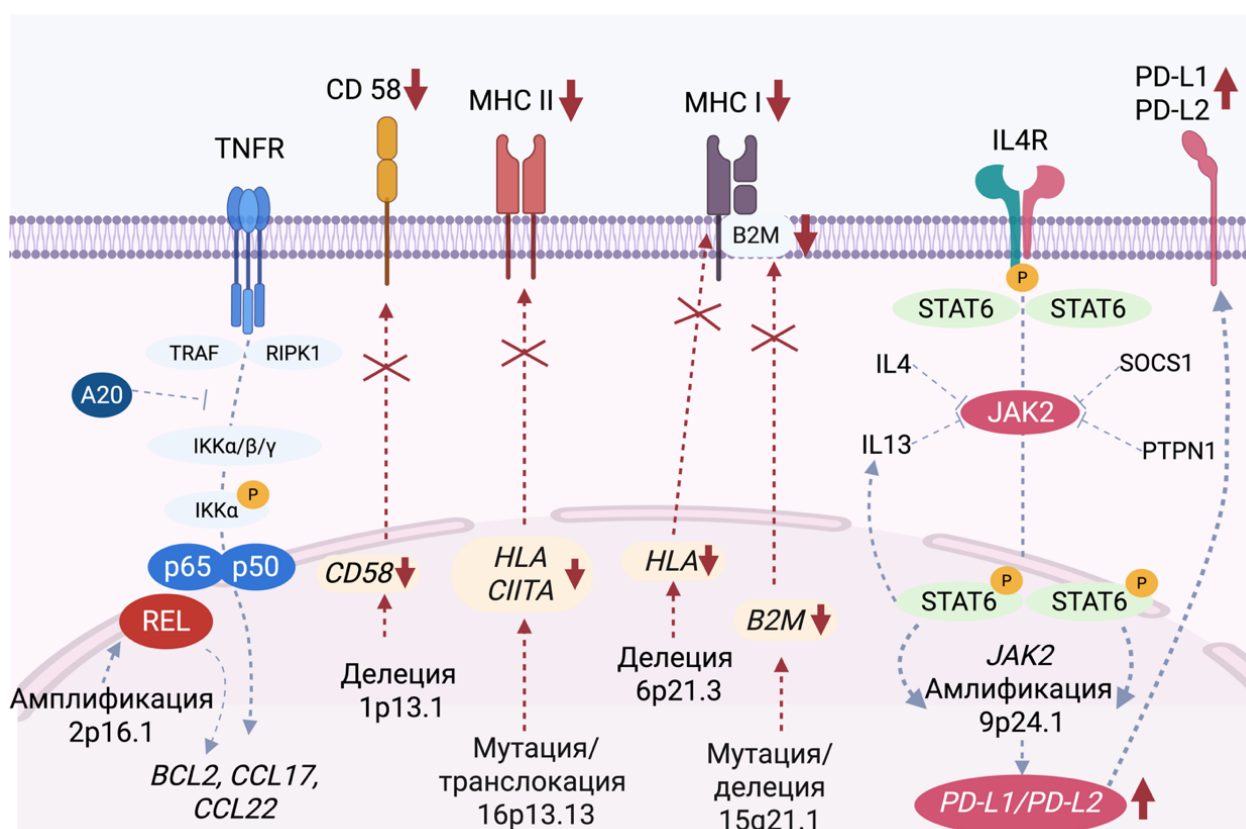


Рисунок 1.2 — Патогенетические механизмы, лежащие в основе развития ПМВКЛ. Схема создана с использованием сервиса BioRender.com

Примечание: Схема отражает ключевые генетические и сигнальные нарушения при ПМВКЛ, включая амплификацию 9p24.1 (*JAK2*, *PD-L1*, *PD-L2*), активацию путей JAK/STAT и NF-κB, делеции *HLA*, *CIITA*, *CD58* и *B2M*, способствующие иммунному уклонению и опухолевой прогрессии.

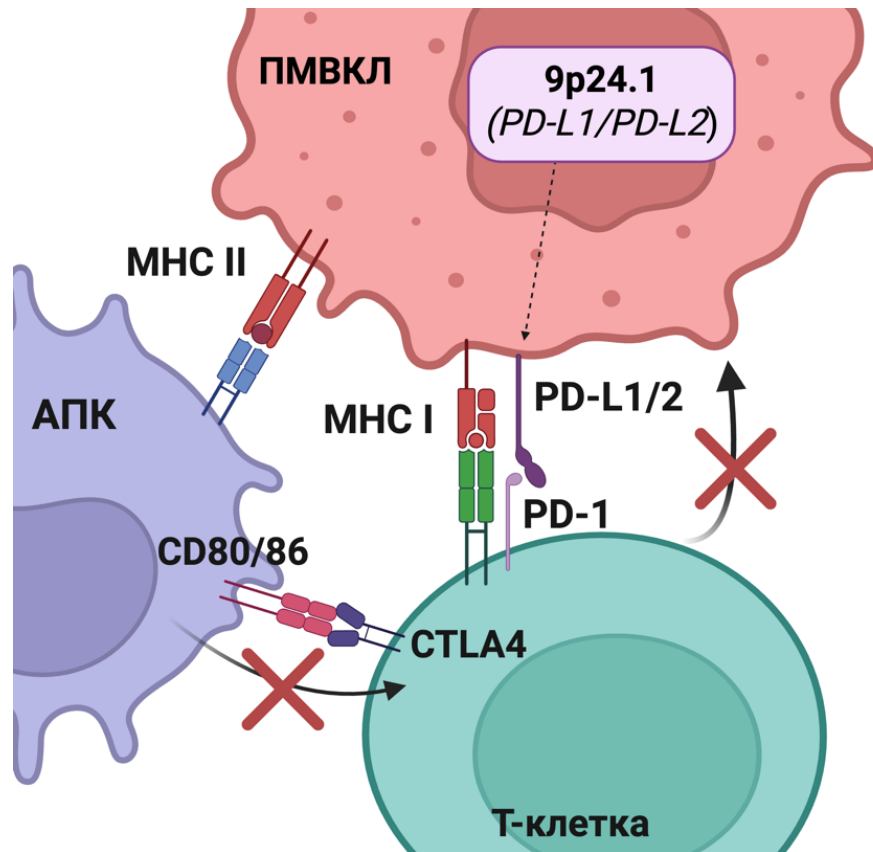


Рисунок 1.3 — Механизм Т-клеточной анергии при ПМВКЛ. Схема создана с использованием сервиса BioRender.com

Примечание: Гиперэкспрессия PD-L1/PD-L2 вследствие амплификации 9p24.1 подавляет Т-клеточную активацию через взаимодействие с рецептором PD-1, индуцируя функциональную анергию Т-клеток и способствуя ускользанию опухоли от иммунного ответа.

Наряду с этим, ключевую роль в патогенезе ПМВКЛ играет конститутивная активация сигнального пути NF-κB, которая реализуется через амплификацию гена *REL* (2p16.1), а также через инактивацию его негативных регуляторов [46]. Наиболее частыми изменениями являются инактивация *TNFAIP3* (A20, 6q23.3), а также делеции в гене *NFKBIE* (6p21.1), кодирующем ингибитор IκBε [47]. Эти мутации ведут к неконтролируемой активации транскрипционного комплекса p50/p65 и, как следствие, к экспрессии генов, способствующих выживанию опухолевых клеток и формированию иммунного уклонения [48].

Функциональная инактивация *CD58*, участвующего в ко-стимуляции Т- и НК-клеток, приводит к снижению иммунного распознавания и цитолитической

активности, особенно в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих МНС-I (Рисунок 1.2) [49,50].

Мутации в гене *B2M* приводят к дефектной сборке и экспрессии МНС класса I, что препятствует презентации опухолевых антигенов CD8⁺ цитотоксическим Т-клеткам (Рисунок 1.2) [49,51]. Аналогично, мутации или транслокации, вовлекающие ген *СИТА*, являющийся основным транскрипционным активатором МНС класса II, сопровождаются снижением экспрессии МНС-II и, как следствие, нарушением активации CD4⁺ Т-хелперов, ослабляя адаптивный иммунный ответ (Рисунки 1.2 и 1.4) [39,52].

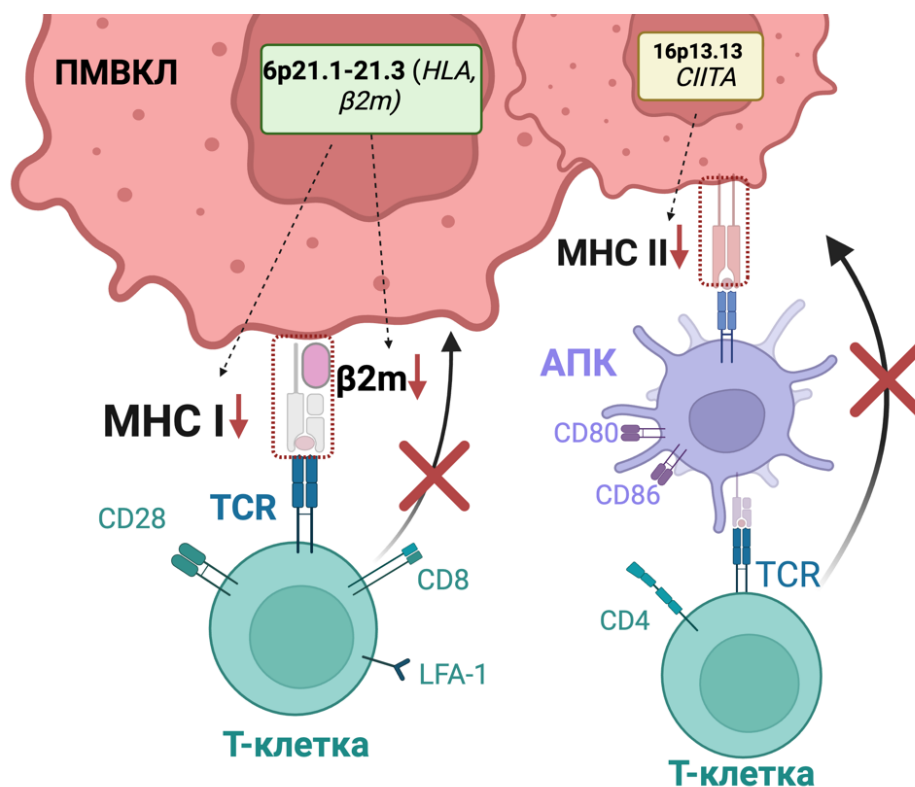


Рисунок 1.4 — Механизмы снижения иммуногенности опухолевых клеток при ПМВКЛ. Схема создана с использованием сервиса BioRender.com

Примечание: Нарушения экспрессии МНС I и II обусловлены инактивацией генов *HLA*, *B2M* и *СИТА*, что препятствует антигенной презентации и взаимодействию с CD4⁺ Т-лимфоцитами.

Цитогенетические нарушения с участием гена *СИТА*, включая транслокации, выявляются примерно в 40 % случаев ПМВКЛ [52]. В ряде случаев ген *СИТА*

сливается с *PD-L1* или *PD-L2*, формируя химерные гены, приводящие к гиперэкспрессии лигандов PD-1-рецептора и снижению иммуногенности опухоли [39]. Это сочетание нарушенной антиген-презентации и экспрессии иммунных контрольных точек создаёт мощный механизм иммунного уклонения и может ассоциироваться с резистентностью к терапии иИКТ.

Делеции в области бр21.3, охватывающей *HLA*-гены, ведут к сниженной экспрессии молекул МНС I/II на поверхности опухолевых клеток, что дополнительно ограничивает антигенпрезентирующую функцию и способствует иммунному уклонению (Рисунки 1.2 и 1.4) [53,54]. LOH в этом локусе ранее ассоциировалась с резистентностью к иИКТ при других опухолях, а её роль при ПМВКЛ в настоящее время активно изучается [55,56].

Таким образом, ПМВКЛ представляет собой опухоль с уникальной биологией, характеризующуюся сложными механизмами иммунного уклонения и отличным от ДВКЛ молекулярным профилем, что сближает её с КЛХ по генетике и по иммунной архитектуре.

1.3. Терапия и факторы прогноза при ПМВКЛ

В связи с низкой распространённостью ПМВКЛ отсутствуют проспективные рандомизированные исследования, что обуславливает отсутствие консенсуса по выбору оптимальной терапии первой линии. Учитывая преимущественно молодой возраст пациентов, при выборе лечебной тактики следует ориентироваться на стратегии, обеспечивающие максимальные шансы на излечение при одновременной минимизации отдалённых токсических эффектов, включая развитие вторичных злокачественных новообразований, сердечно-сосудистых осложнений и гонадотоксичности [24].

До внедрения в клиническую практику анти-CD20 моноклонального антитела результаты лечения пациентов с использованием СНОР/СНОР-подобных режимов полихимиотерапии (ПХТ) были неудовлетворительными с 3-летней БСВ 52 % [57]. Добавление ритуксимаба к ранее используемым схемам ПХТ заметно

улучшило результаты лечения, 2-летняя беспрогрессивная выживаемость (БПВ) увеличилась до 70–80 % и 2-летняя ОВ — до 80–90 % при лечении R-СНОР и R-СНОР-подобными схемами у пациентов с ПМВКЛ, хотя лучевая терапия (ЛТ) также была включена в терапевтические схемы во многих из этих исследований [58–60].

В 2006г. на конгрессе Американского гематологического общества Сэведж и соавторы представили результаты популяционного исследования, основанного на анализе данных из онкологического регистра Британской Колумбии. В этой работе рассматривались пациенты с ПМВКЛ, получавшие терапию первой линии в виде схемы R-СНОР. Пятилетняя ОВ пациентов составила 88 %, а БПВ — 78 %. Стоит отметить, что не все пациенты были включены в протокол ЛТ, так как её проведение зависело от наличия позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ-КТ) — до 2005 года облучение назначалось только при неполном ответе на химиотерапию [61].

Повышение эффективности схемы СНОР наблюдалось при применении программ третьей линии, таких как МАСОР-В, VАСОР-В, ProМАСЕ-CytaВOM и др. [62]. В исследовании П. Зинзани и коллег проводилось сравнение схем СНОР, МАСОР-В и высокодозной ПХТ в сочетании с ЛТ. Полный ответ (ПО) в результате проведения программы СНОР и ЛТ составил 61 %, 10-летняя ОВ — 44 %. ПХТ по схеме МАСОР-В и ЛТ позволили достигнуть ПО в 79 % случаев, 10-летнюю ОВ — 71 %. В группе пациентов, пролеченных с применением высокодозной терапии и ЛТ, 10-летняя ОВ составила 77 %, ПО достигнут в 75 % случаев [63].

Г. Тодескини и соавт. при ретроспективном анализе данных многоцентрового исследования, включавшего 138 пациентов с ПМВКЛ, показали преимущество режимов ХТ третьей линии [62]. Частота достижения ПО заболевания в группе пациентов, пролеченных СНОР, составила 51 %, а в когорте больных, которым провели ПХТ по схеме МАСОР-В/VАСОР, — 80 % [62].

В 2013г. были опубликованы результаты лечения пациентов с ПМВКЛ в Национальном институте рака США. 51 пациент получил ПХТ по схеме R-

ДАЕРОСН (от 6 до 8 курсов). ЛТ после завершения ПХТ проведена двум пациентам, которые не достигли ПО после ПХТ. При медиане наблюдения 67 месяцев 5-летняя БПВ составила 93 %, а ОВ 97 % [64].

В 2018 г. в Британском журнале гематологии опубликованы результаты ретроспективного многоцентрового исследования по сравнению различных вариантов терапии первой линии больных ПМВКЛ. Было включено 132 пациента из 11 участвующих центров (R-СНОР n = 56 и R-DA-ЕРОСН n = 76). В группе R-СНОР консолидирующая ЛТ применялась у 59 % больных, тогда как в группе R-DA-ЕРОСН — лишь у 13 %. Несмотря на то, что частота ПО были выше при использовании R-DA-ЕРОСН (84 % против 70 %, $P = 0,046$), у этих пациентов чаще регистрировалась токсичность, связанная с лечением. Двухлетняя ОВ пациентов после R-СНОР составила 89 % и 91 % пациентов после R-DA-ЕРОСН [65].

В российских клинических рекомендациях (2024 г.) в качестве первой линии допускаются DA-ЕРОСН-R, R-МАСОР-В, R-СНОР, а также программы ПМЛ-16 (R-mNHL-BFM-90/R-ЕРОСН) и ПМЛ-19 (R2-mNHL-BFM-90/R2-ЕРОСН); при применении R-СНОР или R-МАСОР-В у пациентов с исходно массивным поражением средостения и ПО по ПЭТ-КТ рекомендована консолидационная ЛТ 30–36 Гр, тогда как после DA-ЕРОСН-R/ПМЛ-16/ПМЛ-19 при ПО показано наблюдение [66].

Согласно актуальным рекомендациям Национальной комплексной онкологической сети (США), в качестве терапии первой линии при ПМВКЛ рекомендуются режим R-DA-ЕРОСН, а также схема R-СНОР в комбинации с ЛТ [67].

В ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России в 2012 г. разработан протокол лечения больных с ПМВКЛ с выполнением трансплантации аутологичных гемопоэтических клеток (аутоТГСК) в первой линии терапии при отсутствии ПО после индукционных курсов ПХТ (R-DA-ЕРОСН-21). При сроке

наблюдения 60 мес. показатели ОВ, безрецидивная (БРВ), БПВ и БСВ составили 93, 98, 92 и 76 % соответственно [68].

Таким образом, за последние десятилетия достигнут значительный прогресс в лечении ПМВКЛ: режим R-DA-EPOCH-21 продемонстрировал высокую эффективность и позволил отказаться от рутинной ЛТ и аутоТГСК. Однако при развитии Р/Р прогноз остаётся крайне неблагоприятным, что обуславливает актуальность поиска биологических и молекулярных предикторов неблагоприятного исхода.

Рецидивы заболевания обычно ранние, возникают в 10–30 % случаев ПМВКЛ [68–70]. Важным в лечении больных с ПМВКЛ является достижение ПО заболевания на первом этапе, так как Р/Р всегда ассоциированы с низкой чувствительностью к противорецидивной терапии и неблагоприятны прогнозом [20,71,72].

В отличие от других НХЛ, мутации *TP53*, *BCL2* или *MYC* не имеют доказанного прогностического значения при ПМВКЛ [42,73]. Клинические предикторы (статус по шкале ECOG (Eastern cooperative oncology group, шкала оценки общего состояния), повышенный уровень ЛДГ, вовлечение мягких тканей/молочной железы, экстрамедиастинальное поражения) демонстрируют противоречивую прогностическую ценность [68,70,74], что подчеркивает необходимость поиска объективных лабораторных маркеров.

Существенный прогресс в лечении Р/Р ПМВКЛ достигнут благодаря внедрению иИКТ, направленных на блокаду PD-1/PD-L1 взаимодействия. Среди наиболее изученных агентов — пембролизумаб, получивший одобрение управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов для лечения Р/Р ПМВКЛ. В исследованиях II фазы KEYNOTE-013 (n = 21) и KEYNOTE-170 (n = 53), пембролизумаб применялся в режиме монотерапии до 2 лет или до прогрессирования заболевания/неприемлемой токсичности. Частота объективного ответа составила 41,5 % пациентов (ПО — 20,8

%) с 4-летней БРВ 33 % и ОВ 45 %. Однако только 24 % завершили полный двухлетний курс терапии из-за побочных эффектов или прогрессирования, что демонстрирует сложность баланса между эффективностью и переносимостью [75].

Несмотря на обнадеживающие результаты терапии иИКТ при Р/Р ПМВКЛ, отсутствуют надёжные биомаркеры глубокого ответа или резистентности к иИКТ, что затрудняет идентификацию пациентов, которым может быть полезно раннее назначение иммунотерапии [76].

К числу наиболее изученных молекулярных маркеров, ассоциированных с эффектом иИКТ, относятся уровень экспрессии PD-L1, мутационная нагрузка опухоли, MSI, состав и активность Т-клеточного инфильтрата [77–83]. Для ПМВКЛ значение данных предикторов не известно.

Основным маркером, ассоциированным с резистентностью к иммунотерапии, является снижение иммуногенности опухоли за счет потери экспрессии МНС на опухоли при нарушениях в генах *СИТА*, *B2M*, *CD58*, *HLA* [39,49–52,54–56,84,85]. При ПМВКЛ механизмы резистентности к PD-1-блокаде не изучены.

1.4. Микросателлиты, микросателлитная нестабильность

1.4.1. Структура и биологическое значение микросателлитов

Известно, что нестабильность генома является характерной чертой опухолевой трансформации, а также определяет эволюцию опухолевых клонов [86]. Проявления геномной нестабильности крайне вариативны, соответствуют уровню организации генетического материала.

МСП в контексте геномной нестабильности ПМВКЛ менее изучены. Микросателлиты — это тандемные повторы, содержащие от 2 до 6 пар нуклеотидов. МСП располагаются в эухроматиновой части генома, чаще — в некодирующих, регуляторных его участках, составляя около 3 % генома человека и для каждого человека представляют уникальную комбинацию [87,88]. МСП характеризуются большей степенью изменчивости, что повышает риск возникновения мутаций

[89,90]. Изменения МСП вариативны, они могут быть как самостоятельным проявлением MSI, так и отражением крупных хромосомных нарушений, мутаций [91].

На сегодняшний день изучение последовательностей микросателлитов имеет массу вариантов практического применения [63–73]. Большинство МСП обладают высокой степенью вариабельности, поэтому их анализ широко используется в криминалистике для идентификации личности [97–99]. Существуют также консервативные и квазимономорфные локусы, характеризующиеся крайне низкой аллельной вариативностью и используемые в контексте диагностики некоторых наследственных заболеваний [92–96]. К ним относятся атаксия Фридриха, миотонические дистрофии и другие неврологические патологии [92,95,96]. При помощи исследования МСП проводится генотипическое картирование, необходимое для мониторинга химеризма после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток крови [100]. Нашли применение микросателлиты и в диагностике наследственных опухолевых синдромов и спорадических случаев рака [101–104]. Для некоторых форм опухолей изменения МСП ассоциированы с худшим прогнозом и ответом на ИИКТ [49,105].

На фоне актуальности исследования микросателлитов в фундаментальных и прикладных областях молекулярной генетики особое место занимают стандартизированные мультиплексные панели для анализа МСП. Панель COrDIS Plus (ООО «Гордиз», Россия) разработана для исследования 19 полиморфных локусов МСП и локуса амелогенина. Благодаря высокой дискриминационной способности и воспроизводимости, COrDIS Plus используется в судебно-медицинской практике, при идентификации клеточных линий, анализе химеризма после трансплантации, а также в изучении опухолевых заболеваний [106–109].

1.4.2. Микросателлитная нестабильность

Генетическая нестабильность возникает в результате нарушений в комплексе репарации ДНК, обуславливающих высокий мутагенный потенциал опухолевой клетки [110]. В организме человека функционирует пять белков,

специализированных на исправлении ошибок типа *mismatch* (ошибочно спаренные нуклеотиды): MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM. Этот процесс исправления называется *mismatch repair* (MMR) [111,112]. Состояние, при котором клетки не могут справиться с *mismatch*-ошибками, обозначают MSI [113]. MSI — феномен накопления мутаций (делеций и инерций) в коротких повторяющихся последовательностях ДНК [114]. Анализ MSI/dMMR (*deficient mismatch repair*, дефицит системы репарации неспаренных оснований) используется при диагностике синдрома Линча, а также для отбора пациентов на терапию иИКТ [82,115]. Тестирование MSI подразумевает анализ длины нескольких информативных микросателлитных маркеров при помощи ПЦР или секвенирования нового поколения (моноклеотидные маркеры: BAT26, BAT25, BAT40, CAT25, NR22, NR27), а выявление dMMR основывается на ИГХ анализе экспрессии белков MLH1, MSH2, MSH6 и PMS2 [111,112,116–120]. Эти методы можно считать взаимозаменяемыми в случае колоректального рака, поэтому при анализе карцином толстой кишки выбор между тестированием MSI и dMMR может определяться организационными и экономическими предпочтениями [83–85,89].

В клинко-диагностической практике применяется мультиплексная панель COrDIS MSI (ООО «Гордиз», Россия), предназначенная для определения MSI в опухоли, с использованием ПЦР и последующего фрагментного анализа. Панель включает пять квазимономорфных моноклеотидных маркеров (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, NR-27). Ключевыми преимуществами панели являются мультиплексный формат амплификации, сокращённое время проведения исследования и воспроизводимость результатов, что делает её применимой в рутинной диагностике опухолевых заболеваний [122].

С момента внедрения первой международной панели Бетесда в 1997 году методика диагностики MSI претерпела эволюцию. Первоначальная панель включала два моноклеотидных (BAT25, BAT26) и три динуклеотидных локуса (D5S346, D2S123, D17S250), а степень нестабильности определялась по количеству изменённых локусов: MSI высокого уровня (MSI-H, MSI-High) — ≥ 2 , MSI низкого

уровня (MSI-L, MSI-Low) — 1, микросателлитная стабильность (MSS, Microsatellite stability) — отсутствие изменений [123]. В дальнейшем доказано, что панели, основанные исключительно на моонуклеотидных маркерах (BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27), обладают большей диагностической чувствительностью и специфичностью [120,124,125]. При этом MSI-L чаще ассоциирован с нарушениями динуклеотидных локусов и дефицитом белка MSH3 (MutS β), а MSI-H — с дефицитом компонентов комплексов MutS α и MutL α (MSH2, MSH6, MLH1, PMS2) [102,126]. Нестабильность тетрануклеотидных повторов, обозначаемая как EMAST (elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, абберации тетрануклеотидных повторов), также обусловлена дефицитом MSH3, встречается у пациентов с агрессивным течением колоректального рака и может перекрываться с MSI-L [127,128].

Карциномы с низкой митотической активностью, включая опухоли, ассоциированные с синдромом Линча, могут демонстрировать dMMR в отсутствие MSI, при этом они отличаются низкой мутационной нагрузкой и отсутствием чувствительности к иммунотерапии [129]. Диагностика MSI в опухолях без dMMR до настоящего времени не стандартизирована и требует дальнейшего развития [130].

Рост частоты точечных мутаций и сдвигов рамки считывания, вызванных MSI, приводит к формированию иммуногенных опухолей с повышенной неоантигенной нагрузкой [131,132]. Это способствует усиленной инфильтрации опухолевых тканей Т-клетками и активации противоопухолевого иммунного ответа, что может ограничивать инвазивность и метастазирование [133].

Нарушения систем репарации также блокируют запуск апоптоза, связанного с повреждением ДНК, что снижает эффективность цитотоксических агентов [134,135]. В настоящее время терапией выбора MSI-положительных опухолей считается применение ИИКТ, которые, с одной стороны, позволяют обойти неактивный апоптотический каскад, с другой – выгодно используют характерные особенности противоопухолевого иммунитета [132].

1.4.3. Аберрации микросателлитных тетра nukлеотидных повторов

EMAST представляет собой особую форму MSI, затрагивающую тетра nukлеотидные повторы. [128]. Для опухолей с EMAST характерны агрессивное течение, инвазивный рост и метастатическая активность, особенно на фоне хронического воспаления [128,136]. Несмотря на это, такие опухоли часто сохраняют чувствительность к цитотоксическим химиопрепаратам [128,136]. Первоначально EMAST ассоциировали с колоректальным раком, однако исследования показали, что аналогичные молекулярные нарушения выявляются и при других злокачественных новообразованиях [127,128,137,138].

Развитие EMAST связано с дефицитом белка MSH3 — одного из компонентов системы репарации, участвующего в устранении ДНК-несоответствий, включая MSI с димерными и длинными тетра nukлеотидными повторами [102,139]. Теоретически нестабильность в тетра- и динуклеотидных повторах может вызывать сдвиг рамки считывания, однако показано, что микросателлиты с более длинными мономерами реже локализуются в кодирующих последовательностях [140]. Более того, даже если аномальные аминокислотные последовательности синтезируются, они быстро деградируют в протеосомах, исключаясь из пула возможных антигенов, представляемых в комплексе МНС [141].

Также возможна активация механизмов деградации и удаления дефектных транскриптов (например, через механизм нонсенс-опосредованного распада матричной рибонуклеиновой кислоты), что ограничивает формирование неоантигенов [142,143].

Опухоли с EMAST, как правило, обладают слабым иммунным ответом и низкой степенью инфильтрации Т-лимфоцитами, что определяет ограниченную эффективность ИИКТ в этой группе больных [144].

1.4.4. Потеря гетерозиготности микросателлитных повторов

Анализ МСП позволяет не только оценить MSI, но и выявить LOH [145]. LOH представляет собой утрату в одном из аллелей определенного участка ДНК [146].

Патогенез LOH отличается гетерогенностью и связан с разнообразными механизмами: хромосомными перестройками, митотическим кроссинговером, ошибками репарации ДНК, в том числе нарушением негомологичного соединения концов, а также с однородительской дисомией (ОРД). Потеря может затрагивать как целые хромосомы, так и их участки, возникая при дефектах веретена деления либо вследствие рекомбинационных событий во время митоза [147,148].

С теоретической точки зрения LOH представляет собой форму геномной нестабильности, отличную от MSI, и в клинической практике чаще интерпретируется как суррогатный маркер делеции генов-супрессоров опухолевого роста, таких как *TP53*, *PTEN*, *RBI*, *CDKN2A* [149–151]. В рамках гипотезы Кнудсона («гипотеза двух ударов») предполагается, что для инактивации гена-супрессора опухолевого роста требуется два последовательных события: первый «удар» связан с инактивацией или мутацией одного аллеля, а второй — с утратой гетерозиготности, приводящей к потере функциональности оставшегося аллеля. Таким образом, LOH играет роль второго «удара», окончательно блокирующего активность гена-супрессора и способствующего прогрессии новообразования [152]. Примером могут служить случаи LOH локуса 11p15 при нефробластоме, а также LOH локуса 9p21 в случае меланомы и при других злокачественных новообразованиях [153–160].

Выделяют два главных вида LOH: с потерей числа копий (loss of heterozygosity with copy number losses, CNL-LOH) и cnLOH [161]. CNL-LOH является следствием полной или частичной делеции хромосомы и может вести к потере не подвергшихся мутации генов супрессоров опухолевого роста [161,162]. CnLOH происходит в результате ОРД или аутозиготности, при котором не происходит изменения суммарного количества копий затронутого гена [163].

ОРД может быть герминогенной и соматической [164]. В развитии злокачественных новообразований большее значение имеет соматическая ОРД [165]. Выделены следующие механизмы образования соматической ОРД [148,166,167]:

- 1) митотическая гомологичная рекомбинация, при которой образуется сегментарная ОРД;
- 2) нерасхождение сестринских хроматид в анафазе митоза, в результате которого образуются клетки с трисомным и моносомным наборами. В ходе дальнейших делений ошибки сегрегации могут привести к восстановлению дисомии с формированием ОРД с LOH;
- 3) репарация двухцепочечных разрывов и участков делеций, при которых образуется сегментарная ОРД с LOH;
- 4) отставание анафазы митоза, при котором происходит утрата одной из гомологичных хромосом с последующим восстановлением дисомии на основе оставшейся хромосомы.

Микросателлитные маркеры (особенно тетрануклеотидные) имеют высокий уровень полиморфизма и гетерозиготности в популяции, что делает их удобными для оценки LOH [140,168,169]. Данный подход успешно применяется в исследованиях различных опухолей [170–172]. Методологически LOH выявляется с помощью сравнения профилей МСП опухолевых и здоровых клеток. С помощью ПЦР амплифицируют локусы МСП, а затем проводят анализ длины амплификатов методом капиллярного электрофореза. Этот метод позволяет обнаружить все типы LOH, но не предоставляет информации о природе изменений. При нормальной гетерозиготности два аллеля амплифицируются с примерно одинаковой интенсивностью; при наличии LOH наблюдается существенное (> 50 %) снижение интенсивности одного из пиков или его отсутствие [173]. Однако полная утрата одного аллеля фиксируется редко из-за контаминации нормальными клетками в биологическом материале. Во многих случаях вместо полной утраты одного из аллелей наблюдается изменение соотношения сигналов двух родительских аллелей

в опухолевой ДНК по сравнению с нормальной. Это явление получило название АД [145]. АД представляет собой отклонение от нормального аллельного соотношения 1:1 и может быть вызван различными механизмами: делецией, митотической рекомбинацией, ОРД, а также анеуплоидией или амплификацией одного из аллелей [174]. Таким образом, АД представляет собой более общее понятие, чем классическая ЛОН, и может отражать как утрату гетерозиготности, так и другие хромосомные нарушения, включая амплификацию. Ввиду отсутствия универсальных критериев для определения «истинной» ЛОН, в настоящем диссертационном исследовании в качестве ЛОН рассматривались случаи АД.

Альтернативным методом анализа ЛОН является ХМА, позволяющий верифицировать хромосомное нарушение, ведущее к АД. Этот метод использует олигонуклеотидные зонды с однонуклеотидными полиморфизмами для гибридизации без необходимости сравнения с ДНК здоровых клеток. Олигонуклеотидные зонды обеспечивают высокое разрешение, а использование как полиморфных, так и консервативных маркеров на матрице для анализа позволяет выявлять как CNL-ЛОН, так и cnЛОН [175]. Дополнительным современным методом является оптическое картирование генома, позволяющее с высокой точностью выявлять крупные структурные перестройки, в том числе делеции, дупликации и участки cnЛОН [176]. Этот метод не требует амплификации и обеспечивает визуализацию длинных молекул ДНК, что повышает точность идентификации АД и дополняет данные ХМА. Однако из-за трудоемкости и высокой стоимости анализов внедрение этих методов в рутинную практику осложнено.

Таким образом, анализ МСП — чувствительный и доступный метод выявления ЛОН, включая случаи cnЛОН, не фиксируемые с помощью стандартных цитогенетических методов или флуоресцентной гибридизации *in situ*. Прицельное исследование МСП в прогностически значимых хромосомных регионах может применяться в целях стратификации риска и оценки ЛОН в свободной циркулирующей ДНК, полученной из плазмы крови.

1.4.5. Значение MSI, EMAST и LOH при гемобластозах

Хотя MSI чаще ассоциируется с солидными опухолями, недавние исследования показывают, что MSI может возникать и при гематологических злокачественных новообразованиях, особенно в контексте вторичного миелодиспластического синдрома, связанного с терапией [177,178]. MSI в этих случаях может приводить к экспрессии опухолеассоциированных антигенов, распознаваемых Т-клетками, что указывает на потенциальную роль MSI в иммунном надзоре и патогенезе вторичных лейкозий [178].

При лимфопролиферативных заболеваниях нестабильность МСП изучена недостаточно, в единичных публикациях показано, что аберрации МСП в большей степени характерны для агрессивных В-клеточных лимфом ($P < 0,05$) [179]. В исследовании Сычевской К.А. показано, что при фолликулярной лимфоме, ДВКЛ, В-клеточной лимфоме высокой степени злокачественности имеет место феномен аберраций МСП: MSI-L с частотой 14,6 %–45,9 %, EMAST с частотой 18,5 %–43,8 %, LOH с частотой 49,4 %–67,7 % при различных нозологических формах [180].

Выявление феноменов MSI, EMAST и LOH в гематологических злокачественных новообразованиях может иметь диагностическое и прогностическое значение, а также влиять на выбор терапии. Например, наличие MSI-H может указывать на потенциальную чувствительность к ИИКТ иммунного ответа, тогда как EMAST и LOH могут быть связаны с агрессивным течением заболевания и устойчивостью к определенным видам терапии [82,127,128,151,162]. Для ПМВКЛ исследование этих молекулярных факторов не проводилось. Также представляет несомненный интерес исследование MSI прицельно в генах, играющих ключевую роль в патогенезе заболевания.

1.5. Заключение по литературному обзору

ПМВКЛ агрессивная опухоль, отвечающая на терапию по программе R-DA-EPOCH-21 в 90 % случаев. Однако случаи Р/Р, вне зависимости от дальнейшего современного лечения, имеют крайне неблагоприятный прогноз. Специфических

факторов прогноза для ПМВКЛ нет. На современном этапе проводится поиск генетических маркеров, которые позволят выделить группу пациентов с высоким риском прогрессирования для разработки индивидуальных подходов к лечению.

Современные исследования подчёркивают уникальную биологию ПМВКЛ, сочетающую характерные генетические aberrации (6p21.3, 9p24.1, 16p13.13), геномную нестабильность и иммунный фенотип с выраженной экспрессией PD-L1/PD-L2. Эти особенности определяют эффективность PD-1-блокаторов у части больных при Р/Р. Однако на современном этапе не существует предиктивных маркеров эффективности ИИКТ у больных с ПМВКЛ.

Остаётся актуальным поиск прогностических маркеров, в том числе микросателлитных aberrаций локусов 6p21.3, 9p24.1, 16p13.13, для выделения когорты пациентов с высоким риском неблагоприятного исхода.

Глава 2. Материалы и методы

2.1. Дизайн исследования и клиническая характеристика больных

С апреля 2007 г. по июль 2024 г. в когортное исследование включено 192 пациента, из них 114 (59,4 %) больных ПМВКЛ. В качестве группы сравнения для молекулярного анализа было включено 78 (40,6 %) больных ДВКЛ. Долгое время ПМВКЛ относили к ДВКЛ, и только выявление молекулярно-генетических отличий и разница в ответе на терапию иИКТ позволила выделить ПМВКЛ как отдельное заболевание. Дифференциальная диагностика по-прежнему остается трудной задачей. Для того, чтобы охарактеризовать отличия на уровне микросателлитных aberrаций при этих двух заболеваниях, в исследование и была включена группа больных ДВКЛ. Диагноз устанавливали согласно критериям ВОЗ [181]. Критерии формирования выборки были следующими: впервые установленный диагноз ПМВКЛ или ДВКЛ, отсутствие предшествующего лечения. Объем выборки был обусловлен наличием материала.

Клиническая часть работы была ретроспективной (с 2007 по 2021 гг.) и проспективной (с 2022 по 2025 гг.).

Больные, включенные в исследование, проходили обследование и лечение в следующих подразделениях ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России:

1. Отделение интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов (заведующий отделением — к.м.н. Кравченко С. К.);
2. Отделение химиотерапии лимфатических опухолей с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток крови с дневным стационаром (заведующий отделением — к.м.н. Мангасарова Я. К.).

Лабораторная часть работы была проспективной и состояла из 4 частей:

1. Исследование частоты MSI и aberrаций тетрануклеотидных повторов с использованием стандартных панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus;
2. Анализ частоты aberrаций MCP локусов 6p21.3 (вблизи генов *HLA*), 9p24.1 (вблизи генов *PD-L1/PD-L2*) и 16p13.13 (вблизи гена *CTLA4*) с использованием оригинальной панели праймеров;
3. Цитогенетическое исследование методом ХМА;
4. Иммуногистохимическая оценка экспрессии PD-L1, PD-1, HLA-DR и CTLA-4.

Исследования выполнены на базе лабораторий:

1. Лаборатория молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (заведующий лабораторией — к.б.н. Бидерман Б. В., к.б.н. Рисинская Н. В.);
2. Лаборатория генной инженерии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (заведующий лабораторией — к.б.н. Пшеничникова О. С., ст. научный сотрудник Сурин В. Л.);
3. Патологоанатомическое отделение ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (заведующий лабораторией — профессор, д.б.н. А. М. Ковригина, к. м. н. Шуплецова И. А.);
4. Лаборатория молекулярной патологии ООО «Геномед», г. Москва.

Статистическая обработка данных выполнена в информационно-аналитическом отделе (заведующий отделом — к.т.н. С. М. Куликов).

Протокол исследования с участием больных и с использованием их биологического материала был одобрен и утвержден на заседании Локального Этического Комитета № 171 от 27.04.2023 ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России.

Дизайн работы с указанием количества случаев в каждом проведенном исследовании подробно представлен на Рисунке 2.1. Выборка пациентов для всех

вариантов исследования осуществлялась вслепую, по наличию доступного материала.



Рисунок 2.1 — Дизайн лабораторной части исследования

Характеристика больных

Медиана возраста больных ПМВКЛ, включенных в исследование, составила 31 (19–69) год, для ДВКЛ 56 (18–81) лет ($P < 0,0001$). Группы не были сбалансированы по полу, возрасту и стадии, что объясняется эпидемиологическими особенностями заболеваний.

В группу сравнения для молекулярного анализа включены больные ДВКЛ *de novo* (88,5 %, $n = 69/78$) и в результате трансформации из индолентных лимфом (11,5 %, $n = 9/78$). Из них 74,4 % (58/78) нодальных и 25,6 % (20/78) экстранодальных ДВКЛ, в том числе 1,3 % (1/78) EBV+ ДВКЛ. Группа с экстранодальным поражением была представлена ДВКЛ молочной железы (20 %, $n = 4/20$), яичка (10 %, $n = 2/20$), желудка (20 %, $n = 4/20$), кишечника (5 %, $n = 1/20$),

мягких тканей (30 %, $n = 6/20$) и костей (15 %, $n = 3/20$). Преимущественно это были больные с *nonGCB* подтипом 64 % (50/78). Подробная характеристика пациентов, включенных в исследование, приведена в Таблице 2.1.

Таблица 2.1 — Характеристика больных, включенных в исследование, $n = 192$

Параметры	ПМВКЛ, $n = 114$	ДВКЛ, $n = 78$	Значимость
Пол:			$P < 0,0001$
▪ Мужчины, n (%)	29 (25,4)	46 (59)	
▪ Женщины, n (%)	85 (74,6)	32 (41)	
Возраст на момент установления диагноза – лет Медиана (диапазон)	31 (19–69)	56 (18–81)	$P < 0,0001$
Стадия по Ann Arbor:			$P < 0,0001$
▪ I – II, n (%)	89 (78,1)	23 (29,5)	
▪ III – IV, n (%)	25 (21,9)	55 (70,5)	
Общее состояние по шкале ECOG:			$P < 0,0001$
▪ 0–1, n (%)	14 (12,3)	32 (41)	
▪ ≥ 2 , n (%)	100 (87,7)	46 (59)	
ЛДГ, медиана (диапазон), ед/л	573 (155– 2929)	455 (125– 37778)	$P = 0,279$
IPi, n (%)			$P = 0,003$
• Группа низкого риска, n (%)	22 (19,3) 90 (78,9)	18 (23) 36 (46,2)	
• Группа промежуточного риска, n (%)	2 (1,8)	24 (30,8)	
• Группа высокого риска, n (%)			

Примечание. Для сравнения количественных переменных между группами использован U-критерий Манна–Уитни. Для сравнения категориальных переменных применён χ^2 -критерий Пирсона; при наличии ожидаемых частот менее 5 — точный тест Фишера. Ann Arbor - система стадирования лимфом; ECOG — шкала оценки общего состояния, Eastern Cooperative Oncology Group; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; IPi – международный прогностический индекс, International Prognostic Index.

Прогностическая значимость всех исследуемых биомаркеров была проанализирована для больных ПМВКЛ. Медиана наблюдения составила 32

месяца (6–192). Большинство пациентов — 76,3 % (87/114) (медиана возраста 32 (19 – 69) лет) индукционная терапия проводилась по схеме R-DA-EPOCH; 10,5 % (12/114) больным (медиана возраста 26 (19-47) года) — по программе R-mNHL-BFM-90; 10,5 % (12/114) больным (медиана возраста 31 (20-46) лет) — R-DA-EPOCH с ниволумабом; 2,6 % (3/114) больным (медиана возраста 30 (27 – 36) лет) — R-CHOP. Клинические характеристики пациентов с ПМВКЛ, включённых в исследование, представлены в Таблице 2.2. Программы лечения представлены в Приложении.

Таблица 2.2 — Клинические характеристики больных ПМВКЛ, включённых в исследование, n = 114

Параметры	R-DA-EPOCH (n = 87)	R-mNHL-BFM-90 (n = 12)	Nivo-R-DA-EPOCH (n = 12)	R-CHOP (n = 3)	Значимость
Пол: Мужчины, n (%) Женщины, n (%)	23 (26,4) 64 (73,6)	2 (16,7) 10 (83,3)	4 (33) 8 (67)	0 (0) 3 (100)	<i>P</i> = 0,589
Медиана (диапазон) возраста, лет	32 (19–69)	26 (19–47)	31 (20–46)	30 (27–36)	<i>P</i> = 0,556
Стадия по Ann Arbor: • I – II, n (%) • III – IV, n (%)	65 (74,7) 22 (25,3)	12 (100) 0 (0)	9 (75) 3 (25)	2 (67) 1 (33)	<i>P</i> = 0,194
Общее состояние по шкале ECOG: • 0–1, n (%) • ≥ 2, n (%)	8 (9,2) 79 (90,8)	0 (0) 12 (100)	5 (42) 7 (58)	1 (33) 2 (67)	<i>P</i> = 0,005
Медиана (диапазон) ЛДГ, ед/л	611 (155–2929)	588 (530–1497)	485 (191–712)	601 (230–800)	<i>P</i> = 0,053
IPi: • Группа низкого риска, n (%) • Группа промежуточного риска, n (%) • Группа высокого риска, n (%)	15 (17,2) 70 (80,5) 2 (2,3)	0 (0) 12 (100) 0 (0)	5 (42) 7 (58) 0 (0)	1 (33) 2 (67) 0 (0)	<i>P</i> = 0,060

Продолжение таблицы 2.2

Параметры	R-DA- ЕРОСН (n = 87)	R- mNHL- BFM-90 (n = 12)	Nivo- R-DA- ЕРОСН (n = 12)	R- СНОР (n = 3)	Значимость
Образование средостения ≥ 6 см (Bulky), n (%)	82 (94,2)	12 (100)	11 (92)	3 (100)	$P = 0,126$
Образование средостения ≥ 12 см (MegaBulky), n (%)	40 (45,9)	5 (41,7)	5 (42)	1 (33)	$P = 0,920$
Прорастание плевры и/или перикарда, n (%)	66 (75,9)	11 (91,7)	7 (58)	3 (100)	$P = 0,406$
Прорастание в мягкие ткани и/или молочную железу, n (%)	20 (22,9)	5 (41,7)	3 (25)	0 (0)	$P = 0,385$
Экстрamediастинальное поражение n (%)	22 (25,3)	0 (0)	2 (17)	1 (33)	$P = 0,194$

Примечание. Для сравнения количественных переменных использован U-критерий Манна–Уитни. Для категориальных переменных применён χ^2 -критерий Пирсона; при наличии малых ожидаемых частот использован точный тест Фишера. Ann Arbor - система стадирования лимфом; ECOG — шкала оценки общего состояния, Eastern Cooperative Oncology Group; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; IPI — международный прогностический индекс, International Prognostic Index.

2.2. Лабораторные методики

2.2.1. Молекулярный и хромосомный анализ геномной нестабильности

Анализ геномной нестабильности выполнен для 173 больных, из них 54,9 % (95/173) ПМВКЛ и 45,1 % (78/173) ДВКЛ. Опухолевый материал был представлен биоптатами образования средостения (n = 94/173, 54,3 %), лимфатического узла (n = 59/173 (34,1 %)), биоптатами очага поражения экстранодальной локализации (n = 20/173 (11,6 %)). Материал биоптатов опухолевой ткани был доступен из трех источников: операционный материал (n = 107/173, 61,8 %), замороженные образцы тканей банка лаборатории молекулярной гематологии (n = 14/173, 8,1 %), срезы с парафиновых блоков (n = 52/173, 30,1 %), находящихся на хранении в

патологоанатомическом отделении. Молекулярные исследования проведены вслепую относительно клинических данных.

Для исключения герминального характера нестабильности ДНК, неспецифических генетических aberrаций у всех пациентов при анализе aberrаций тетра nukлеотидных повторов (панель COrDIS Plus и оригинальная тест-система, включающая локусы 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13) помимо анализа опухолевого материала, выполнено исследование клеток периферической крови или костного мозга без специфического поражения в дебюте заболевания или после санации. Исследование MSI (панель COrDIS MSI) и ХМА выполнены только на опухолевом материале.

2.2.1.1 Пробоподготовка

Протокол выделения ДНК из крови и костного мозга

Выделение геномной ДНК из ядродержащих клеток крови и аспирата костного мозга больных проводилось с помощью модифицированного метода солевой экстракции. Забор крови или аспирата производился в 7,5 мл пробирки с добавлением антикоагулянта этилендиаминтетраацетата калия тризамещенного (ЭДТА-К3). Для лизиса эритроцитов 3 мл крови или аспирата смешивались с 9 мл предварительно охлажденного буфера (155 мМ NH₄Cl, 10 мМ KHCO₃, 1 мМ ЭДТА-К3). Смесь инкубировалась в течение 15 минут при комнатной температуре с периодическим переворачиванием, затем проводилось центрифугирование при 2000 об/мин в течение 5–10 минут. Образовавшийся лейкоцитарный осадок ресуспендировался в остаточном объеме 100–200 мкл, после чего добавлялись 3 мл буфера лизиса клеток (25 мМ, ЭДТА, 2 % SDS (sodium dodecyl sulfate, додецилсульфат натрия)) и проводилось перемешивание до полного растворения клеточного материала. На этапе осаждения белков к полученному лизату добавлялся 1 мл 10 М ацетата аммония, после чего осуществлялось перемешивание и центрифугирование при ≥ 3000 об/мин в течение 20 минут. Супернатант переносился в чистую пробирку с 3 мл изопропанола комнатной температуры.

После инверсного перемешивания проводилось центрифугирование при 3000 об/мин в течение 3 минут. ДНК-преципитат промывался 3 мл 70 % этанола с последующим центрифугированием (1 мин, 3000 об/мин), осадок подсушивался на воздухе в течение 15 минут. ДНК растворялась в 250 мкл буфера TE (10 mM Tris-Cl (pH 8,0), 1 mM ЭДТА) с инкубацией при 65 °C и перемешивании. Концентрация ДНК определялась с помощью флуориметра Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США) по протоколу производителя. Выделенная ДНК хранилась при температуре –20 °C. У больных из ретроспективной группы использовался архивный материал — образцы ДНК, хранившиеся в биобанке аналогичным образом.

Протокол выделения ДНК из опухолевых образцов

Для анализа использовались фрагменты биоптата размером не менее 0,5 мм³. В 2 мл пробирку помещался биоптат, после чего добавлялись 900 мкл 25 % раствора NH₄OH и 100 мкл 10 % раствора SDS. В течение 24–48 часов образец инкубировался в термостате при температуре 57 °C с автоматическим перемешиванием до полного растворения ткани. После охлаждения лизат центрифугировался в течение 1 минуты при 6000 об/мин. Супернатант в объеме 800 мкл переносился в новую 2 мл пробирку, к нему добавлялись 300 мкл деионизированной воды и 300 мкл 17 M уксусной кислоты (CH₃COOH). После автоматического перемешивания в течение 10 минут образец центрифугировался в течение 10 минут при 14 000 об/мин. Затем супернатант удалялся, а осадок ДНК, фиксированный на стенке пробирки, промывался 70 % этанолом с последующим повторным центрифугированием в течение 5 минут при 14 000 об/мин. Осадок подсушивался в течение 10 минут при комнатной температуре и растворялся в 50–150 мкл деионизированной H₂O до концентрации не менее 10 нг/мкл. Концентрация ДНК определялась с помощью флуориметра Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США) по протоколу производителя. Выделенная ДНК хранилась при температуре –20 °C.

Протокол выделения ДНК из парафиновых блоков

Подготовку проводили по изложенной ранее методике [182]. Для анализа использовались от 2 до 10 срезов парафиновых блоков толщиной 10 мкм и площадью от 2 до 8 см² в зависимости от объёма заключённого материала. Для депарафинизации исследуемый материал помещался в 2 мл пробирку с 2 мл буфера Tris-HCl (pH 7,6) и инкубировался в термостате при 95 °С в течение 10 минут. Пробирки центрифугировались в течение 30 секунд при 8000 об/мин. Образовавшийся на поверхности лизата парафиновый диск удалялся стерильным наконечником. После депарафинизации дальнейшие этапы соответствовали протоколу выделения ДНК из замороженных биоптатов. Концентрация выделенной ДНК определялась с помощью флуориметра Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США) по протоколу производителя. Выделенная ДНК хранилась при температуре –20 °С.

2.2.1.2. Определение MSI

Исследование MSI выполнялось с использованием диагностической панели COrDIS MSI (ООО «Гордиз», Россия), в которую входит 5 мононуклеотидных маркеров: BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 и NR-27 (Таблица 2.3). Материалом для исследования служила опухолевая ДНК.

Таблица 2.3 – Характеристики анализируемых маркеров микросателлитной нестабильности

Маркер	Структура повтора	Диапазон длины амплифицируемого фрагмента (пар нуклеотидов)	Хромосомный локус	Ген [120]
BAT-25	(A)25	158 – 161	4q12	cKIT
BAT-26	(A)26	181 – 184	2p16.2	hMSH2
NR-21	(A)21	120 – 123	14q11.2	SLC7A8
NR-24	(A)24	131 – 134	2q11	ZNF2
NR-27	(A)27	87 – 90	11q22.2	BIRC3

Состав реакционной смеси, компоненты которой входили в готовую диагностическую систему, соответствовал рекомендациям производителя. В каждую реакцию вносилось не менее 10 нг ДНК.

Условия ПЦР были следующими: 95 °С (2 мин); 28 циклов: 95 °С (10 с), 58 °С (30 с), 72 °С (30 с); финальная стадия 68 °С (10 мин). Амплификация выполнялась на автоматическом термоциклере DNAEngine (BioRad, США).

Продукты амплификации в разведении 1:60–1:100 (в зависимости от выхода ПЦР) смешивались с формамидом в соотношении 1:3 и денатурировались при 95 °С в течение 3 мин. Последующий фрагментный анализ выполнялся на генетическом анализаторе «Нанофор-05» (ООО «Синтол», Россия).

Состояние MSI определялось по смещению распределения длин амплифицированных мононуклеотидных фрагментов исследуемых маркеров в опухолевых клетках по сравнению с продуктами амплификации ДНК MSI-отрицательного контроля. В зависимости от количества выявленных маркеров образцы классифицировались как MSS, MSI-H или MSI-L.

2.2.1.3. Определение LOH и EMAST с использованием панели COrDIS Plus

Анализ aberrаций тетра nukлеотидных повторов выполнялся с использованием диагностической панели COrDIS Plus, включающей 19 тетра nukлеотидных маркеров и локусы амелогенина X и Y (Рисунок 2.2). Материалом исследования для каждого пациента служили опухолевая и контрольная ДНК. Состав реакционной смеси, компоненты которой входили в готовую диагностическую систему, соответствовал рекомендациям производителя. В каждую реакцию вносилось не менее 10 нг ДНК.

Амплификация выполнялась на термоциклере DNAEngine (BioRad, США) по следующему протоколу: 94°С (3 мин); 4 цикла: 98°С (30 с), 59°С (120 с), 72°С (90 с); 6 циклов: 94°С (30 с), 59°С (120 с), 72°С (90 с); 18 циклов: 90°С (30 с), 59°С (120

с), 72°C (75 с); 68°C (10 мин). Продукты амплификации в разведении 1:60–1:100 (в зависимости от выхода ПЦР) смешивались с формамидом в соотношении 1:3 и денатурировались при 95 °С в течение 3 мин. Фрагментный анализ выполнялся на генетическом анализаторе «Нанофор-05» (ООО «Синтол», Россия).

ЛОН-положительные случаи определялись на основе АД, то есть изменения интенсивности флуоресценции одного из аллелей при их гетерозиготном наследовании по сравнению с контрольным образцом. EMASТ-положительными считались образцы, в которых наблюдалось появление нового аллеля как минимум в одном тетраплексе.

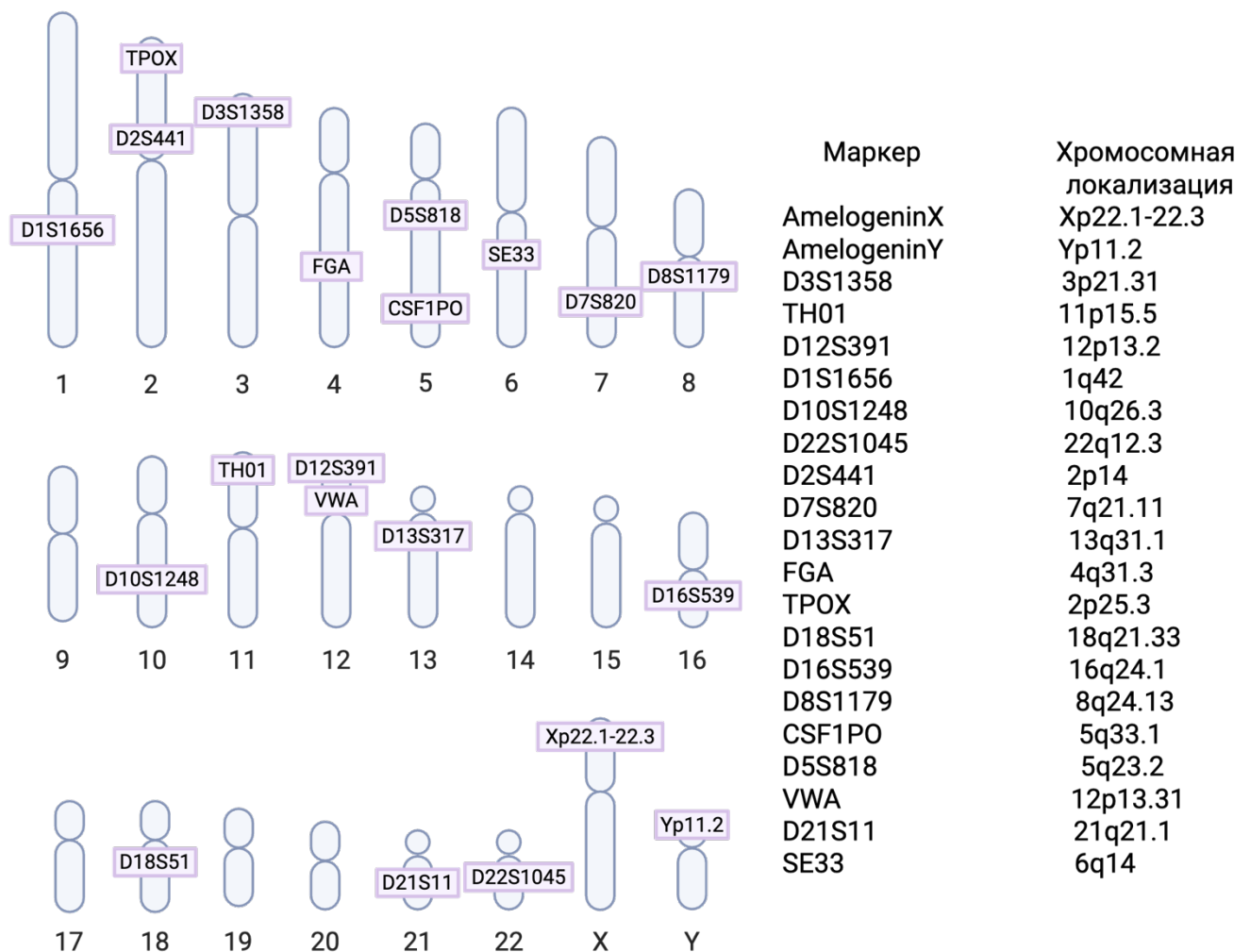


Рисунок 2.2 — Характеристики анализируемых маркеров МСП. Схема создана с использованием сервиса BioRender.com

2.2.1.4. Оригинальные диагностические тест-системы

На основании имеющихся литературных данных известно, что для больных ПМВКЛ характерно появление АД вблизи генов *HLA*, *PD-L1/PD-L2* и *CIITA*, обусловленное патогенезом опухоли. Однако данных о частоте aberrаций МСП вблизи этих генов и прогностической ценности данных маркеров при ПМВКЛ в доступной литературе нет, что послужило основанием для их выбора в качестве объекта изучения.

Олигонуклеотидные системы праймеров, использованные для постановки ПЦР были разработаны специально для данного исследования в лаборатории генной инженерии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (заведующая лабораторией - к.б.н. Пшеничникова О. С., ст. научный сотрудник Сурин В. Л.) и синтезированы в ЗАО «Синтол» (Москва). Были разработаны три диагностических панели для анализа микросателлитов, ближайших к генам *HLA* (локус 6p21.3 ((ca)n и (gt)m), *PD-L1/PD-L2* (локус 9p24.1 (gt)n и (ttat)m) и *CIITA* (локус 16p13.13 ((ca)n и (gt)m) методом ПЦР. Схема локализации исследуемых МСП представлена на Рисунке 2.3. Системы праймеров представлены в Таблице 2.4.

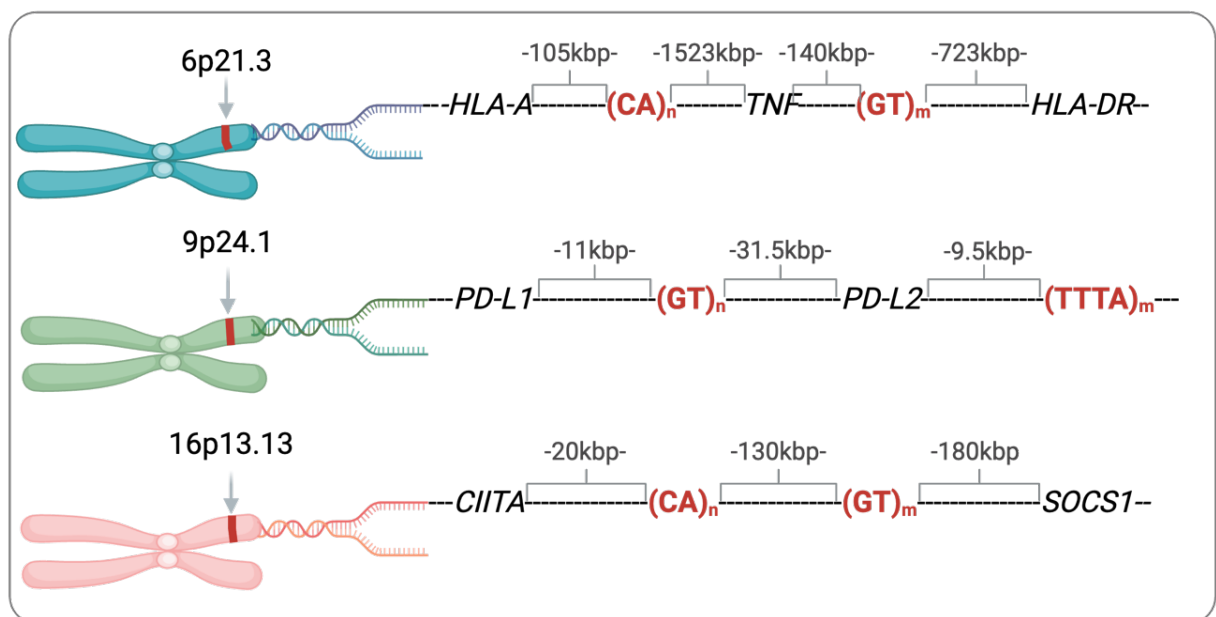


Рисунок 2.3 — Схема локализации, исследуемых микросателлитных повторов. Схема создана с использованием сервиса BioRender.com

Таблица 2.4 — Системы праймеров для ПЦР

Праймер	Forward	Reverse
6p21.3 (GT)n	GCAACTTTTCTGT CAATCCA	FAM-ACCAAАCTT CAAATTTTCGG
6p21.3 (CA)m	ACGTTTCGTACCC ATTAACCT	FAM-ATCGAGGTA AACAGCAGAAA
9p24.1 (GT)n	TCCATGTTGCCA CAAATGACA	FAM-GAGGCTGTG GGTGGGACGAT
9p24.1 (TTAT)m	GGCATCTGCTTT GACCATGA	FAM-AGTAGTGAG CCGAGATCTTG
16p13.13 (CA)n	FAM-TGCATTGT TGCATCCAGCCT	CATAACCACGCAC GCACCCT
16p13.13 (GT)m	FAM-CCAGCCCA GCACTGTGACCT	CCTGGTCAAAAAA CATGCCA

ПЦР проводилась в составе реакционной смеси в 0,2 мл микропробирках, содержащей следующие компоненты:

- 2,5 мкл 10-кратного ПЦР-буфера;
- 2,5 мкл смеси dNTP (концентрация каждого дезоксинуклеотидтрифосфата — 25 мМ);
- 1,5 мкл 25 мМ раствора MgCl₂;
- не менее 20 нг геномной ДНК (в среднем в объеме водного раствора от 2 мкл до 5 мкл);
- 2 мкл одной из шести смеси пар праймеров;
- 2,5 ед. термостабильной ДНК-полимеразы (Taq-полимеразы);
- деионизированная вода до общего объема реакционной смеси 25 мкл.

Аmplификация выполнялась в системе PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) при следующих условиях:

- первичная денатурация: 95 °С, 2 мин;
- 28 циклов: денатурация — 96 °С, 10 с; отжиг — 58 °С, 30 с; элонгация — 72 °С, 30 с;

- заключительная элонгация: 68 °С, 10 мин.

Продукты амплификации в разведении 1:60–1:100 смешивались с формамидом в соотношении 1:3 и денатурировались при 95 °С в течение 3 мин, после чего выполнялся фрагментный анализ методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе «Нанофор-05» (ООО «Синтол», Россия).

Наличие АД МСП в анализируемых локусах определялось в случае гетерозиготного наследования на основании отсутствия пиков одного из аллелей или уменьшения интенсивности его флуоресценции по отношению к пику второго аллеля соответствующего микросателлитного локуса в опухолевой ткани при сравнении с контрольным образцом. На Рисунке 4 на примере МСП GT вблизи гена *PD-L1* представлена схема, показывающая локализацию МСП, этапы работы и примеры полученных результатов.

Пациенты с гомозиготным наследованием характеризовались одинаковым количеством МСП по обоим аллелям, в отличие от гетерозигот (Рисунки 2.4А. и 2.4Б.). ЛОН-позитивными случаями считались примеры изменения интенсивности флуоресценции продукта одного из аллелей при их гетерозиготном наследовании по сравнению с контрольным образцом (Рисунок 2.4В.). EMASТ-позитивными случаями признавались примеры появления нового аллеля как минимум одного ди-, три- или тетрануклеотидного локуса (Рисунок 2.4Е.).

В случае сnЛОН происходила утрата одного аллеля и дупликация второго, что приводило к появлению двух идентичных копий фрагмента ДНК на гомологичных хромосомах (Рисунок 2.4Г.). При дупликации или амплификации фрагмента ДНК, содержащего МСП, наблюдался АД, то есть различное количество копий аллелей МСП проявлялось разной высотой пиков флуоресценции ПЦР-ампликонов гетерозиготного локуса (Рисунок 2.4Д.).

Таким образом различные количественные изменения МСП в опухоли по сравнению с контрольным образцом проявляются АД. Однако на основании одного лишь фрагментного анализа нельзя достоверно определить, какое нарушение привело к АД (делеция, дупликация и др.).

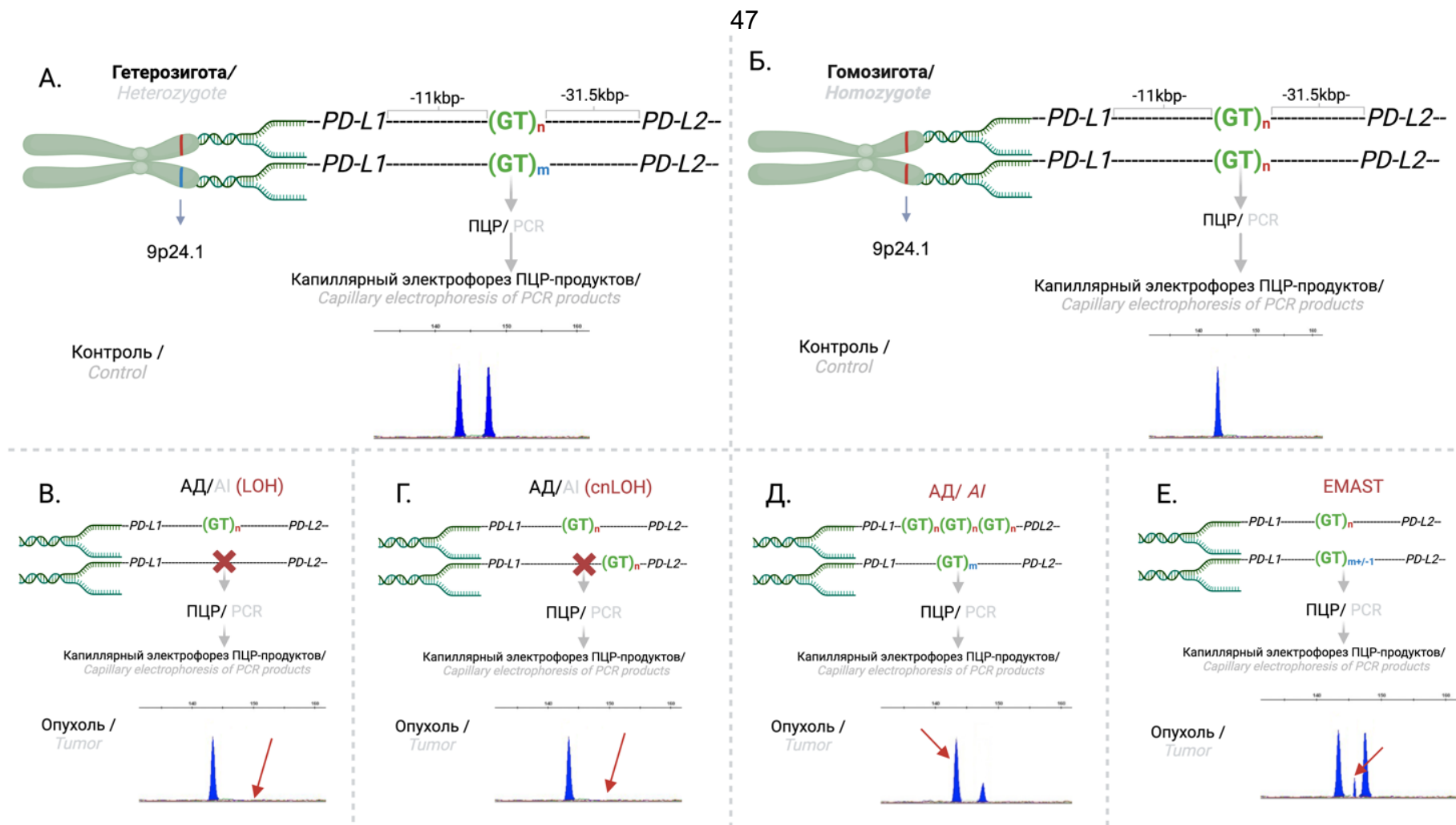


Рисунок 2.4 — Схема, показывающая локализацию микросателлитного повтора GT, этапы работы и примеры полученных результатов. Схема создана с использованием сервиса BioRender.com

Примечание: АД — аллельный дисбаланс; LOH — loss of heterozygosity потеря гетерозиготности; EMAST — elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, aberrации микросателлитных тетра nukлеотидных повторов.

2.2.2. Хромосомный микроматричный анализ

ХМА образцов опухолевой ДНК выполнялся в лаборатории молекулярной патологии «Геномед» (Москва, Россия). Для исследования использовались образцы с концентрацией ДНК не ниже 50 нг/мкл, объемом не менее 20 мкл и показателем чистоты A260/A280 в диапазоне 1,8–2,0.

Анализ проводился с использованием системы «Геноскан 3000» (Thermo Fisher Scientific, США) (РУ № ФСР 2010/08511 от 11.08.2010) согласно протоколу производителя на микроматрице «OncoScan FFPE». Результаты обрабатывались с помощью программного обеспечения «Multi Sample Viewer» (v.1.1.0.11) и «Chromosome Analysis Suite» (ChAS 4.3.0.71) (Thermo Fisher Scientific, США).

При анализе изменений копийности локусов (Copy Number Alterations, CNA) применялся пороговый фильтр: ≥ 5000 Кб для участков cnLOH и ≥ 50 Кб для делеций и дупликаций [183]. Аберрации МСП могут входить в более мелкие области изменений: которые не учитываются при применении стандартных пороговых значений (фильтр ≥ 5000 Кб для участков cnLOH и ≥ 50 Кб для делеций и дупликаций). С целью верификации мелких геномных нарушений в областях, содержащих клинически значимые локусы (6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13), ХМА дополнительно анализировался с повышенной чувствительностью — без применения фильтрации по размеру (порог детекции от 5 Кб и 5 SNP-маркеров).

2.2.3. Иммуногистохимическая оценка экспрессии PD-L1, HLA-DR, PD-1, CTLA-4

Всего за время исследования было включено 59 случаев, из которых 46 были отнесены к анализируемой группе, а 13 исключены из анализа по следующим причинам: снижение антигенной сохранности, выраженные явления механической деформации, крайне скудный диагностический материал в серийных срезах.

Патоморфологическое исследование выполнялось на биоптатах опухоли средостения ($n = 37/46$, 80,4 %), лимфатических узлов ($n = 5/46$, 10,9 %), биоптатах

экстремедиастинального поражения ($n = 4/46$, 8,7 %) (легкое, мягкие ткани, слизистая оболочка желудка, щитовидная железа - при врастании опухоли).

На каждом биоптате из исследуемой группы, помимо основной диагностической ИГХ-панели (CD20, CD3, CD30, PAX5, CD23, IgM, Ki-67), выполнялись реакции с антителами:

- PD-L1 — кроличьи моноклональные антитела PD-L1 (28–2, Cell Marque, США);
- HLA-DR — мышинные моноклональные антитела HLA-DR (TAL.1B5, Dako, Дания);
- PD-1 — мышинные моноклональные антитела PD-1 (NAT.105, Cell Marque, США);
- CTLA-4 — кроличьи моноклональные антитела CTLA-4 (CAL49, Abcam, Великобритания).

Методика ИГХ исследования

Из парафиновых блоков с помощью микротомы изготавливались срезы толщиной 3 мкм, которые монтировались на предметные стёкла, покрытые поли-L-лизинном. Стёкла высушивались при температуре 37 °С в течение 12 ч, а перед нанесением антител — при температуре 60 °С в течение 1 ч. Высушенные на воздухе срезы маркировались в зависимости от поставленных задач.

Окрашивание проводилось по стандартному протоколу «IHC protocol F» с использованием готовой системы детекции, обеспечивающей высокую степень усиления сигнала без применения биотина, на иммуностейнере Leica Bond-MAX. Титр исследуемых антител и буфер для демаскировки определялись опытным путём индивидуально для каждого антитела. Все этапы окрашивания выполнялись автоматически.

Перед заключением под покрывное стекло проводилась дегидратация срезов с использованием этанола, после чего для осветления применялся ксилол. В качестве заключающей среды использовалась Surgipath Sub-X Leica.

Предварительно опытным путём подбирались разведения антител и тип буфера для демаскировки — ER1 (pH = 6) или ER2 (pH = 9). Подобранные параметры указаны в Таблице 2.5.

Таблица 2.5 — Условия проведения ИГХ-исследования для антител PD-L1, HLA-DR, CTLA-4 и PD-1

Антитела (клон)	Производитель	Разведение	Буфер
Кроличьи моноклональные антитела CTLA-4 (CAL49)	Abcam (Великобритания)	1:120	ER2
Моноклональные мышинные антитела HLA-DR (TAL.1B5)	Дакко (Дания)	1:600	ER1
Кроличьи моноклональные антитела PD-L1 (28-2)	CELL MARQUE (США)	1:25	ER2
Мышинные моноклональные антитела PD-1 (NAT.105)	CELL MARQUE (США)	1:15	ER1

Методика оценки исследуемых антител в биоптатах

Для антител PD-L1 и HLA-DR экспрессия оценивалась в крупных опухолевых В-клетках (CD20+) полуколичественно, в процентах, при наличии «внутренних» позитивных контролей (для PD-L1 — макрофаги; для HLA-DR — Т-клетки/макрофаги). Подсчёт выполнялся при увеличении $\times 400$ с усреднением по нескольким полям зрения; учитывались только жизнеспособные опухолевые клетки, зоны некроза и артефактов исключались.

Для антител PD-1 и CTLA-4 экспрессия оценивалась в мелких Т-клетках CD3+ реактивного микроокружения полуколичественно, в процентах, с сопоставлением результатов параллельного окрашивания на CD3; дополнительно учитывались выраженность Т-клеточной инфильтрации и степень фиброза. В качестве «внешнего» позитивного контроля для PD-1 и CTLA-4 использовался биоптат лимфатического узла с реактивными изменениями.

2.3. Статистическая обработка данных

Для проверки гипотез о различиях распределений категориальных признаков в группах сравнения использовался анализ таблиц сопряжённости. Значимость

оценивалась с применением двустороннего критерия Фишера и критерия χ^2 в случае, если минимальное ожидаемое значение для каждой градации превышало 5. В качестве меры связи рассчитывалось отношение шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ).

Анализ количественных характеристик независимых выборок выполнялся методом парных сравнений с использованием критерия Манна–Уитни. Анализ выживаемости проводился методом Каплана–Мейера с применением лог-рангового теста. Основные конечные точки представляли собой время до целевого события; задачей событийного анализа являлась оценка вероятностного распределения этого времени и его зависимости от основных факторов риска.

Для оценки ОВ рассчитывался интервал от момента установки диагноза до смерти от любой причины либо даты последнего контакта с пациентом. Длительность жизни при БСВ определялась как время от начала ХТ до рецидива, прогрессии, смены противоопухолевой терапии при резистентном течении заболевания или частичном метаболическом ответе, а также смерти от любой причины. Точкой цензурирования во всех расчётах являлась дата последнего контакта с пациентом.

Для оценки влияния исследуемых маркеров на вероятность смерти и потребность проведения второй линии терапии использовался анализ пропорциональных рисков Кокса (КР). Статистическая обработка данных выполнялась с использованием процедур пакета R 4.1 (США). Различия признавались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Глава 3. Результаты и обсуждение

3.1. Анализ aberrаций микросателлитных повторов по локусам панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus

3.1.1. Частота встречаемости MSI по локусам панели COrDIS MSI у больных первичной медиастинальной и диффузной В-клеточными крупноклеточными лимфомами

Исследование MSI было выполнено для 85 больных ПМВКЛ и 53 ДВКЛ. У 83,5 % (71/85) пациентов с ПМВКЛ и 88,7 % (47/53) с ДВКЛ не было обнаружено aberrаций мононуклеотидных повторов, что соответствует MSS ($P = 0,282$; ОШ 1,545 [0,554–4,305]). MSI-H не была обнаружена ни при ПМВКЛ, ни при ДВКЛ. MSI-L обнаружена у 16,5 % (14/85) больных ПМВКЛ и 11,3 % (6/53) ДВКЛ ($P = 0,282$; ОШ 0,647 [0,232–1,804]). По обоим нозологиям чаще встречалась нестабильность маркера BAT-25, 35,7 % (5/14) при ПМВКЛ и 50 % (3/6) при ДВКЛ ($P = 0,455$; ОШ 1,800 [0,259–12,502]). Достоверных различий в частоте aberrаций мононуклеотидных повторов в анализируемых группах не обнаружено. Частота обнаруженных aberrаций и распределение по локусам представлено в Таблице 3.1.

Таблица 3.1 — Частота встречаемости aberrаций мононуклеотидных повторов и распределение MSI-L по отдельным микросателлитным локусам, $n = 138$

	ПМВКЛ, $n = 85$	ДВКЛ, $n = 53$	P	ОШ [95 % ДИ]
MSS, n (%)	71 (83,5)	47 (88,7)	0,282	1,545 [0,554–4,305]
MSI-H, n (%)	0	0	–*	–*
MSI-L, n (%)	14 (16,5)	6 (11,3)	0,282	0,647 [0,232–1,804]
MSI-L по локусам				
Локус	ПМВКЛ, $n = 14$	ДВКЛ, $n = 6$	P	ОШ [95 % ДИ]
BAT-25, n (%)	5 (35,7)	3 (50)	0,455	1,800 [0,259–12,502]

Продолжение таблицы 3.1

Локус	ПМВКЛ, n = 14	ДВКЛ, n = 6	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]
ВАТ-26, n (%)	3 (21,4)	1 (16,7)	0,657	0,733 [0,060–8,915]
NR-21, n (%)	4 (28,6)	1 (16,7)	0,517	0,500 [0,44–5,737]
NR-24, n (%)	1 (7,1)	1 (16,7)	0,521	2,600 [0,135–50,049]
NR-27, n (%)	1 (7,1)	0	0,700	0,684 [0,504–0,929]

Примечание: -* статистическая значимость не вычисляется, так как MSI-H – константа. MSS – Microsatellite stability, микросателлитная стабильность; MSI-H — микросателлитная нестабильность высокой степени; MSI-L — микросателлитная нестабильность низкой степени.

Проведённое исследование продемонстрировало, что феномен MSI крайне редко встречается как при ПМВКЛ, так и при ДВКЛ, что соответствует мировым данным о низкой частоте MSI-H в В-клеточных лимфомах [184]. Феномен MSI-H не был обнаружен ни у одного пациента с ПМВКЛ или ДВКЛ, что согласуется с данными литературы, где MSI-H преимущественно характерна для опухолей эпителиального происхождения [113].

3.1.2. Частота встречаемости LOH и EMAST по локусам панели COrDIS Plus у больных первичной медиастинальной и диффузной В-клеточными крупноклеточными лимфомами

Для выборки из 86 больных ПМВКЛ и 51 ДВКЛ выполнен анализ 19 локусов МСП аутосом и локусов амелогенина X и Y с использованием панели COrDIS Plus. Не обнаружено достоверных отличий в частоте встречаемости LOH и EMAST в исследуемых группах. LOH одного или более локусов обнаружен у 50 % (43/86) и 50,9 % (26/51) больных ПМВКЛ и ДВКЛ, соответственно ($P = 0,776$; ОШ 0,962 [0,481–1,923]). EMAST был обнаружен у 44/86 больных (51,2 %) ПМВКЛ и 12/51 ДВКЛ (23,5 %) ($P = 0,170$; ОШ 3,405 [0,984–7,125]). Однако при сравнительном анализе по каждому локусу, феномен EMAST в локусах 21q21.1 и 6q14 чаще встречался при ПМВКЛ. EMAST 21q21.1 выявлен у 7/86 (8,1 %) больных ПМВКЛ,

в группе с ДВКЛ не было изменений анализируемого маркера ($P = 0,035$). Вовлечение локуса 6q14 было выявлено у 18/86 (20,9 %) и в 2/51 (3,9 %) случаев ($P = 0,004$; ОШ 6,485 [1,438–29,250]) в группах ПМВКЛ и ДВКЛ соответственно. В Таблице 3.2 показана частота встречаемости aberrаций LOH и EMAS по 19 локусам и локусам амелогенина X и Y.

Таблица 3.2 — LOH и EMAS по локусам панели COrDIS Plus, $n = 137$

Маркер	Локус	ПМВКЛ, $n = 86$		ДВКЛ, $n = 51$		$P - \text{value}$ LOH / EMAS
		LOH, n (%)	EMAS T, n (%)	LOH, n (%)	EMAS T, n (%)	
D1S1656	1q42	9 (10,5)	1 (1,2)	2 (3,9)	2 (3,9)	0,149 / 0,311
D2S441	2p14	9 (10,5)	3 (3,5)	3 (5,9)	1 (2)	0,316 / 0,523
D3S1358	3p21.31	3 (3,5)	0	4 (7,8)	1 (2)	0,233 / 0,372
D5S818	5q23.2	3 (3,5)	3 (3,5)	1 (2)	1 (2)	0,523 / 0,523
D7S820	7q21.11	4 (4,7)	4 (4,7)	6 (11,8)	0	0,115 / 0,151
D8S1179	8q24.13	8 (9,3)	2 (2,3)	3 (5,9)	1 (2)	0,358 / 0,689
D10S1248	10q26.3	3 (3,5)	4 (4,7)	6 (11,8)	0	0,065 / 0,151
D12S391	12p13.2	12 (14)	10 (11,6)	2 (3,9)	2 (3,9)	0,052 / 0,106
D13S317	13q31.1	5 (5,8)	10 (11,6)	1 (2)	2 (3,9)	0,273 / 0,106
D16S539	16q24.1	6 (7)	3 (3,5)	5 (9,8)	1 (2)	0,388 / 0,523
D18S51	18q21.3 3	4 (4,7)	6 (7)	5 (9,8)	2 (3,9)	0,204 / 0,371
D21S11	21q21.1	6 (7)	7 (8,1)	1 (2)	0	0,191 / 0,035
D22S1045	22q12.3	2 (2,3)	2 (2,3)	1 (2)	1 (2)	0,689 / 0,689
CSF1PO	5q33.1	3 (3,5)	2 (2,3)	0	0	0,244 / 0,392
FGA	4q31.3	5 (5,8)	4 (4,7)	3 (5,9)	3 (5,9)	0,629 / 0,520
SE33	6q14	4 (4,7)	18 (20,9)	7 (13,7)	2 (3,9)	0,061 / 0,004
TH01	11p15.5	1 (1,2)	2 (2,3)	1 (2)	0	0,608 / 0,392
TPOX	2p25.3	2 (2,3)	1 (1,2)	1 (2)	0	0,689 / 0,628
VWA	12p13.3 1	3 (3,5)	1 (1,2)	1 (2)	2 (3,9)	0,316 / 0,311

Продолжение таблицы 3.2

Маркер	Локус	ПМВКЛ, n = 86		ДВКЛ, n = 51		P – value LOH / EMAST
		LOH, n (%)	EMAS T, n (%)	LOH, n (%)	EMAS T, n (%)	
Амелогенин X M55418	Xp22.1- 22.3	0	0	0	0	-*
Амелогенин Y M55419	Yp11.2	3 (3,5)	0	6 (11,8)	0	0,065 / -*
Примечание: * «-» — отсутствие данных для P по EMAST, что связано с отсутствием или редкой встречаемостью маркера. LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности; EMAST – elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, абберации микросателлитных тетрануклеотидных повторов.						

Таким образом, около половины случаев ПМВКЛ и ДВКЛ имели абберации МСП по одному или нескольким локусам, включенным в стандартную панель COrDIS Plus, но EMAST в локусах 21q21.1 и 6q14 чаще встречались при ПМВКЛ ($P = 0,035$; ОШ 0,608 [0,529–0,698] и $P = 0,004$; ОШ 6,485 [1,438–29,250] соответственно). В онкогематологии встречаемость и прогностическое значение MSI, в частности EMAST в локусе 21q21.1, не описано. Однако LOH 21q описана при нескольких видах солидных неоплазий, включая рак молочной железы, желудка, полости рта и немелкоклеточный рак легкого [185]. LOH в участке 21q21 при раке легких приводит к подавлению генов-супрессоров опухоли (*SAMSNI* и *USP25*), прогностическое значение вовлечения 21q21 не известно [185]. В настоящем исследовании феномен EMAST 6q14 был выявлен у 18/86 (20,9 %) и в 2/51 (3,9 %) случаев ($P = 0,004$) ПМВКЛ и ДВКЛ соответственно. В исследовании 2022 г. EMAST 6q14 был выявлен у 10 % (3/29) больных ДВКЛ [179]. Различная частота выявления аббераций 6q14 обусловлена разными выборками и включением в анализ ДВКЛ иммунопривилегированных локализаций и требует изучения на большей выборке больных. Локус 6q14 включает ген *ACTBP8* (актин бета, псевдоген 8) [186]. Роль аббераций этого локуса в развитии и прогрессировании

ПМВКЛ неизвестна. Показано, что MSI 6q выявляется при тимомех типа В2 (1 случай) и В3 (3 случая). LOH 6q14 был обнаружен в 26,3 % ($n = 38$) и более характерен для агрессивных типов тимом В3 и С ($P = 0,0232$) [186].

3.1.3. Сопоставление клинических данных и aberrаций микросателлитных повторов по локусам стандартных панелей у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой

У пациентов с ПМВКЛ при сопоставлении клинико-лабораторных данных в дебюте заболевания и результатов исследования MSI-L, LOH, EMAST не было выявлено значимых корреляций, за исключением MSI-L и случаев с прорастанием плевры и/или перикарда ($P = 0,038$; ОШ 0,267 [0,078–0,909]). Феномен EMAST оказался в большей степени характерен для случаев с наличием экстрамедиастинального поражения ($P = 0,054$; ОШ 2,586 [0,930–7,196]) и образования средостения ≥ 12 см (MegaBulky) ($P = 0,063$; ОШ 2,229 [0,880–6,019]), однако различия не достигали статистической значимости. Результаты по всем проанализированным клиническим параметрам представлены в Таблице 3.3.

Таблица 3.3 — Сопоставление клинических данных и aberrаций микросателлитных повторов по локусам стандартных панелей

Параметр	MSI-L		LOH		EMAST	
	ОШ [95 % ДИ]	P	ОШ [95 % ДИ]	P	ОШ [95 % ДИ]	P
Пол	1,314 [0,311– 5,225]	0,494	0,783 [0,296– 2,069]	0,403	0,650 [0,244– 1,735]	0,270
Экстрамедиастинальное поражение	1,797 [0,530– 6,094]	0,262	1,637 [0,613– 4,368]	0,229	2,586 [0,930– 7,196]	0,054
Повышенный уровень ЛДГ	0,371 [0,031– 4,402]	0,417	2,049 [0,179– 23,476]	0,500	2,150 [0,188– 24,637]	0,482
Прорастание плевры и/или перикарда	0,267 [0,078– 0,909]	0,038*	0,556 [0,196– 1,634]	0,214	0,600 [0,208– 1,732]	0,247

Продолжение таблицы 3.3

Параметр	MSI-L		LOH		EMAST	
	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>
Образование средостения ≥ 6 см (Bulky)	0,183 [0,011–3,116]	0,301	2,049 [1,646–2,550]	0,247	1,049 [0,063–17,327]	0,741
Образование средостения ≥ 12 см (MegaBulky)	0,838 [0,264–2,661]	0,499	1 [0,429–2,334]	0,585	2,229 [0,880–6,019]	0,063
Проращение в мягкие ткани и/или молочную железу	1,040 [0,292–3,700]	0,592	1 [0,390–2,566]	0,595	0,744 [0,289–1,914]	0,354
Примечание: * - статистически значимый результат наиболее вероятно отражает ложноположительный (ошибка I рода) вывод. ЛДГ — лактатдегидрогеназа.						

MSI-L была выявлена у 16,5 % (14/85) больных ПМВКЛ, её наличие ассоциировалось с проращением плевры и/или перикарда ($P = 0,038$; ОШ 0,267 [0,078–0,909]), что может отражать особенности локального инвазивного роста опухоли.

3.2. Анализ aberrаций микросателлитных повторов по локусам оригинальной панели праймеров (6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13)

Изложенные выше результаты доказывают нехарактерность феноменов MSI-L, LOH и EMAST для больных ПМВКЛ, в сравнении с ДВКЛ ($P = 0,282$, $P = 0,776$ и $P = 0,170$, соответственно). Поэтому была разработана панель для исследования микросателлитных локусов, учитывающая особенности патогенеза ПМВКЛ, способность «ухода» от иммунного надзора. Исследованы aberrации МСП регионов генов *HLA* (локус 6p21.3), *PD-L1/PD-L2* (локус 9p24.1) и *СИТА* (локус 16p13.13) при ПМВКЛ и ДВКЛ методом ПЦР с помощью оригинальной панели праймеров. В исследование включено 95 больных ПМВКЛ и 58 ДВКЛ.

Всем больным исходно на материале без специфического поражения был проведен анализ наследования по изучаемым маркерам. Гомозиготность по обоим

маркерам вблизи генов *PD-L1/PD-L2* была выявлена — у 6,7 % (6/90) больных ПМВКЛ и 25 % (14/56) ДВКЛ ($P = 0,002$; ОШ 0,214 [0,077–0,598]). Гомозиготное наследование обоих маркеров вблизи генов *PD-L1/PD-L2* чаще встречалось у больных ДВКЛ, тогда как частота гомозиготности по маркерам вблизи генов *HLA* и *СИТА* не отличалась ($P = 0,186$; ОШ 3,868 [0,445–33,611] и $P = 0,118$; ОШ 0,500 [0,192–1,300], соответственно). Частота гомозиготного наследования локусов 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13 представлена в Таблице 3.4.

Больные с гомозиготным наследованием по каждому из исследуемых маркеров в отдельности в дальнейшем не включались в анализ в связи с невозможностью оценки ЛОН. Высокая информативность анализа обеспечивается частым гетерозиготным наследованием в анализируемых локусах.

Таблица 3.4 — Частота гомозиготного наследования локусов 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13, $n = 153$

Хромосомный локус	ПМВКЛ, n = 95	ДВКЛ, n = 58	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]
6p21.3 (CA и GT), n (%)	7/45 (15,6)	1/22 (4,5)	0,186	3,868 [0,445– 33,611]
9p24.1 (PD-L1 и PD-L2), n (%)	6/90 (6,7)	14/56 (25)	0,002	0,214 [0,077– 0,598]
16p13.13 (CA и GT), n (%)	9/90 (10)	10/50 (20)	0,118	0,500 [0,192– 1,300]

3.2.1. Анализ aberrаций микросателлитных повторов локуса 6p21.3

В исследование включено 38 больных ПМВКЛ и 21 ДВКЛ, имеющих гетерозиготное наследование хотя бы по одному маркеру пары.

АД МСП, ближайших к генам *HLA* (локус 6p21.3) обнаружен у 65,8 % (25/38) больных ПМВКЛ и у 33,3 % (7/21) больных ДВКЛ ($P = 0,017$; ОШ 3,846 [1,245–11,882]). Все случаи АД были представлены феноменом ЛОН; EMASТ не был выявлен. В Таблице 3.5 представлена частота АД и распределение по маркерам. АД по обоим маркерам пары локуса 6p21.3 был обнаружен у 44,7 % (17/38) и 19% (4/21) больных ПМВКЛ и ДВКЛ соответственно ($P = 0,043$; ОШ 3,440 [0,973–12,166]) (Рисунок 3.1).

Таблица 3.5 — Частота встречаемости LOH локуса 6p21.3 при ПМВКЛ и ДВКЛ, n = 59

Маркер	ПМВКЛ, n = 38	ДВКЛ, n = 21	P	ОШ [95 % ДИ]
LOH 6p21.3 (CA и/или GT), n (%)	25 (65,8)	7 (33,3)	0,017	3,846 [1,245–11,882]
LOH 6p21.3 (CA), n (%)	21 (55,3)	6 (28,6)	0,044	3,088 [0,985–9,680]
LOH 6p21.3 (GT), n (%)	21 (55,3)	5 (23,8)	0,019	3,953 [1,202–13,000]

Примечание. LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

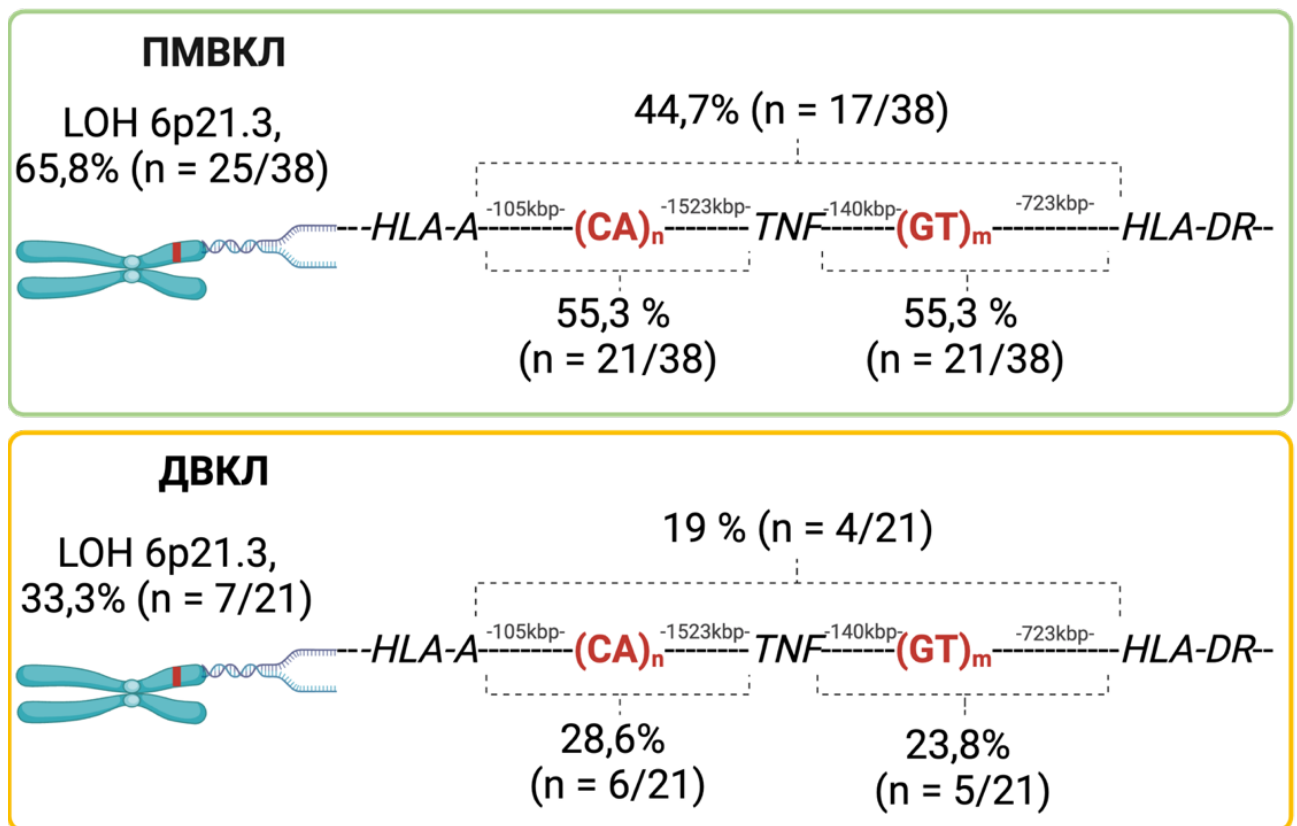


Рисунок 3.1 — Локализация и частота LOH 6p21.3 при ПМВКЛ и ДВКЛ, n = 59

Примечание: В данном исследовании не встретили комбинации в одном локусе нормального гетерозиготного микросателлитного повтора (МСП) и второго с аллельным дисбалансом (АД). АД наблюдался или сразу в двух исследуемых МСП локусах, или в одном при втором гомозиготном. LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

3.2.1.1. Сопоставление клинических данных и aberrаций микросателлитных повторов локуса бp21.3 у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой

У пациентов с ПМВКЛ при сопоставлении клинико-лабораторных данных в дебюте заболевания и результатов исследования aberrаций МСП бp21.3 только случаи с прорастанием плевры и/или перикарда ($P = 0,038$; ОШ 10,667 [1,047–108,688]) коррелировали с АД, при этом за счет маркера LOH бp21.3 (GT) ($P = 0,012$; ОШ 2,750 [1,751–4,319]). Результаты по всем проанализированным параметрам представлены в Таблице 3.6.

Таблица 3.6 — Сопоставление клинических данных и LOH бp21.3

Параметр	LOH бp21.3 (CA и/или GT)		LOH бp21.3 (CA)		LOH бp21.3 (GT)	
	ОШ [95 % ДИ]	P	ОШ [95 % ДИ]	P	ОШ [95 % ДИ]	P
Пол	0,386 [0,069–2,169]	0,242	1,333 [0,313–5,673]	0,490	0,769 [0,177–3,336]	0,510
Экстремедиастинальное поражение	1,048 [0,165–6,646]	0,672	0,778 [0,136–4,458]	0,560	1,765 [0,282–11,044]	0,440
Повышенный уровень ЛДГ	2,000 [0,115 – 34,822]	0,573	1,250 [0,072 – 21,582]	0,701	1,250 [0,072–21,582]	0,701
Прорастание плевры и/или перикарда	10,667 [1,047–108,688]	0,038	6,154 [0,617–61,371]	0,112	2,750 [1,751–4,319]	0,012
Образование средостения ≥ 6 см (Bulky)	-*					
Образование средостения ≥ 12 см (MegaBulky)	0,791 [0,206–3,032]	0,500	0,525 [0,144–1,919]	0,257	1,238 [0,344–4,454]	0,500
Прорастание в мягкие ткани и/или молочную железу	2,619 [0,577–11,888]	0,181	1,128 [0,299–4,260]	0,565	2,955 [0,721–12,107]	0,116
Примечание. * «-» — статистический анализ невозможен, так как клинический параметр константа в выборке с LOH бp21.3. ЛДГ – лактатдегидрогеназа.						

3.2.2. Анализ aberrаций микросателлитных повторов 9p24.1

В исследование включено 84 больных ПМВКЛ и 42 ДВКЛ, имеющих гетерозиготное наследование хотя бы по одному маркеру пары.

Вовлечение маркеров локуса 9p24.1 было выявлено у 58,3 % (49/84) и 26,2 % (11/42) больных ($P = 0,001$; ОШ 3,945 [1,750–8,897]) ПМВКЛ и ДВКЛ, соответственно. Результаты исследования частоты встречаемости АД МСП локуса 9p24.1 у больных ПМВКЛ и ДВКЛ представлены в Таблице 3.7. АД по обоим маркерам локуса 9p24.1 был обнаружен у 22,6 % (19/84) и 7,1 % (3/42) больных ПМВКЛ и ДВКЛ, соответственно ($P = 0,024$; ОШ 3,800 [1,056–13,677]) больных ПМВКЛ (Рисунок 3.2).

Таблица 3.7 — Частота встречаемости АД микросателлитных повторов локуса 9p24, n = 126

Маркер	ПМВКЛ, n = 84	ДВКЛ, n = 42	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]
АД 9p24.1 (ЛОН и/или ЕМАСТ), n (%)	49 (58,3)	11 (26,2)	0,001	3,945 [1,750–8,897]
ЛОН 9p24.1 (GT и/или TTТА), n (%)	46 (54,8)	11 (26,2)	0,002	3,411 [1,516–7,676]
<ul style="list-style-type: none"> • ЛОН 9p24.1 (GT), n (%) • ЛОН 9p24.1 (TTТА), n (%) 	31 (36,9) 34 (40,5)	4 (9,5) 10 (23,8)	0,001 0,048	5,557 [1,810–17,056] 2,176 [0,946–5,006]
ЕМАСТ 9p24.1 (GT и/или TTТА), n (%)	5 (6)	0	0,126	—*
<ul style="list-style-type: none"> • ЕМАСТ 9p24.1 (GT), n (%) • ЕМАСТ 9p24.1 (TTТА), n (%) 	3 (3,6) 3 (3,6)		0,293 0,293	
<p>Примечание. * «-» — статистический анализ невозможен, так как ЕМАСТ 9p24.1 константа в выборке больных ДВКЛ. АД — аллельный дисбаланс; ЛОН — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности; ЕМАСТ — elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, aberrации микросателлитных тетрануклеотидных повторов.</p>				

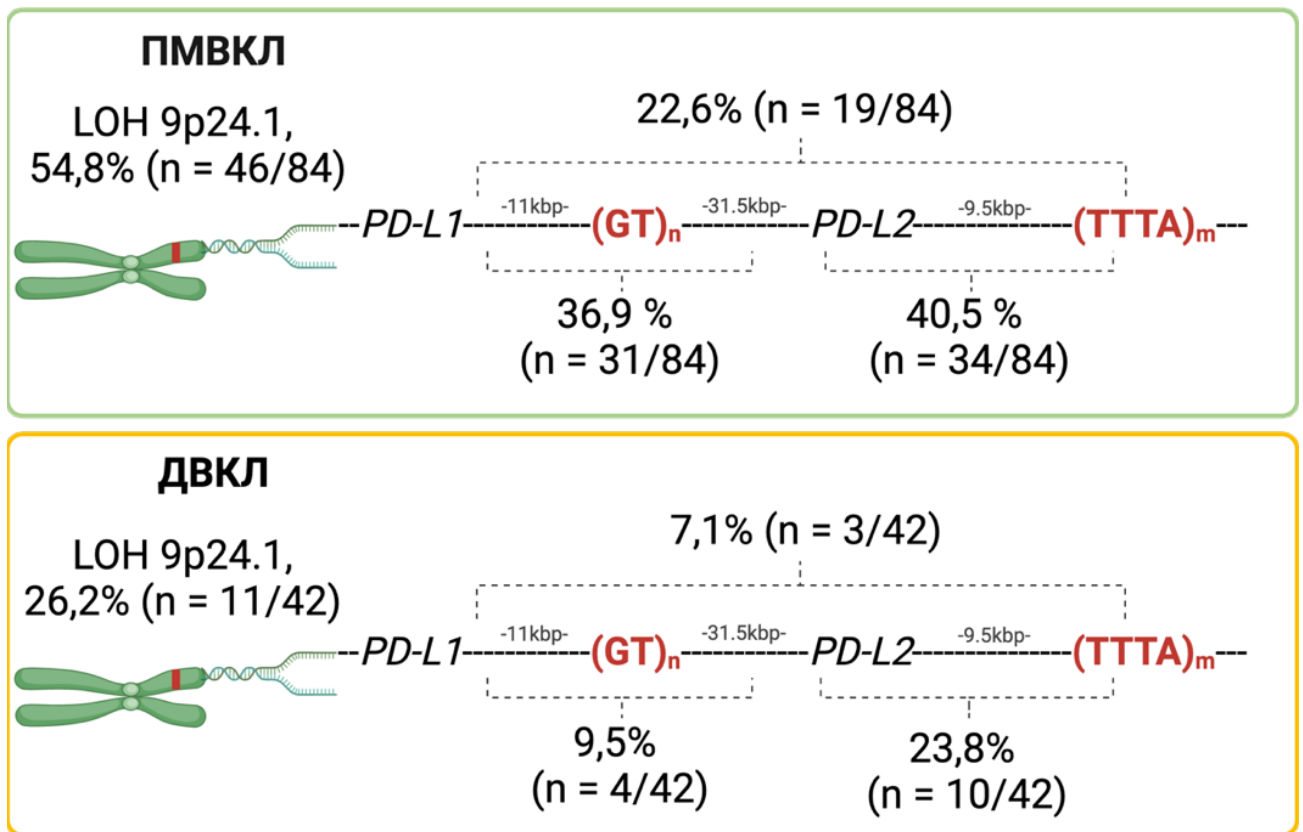


Рисунок 3.2 — Локализация и частота АД 9p24.1 при ПМВКЛ и ДВКЛ, n = 126
 Примечание: В данном исследовании не встретили комбинации в одном локусе нормального гетерозиготного микросателлитного повтора (МСП) и второго с аллельным дисбалансом (АД). АД наблюдался или сразу в двух исследуемых МСП локусах, или в одном при втором гомозиготном. Примечание. LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

3.2.2.1. Сопоставление клинических данных и aberrаций микросателлитных повторов локуса 9p24.1 у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой

У пациентов с ПМВКЛ при сопоставлении клинико-лабораторных данных в дебюте заболевания и результатов исследования aberrаций МСП 9p24.1 только случаи с образованием средостения ≥ 12 см (MegaBulky) коррелировали с LOH 9p24.1 (GT и/или CA) ($P = 0,033$; ОШ 0,394 [0,161–0,963]). Результаты по всем проанализированным параметрам представлены в Таблице 3.8.

Таблица 3.8 — Сопоставление клинических данных и LOH 9p24.1

Параметр	АД 9p24.1 (LOH и/или EMAST)		LOH 9p24.1		EMAST 9p24.1	
	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>
Пол	0,344 [0,112–1,053]	0,074	0,677 [0,247–1,859]	0,308	0,197 [0,030–1,270]	0,097
Экстрамедиастинальное поражение	1,765 [0,632–4,929]	0,322	2,143 [0,768–5,978]	0,110	1,967 [0,306–12,629]	0,393
Повышенный уровень ЛДГ	2,203 [0,348–13,938]	0,343	1,886 [0,298–11,914]	0,409	1,068 [1,008–1,131]	0,730
Прорастание плевры и/или перикарда	0,692 [0,244–1,965]	0,335	0,756 [0,272–2,096]	0,391	0,443 [0,069–2,857]	0,341
Образование средостения ≥ 6 см (Bulky)	0,691 [0,060–7,935]	0,625	0,595 [0,052–6,821]	0,572	0,104 [0,008–1,402]	0,170
Образование средостения ≥ 12 см (MegaBulky)	0,372 [0,151–0,914]	0,025	0,394 [0,161–0,963]	0,033	0,979 [0,155–6,195]	0,678
Прорастание в мягкие ткани и / или молочную железу	0,622 [0,239–1,615]	0,231	0,765 [0,296–1,976]	0,377	0,917 [0,849–0,989]	0,177
Примечание. ЛДГ — лактатдегидрогеназа.						

3.2.3. Анализ aberrаций микросателлитных повторов 16p13.13

В исследование включен 81 больной ПМВКЛ и 40 ДВКЛ, имеющих гетерозиготное наследование хотя бы по одному маркеру пары.

АД локуса 16p13.13 выявлен у 33,3 % (27/81) и 12,5 % (5/40) больных ПМВКЛ и ДВКЛ соответственно ($P = 0,011$; ОШ 3,500 [1,231–9,949]). Результаты исследования частоты встречаемости АД МСП локуса 16p13.13 у больных ПМВКЛ и ДВКЛ представлены в Таблице 3.9.

Таблица 3.9 — Частота встречаемости АД микросателлитных повторов локуса 16p13.13, n = 121

Маркер	ПМВКЛ, n = 81	ДВКЛ, n = 40	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]
АД 16p13.13 (ЛОН и/или ЕМАСТ), n (%)	27 (33,3)	5 (12,5)	0,011	3,500 [1,231– 9,949]
ЛОН 16p13.13 (СА и/или GT), n (%)	23 (28,4)	5 (12,5)	0,039	2,776 [0,967– 7,966]
• ЛОН 16p13.13 (СА)	19 (23,5)	4 (10)	0,003	2,758 [0,870– 8,744]
• ЛОН 16p13.13 (GT)	18 (22,2)	1(2,5)		11,143 [1,430– 86,807]
ЕМАСТ 16p13.13 (СА и/или GT), n (%)	5 (6,2)	0	0,129	—*
• ЕМАСТ 16p13.13 (СА), n (%)	5 (6,2)			
• ЕМАСТ 16p13.13 (GT), n (%)	0			
Примечание. * «-» — статистический анализ невозможен, так как ЕМАСТ 16p13.13 константа в выборке больных ДВКЛ. АД – аллельный дисбаланс; ЛОН — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности; ЕМАСТ – elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, абберации микросателлитных тетрануклеотидных повторов.				

АД по обоим маркерам локуса 16p13.13 был обнаружен у 17,3 % (14/81) больных ПМВКЛ, в группе ДВКЛ не было изменений обоих маркеров локуса 16p13.13 ($P = 0,002$) (Рисунок 3.3).

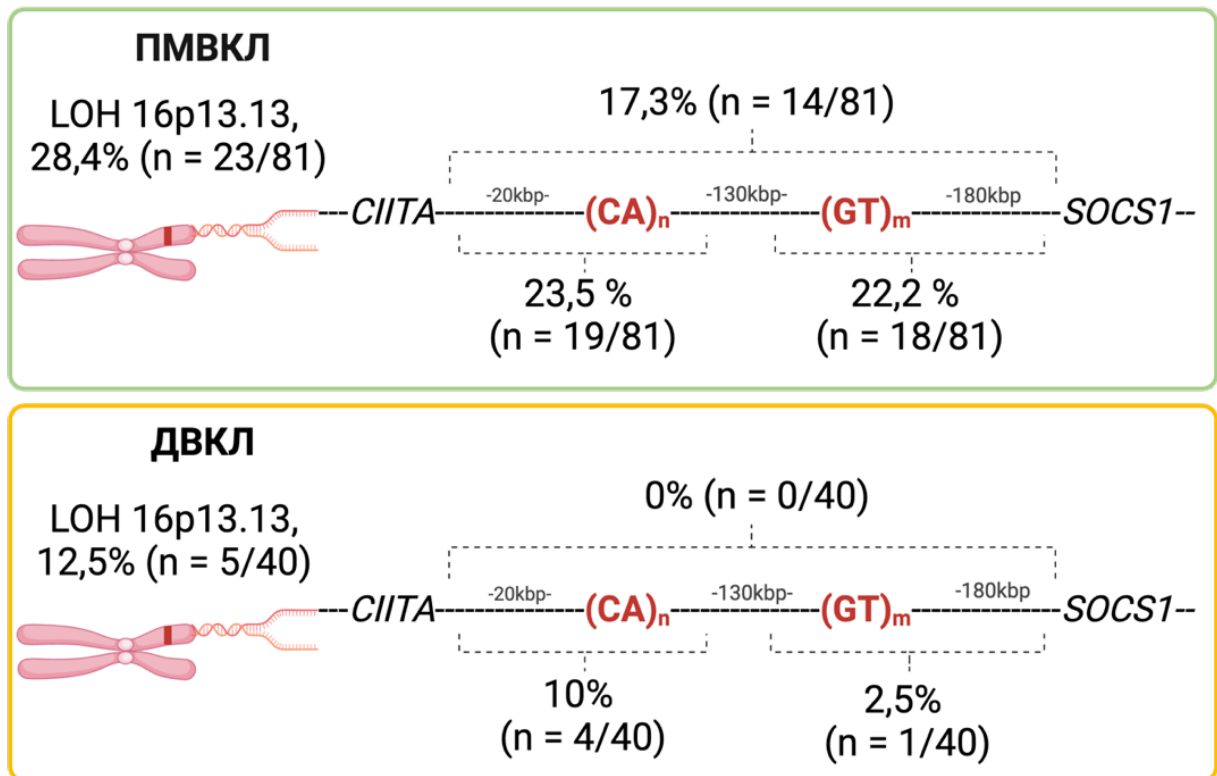


Рисунок 3.3 — Локализация и частота АД 16p13.13 при ПМВКЛ и ДВКЛ, n = 121
 Примечание: В данном исследовании не встретили комбинации в одном локусе нормального гетерозиготного микросателлитного повтора (МСП) и второго с аллельным дисбалансом (АД). АД наблюдался или сразу в двух исследуемых МСП локусах, или в одном при втором гомозиготном. Примечание. LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

В литературе нет исследований АД коротких tandemных повторов, ближайших к генам *PD-L1/PD-L2* и *CIITA*. В настоящей работе впервые разработана диагностическая панель для исследования АД МСП, ближайших к генам *PD-L1/PD-L2* (локус 9p24.1) и *CIITA* (локус 16p13.13). Также впервые для ПМВКЛ исследованы aberrации МСП в локусе 6p21.3. Показано более частое вовлечение исследуемых маркеров для больных ПМВКЛ в сравнении с ДВКЛ. Выявление АД вблизи генов *PD-L1/PD-L2*, *CIITA* и *HLA* при ДВКЛ не противоречит литературным данным: было установлено, что 10 % ДВКЛ по молекулярно-генетическим и клиническим особенностям напоминает ПМВКЛ [187,188]. Вовлечение короткого плеча 9-й хромосомы в патологический процесс

встречается в 70 % случаев ПМВКЛ, перестройка *СИТА* определяется у 40–70 % больных [40,52].

В настоящем исследовании выявлено, что АД по обоим маркерам локусов 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13 был обнаружен у 17/38 (44,7 %), 19/84 (22,6 %) и 14/81 (17,3 %) больных ПМВКЛ соответственно (Рисунки 3.5, 3.7 и 3.9). Аберрации обоих МСП, фланкирующих гены *HLA*, *PD-L1/PD-L2* и *СИТА*, свидетельствуют о более масштабных генетических нарушениях и отражают хромосомные события, затронувшие эти гены.

3.2.3.1. Сопоставление клинических данных и аберраций микросателлитных повторов локуса 16p13.13 у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой

У пациентов с ПМВКЛ при сопоставлении клинико-лабораторных данных в дебюте заболевания и результатов исследования аберраций МСП 16p13.13 не было выявлено статистически значимых корреляций. Результаты по всем проанализированным параметрам представлены в Таблице 3.10.

Таблица 3.10 — Сопоставление клинических данных и ЛОН 16p13.13

Параметр	АД 16p13.13 (ЛОН и/или EMAST)		ЛОН 16p13.13		EMAST 16p13.13	
	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>
Пол	0,831 [0,298– 2,319]	0,459	1,405 [0,446– 4,423]	0,389	0,917 [0,849– 0,989]	0,179
Экстремедиастинальное поражение	1,368 [0,462– 4,053]	0,382	1,830 [0,606– 5,525]	0,214	0,921 [0,856– 0,990]	0,274
Повышенный уровень ЛДГ	1,529 [1,301– 1,797]	0,291	1,426 [1,233– 1,650]	0,356	1,068 [1,008– 1,132]	0,824
Прорастание плевры и/или перикарда	0,816 [0,279– 2,388]	0,457	1,064 [0,331– 3,421]	0,585	0,432 [0,067– 2,801]	0,334

Продолжение таблицы 3.10

Параметр	АД 16p13.13 (LOH и/или EMAST)		LOH 16p13.13		EMAST 16p13.13	
	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>	ОШ [95 % ДИ]	<i>P</i>
Образование средостения ≥ 6 см (Bulky)	0,491 [0,029– 8,158]	0,558	0,393 [0,024– 6,560]	0,495	1,068 [1,008– 1,131]	0,880
Образование средостения ≥ 12 см (MegaBulky)	1,252 [0,495– 3,165]	0,405	0,985 [0,371– 2,614]	0,588	5,500 [0,587– 51,566]	0,118
Прорастание в мягкие ткани и/или молочную железу	0,831 [0,294– 2,352]	0,470	1,121 [0,389– 3,234]	0,518	0,914 [0,844– 0,989]	0,179
Примечание. ЛДГ — лактатдегидрогеназа.						

3.2.4. Сопоставление aberrаций микросателлитных повторов по локусам панели COrDIS Plus и оригинальной тест-системы

Около половины случаев ПМВКЛ и ДВКЛ имели aberrации МСП по одному или нескольким локусам, включенным в стандартную панель COrDIS Plus, только EMAST в локусах 21q21.1 и 6q14 чаще встречался при ПМВКЛ ($P = 0,035$; ОШ 0,608 [0,529–0,698] и $P = 0,004$; ОШ 6,485 [1,438–29,250] соответственно).

АД МСП локусов 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13 чаще встречался у больных ПМВКЛ в сравнении с ДВКЛ ($P = 0,017$; ОШ 3,846 [1,245–11,882], $P = 0,001$; ОШ 3,945 [1,750–8,897] и $P = 0,011$; ОШ 3,500 [1,231–9,949] соответственно). На Рисунке 3.4 показано сопоставление результатов анализа aberrаций МСП по локусам стандартной и оригинальной панелей.

Выполненное сравнение продемонстрировало, что панель COrDIS Plus выявляет aberrации МСП у половины больных как ПМВКЛ, так и ДВКЛ. Напротив, по оригинальной панели, сфокусированной на иммунорегуляторных регионах (6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13), частота aberrаций была статистически выше при ПМВКЛ, тогда как для ДВКЛ информативность стандартной и оригинальной

панелей существенно не различалась. Эти результаты согласуются с различиями в патогенезе нозологий. Для ПМВКЛ ключевыми драйверами служат копияно-числовые и структурные перестройки (9p24.1, 6p21.3, 16p13.13). Микросателлитные маркеры, встроенные в эти регионы, выступают «репортёрами» локальной хромосомной нестабильности (делеции/амплификации, cnLOH) и потому демонстрируют большую чувствительность именно у ПМВКЛ. Универсальные панели, отобранные преимущественно для dMMR-ассоциированных опухолей, слабо отражают патогенез ПМВКЛ. Для ДВКЛ геномная нестабильность более гетерогенна и не характерна для иммунорегуляторных областей. Отдельные различия по EMAST, вероятно, отражают фоновую нестабильность и не несут нозологически специфичной информации.

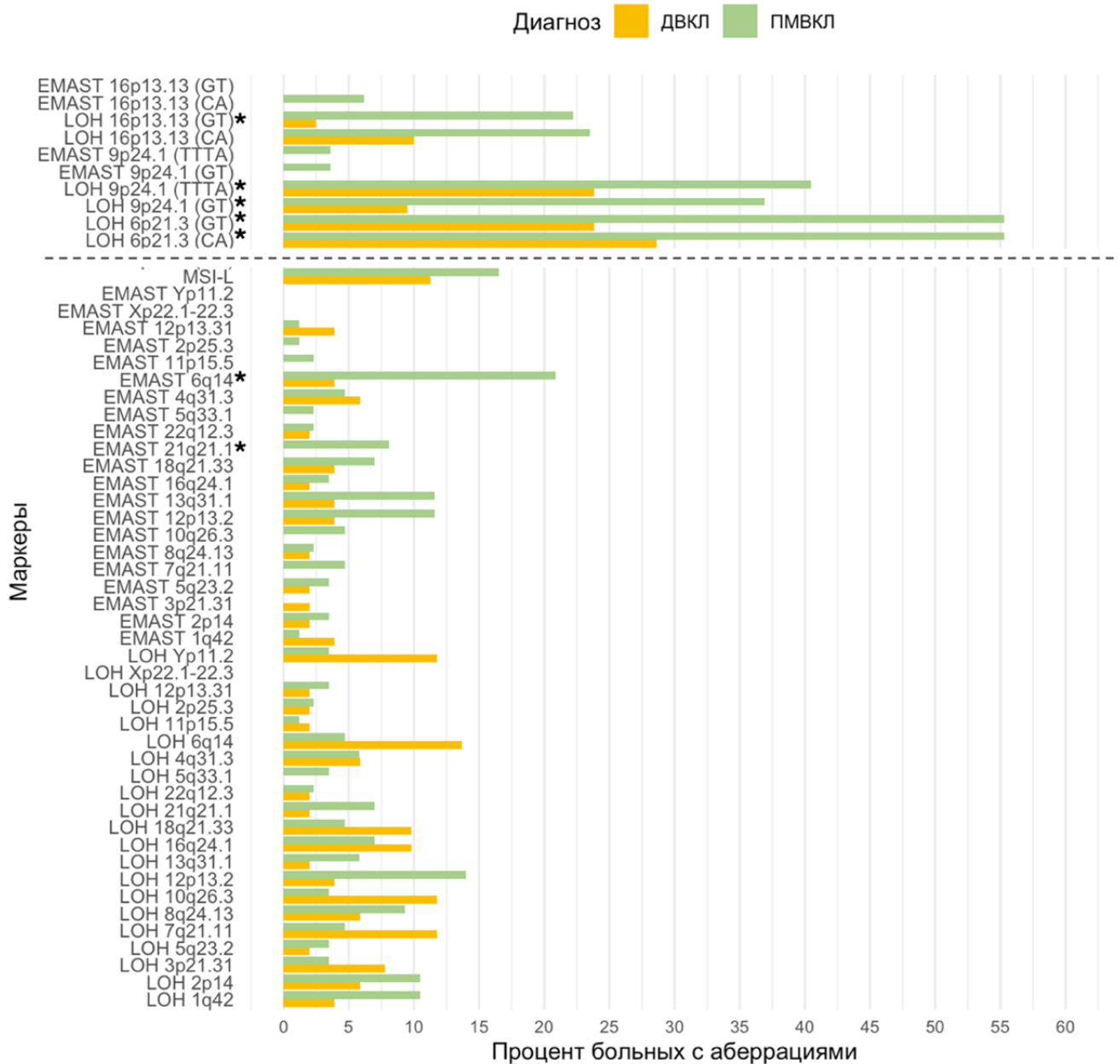


Рисунок 3.4 — Сравнительный анализ частоты встречаемости АД при ПМВКЛ и ДВКЛ по локусам стандартных и оригинальной панелей

Примечание: Верхняя часть графика (до пунктирной линии) — результаты, полученные с использованием оригинальной панели праймеров. Нижняя часть (ниже пунктирной линии) — результаты, полученные с использованием панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus. LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности; EMAST — elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, абберации микросателлитных тетра nukлеотидных повторов. * отмечены маркеры с наибольшими различиями в частоте аббераций между ДВКЛ и ПМВКЛ.

Таким образом, на основании изменения МСП региона интересующего гена можно судить о его вовлечении в патологический процесс. Для подтверждения необходимо провести верификацию хромосомных нарушений цитогенетическими методами или ХМА. На примере колоректального рака, рака поджелудочной железы было показано, что хромосомная нестабильность имеет отражение в MSI [189–191]. Ассоциация aberrаций МСП с изменением экспрессии ближайших генов продемонстрирована в нескольких исследованиях [192,193]. В 2024 г. с помощью секвенирования всего генома и РНК-секвенирования была создана панель, позволяющая прогнозировать изменения экспрессии генов в ответ на соматические мутации в МСП у больных колоректальным раком [193].

3.3. Результаты хромосомного микроматричного анализа у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой

Геномные aberrации, включая множественные дупликации, делеции и *cnLON* были выявлены во всех исследованных образцах ($n = 15$) ПМВКЛ. Медиана aberrаций на пациента 15 (диапазон: 6–25). Наиболее часто изменения наблюдались в хромосомах 6 и 9 — у 13 из 15 пациентов (86,7 %). Наиболее распространенным типом нарушений были случаи увеличения числа копий ДНК - всего зарегистрировано 96 события, из которых 45,8 % (44/96) амплификаций. Наиболее часто амплификации наблюдались на хромосоме 9 (15 событий у 73,3 % (11/15) больных). Всего было выявлено 68 делеций и 47 случаев *cnLON*. Наиболее часто эти aberrации затрагивали хромосому 6: делеции были выявлены у 73,3 % (11/15), а *cnLON* у 60 % (9/15) больных. Биаллельная делеция обнаружена в локусе 17q24.1 у одного больного 6,7 % (1/15). Распределение различных типов хромосомных аномалий представлено в Таблице 3.11. Локализация и протяжённость выявленных нарушений визуализированы на Рисунке 3.5.

Таблица 3.11 — Частота хромосомных нарушений у больных ПМВКЛ, n = 15

Хромосома	Количество больных с аномалией, n = 15				
	Делеция, n (%)	cnLOH, n (%)	Дупликация, n (%)	Амплификация, n (%)	Любая, n (%)
1	0	5 (33,3)	2 (13,3)	1 (6,7)	6 (40)
2	2 (13,3)	1 (6,7)	4 (26,7)	2 (13,3)	4 (26,7)
3	3 (20)	3 (20)	1 (6,7)	1 (6,7)	6 (40)
4	6 (40)	0	0	0	6 (40)
5	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (13,3)	1 (6,7)	5 (33,3)
6	8 (53,3)	9 (60)	1 (6,7)	3 (20)	13 (86,7)
7	6 (40)	1 (6,7)	2 (13,3)	1 (6,7)	8 (53,3)
8	2 (13,3)	2 (13,3)	6 (40)	0	8 (53,3)
9	1 (6,7)	1 (6,7)	8 (53,3)	11 (73,3)	13 (86,7)
10	1 (6,7)	0	1 (6,7)	1 (6,7)	3 (20)
11	2 (13,3)	0	4 (26,7)	0	6 (40)
12	1 (6,7)	1 (6,7)	6 (40)	3 (20)	10 (66,7)
13	1 (6,7)	1 (6,7)	0	0	2 (13,3)
14	3 (20)	2 (13,3)	0	0	5 (33,3)
15	1 (6,7)	6 (40)	0	0	7 (46,7)
16	5 (33,3)	4 (26,7)	1 (6,7)	2 (13,3)	8 (53,3)
17	2 (13,3)	4 (26,7)	0	1 (6,7)	6 (40)
18	0	0	4 (26,7)	1 (6,7)	5 (33,3)
19	1 (6,7)	3 (20)	1 (6,7)	1 (6,7)	5 (33,3)
20	4 (26,7)	0	1 (6,7)	0	5 (33,3)
21	0	0	0	1 (6,7)	1 (6,7)
22	2 (13,3)	0	0	0	2 (13,3)
X	3 (20)	0	4 (26,7)	7 (46,7)	12 (80)
Y	1 (6,7)	0	0	0	1 (6,7)

Примечание. cnLOH — copy number neutral loss of heterozygosity, копия-нейтральная потеря гетерозиготности.

В настоящем исследовании при помощи ХМА было выявлено, что геномные aberrации, включая дупликации, амплификации, делеции и cnLOH, присутствовали во всех образцах (n = 15), что подтверждает наличие широкой геномной нестабильности при ПМВКЛ. Медианное число aberrаций на пациента составило 15 (диапазон: 6–25), что соответствует ранее опубликованным данным, согласно которым ПМВКЛ характеризуется высоким уровнем хромосомных нарушений, в том числе частыми LOH и CNV-перестройками (Copy number variation, вариация числа копий) [194,195].

Наиболее часто изменёнными оказывались хромосомы 6 и 9, которые были вовлечены в патологический процесс у 86,7 % пациентов. Особенно значимым оказалось преобладание амплификаций на хромосоме 9, зафиксированных у 73,3 % (11/15) больных. Данный факт может отражать активацию онкогенов, локализованных в этой области, таких как *JAK2*, *CD274/PD-L1* и *PDCD1LG2 (PD-L2)*. Эти данные согласуются с литературными данными, которые показали, что амплификация 9p24.1 является ключевым событием при ПМБКЛ, ведёт к повышенной экспрессии PD-L1/PD-L2 и дополнительно усиливается через JAK2-зависимый сигнальный путь, способствуя иммунному уклонению опухоли [10,194,195].

В свою очередь, на хромосоме 6 продемонстрирована большая частота делеций и *cnLOH*: делеции выявлены у 53,3 %, а *cnLOH* — у 60 % пациентов, что может свидетельствовать о потере или инактивации опухолевых супрессоров. Например, делеции в локусах 6q21, включающем ген *PRDM1 (BLIMP1)*, могут приводить к активации NF-κB [196]. Кроме того, утрата генов *HLA* на 6p — ключевой механизм иммунного уклонения, что подтверждается публикациями о делециях *HLA-I* и *cnLOH* в этой области при лимфомах [197].

Визуализация нарушений по геномной протяжённости (Рисунок 3.5) показала широкое распределение aberrаций по всем хромосомам, однако с концентрацией на 9, 12 и X, где были частыми случаи трисомии и тетрасомии [194,195].

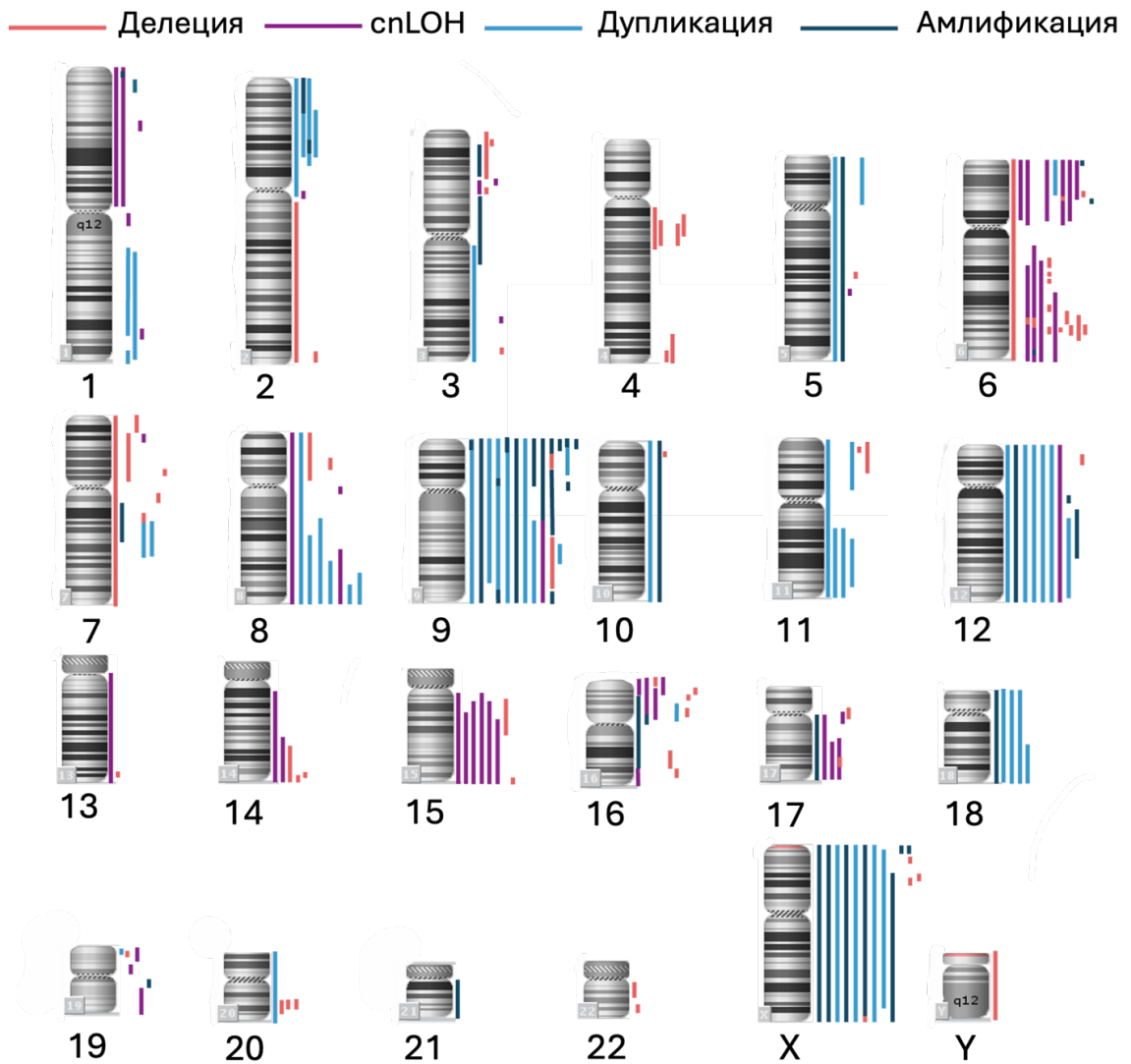


Рисунок 3.5 — Локализация хромосомных нарушений при ПМВКЛ, $n = 15$

Примечание. cnLOH — copy number neutral loss of heterozygosity, копия-нейтральная потеря гетерозиготности.

В более чем 40 % случаев наблюдений хромосомные аномалии затрагивали хромосомы 6, 9, X, 16 и 15 в сочетании с другими (Рисунок 3.6).

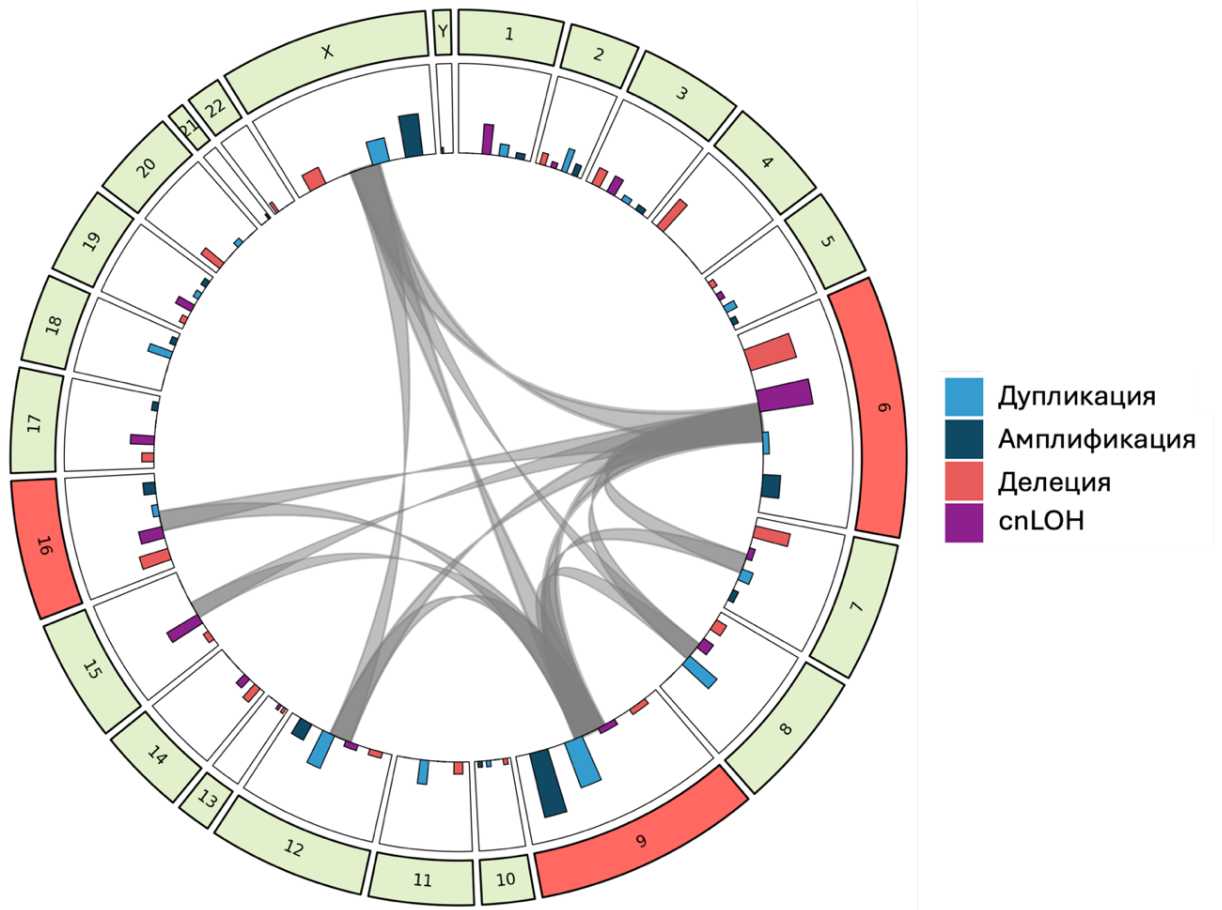


Рисунок 3.6 — Диаграмма распределения хромосомных aberrаций у пациентов с ПМВКЛ, $n = 15$

Примечание: Внешний круг отражает относительную частоту aberrаций по каждой хромосоме (размер сегмента пропорционален количеству изменений). Второй кольцевой слой содержит гистограммы, отображающие частоту каждого типа aberrаций. Внутренние серые дуги обозначают наиболее распространенные комбинации одновременных изменений в разных хромосомах, выявленные более чем у 40 % пациентов (≥ 6 из 15). cnLOH — copy number neutral loss of heterozygosity, копий-нейтральная потеря гетерозиготности.

Анализ взаимодействий между хромосомами (Рисунок 3.6) выявил, что более чем в 40 % случаев аномалии затрагивали сразу несколько хромосом, преимущественно 6, 9, X, 15 и 16, что указывает на возможную синергию между нарушениями в этих хромосомах.

Таким образом, совокупность выявленных aberrаций свидетельствует о мультифокальном характере геномных нарушений при ПМВКЛ и подчёркивает

важность хромосом 6 и 9 как потенциальных мишеней для дальнейших исследований.

3.3.1. Сопоставление результатов хромосомного микроматричного анализа и исследования микросателлитных повторов

Во всех случаях, когда оригинальной тест-системой был выявлен АД, обнаружены хромосомные aberrации, выявленные методом ХМА. При сохранении нормального гетерозиготного состояния МСП, структурных нарушений в соответствующих локусах по результатам ХМА не выявлялось. В 11,1 % (5/45) анализов наблюдалось гомозиготное наследование по обоим маркерам пары МСП, что делало исследование неинформативным и не позволяло детектировать АД методом ПЦР при наличии подтверждённых хромосомных нарушений. Сопоставление результатов ХМА и анализа МСП представлено в Таблице 3.12 и на Рисунке 3.7.

Таблица 3.12 — Сопоставление результатов хромосомного микроматричного анализа и исследования микросателлитных повторов, n = 15

№	ХМА	МСП (маркер 1/ маркер 2)
1	6p21.33p21.32 (31678621–32712919) x2 hmz cnLOH 1034 Кб	LOH 53 % / Гомозигота
	9p24.3p23(204082–10261785) x3 Дупликация 10058 Кб	Гомозигота / LOH 31 %
	16p13.13 (10821570–10915410) x1 Делеция 93,8 Кб	Гомозигота / LOH 50 %
2	6p25.3p12.2(168801–52160895) x2 hmz cnLOH 51 992,1 Кб	Гомозигота / Гомозигота
	9p24.3q33.3(204082–123650074) x3 Дупликация 123 445,99 Кб	Гомозигота / Гомозигота
	16p13.13(10509685–10539273) x1 Делеция 89,6 Кб	LOH 79 % / LOH 31 %
	16p13.13(10539832–10563748) x3 Дупликация 23.9 Кб	
	16p13.13(11436923–11456763) x0 Биаллельная делеция 19,8 Кб	
16p13.13(11538684–11556469) x1 Делеция 17,8 Кб		

Продолжение таблицы 3.12

№	ХМА	МСП (маркер 1/ маркер 2)
3	6p25.3p12.3(168801–50098834) x2 hmz cnLOH 49930 Кб	LOH 99 % / LOH 99 %
	(9)x3 Трисомия 9	LOH 29 % / Гомозигота
	16p13.13 (10731015–11433322) x3 Дупликация 702,3 Кб	Гомозигота / Гомозигота
4	6p21.3 – Норма	Гетерозигота / Гомозигота
	9p24.3p13.2 (204082–36911650) x3 Дупликация 36707,6 Кб	LOH 90 % / LOH 99 %
	16p13.3p13.13 (181763–10895517) x1 Делеция 10713,8 Кб	LOH 86 % / Гомозигота
5	6p21.32p21.31 (33430843–35715771) x2 hmz cnLOH 2286,9 Кб	LOH 59 % / LOH 68 %
	9p24.1(4989328–5956318) x4 Амплификация 966,9 Кб	Гомозигота / LOH 100 %
	16p13.13p13.13(10845746–11549775) x1 Делеция 704 Кб	LOH 50 % / LOH 50 %
6	6p22.1p21.33(29765965–30876483) x2 hmz cnLOH 1110,5 Кб	LOH 50 % / LOH 30 %
	(9)x3 Трисомия 9	Гомозигота / LOH 93 %
	16p13.13 – Норма	Гетерозигота / Гетерозигота
7	6p21.3 – Норма	Гетерозигота / Гомозигота
	9p24.3p23(204082–10710940) x4 Амплификация 10506,9 Кб	LOH 72 % / LOH 30 %
	16p13.13 – Норма	Гомозигота / Гетерозигота
8	6p21.3 – Норма	Гетерозигота / Гетерозигота
	9p24.3p24.1 (479157–7357880) x3 Дупликация 6878,7 Кб	Гомозигота / LOH 41 %
	16p13.13 – Норма	Гомозигота / Гетерозигота
9	6p22.1p21.32(30168200–33182355) x1 Делеция 3014,2 Кб	Гомозигота / LOH 50 %
	(9)x4 Тетрасомия 9	LOH 90 % / LOH 90 %
	16p13.13 – Норма	Гетерозигота / Гомозигота

Продолжение таблицы 3.12

№	ХМА	МСП (маркер 1/ маркер 2)
10	6p25.3p12.1(168801–53497923) x2 hmz cnLOH 53329,1 Кб	LOH 35 % / LOH 56 %
	9p24.1p21.2(5486856–25845173) x3 Дупликация 20358,3 Кб	LOH 33 % / Гомозигота
	16p13.3p13.12(642022–14636013) x2 hmz cnLOH 13993,9 Кб	LOH 71 % / LOH 55 %
11	6p25.3p12.3(168801–50703626) x2 hmz cnLOH 50534,8 Кб	Гомозигота / Гомозигота
	(9)x4 Тетрасомия 9	LOH 86 % / LOH 72 %
	16p13.3p11.2(34450–29954175) x2 hmz cnLOH 29919,7 Кб	Гомозигота / LOH 56 %
12	6p21.31(35346199–35615636) x3 Дупликация 269,4 Кб	Гомозигота / Гомозигота
	9p24.1 – Норма	Гетерозигота / Гетерозигота
	16p13.13 – Норма	Гетерозигота / Гетерозигота
13	6p25.3p21.31(168801–34451193) x2 hmz cnLOH 34282,4 Кб	LOH 65 % / Гомозигота
	9p24.3q21.11(204082–68408050) x4 Амплификация 68203,9 Кб	LOH 78 % / LOH 29 %
	16p13.3p13.11(34450–14820784) x2 hmz cnLOH 14786,3 Кб	LOH 55 % / LOH 87 %
14	(6)x1 Моносомия 6	LOH 82 % / Гомозигота
	9p24.3 p24.1(203862–7637833) x4 Амплификация 7433,9 Кб	LOH 34 % / LOH 76 %
	16p13.13 – Норма	Гетерозигота / Гетерозигота
15	6p21.33p21.32(31229644–33035185) x1 Делеция 1805,5 Кб	LOH 38 % / Гомозигота
	9p24.1 – Норма	Гетерозигота / Гетерозигота
	16p13.13 – Норма	Гетерозигота / Гомозигота

Примечание. cnLOH — copy number neutral loss of heterozygosity, копия-нейтральная потеря гетерозиготности.

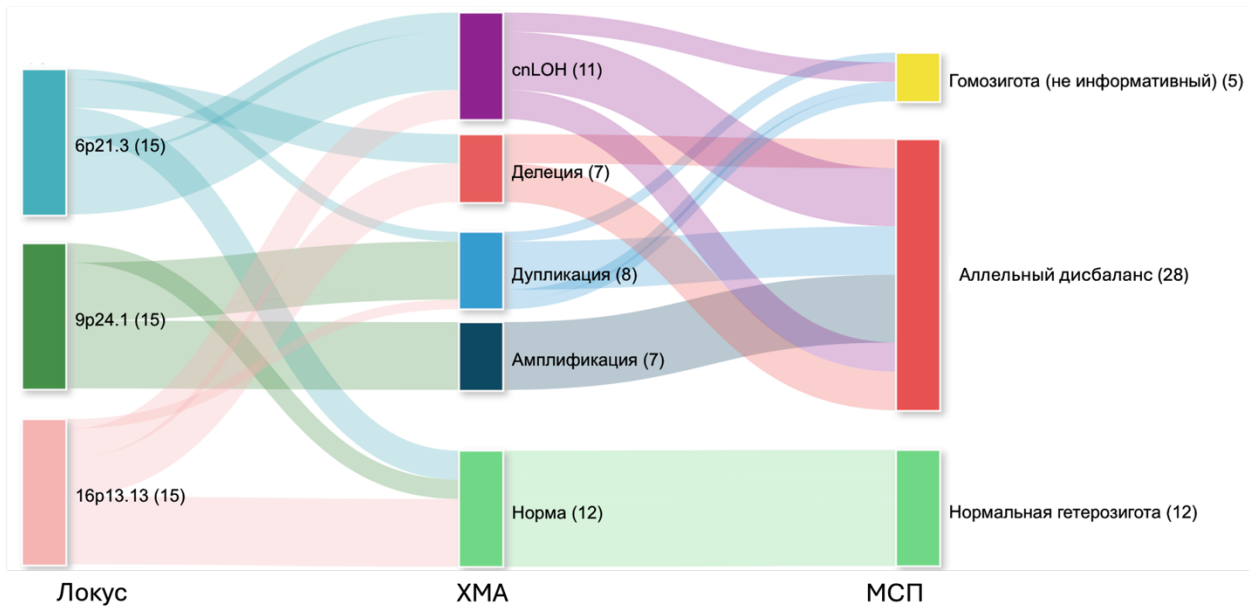


Рисунок 3.7 — Сопоставление результатов хромосомного микроматричного анализа и исследования микросателлитных повторов, $n = 15$

Примечание. cnLOH — copy number neutral loss of heterozygosity, копия-нейтральная потеря гетерозиготности; ХМА — хромосомный микроматричный анализ; МСП — микросателлитные повторы.

Таким образом, по данным ХМА продемонстрировано, что амплификация, делеция и cnLOH проявляются aberrациями МСП. Это подтверждает, что aberrации МСП в локусах 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13 могут отражать геномную нестабильность. Тем не менее, исследование МСП не позволяет однозначно определить природу хромосомного события (например, дупликация, делеция, cnLOH), ведущее к АД.

3.4. Характеристика экспрессии PD-L1, HLA-DR, PD-1 и CTLA-4 у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой

В рамках настоящего исследования показано, что опухолевые клетки экспрессировали белок PD-L1 в 41,3 % (19/46) случаев (мембранная реакция), и во всех этих образцах экспрессия была интенсивной — более 90 % опухолевых клеток (Рисунки 3.8 и 3.12). Данный уровень экспрессии совпадает с опубликованными

данными: в ПМВКЛ частота PD-L1-позитивных случаев составляет примерно 40–70 %, при этом интенсивная экспрессия PD-L1 (> 50 % клеток) описана у 50 % пациентов, особенно при наличии амплификаций или реаранжировок 9p24.1 [31,198,199].

Экспрессия HLA-DR была выявлена у 76,1 % (35/46) больных (от 20 % до 100 % позитивных крупных опухолевых клеток), у 71,4 % из них (25/35) более 50 % клеток экспрессировали HLA-DR (мембранная реакция) (Рисунки 3.9 и 3.12). Экспрессия HLA-DR отсутствовала у 23,9 % (11/46). В литературе отмечено, что при ПМВКЛ частота нарушений экспрессии HLA-DR варьирует, и у значительной части пациентов отмечается её утрата или сниженная MHC-II презентация, особенно при нарушениях в локусе *CITA* (часто под LOH или делециями) [38].

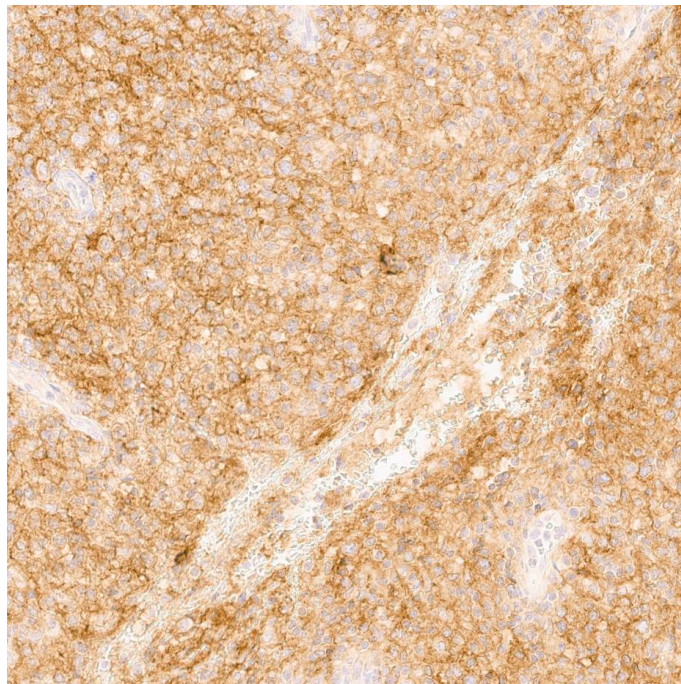


Рисунок 3.8 — Биоптат опухоли средостения. Реакция с применением антител к PD-L1. Иммуноферментный метод. Увеличение $\times 200$. Интенсивная мембранная экспрессия PD-L1 практически во всех крупных опухолевых клетках.

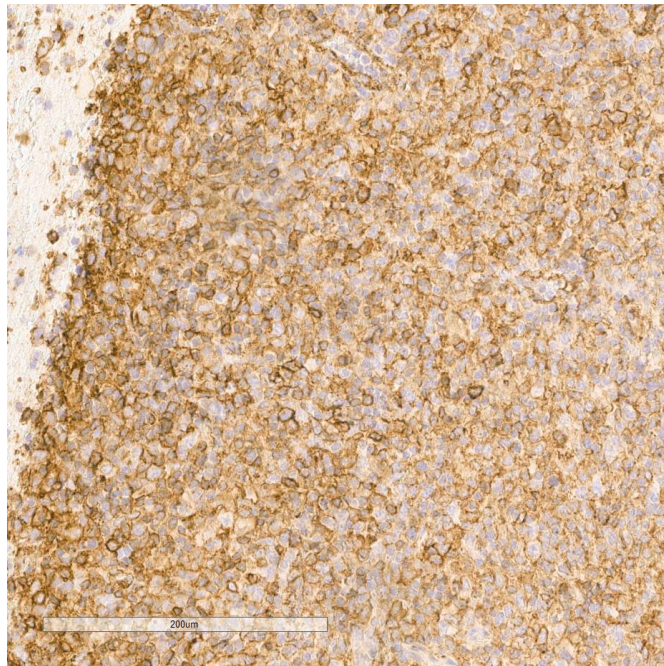


Рисунок 3.9 — Биоптат опухоли средостения. Реакция с применением антител к HLA-DR. Иммуноферментный метод. Увеличение $\times 200$. Интенсивная мембранная экспрессия HLA-DR в более 50 % крупных опухолевых клетках

В нашем исследовании экспрессия PD-1 на опухоль-инфильтрирующих Т-клетках была выявлена в 84,8 % (39/46) случаев ПМВКЛ (диапазон позитивных клеток от 5 % до 70 %), при этом в большинстве случаев (76,9 % (30/39)) доля PD-1⁺ Т-клеток не превышала 30 % (Рисунки 3.10 и 3.12). Это согласуется с характерным для ПМВКЛ иммунным профилем и активным микроокружением, формирующим основу для эффективности анти-PD-1 антител [73].

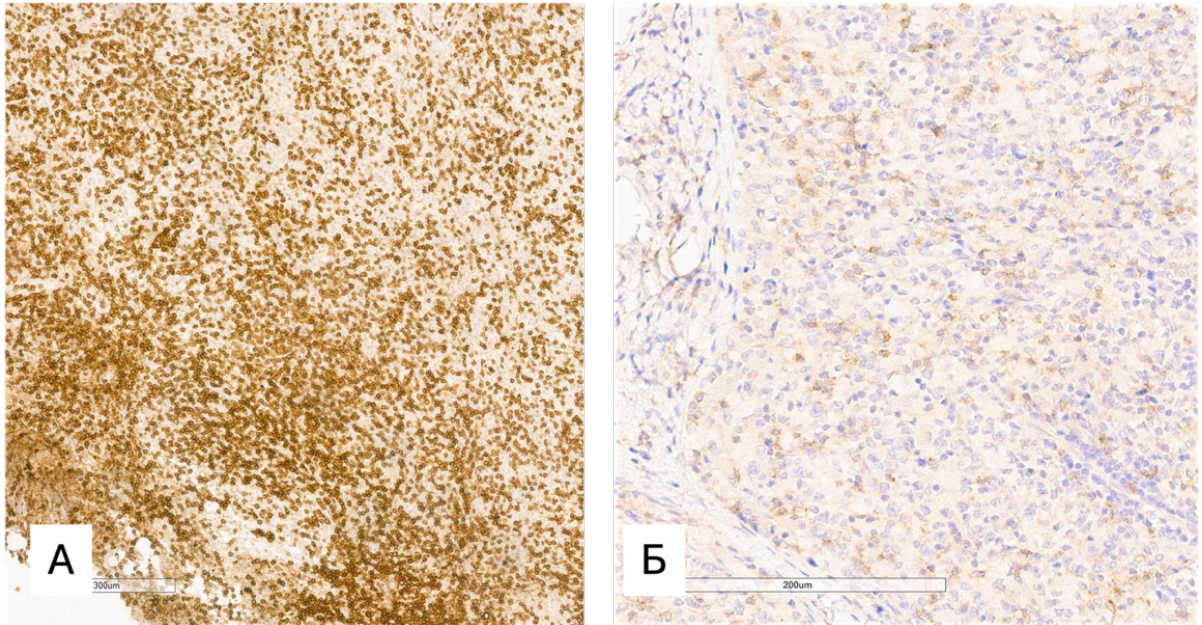


Рисунок 3.10 — Биоптат опухоли средостения. Выраженная инфильтрация опухолевой ткани мелкими Т-клетками. Реакция с применением антител к PD-1. Иммуноферментный метод. Увеличение $\times 200$. А — реакция с применением антител к CD3. Б — мембранная экспрессия PD-1 в мелких Т-клетках ($< 30\%$ при сопоставлении с CD3).

Экспрессия CTLA-4 на Т-клетках была выявлена в $95,7\%$ ($44/46$) опухолевых биоптатов при ПМВКЛ (диапазон позитивных клеток от 5% до 70%), причём в $29,5\%$ ($13/44$) из них более 30% Т-клеток экспрессировали CTLA-4 (Рисунки 3.11 и 3.12). Высокая частота выявления указывает на активное вовлечение пути CTLA-4 в иммунную регуляцию в опухолевом микроокружении. CTLA-4 играет ключевую роль в подавлении начальной активации Т-клеток и часто экспрессируется на регуляторных Т-клетках, способствуя иммуносупрессии [200,201]. На данный момент в доступной литературе отсутствуют исследования, в которых была бы указана точная частота ИГХ CTLA-4-положительных образцов при ПМВКЛ. В исследовании Чжоу и соавт. (2020 г.) экспрессия транскриптов CTLA-4 была повышена у большинства пациентов с ПМВКЛ по сравнению с ДВКЛ, что подтверждает наличие выраженного иммунорегуляторного микроокружения; однако доля положительных образцов количественно не уточнялась [202].

рассматривается как потенциальный предиктор резистентности к иИКТ, этот феномен требует дальнейшего изучения [203,204].

3.4.1. Сопоставление клинических данных и экспрессии PD-L1, PD-1, HLA-DR и CTLA-4 у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой

У пациентов с ПМВКЛ при сопоставлении клинико-лабораторных данных в дебюте заболевания и экспрессии PD-L1, PD-1, HLA-DR и CTLA-4 корреляции не было отмечено. Результаты по всем проанализированным параметрам представлены в Таблице 3.13.

Таблица 3.13 — Сопоставление клинических данных и экспрессии PD-L1, PD-1, HLA-DR и CTLA-4

Параметр	<i>P</i> / ОШ [95 % ДИ]			
	Экспрессия PD-L1	Экспрессия PD-1	Экспрессия HLA-DR	Экспрессия CTLA-4
Пол	0,618 / 0,980 [0,258– 3,726]	0,598 / 1,160 [0,194– 6,951]	0,139 / 0,218 [0,025– 1,922]	0,458 / 3,00 [0,173– 52,101]
Экстремедиастинальное поражение	0,492 / 0,762 [0,188– 3,087]	0,541 / 0,750 [0,124– 4,542]	0,526 / 0,790 [0,169– 3,699]	0,575 / -*
Повышенный уровень ЛДГ	0,632 / 1,440 [0,121– 17,122]	0,602 / -*	0,569 / 1,650 [0,135 – 20,152]	0,872 / -*
Прорастание плевры и/или перикарда	0,390 / 0,636 [0,156– 2,604]	0,520 / 0,556 [0,059– 5,241]	0,447 / 1,500 [0,314– 7,168]	0,391 / -*
Образование средостения ≥ 6 см (Bulky)	0,064 / -*	0,602 / -*	0,569 / 1,650 [0,135– 20,152]	0,872 / -*

Продолжение таблицы 3.13

Параметр	<i>P</i> / ОШ [95 % ДИ]			
	Экспрессия PD-L1	Экспрессия PD-1	Экспрессия HLA-DR	Экспрессия CTLA-4
Образование средостения ≥ 12 см (MegaBulky)	0,074 / 0,343 [0,102–1,158]	0,551 / 0,789 [0,156–4,002]	0,434 / 1,425 [0,366–5,555]	0,267 / -*
Прорастание в мягкие ткани и/или молочную железу	0,430 / 0,714 [0,195–2,614]	0,300 / 3,000 [0,326–27,601]	0,269 / 2,348 [0,436–12,644]	0,479 / -*
Примечание. * «-» — статистический анализ невозможен, так как одна из анализируемых переменных константа. ЛДГ — лактатдегидрогеназа.				

3.4.2. Сопоставление экспрессии PD-L1, HLA-DR и аллельного дисбаланса локусов бр21.3, 9р24.1 и 16р13.13

При анализе ассоциаций между экспрессией HLA-DR и АД локусов бр21.3 (вблизи гена *HLA*) и 16р13.13 (вблизи гена *СИТА*) значимых связей не обнаружено ($P = 0,622$ и $P = 0,066$, соответственно). Следует учитывать, что регион бр21.3 включает множество генов, кодирующих субъединицы HLA-класса II (включая *HLA-DRA*, *HLA-DRB1*, *HLA-DQA1*, и др.), и структурные изменения в этом регионе, такие как LOH или CNV, действительно могут приводить к утрате экспрессии HLA-DR. Тем не менее, в настоящем исследовании размер выборки был ограничен ($n = 10$), что, вероятно, повлияло на статистическую мощность анализа и способность выявить существующую ассоциацию.

HLA-DR экспрессируется на опухолевых клетках ПМВКЛ не как результат локального нарушения бр21.3, а в контексте более комплексной регуляции антигенпрезентирующего фенотипа, включающего эпигенетические и транскрипционные механизмы, в том числе через активность *СИТА*. Однако следует учитывать, что *СИТА* действует как регулятор транскрипции *МНС-II* генов, включая *HLA-DR*, но сам по себе не кодирует структурные компоненты комплекса

[39,52]. Таким образом, наличие или отсутствие АД в локусе 16p13.13 не обязательно будет прямо отражаться на уровне экспрессии HLA-DR.

При сопоставлении экспрессии PD-L1 и АД в области генов *PD-L1/PD-L2* (локус 9p24.1) обнаружена значимая ассоциация ($P = 0,046$; ОШ 4,5 [1,067-19,902]). В доступной литературе не описаны исследования, напрямую сопоставляющие ИГХ определение PD-L1 с АД, выявленными с помощью STR-маркеров. Вместе с тем многочисленные молекулярно-генетические работы показали, что амплификация 9p24.1 ассоциируется с повышенной экспрессией PD-L1/PD-L2, как на транскрипционном, так и на белковом уровне [198,205].

Таким образом, несмотря на то что прямая связь между ИГХ PD-L1 и АД локуса 9p24.1 ранее не описывалась, полученные в настоящем исследовании результаты согласуются с механизмами, установленными при использовании других молекулярных методов.

Результаты по всем проанализированным параметрам представлены на Рисунке 3.13.

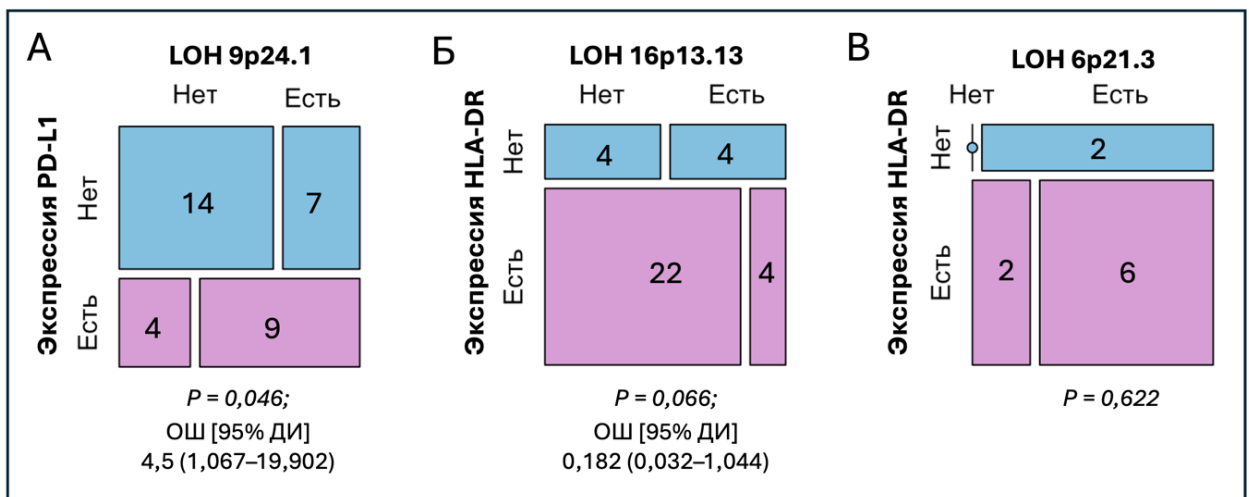


Рисунок 3.13 — Сопоставление экспрессии PD-L1, HLA-DR и аллельного дисбаланса локусов 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13: А — взаимосвязь между экспрессией PD-L1 и LOH 9p24.1; Б — взаимосвязь между экспрессией HLA-DR и LOH 16p13.13; В — взаимосвязь между экспрессией HLA-DR и LOH 6p21.3
 Примечание. LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

3.5. Результаты терапии больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой и ассоциация молекулярных и иммуногистохимических маркеров с прогнозом

3.5.1. Результаты терапии больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой

К декабрю 2024 г. при медиане наблюдения 50 мес. (5–211) на сроке 36 мес. показатели ОВ, БСВ, БРВ и БПВ составили 91 % (95 % ДИ: 85–97), 66 % (95 % ДИ: 58–75), 97 % (95 % ДИ: 94–100) и 84 % (95 % ДИ: 77–91) соответственно. Медианы этих показателей не достигнута (Рисунок 3.14). Всего за время наблюдения умерло 7,9 % (9/114) больных. Летальность, связанная с течением ПМВКЛ, зафиксирована у 7 % (8/114) пациентов на 1–2 году наблюдения. Летальный исход на сроке наблюдения 32 мес., был обусловлен развитием В-ОЛЛ MLL+ (1/114) (Рисунок 3.14А). Объективный ответ после индукционной терапии составил 84,2 % (96/114), из них ПО 69,3 % (79/114). Прогрессирование констатировано у 6,5 % (18/114) больных. У 2,6 % (3/114) пациентов констатирован ранний рецидив с изолированным поражением ЦНС. Пациентам вне ПО после индукции проводилась терапия второй линии и далее до ПО или смерти. Медиана времени до ремиссии 4 месяца (Рисунок 3.15).

Полученные результаты демонстрируют высокую эффективность проведенной терапии у пациентов с ПМВКЛ, соответствующую данным международных исследований, где ОВ колеблется в пределах 85–95 %, а БПВ — 75–85 % [60,64,206–208]. При этом показатели БСВ (66 %) и БРВ (97 %) указывают на то, что основной вклад в неблагоприятные исходы вносит именно первичная рефрактерность заболевания. Рецидивы были редкие (2,6 %), зарегистрированы в первый год заболевания, при этом все случаи были ассоциированы с поражением ЦНС. Крупные серии и мета-наблюдения показывают низкую абсолютную частоту ЦНС-рецидивов при ПМВКЛ (1,5–4 %), причём рутинная профилактика ЦНС, по данным современных когортных анализов не требуется [23,72,209].

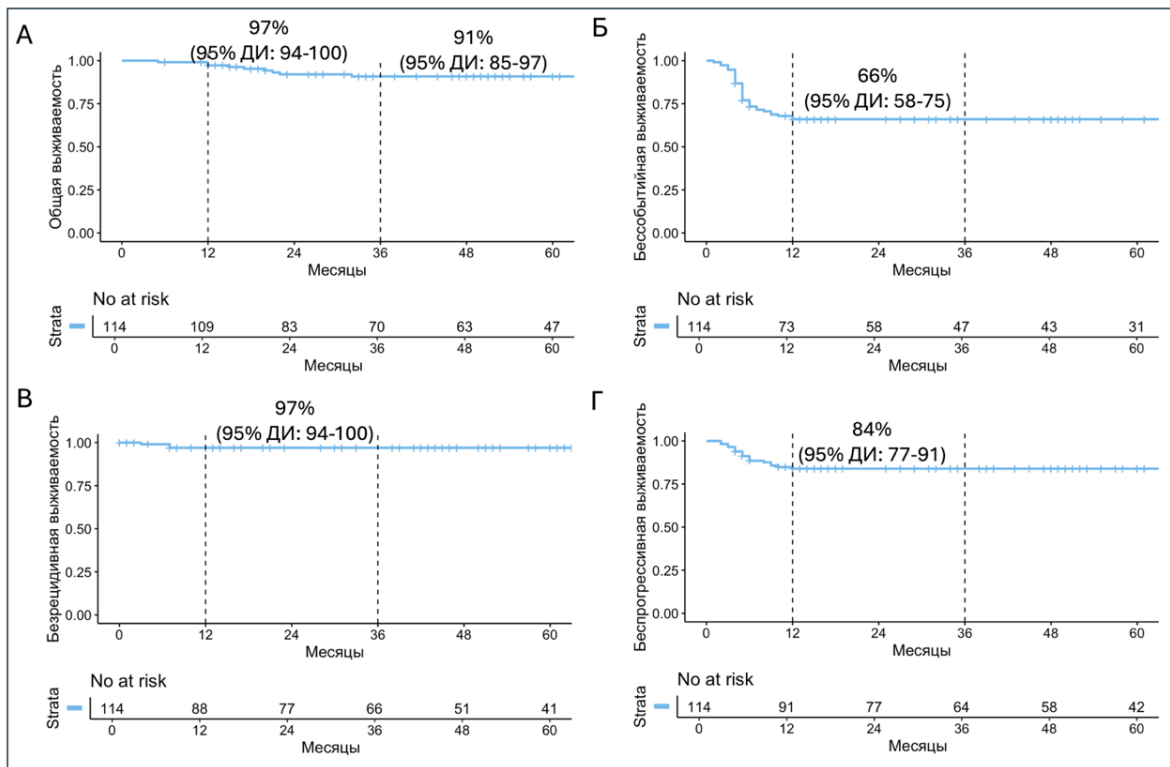


Рисунок 3.14 — Выживаемость в общей группе больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой, $n = 114$: А — общая выживаемость (ОБ); Б — бессобытийная выживаемость (БСВ); В — безрецидивная выживаемость (БРВ); Г — беспрогрессивная выживаемость (БПВ)

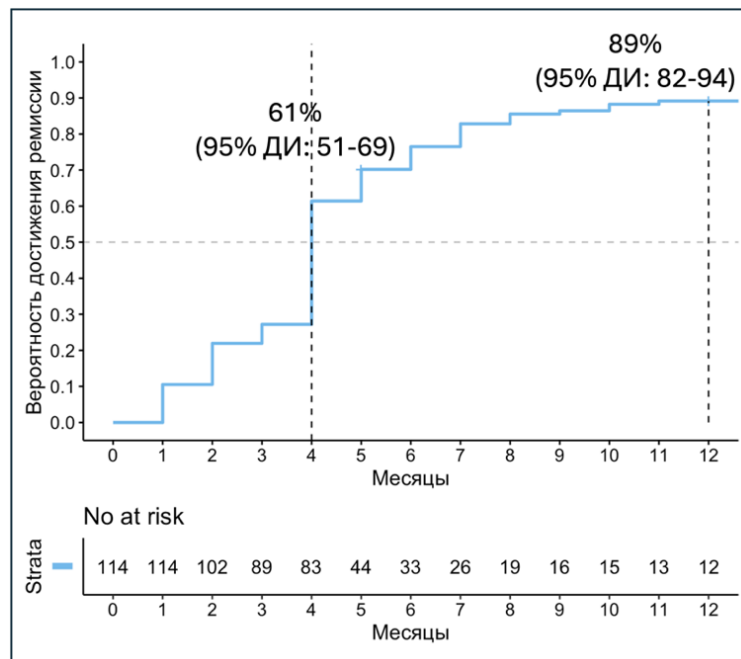


Рисунок 3.15 — Вероятность достижения ремиссии в общей группе больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой, $n = 114$

Больные ПМВКЛ, включенные в исследование, получали лечение по протоколам R-DA-EPOCH ($n = 87$), R-mNHL-BFM-90 ($n = 12$), Nivo-R-DA-EPOCH ($n = 12$), R-CHOP ($n = 3$). Наибольшая частота ПО была достигнута в группе Nivo-R-DA-EPOCH — 100 % (12/12). В группе R-DA-EPOCH ПО зарегистрирован у 67,8 % (59/87), ещё у 18,4 % (16/87) отмечен частичный ответ. В группе R-mNHL-BFM-90 ПО составил 75 % (9/12), тогда как при применении R-CHOP ремиссий получено не было. Межгрупповые различия статистически значимы ($P = 0,003$). Частота прогрессирования была наибольшей при использовании R-CHOP (100 %; 3/3) и относительно высокой в группе R-mNHL-BFM-90 (25 %; 3/12). В то время как в группах R-DA-EPOCH и Nivo-R-DA-EPOCH прогрессирование отмечалось лишь у 13,8 % (12/87) и 0 % (0/12) соответственно ($P = 0,002$). Рецидивы после достигнутой ремиссии встречались редко (3,4 % в группе R-DA-EPOCH), в остальных протоколах их не зарегистрировано. В Таблице 3.14 и на Рисунке 3.16 подробно приведены исходы и выживаемость больных ПМВКЛ в зависимости от проводимой индукционной терапии.

Таблица 3.14 — Распределение исходов лечения ПМВКЛ в зависимости от протокола лечения, $n = 114$

	R-DA-EPOCH ($n = 87$)	R-mNHL-BFM-90 ($n = 12$)	Nivo-R-DA-EPOCH ($n = 12$)	R-CHOP ($n = 3$)	P
Полный ответ (ПО), n (%)	59 (67,8)	9 (75)	12 (100)	0 (0)	0,003
Частичная ремиссия, n (%)	16 (18,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,167
Прогрессия, n (%)	12 (13,8)	3 (25)	0 (0)	3 (100)	0,002
Рецидив, n (%)	3 (3,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000
Смерть, n (%)	7 (8)	2 (16,7)	0 (0)	0 (0)	0,451
Медиана (диапазон) наблюдения, мес.	53 (12– 145)	163 (5– 211)	14 (6–26)	16 (16– 44)	<0,05

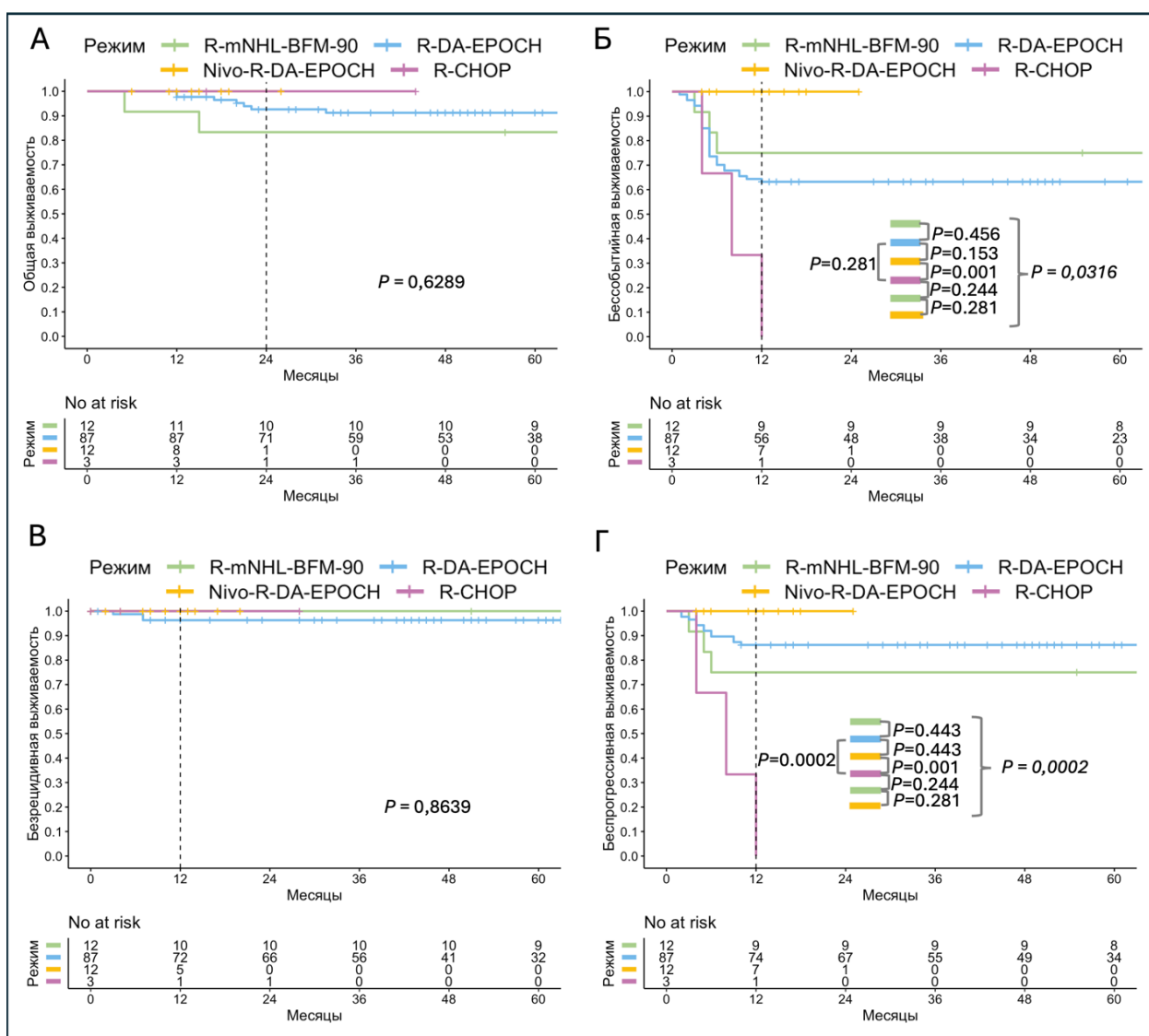


Рисунок 3.16 — Выживаемость больных ПМВКЛ в зависимости от протокола лечения, $n = 114$: А — общая выживаемость (ОВ); Б — бессобытийная выживаемость (БСВ); В — безрецидивная выживаемость (БРВ); Г — беспрогрессивная выживаемость (БПВ)

Анализ выживаемости в зависимости от выбранного протокола выявил значимые различия между группами. Наиболее высокие показатели достигнуты при использовании Nivo-R-DA-EPOCH, тогда как схема R-CHOP продемонстрировала худшие результаты по частоте ремиссий и выживаемости. Однако 100 % частота ПО в группе Nivo-R-DA-EPOCH или 100 % прогрессирования в R-CHOP при столь малом числе наблюдений не могут интерпретироваться как окончательное доказательство преимущества или неэффективности протокола, хотя и отражают общие тенденции.

Для дальнейшего анализа и оценки прогностической значимости биомаркеров были выделены две группы с достаточным количеством наблюдений и сопоставимыми показателями эффективности: R-DA-EPOCH и R-mNHL-BFM-90. Случаи P/P, частичной ремиссии (ЧР) были ранними, поэтому для расчета ОШ был выбран статус заболевания на сроке 12 месяцев. Пациентам вне ПО после индукции проводилась терапия второй линии и далее до ПО или смерти, поэтому для оценки риска летального исхода был использован КР, который учитывает время до летального исхода.

Первым этапом оценена прогностическая роль шкалы IPI и стандартных клинических и лабораторных характеристик, определяемых в дебюте заболевания: стадия по Ann Arbor > II, повышенный уровень ЛДГ, наличие Bulky > 6 см и > 12 см, прорастание мягких тканей/молочных желёз и плевры/перикарда. Как показано на Рисунке 3.17, ни один из этих маркеров не продемонстрировал статистически значимой ассоциации с риском смерти ($P > 0,05$) или с вероятностью неблагоприятного события (прогрессия, рецидив, смена терапии) ($P > 0,05$).

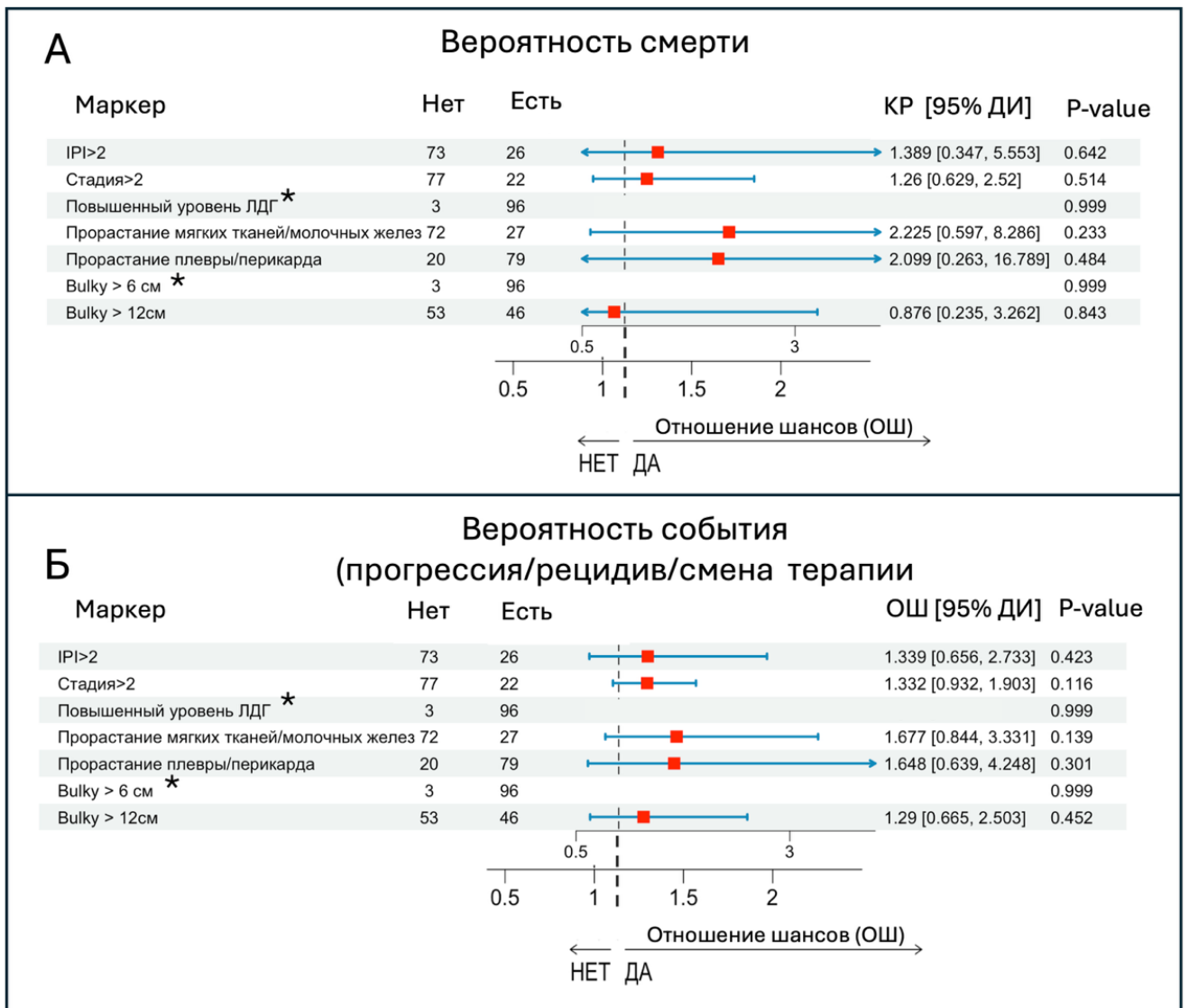


Рисунок 3.17 — Вероятность смерти, события (прогрессия, рецидив, смена терапии) в зависимости от риска по шкале IPI, основных клинических и лабораторных характеристик в дебюте заболевания, $n = 99$: А — вероятность смерти; Б — вероятность неблагоприятного события (прогрессия/рецидив/смена терапии)

Примечание. IPI — международный прогностический индекс, International Prognostic Index; ЛДГ — лактатдегидрогеназа.

Кривые Каплана-Мейера (Рисунок 3.18) подтверждают результаты регрессионного анализа: различия в ОБ, БСВ и частоте достижения ремиссии между подгруппами по клинико-лабораторным маркерам не были статистически значимыми (Log-rank test, $P > 0,05$ во всех случаях).

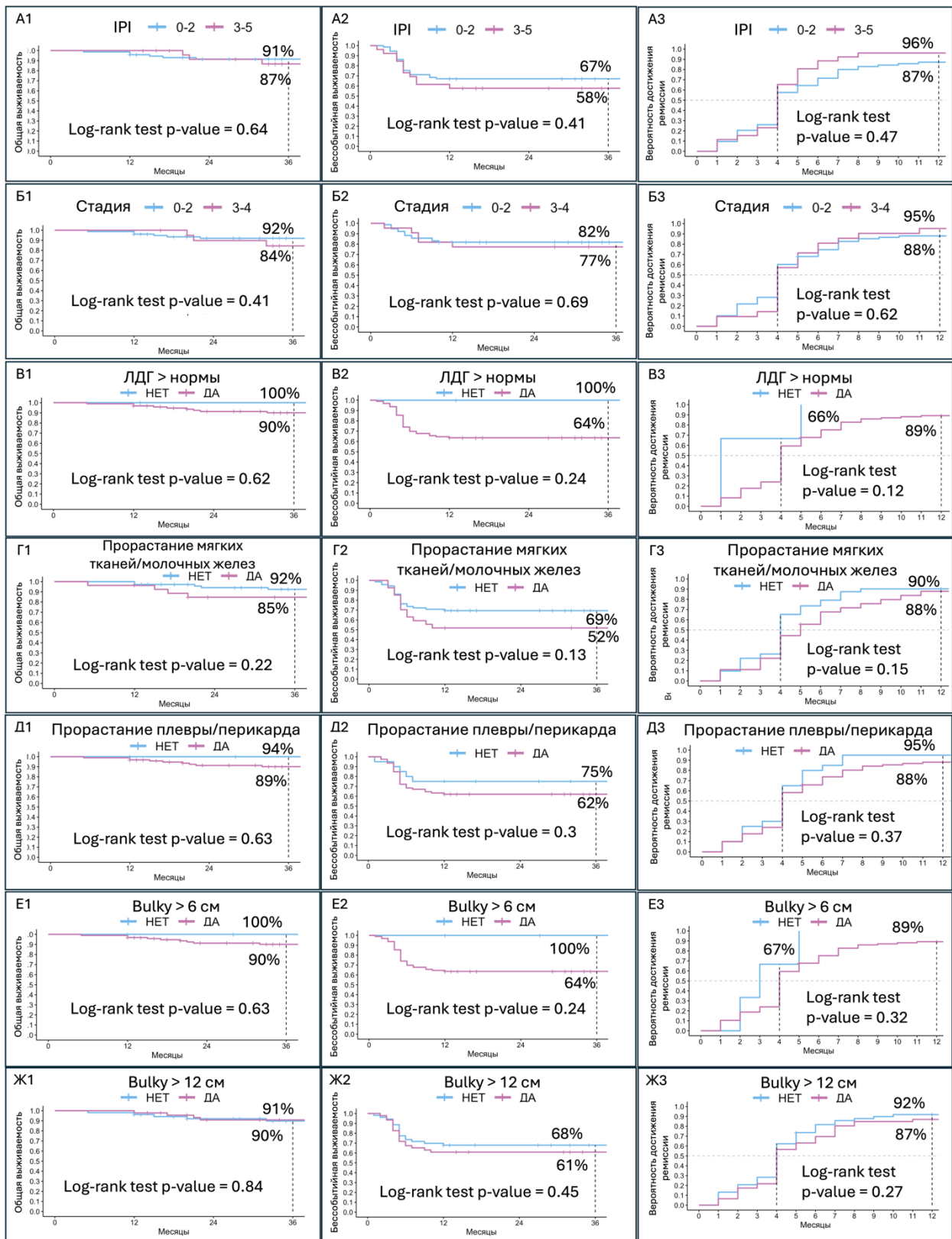


Рисунок 3.18 — ОВ, БСВ и вероятность достижения ремиссии в зависимости от риска по шкале IPI (А1-А3), стадии по Ann Arbor (Б1-Б3), основных клинических и лабораторных характеристик в дебюте заболевания (В1-Ж3), n = 99

Примечание. IPI — международный прогностический индекс, International Prognostic Index; ЛДГ — лактатдегидрогеназа.

Таким образом, классические клинико-лабораторные предикторы, традиционно применяемые для оценки прогноза при агрессивных НХЛ, показали ограниченную ценность у пациентов с ПМВКЛ, получавших терапию R-DA-EPOCH/R-mNHL-BFM-90. Это подчёркивает необходимость поиска новых, более чувствительных биомаркеров.

Ряд публикаций показывает, что распространенная стадия, высокий риск по IPI, Vulky, повышенный уровень ЛДГ и наличие В-симптомов ассоциируются с неблагоприятным прогнозом на протоколе R-CHOP [14,60,208,210]. Однако в когортах, леченных по протоколу R-DA-EPOCH, высокие значения БПВ/ОВ и низкая частота поздних событий снижают предиктивную способность этих маркеров [211].

3.5.2. Прогностическая роль aberrаций микросателлитных повторов у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой

3.5.2.1. Прогностическая роль aberrаций микросателлитных повторов по локусам панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus

Выполнен однофакторный анализ, оценивающий прогностическую значимость MSI-L, LOH и EMAST по локусам панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus.

Феномен MSI-L не был ассоциирован с большим риском смерти и неблагоприятного события (P/P, смена терапии при ЧР) (КР 1,499 [0,311–7,216]; $P = 0,614$ и ОШ 0,873 [0,275–2,874]; $P = 0,537$ соответственно) (Рисунок 3.19). ОВ, БСВ и вероятность достижения ремиссии также достоверно не зависели от статуса MSI-L ($P = 0,61$, $P = 0,72$, $P = 0,55$ соответственно) (Рисунок 3.20 А-В).

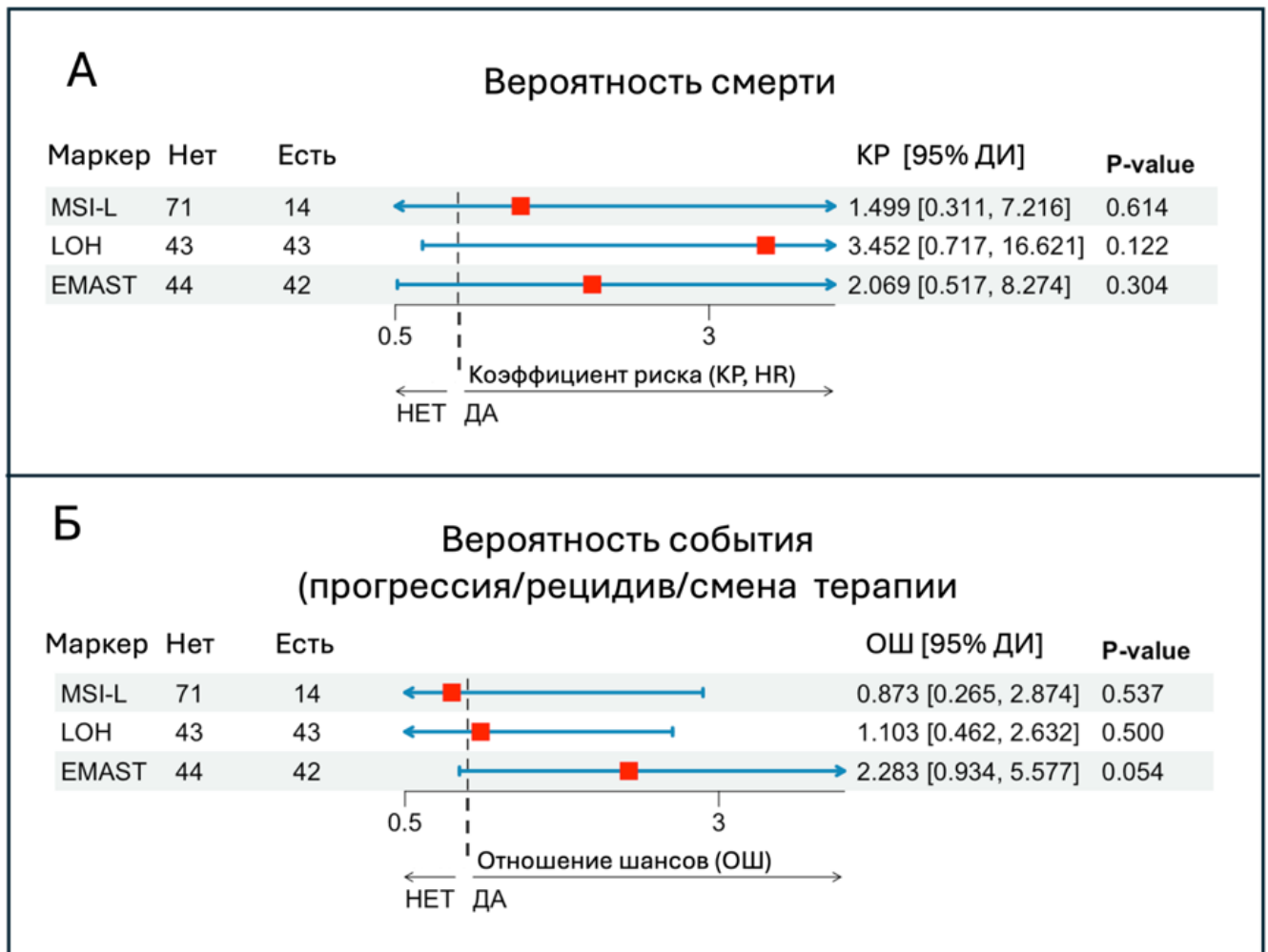


Рисунок 3.19 — Вероятность смерти, события (прогрессия, рецидив, смена терапии) в зависимости от наличия MSI-L, LOH и EMAST по локусам панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus: А — вероятность смерти; Б — вероятность неблагоприятного события (прогрессия/рецидив/смена терапии)

Примечание. MSI-L –микросателлитная нестабильность низкой степени; LOH – loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности; EMAST — elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, абберрации микросателлитных тетрауклеотидных повторов.

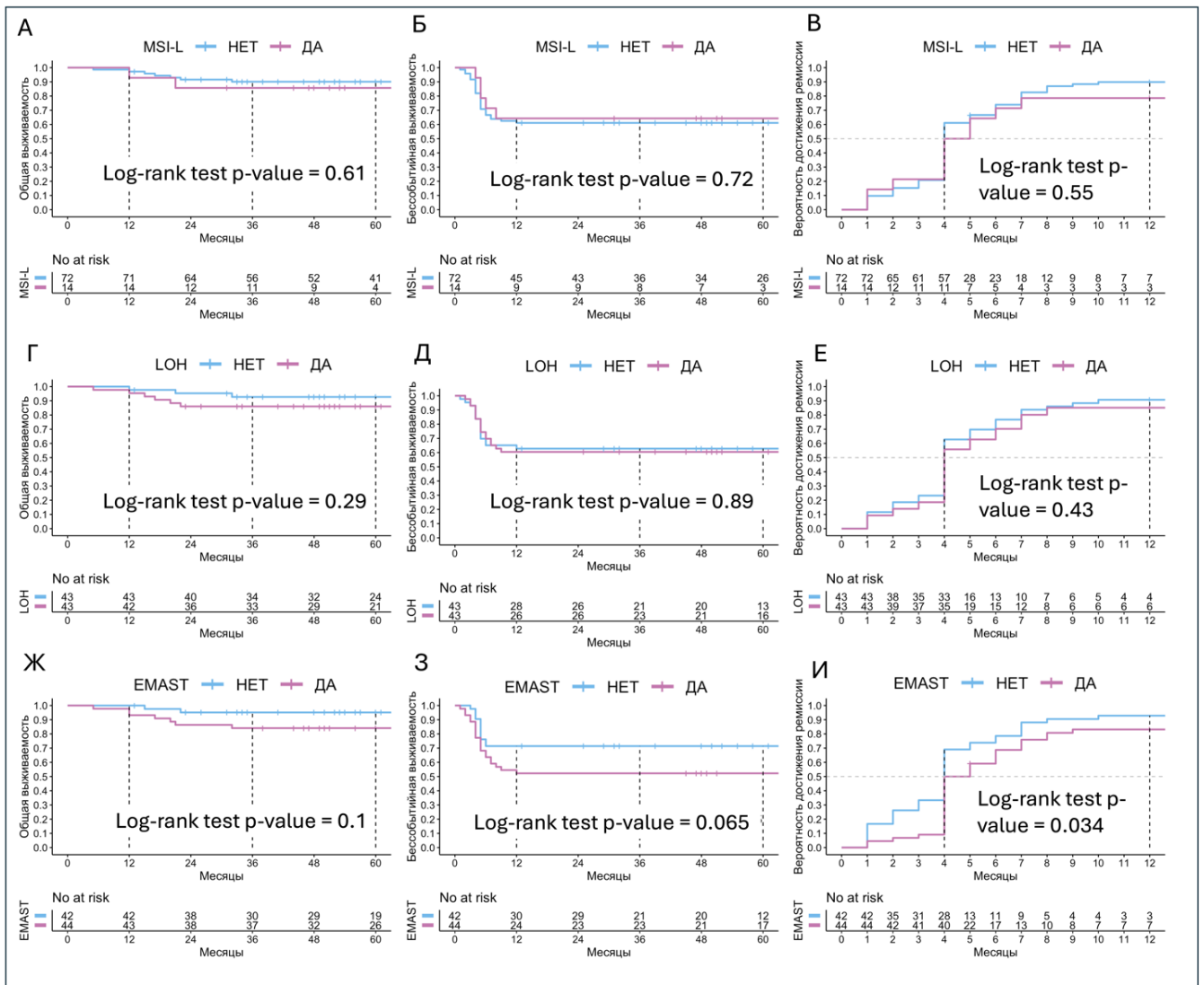


Рисунок 3.20 — ОВ, БСВ и вероятность достижения ремиссии в зависимости от наличия MSI-L (А-В), LOH (Г-Е) и EMAST (Ж-И) по локусам панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus

Примечание. MSI-L –микросателлитная нестабильность низкой степени; LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности; EMAST — elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, абберрации микросателлитных тетра nukлеотидных повторов.

У больных ПМВКЛ с LOH по одному или более локусам панели COrDIS Plus в сравнении с больными без этого феномена риск смерти и неблагоприятного события был сопоставим (КР 3,452 [0,717–16,621]; $P = 0,122$ и ОШ 1,103 [0,462–2,632]; $P = 0,500$ соответственно) (Рисунок 3.19). ОВ, БСВ и вероятность

достижения ремиссии также достоверно не зависели от наличия LOH ($P = 0,29$, $P = 0,89$, $P = 0,43$ соответственно) (Рисунок 3.20 Г-Е).

У больных ПМВКЛ с EMAST по одному или более локусам панели COrDIS Plus в сравнении с больными без этого феномена риск смерти и неблагоприятного события был сопоставим (КР 2,069 [0,517–8,274]; $P = 0,304$ и ОШ 2,283 [0,934–5,577]; $P = 0,054$ соответственно) (Рисунок 3.19). ОВ, БСВ также достоверно не зависели от наличия EMAST ($P = 0,1$, $P = 0,065$ соответственно). Однако в группе больных с EMAST вероятность достижения ремиссии на сроке 12 месяцев составила 83 % [67–91] против 93 % [79–98] в группе с отсутствием этого молекулярного события ($P = 0,034$) (Рисунок 3.20 Ж-И).

Таким образом, MSI-L, LOH и EMAST по локусам панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus в нашей когорте ПМВКЛ не продемонстрировали прогностической значимости на протоколах R-DA-EPOCH и R-mNHL-BFM-90. Это означает, что рутинное тестирование MSI-L/LOH/EMAST по панелям COrDIS MSI и COrDIS Plus не оправдано при ПМВКЛ.

3.5.2.2. Прогностическая роль aberrаций микросателлитных повторов по локусам оригинальной панели праймеров (6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13)

Однофакторный анализ прогностической роли aberrаций МСП по локусам оригинальной панели праймеров (6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13) был выполнен для феномена LOH различных маркеров. Из-за редкой встречаемости анализ EMAST в качестве предиктора был нецелесообразен.

У больных ПМВКЛ с LOH по одному или более локусам оригинальной панели в сравнении с больными без АД риск неблагоприятного события на сроке 12-месяцев был выше (ОШ 3,976 [1,196–13,215]; $P = 0,016$) (Рисунок 3.21). При этом риск смерти не имел значимых различий (КР 1,367 [0,284–6,587]; $P = 0,697$) (Рисунок 3.21). Анализ ОВ пациентов с АД по одному или более локусам оригинальной панели праймеров не выявил статистически значимых различий между группами ($P = 0,69$) (Рисунок 3.22 А). Однако 36-месячная БСВ в группе с АД составила 52 % [40–66 %] в сравнении с 81 % [66–100 %] в группе пациентов

без АД ($P = 0,036$) (Рисунок 3.22 Б). Вероятность достижения ремиссии к 4 месяцу не различалась между группами ($P = 0,46$) (Рисунок 3.22 В).

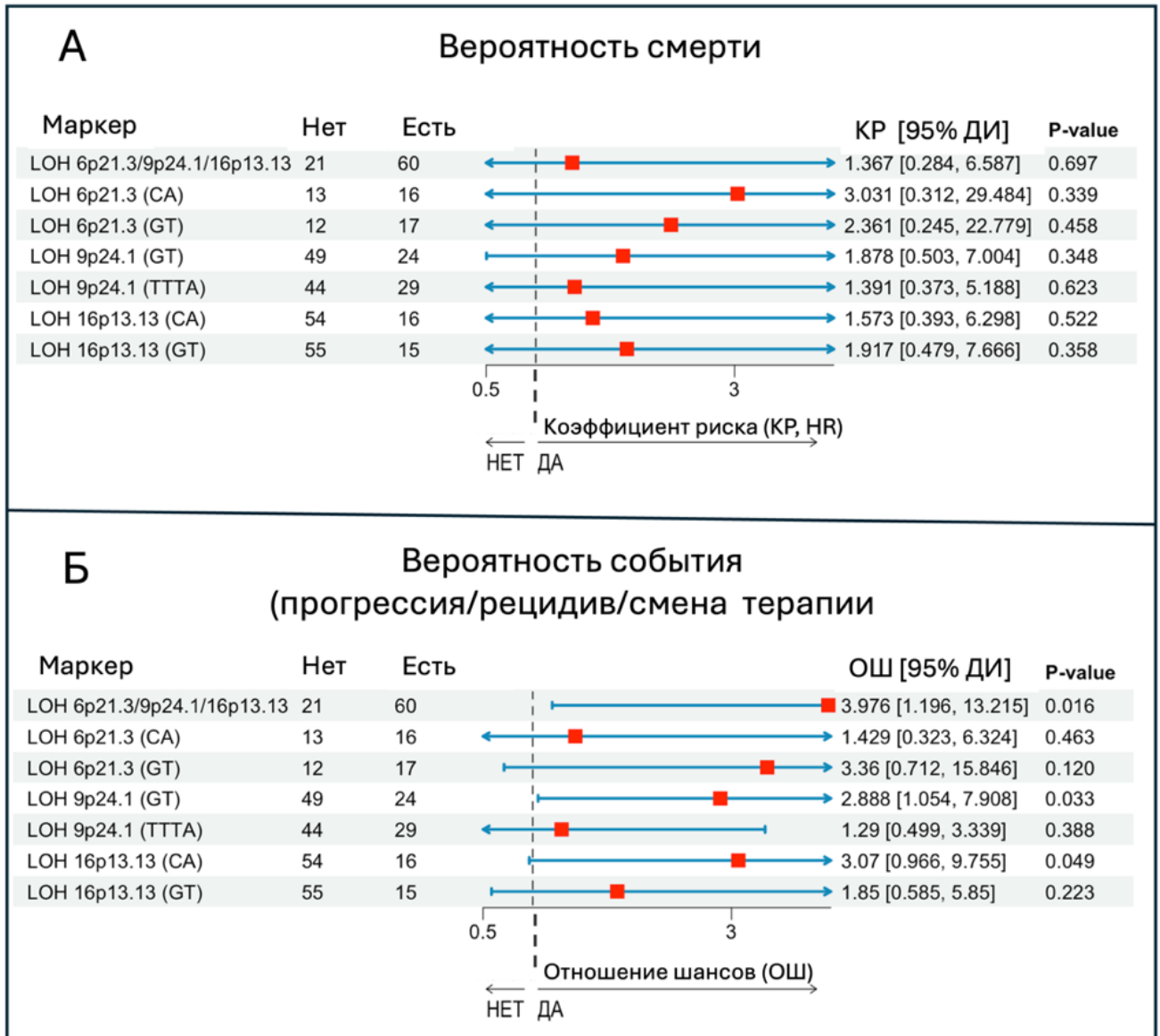


Рисунок 3.21 — Вероятность смерти, события (прогрессия, рецидив, смена терапии) в зависимости от наличия LOH по локусам 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13: А — вероятность смерти; Б — вероятность неблагоприятного события (прогрессия/рецидив/смена терапии)

Примечание. LOH – loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

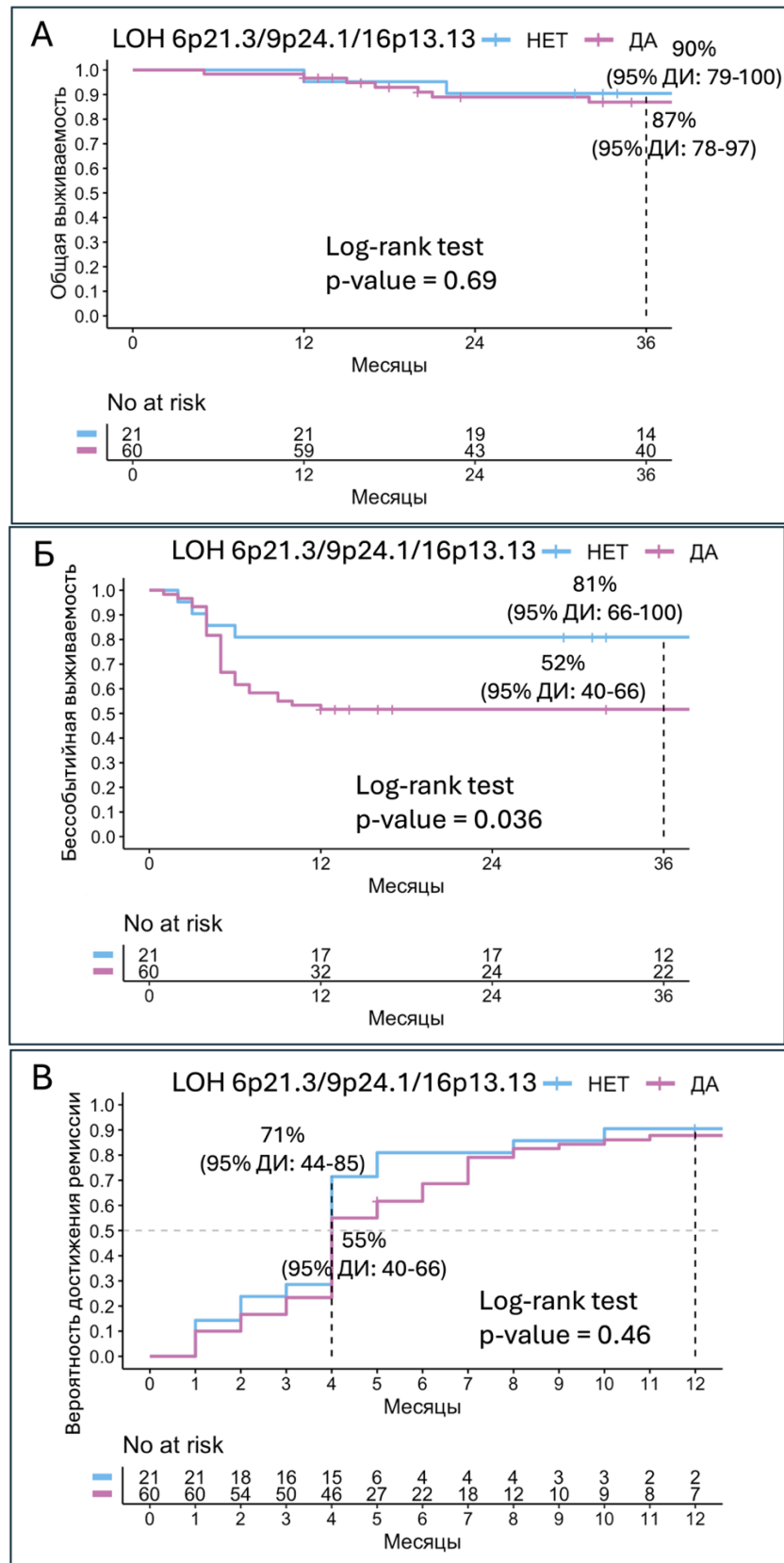


Рисунок 3.22 — ОВ (А), БСВ (Б) и вероятность достижения ремиссии (В) в зависимости от наличия LOH одного или более локусов оригинальной панели (6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13), n = 81

Примечание. LOH – loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

Прогностическая роль aberrаций микросателлитных повторов локуса бр21.3 (СА и GT)

Маркеры LOH бр21.3 (СА) и LOH бр21.3 (GT) не были ассоциированы с большим риском смерти и неблагоприятного события (КР 3,031 [0,312–29,484]; $P = 0,339$ и КР 2,361 [0,245–22,779]; $P = 0,458$; ОШ 1,429 [0,323–6,324]; $P = 0,463$ и ОШ 3,360 [0,712–15,846]; $P = 0,120$ соответственно) (Рисунок 3.21). ОВ, БСВ и вероятность достижения ремиссии также достоверно не зависели от LOH бр21.3 (СА и GT) ($P > 0,05$) (Рисунок 3.23).

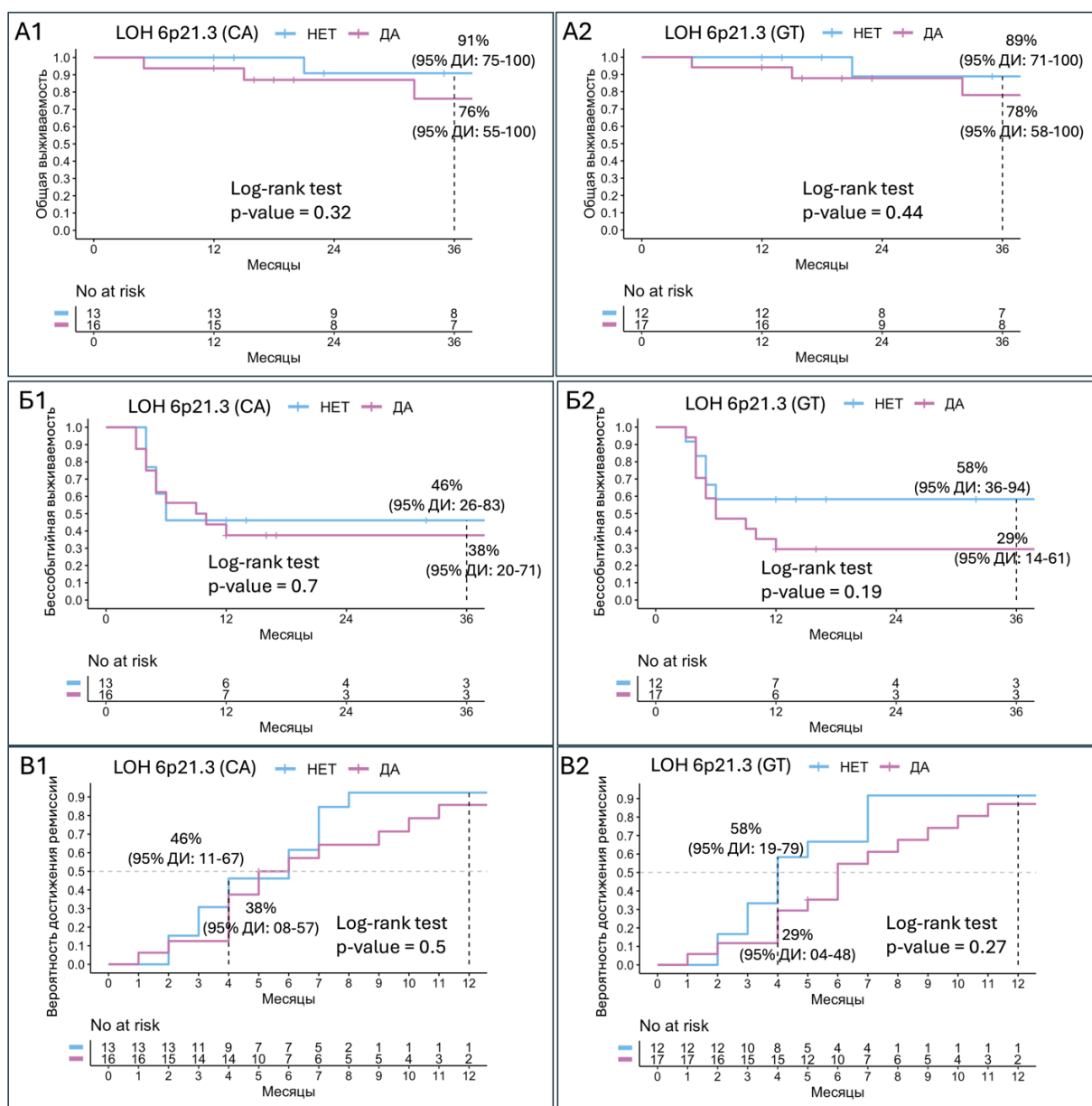


Рисунок 3.23 — ОВ (A1-A2), БСВ (B1-B2) и вероятность достижения ремиссии (B1-B2) в зависимости от наличия LOH бр21.3 (СА и GT), $n = 29$

Примечание. LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

Прогностическая роль aberrаций микросателлитных повторов локуса 9p24.1 (GT и ТТТА)

Маркеры LOH 9p24.1 (GT) и LOH 9p24.1 (ТТТА) не были ассоциированы с большим риском смерти (КР 1,878 [0,503–7,004]; $P = 0,348$ и КР 1,391 [0,373 – 5,188]; $P = 0,623$ соответственно (Рисунок 3.21)) и снижением ОВ ($P = 0,34$ и $P = 0,62$ соответственно) (Рисунок 3.24 А1-А2).

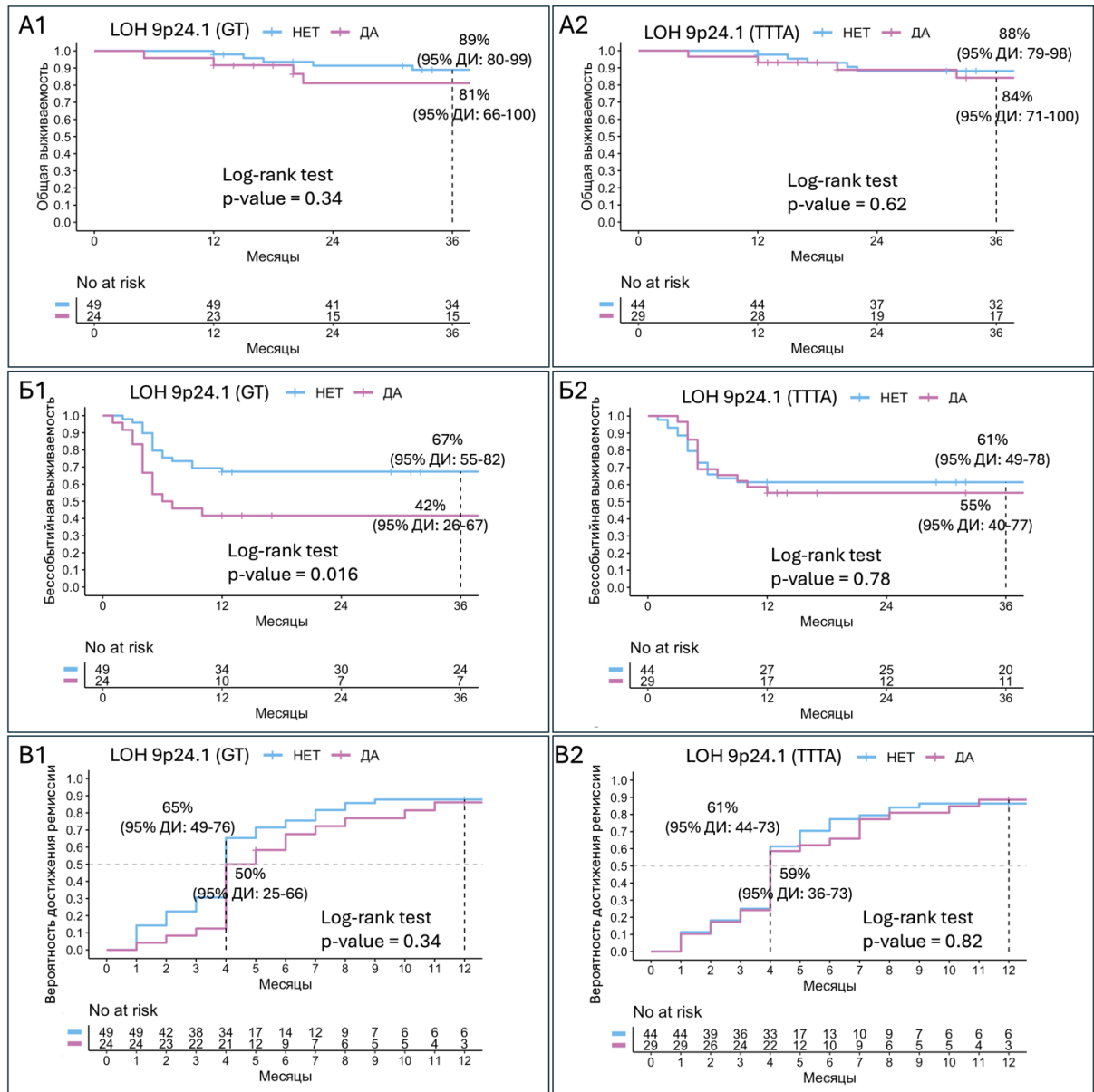


Рисунок 3.24 — ОВ (А1-А2), БСВ (Б1-Б2) и вероятность достижения ремиссии (В1-В2) в зависимости от наличия LOH 9p24.1 (GT и ТТТА), n = 73

Примечание. LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

Прогностическая роль aberrаций микросателлитных повторов локуса 16p13.13 (CA и GT)

Маркеры LOH 16p13.13 (CA) и LOH 16p13.13 (GT) не были ассоциированы с большим риском смерти и неблагоприятного события (КР 1,573 [0,393–6,298], $P = 0,522$ и КР 1,917 [0,479–7,666], $P = 0,358$; ОШ 3.070 [0,966–9,755]; $P = 0,049$ и ОШ 1,850 [0,585–5,850]; $P = 0,223$ соответственно) (Рисунок 3.21). ОВ, БСВ и вероятность достижения ремиссии также достоверно не зависели от LOH 16p13.13 (CA и GT) ($P > 0,05$) (Рисунок 3.25).

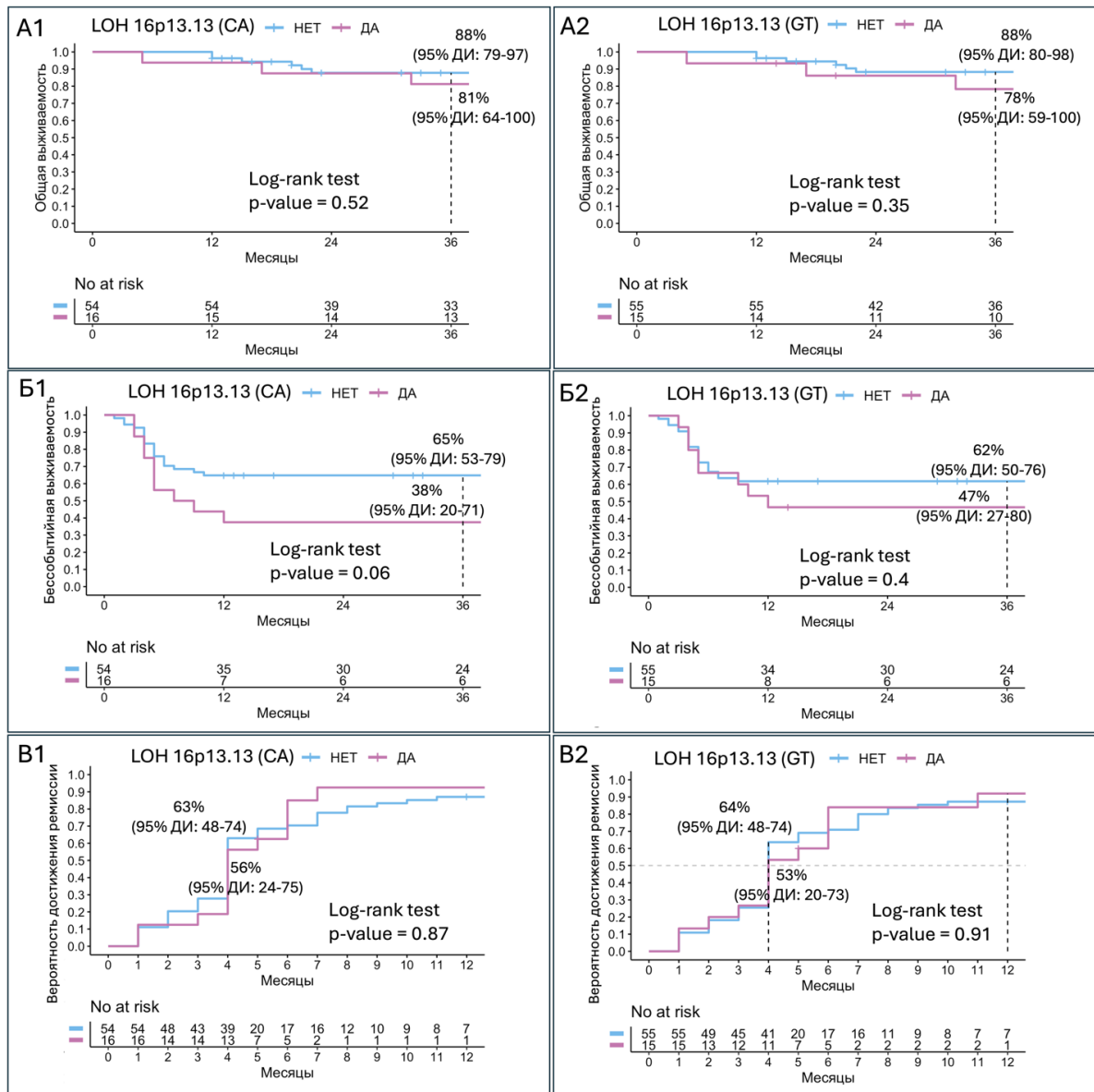


Рисунок 3.25 — ОВ (A1-A2), БСВ (B1-B2) и вероятность достижения ремиссии (B1-B2) в зависимости от наличия LOH 16p13.13 (CA и GT), $n = 70$

Примечание. LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

БСВ на сроке 36 месяцев в группе с LON 9p24.1 (GT) составила 42 % (95 % ДИ: 26–67 %), тогда как у пациентов без маркера 67 % (95 % ДИ: 55–82 %) ($P = 0,016$; ОШ 2,888 [1,054 – 7,908], $P = 0,033$) (Рисунок 3.24Б1). LON 9p24.1 (TTTA) не был ассоциирован со снижением БСВ ($P = 0,78$; ОШ 1,290 [0,499 – 3,339], $P = 0,388$) (Рисунок 3.24 Б2). Вероятность достижения ремиссии к 4 месяцу не различалась между группами ($P = 0,34$ и $P = 0,82$ соответственно) (Рисунок 3.24 В1-В2).

В отличие от стандартных панелей COrDIS MSI/COrDIS Plus, ориентированная на патогенез ПМВКЛ оригинальная панель продемонстрировала прогностическую ценность: наличие LON как минимум в одном из целевых локусов (6p21.3, 9p24.1, 16p13.13) ассоциировалось с повышенным риском неблагоприятного события к 12 месяцам ($P = 0,016$) и снижением 36-месячной БСВ ($P = 0,036$). Отсутствие эффекта на ОВ, вероятно, объясняется воздействием последующей терапии у пациентов вне ПО.

На уровне отдельных маркеров наиболее значимым в снижении БСВ был LON 9p24.1 (GT) ($P = 0,016$). Для 6p21.3 и 16p13.13 воспроизводимых ассоциаций не получено, что может быть обусловлено: меньшим размером подгрупп и низкой частотой событий (недостаточная статистическая мощность). При этом наблюдается согласованная тенденция к худшим исходам при наличии LON в указанных областях, требующая подтверждения в более крупной когорте.

3.5.3. Прогностическая роль экспрессии PD-L1, HLA-DR, PD-1 и CTLA-4

Экспрессия на опухолевых клетках PD-L1 и HLA-DR не была ассоциирована с большим риском смерти и неблагоприятного события (КР 0,846 [0,076–9,375], $P = 0,892$ и КР 0,659 [0,059–7,278], $P = 0,734$; ОШ 1,099 [0,287–4,211], $P = 0,577$ и ОШ 0,808 [0,171–3,807], $P = 0,539$ соответственно) (Рисунок 3.26). ОВ, БСВ и вероятность достижения ремиссии также достоверно не зависели от экспрессии PD-L1 и HLA-DR ($P > 0,05$) (Рисунок 3.27 А1-А3 и В1-В3).

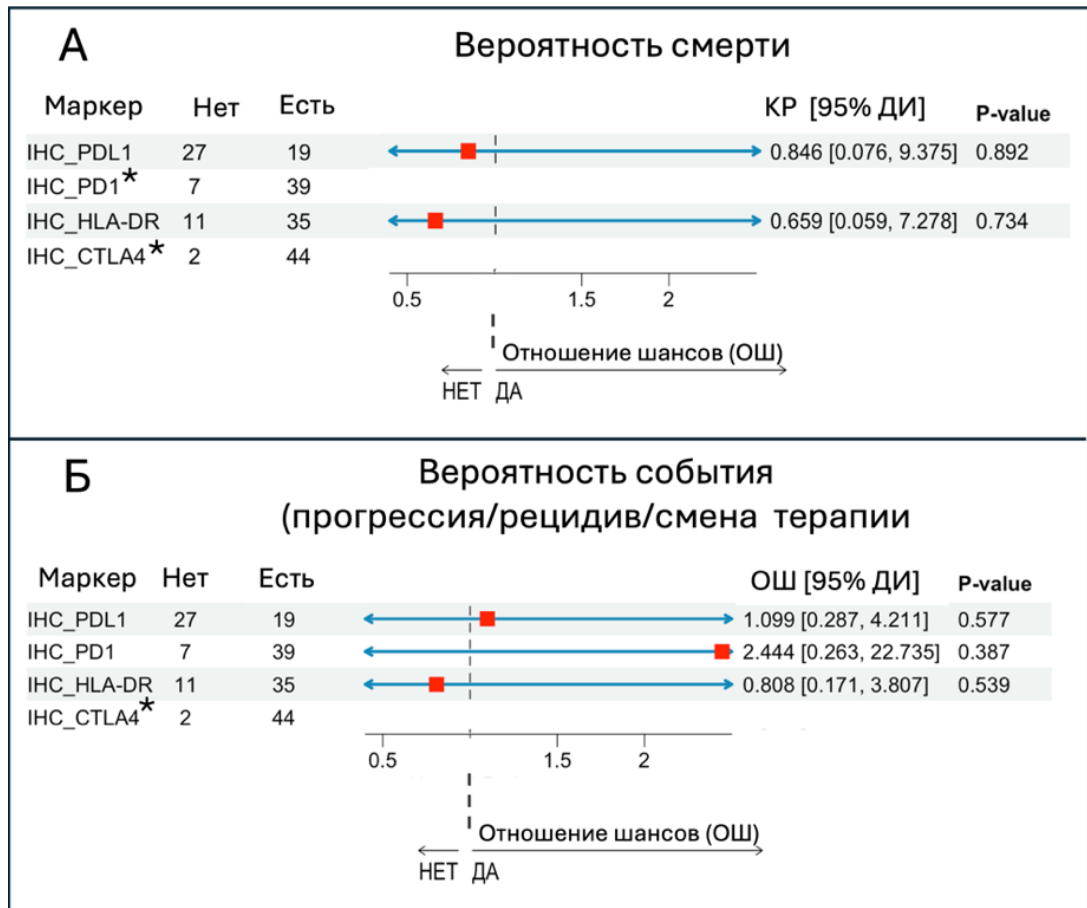


Рисунок 3.26 — Вероятность смерти, события (прогрессия, рецидив, смена терапии) в зависимости от экспрессии PD-L1, PD-1, HLA-DR и CTLA-4, $n = 46$: А — вероятность смерти; Б — вероятность неблагоприятного события (прогрессия/рецидив/смена терапии)

Примечание. * «-» — статистический анализ невозможен, так как одна из анализируемых переменных константа; ИHC – иммуногистохимия.

Экспрессия на Т-клетках реактивного микроокружения PD-1 не была ассоциирована с большим риском неблагоприятного события (ОШ 2,444 [0,263–22,735], $P = 0,387$) (Рисунок 3.26 Б). Анализ КР и ОШ для CTLA-4 не представился возможным вследствие крайне малого числа случаев отсутствия экспрессии. ОВ, БСВ и вероятность достижения ремиссии достоверно не зависели от экспрессии PD-1 и CTLA-4 ($P > 0,05$) (Рисунок 3.27 Б1-Б3 и Г1-Г3).

ИГХ оценка экспрессии PD-L1 и HLA-DR на опухолевых клетках, а также PD-1 и CTLA-4 в реактивном микроокружении не показала прогностической значимости (для CTLA-4 интерпретация ограничена малым числом случаев отсутствия экспрессии). В ретроспективном многоцентровом исследовании LYSA

продемонстрировано, что неблагоприятный прогноз на терапии R-ACVBP/R-CHOP при ПМВКЛ ассоциирован с высокой транскрипционной экспрессией *PD-L1/PD-L2* [31]. Отсутствие прогностического эффекта экспрессии PD-L1, оцененной ИГХ объяснимо: экспрессия PD-L1/PD-L2 регулируется на множественных уровнях и не сводится к амплификации 9p24.1 — транскрипционная индукция (IFN- γ /JAK-STAT, NF- κ B и др.), эпигенетические механизмы, посттранскрипционные и посттрансляционные модификации [212]. Кроме того, различия в протоколах лечения (R-CHOP/ACVBP в LYSA против R-DA-EPOCH/ R-mNHL-BFM-90 в нашей когорте) могли повлиять на выявляемость прогностических эффектов ИГХ-экспрессии [31].

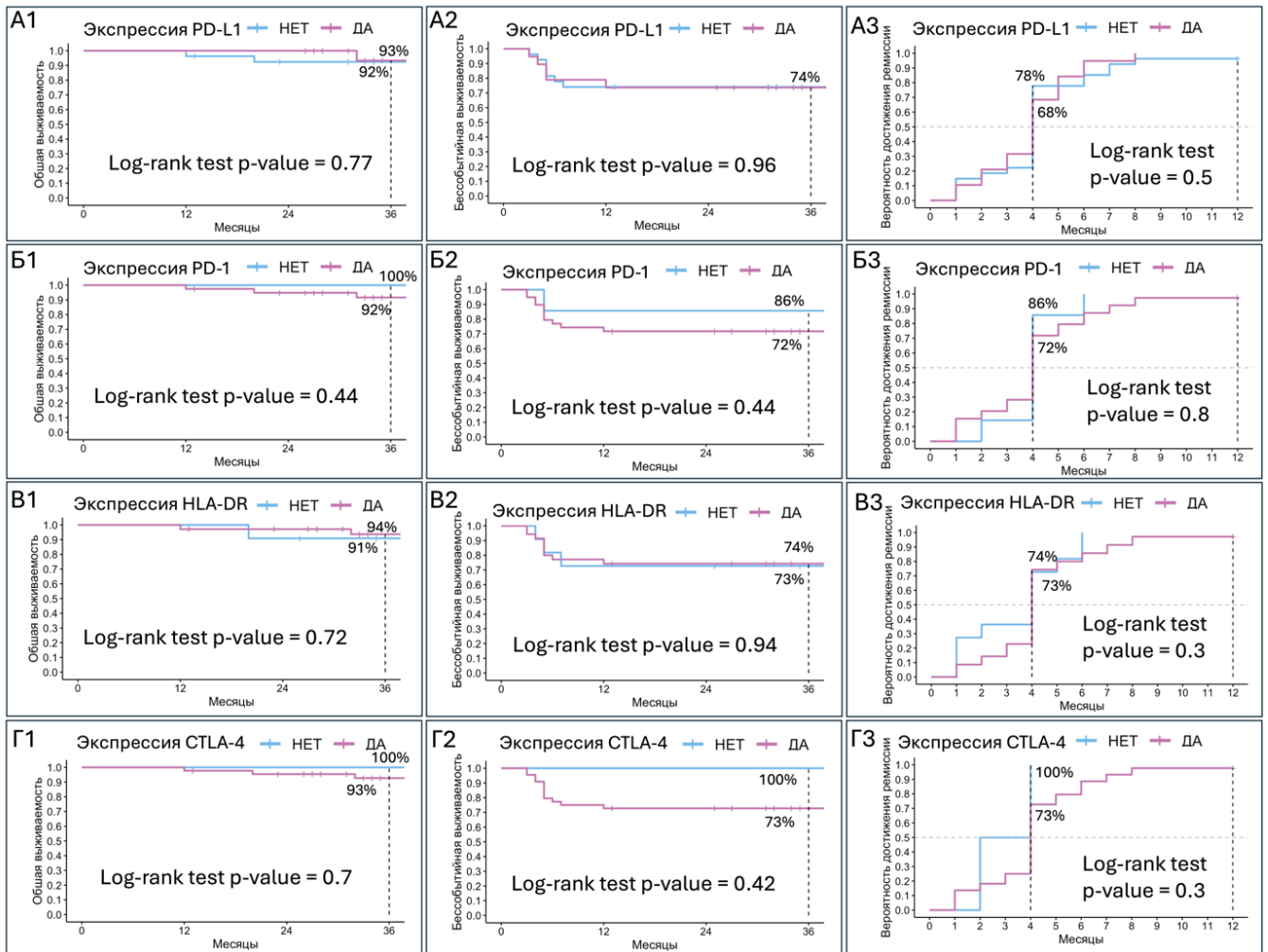


Рисунок 3.27 — ОБ, БСВ и вероятность достижения ремиссии в зависимости от экспрессии PD-L1 (A1-A3), PD-1 (B1-B3), HLA-DR (B1-B3) и CTLA-4 (Г1-Г3), n =

3.5.4. Эффективность терапии у больных первичной медиастинальной лимфомой в зависимости от хромосомных нарушений 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13

В когорте больных ПМВКЛ ($n = 15$) по данным ХМА в локусах 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13 выявлены делеции, амплификации, дупликации и cnLOH. Пациенты получали терапию по протоколам R-DA-EPOCH, R-mNHL-BFM-90 и Nivo-R-DA-EPOCH. На Рисунке 3.28 представлены профили aberrаций и клинические исходы.

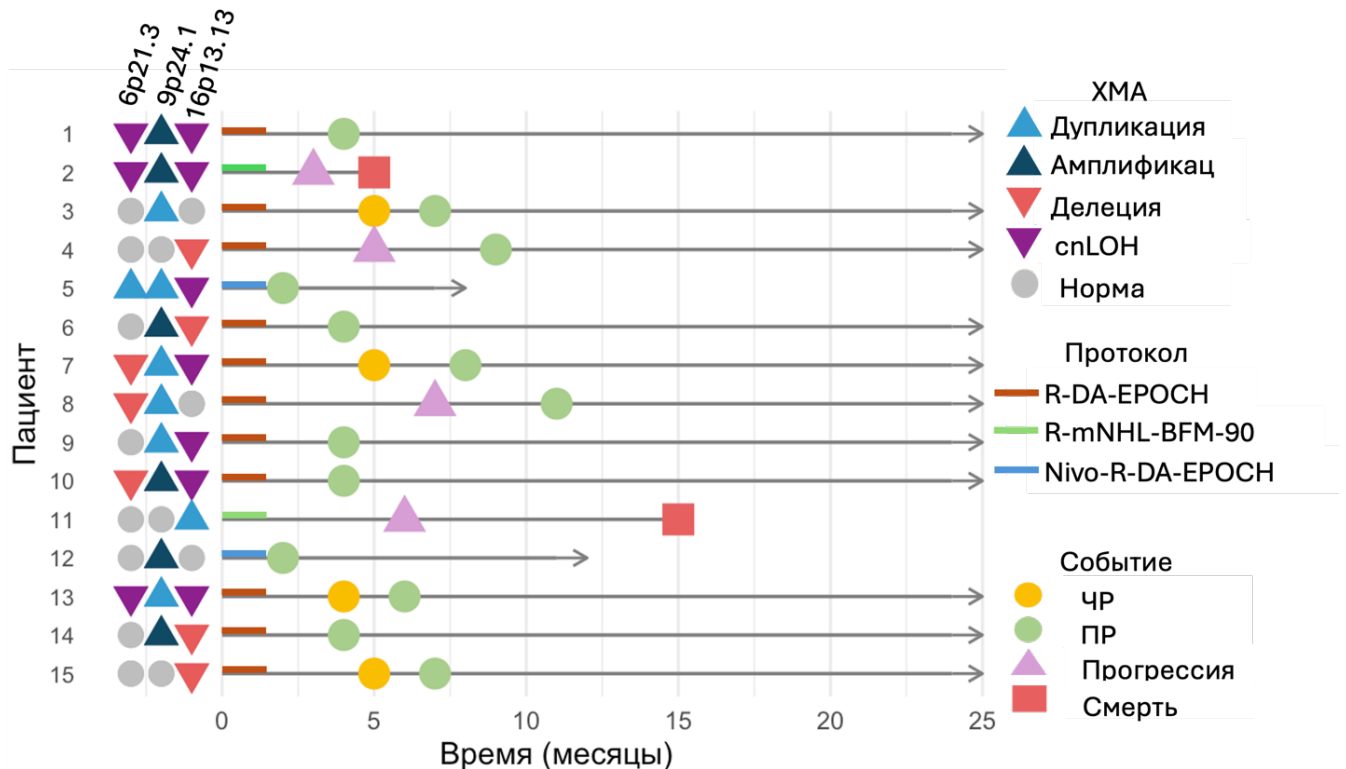


Рисунок 3.28 — Ассоциация хромосомных нарушений 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13 с клиническим исходом, $n = 15$

Примечание. cnLOH – copy number neutral loss of heterozygosity, копий-нейтральная потеря гетерозиготности; ЧР – частичная ремиссия; ПР – полная ремиссия.

С учётом малого объёма выборки и терапевтической гетерогенности достоверная оценка ассоциаций между конкретными типами aberrаций и исходами затруднена; результаты следует рассматривать как описательные. Требуется валидация в более крупных и терапевтически однородных когортах.

Заключение

Несмотря на высокий уровень эффективности терапии по протоколу R-DA-EPOCH у больных ПМВКЛ, прогноз при развитии Р/Р остаётся крайне неблагоприятным. В связи с этим возрастает значение молекулярной стратификации пациентов и поиск предикторов неблагоприятного прогноза, связанных с геномной нестабильностью и иммунным уклонением опухоли.

В настоящем исследовании впервые выполнен комплексный анализ aberrаций МСП (MSI, LOH и EMAS) и экспрессии иммунных контрольных точек (PD-L1, PD-1, CTLA-4 и HLA-DR) у больных ПМВКЛ. Для оценки геномной нестабильности использованы как стандартные коммерческие панели, так и оригинальная тест-система, ориентированная на ключевые патогенетические локусы (6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13). Установлено, что частота LOH в этих регионах у больных ПМВКЛ значимо выше по сравнению с ДВКЛ ($P < 0,05$).

Установлено, что MSI встречается крайне редко и не ассоциирована с клиническими характеристиками или выживаемостью. Напротив, LOH в локусе 9p24.1 (вблизи гена *PD-L1*), достоверно ассоциирована со снижением БСВ ($P = 0,016$), что позволяет рассматривать это нарушение как прогностический маркер. Выявленная ассоциация между LOH и экспрессией PD-L1 подтверждает взаимодействие структурных геномных нарушений и иммунного фенотипа опухоли.

ХМА подтвердил, что aberrации МСП отражают широкий спектр хромосомных нарушений (делеции, амплификации, cnLOH), что демонстрирует высокую чувствительность анализа МСП как первичного скринингового инструмента.

Таким образом, настоящее исследование выявило молекулярные характеристики ПМВКЛ, ассоциированные с геномной нестабильностью и иммунным уклонением, и подтвердило значимость прицельного анализа МСП в

ключевых локусах. Полученные результаты могут стать основой для разработки прогностических моделей, отбора пациентов для иммунотерапии и внедрения молекулярного мониторинга минимальной остаточной болезни.

Выводы

1. Частота встречаемости aberrаций микросателлитных повторов по локусам стандартных панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus достоверно не различается между группами больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой и диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой ($P > 0,05$).
2. У больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой по сравнению с диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой при использовании оригинальной панели праймеров достоверно чаще обнаруживаются aberrации микросателлитных повторов в регионах 6p21.3 ($P = 0,017$), 9p24.1 ($P = 0,001$) и 16p13.13 ($P = 0,011$);
3. Проведённый хромосомный микроматричный анализ подтвердил, что различные хромосомные нарушения, включая амплификацию, делецию и *cnLOH*, проявляются в виде aberrаций микросателлитных повторов в опухолевой ДНК при первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфоме;
4. Aberrации микросателлитных повторов (LOH) вблизи генов *HLA* и *СИТА* не ассоциируются с экспрессией *HLA-DR* ($P = 0,622$ и $P = 0,066$ соответственно), а в области генов *PD-L1/PD-L2* ассоциируются с наличием экспрессии *PD-L1* ($P = 0,046$);
5. Наличие LOH по одному и более микросателлитным локусам иммунной привилегии (6p21.3, 9p24.1, 16p13.13) у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой ассоциируется со снижением бессобытийной выживаемости (с 81 % до 52 %, $P = 0,036$), наиболее значимым при LOH в области *PD-L1* (с 67 % до 42 %, $P = 0,016$), тогда как прогностическая значимость других исследованных молекулярных и ИГХ маркеров не обнаружена.

Практические рекомендации

Разработанный метод исследования aberrаций микросателлитных повторов в локусах «иммунологической толерантности» может использоваться в рутинной клинической практике в качестве скринингового исследования у больных первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой. Наличие aberrаций микросателлитных повторов региона 9p24.1 следует расценивать как признак неблагоприятного прогноза у пациентов с первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой.

Список сокращений и условных обозначений

АД – аллельный дисбаланс

аутоТГСК – аутологичная трансплантация стволовых клеток крови

БПВ – беспрогрессивная выживаемость

БРВ – безрецидивная выживаемость

БСВ – бессобытийная выживаемость

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ДВКЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИГХ – иммуногистохимия

иИКТ – ингибиторы иммунных контрольных точек

Кб – килобаза

кЛХ – классическая лимфома Ходжкина

КР – коэффициент риска

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛТ – лучевая терапия

МСП – микросателлитный повтор

НХЛ – неходжкинские лимфомы

ОВ – общая выживаемость

ОРД – однородительская дисомия

ОШ – отношение шансов

ПМВКЛ – первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома

ПО – полный ответ

ПХТ – полихимиотерапия

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЭТ-КТ – позитронная эмиссионная томография

Р/Р – рецидив/рефрактерность

ХМА – хромосомный микроматричный анализ

ХТ – химиотерапия

ЦНС – центральная нервная система

ЧР – частичная ремиссия

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

B2M – β 2-микроглобулин

BCL2 – B-cell lymphoma 2, антиапоптотический белок

BCL6 – B-cell lymphoma 6, транскрипционный репрессор

BOB1 – B-cell-specific Oct-binding protein 1, белок 1, связывающийся с элементом Oct, специфичный для В-лимфоцитов

CDKN2A – cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, ингибитор циклин-зависимых киназ 2A

CIITA – class II major histocompatibility complex transactivator, активатор транскрипции генов II класса главного комплекса гистосовместимости

CNL – LOH: Loss of heterozygosity with copy number losses, потеря гетерозиготности с потерей числа копий

cnLOH – copy number neutral loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности с нейтральным числом копий

CNV – copy number variation, вариация числа копий

CTLA-4 – cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4

dMMR – deficient mismatch repair, дефицит системы репарации неспаренных оснований

ECOG – Eastern cooperative oncology group, шкала оценки общего состояния

EMAST – elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, абберрации тетрануклеотидных повторов

HLA – human leukocyte antigen, антиген лейкоцитов человека

HLA-DR – human leukocyte antigen DR, антиген лейкоцитов человека, класс II, локус DR

IL4R – interleukin 4 receptor, рецептор интерлейкина 4

IPI – international prognostic index, международный прогностический индекс

JAK2 – janus kinase 2, тирозинкиназа, участвующая в сигнальной передаче

LOH – loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности

MAL – myelin and lymphocyte protein, белок миелина и лимфоцитов

MHC – major histocompatibility complex, главный комплекс гистосовместимости класса

MLH1 – mutL Homolog 1, гомолог MutL 1

MMR – mismatch repair, система репарации ошибочно спаренных нуклеотидов

MSH2 – mutS Homolog 2, гомолог MutS 2

MSH3 – mutS Homolog 3, гомолог MutS 3

MSH6 – mutS Homolog 6, гомолог MutS 6

MSI – microsatellite instability, микросателлитная нестабильность

MSI-H – MSI-High, микросателлитная нестабильность высокой степени

MSI-L – MSI-Low, микросателлитная нестабильность низкой степени

MSS – microsatellite stability, микросателлитная стабильность

MUM1 – multiple myeloma oncogene 1, онкоген, экспрессируемый при плазматической дифференцировке

MYC – myelocytomatosis, онкоген, кодирующий ядерный фосфопротеин, регулирующий экспрессию генов, связанных с пролиферацией, дифференцировкой и апоптозом

NF-κB – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, ядерный фактор каппа-В, транскрипционный фактор

NFKBIE – nF-κB inhibitor epsilon, ингибитор ядерного фактора NF-κB

OCT2 – octamer-binding transcription factor 2, транскрипционный фактор, регулирующий экспрессию в В-клетках

PAX5 – paired box 5, транскрипционный фактор, регулирующий развитие В-лимфоцитов

PD-1 – programmed cell death 1, рецептор программируемой клеточной гибели 1

PD-L1 – programmed cell death 1 ligand, лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1

PD-L2 – programmed cell death 2 ligand, лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 2

PMS2 – PMS Homolog 2, гомолог PMS 2

PTEN – phosphatase and tensin homolog, супрессор опухолей, регулирующий сигнальный путь PI3K/АКТ

PTPN1 – protein tyrosine phosphatase non-receptor type 1, белок-тирозинфосфатаза, участвующая в регуляции сигналов

PU.1 – purine-rich box 1, транскрипционный фактор семейства ETS, необходим для дифференцировки миелоидных и лимфоидных клеток

REL – v-rel avian reticuloendotheliosis viral oncogene homolog, онкоген семейства NF-κB

SDS – sodium dodecyl sulfate, додецилсульфат натрия

SOCS1 – suppressor of cytokine signaling 1, супрессор сигнального пути цитокинов

STAT – signal transducer and activator of transcription, сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции

STR – short tandem repeats, короткие tandemные повторы

TP53 – tumor protein p53, ген-супрессор опухолей, регулирующий клеточный цикл и апоптоз

Список использованной литературы

1. Camus, V. State of the art in the diagnosis, biology and treatment of primary mediastinal B-cell lymphoma: a review / V. Camus, F. Drieux, F. Jardin // *Annals of Lymphoma*. – 2022. – Vol. 6. – P. 13. DOI: 10.21037/aol 22 13.
2. Primary mediastinal lymphoma in adults / A. K. Lichtenstein, A. Levine, C. R. Taylor [et al.] // *The American Journal of Medicine*. – 1980. – Vol. 68. – № 4. – P. 509-514. DOI: 10.1016/0002-9343(80)90294-6.
3. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group / N. Harris, E. Jaffe, H. Stein [et al.] // *Blood*. – 1994. – Vol. 84. – № 5. – P. 1361-1392.
4. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications / E. Campo, S. H. Swerdlow, N. L. Harris [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 117. – № 19. – P. 5019-5032. DOI: 10.1182/blood-2011-01-293050.
5. Besien, K. van. Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma: A Review of Pathology and Management / K. van Besien, M. Kelta, P. Bahaguna // *Journal of Clinical Oncology*. – 2001. – Vol. 19. – № 6. – P. 1855-1864. DOI: 10.1200/JCO.2001.19.6.1855.
6. Реаранжировки генов иммуноглобулинов в опухолевых клетках у пациентов с первичной медиастиальной (тимической) В-крупноклеточной лимфомой / Я. К. Мангасарова, Ю. В. Сидорова, А. У. Магомедова [и др.] // *Клиническая онкогематология*. – 2019. – Т. 12. – № 3. – С. 271–277. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-3-271-277.
7. A Probabilistic Classification Tool for Genetic Subtypes of Diffuse Large B Cell Lymphoma with Therapeutic Implications / G. W. Wright, D. W. Huang, J. D. Phelan [et al.] // *Cancer Cell*. – 2020. – Vol. 37. – № 4. – P. 551-568.e14. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.015.

8. Morin, R. D. Molecular profiling in diffuse large B-cell lymphoma: why so many types of subtypes? / R. D. Morin, S. E. Arthur, D. J. Hodson // *British Journal of Haematology*. – 2022. – Vol. 196. – № 4. – P. 814-829. DOI: 10.1111/bjh.17811.
9. Molecular Diagnosis of Primary Mediastinal B Cell Lymphoma Identifies a Clinically Favorable Subgroup of Diffuse Large B Cell Lymphoma Related to Hodgkin Lymphoma / A. Rosenwald, G. Wright, K. Leroy [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2003. – Vol. 198. – № 6. – P. 851-862. DOI: 10.1084/jem.20031074.
10. Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma / M. R. Green, S. Monti, S. J. Rodig [et al.] // *Blood*. – 2010. – Vol. 116. – № 17. – P. 3268-3277. DOI: 10.1182/blood-2010-05-282780.
11. Экстрamediастинальное поражение у больных первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомой / Я. К. Мангасарова, А. М. Ковригина, А. У. Магомедова [и др.] // *Онкогематология*. – 2018. – Т. 13. – № 3. – С. 220–226. DOI: 10.17650/1818–8346–2018-13-1-21-28.
12. Бабичева Л. Г. Гетерогенная диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома: правильный диагноз как залог успешной терапии / Л. Г. Бабичева, И. В. Поддубная // *Современная Онкология*. – 2023. – Т. 25. – № 2. – С. 168–177. DOI: 10.26442/18151434.2023.2.202237.
13. Multicenter Randomized Controlled (Comparative) Open Prospective Study to Evaluate The Efficacy of The R-DA-EPOCH-21 And R-mNHL-BFM-90 ± Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation Programs in Untreated Patients With De Novo Diffuse B-Cell Large Cell Lymphoma With Signs of Poor Prognosis-DLBCL-2015 Protocol / A. Magomedova, S. Kravchenko, A. Misyurina [et al.] // *Archives of Clinical Trials*. – 2022. – Vol. 2, № 3. – P. 1–10. DOI: 10.1097/01.HS9.0000847692.97408.4c.
14. Identification of Very Low-Risk Subgroups of Patients with Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma Treated with R-CHOP / T. P. Vassilakopoulos, M. Michail, S. Papageorgiou [et al.] // *The Oncologist*. – 2021. – Vol. 26. – № 7. – P. 597-609.

15. Positron emission tomography after response to rituximab-CHOP in primary mediastinal large B-cell lymphoma: impact on outcomes and radiotherapy strategies / T. P. Vassilakopoulos, S. G. Papageorgiou, M. K. Angelopoulou [et al.] // *Annals of Hematology*. – 2021. – Vol. 100. – № 9. – P. 2279-2292. DOI: 10.1007/s00277-021-04421-2.
16. Rice, T. W. The Superior Vena Cava Syndrome: Clinical Characteristics and Evolving Etiology / T. W. Rice, R. M. Rodriguez, R. W. Light // *Medicine*. – 2006. – Vol. 85. – № 1. – P. 37-42. DOI: 10.1097/01.md.0000198474.99876.f0.
17. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms / R. Alaggio, C. Amador, I. Anagnostopoulos [et al.] // *Leukemia*. – 2022. – Vol. 36. – № 7. – P. 1720-1748. DOI: 10.1038/s41375-022-01620-2.
18. Mediastinal large cell lymphoma: An uncommon subset of adult lymphoma curable with combined modality therapy / J. O. Jacobson, A. C. Aisenberg, L. Lamarre [et al.] // *Cancer*. – 1988. – Vol. 62. – № 9. – P. 1893-1898. DOI: 10.1002/1097-0142(19881101)62:9<1893::aid-cnrcr2820620904>3.0.co;2-x.
19. Primary mediastinal B-cell lymphoma with sclerosis: an aggressive tumor with distinctive clinical and pathologic features / M. Lazzarino, E. Orlandi, M. Paulli [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 1993. – Vol. 11. – № 12. – P. 2306-2313. DOI: 10.1200/JCO.1993.11.12.2306.
20. Первые результаты терапии первичной медиастиальной В-крупноклеточной лимфомы по программе R-DA-EPOCH - 21 / Я. К. Мангасарова, А. У. Магомедова, Е. С. Нестерова [и др.] // *Терапевтический архив*. – 2016. – Т. 88. – № 7. – С. 37–42.
21. Impact of Concordant and Discordant Bone Marrow Involvement on Outcome in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With R-CHOP / L. H. Sehn, D. W. Scott, M. Chhanabhai [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2011. – Vol. 29. – № 11. – P. 1452-1457.
22. Молекулярная диагностика первичной медиастиальной В-клеточной лимфомы и диффузной В-крупноклеточной лимфомы с первичным вовлечением

лимфоузлов средостения / Я. К. Мангасарова, А. В. Мисюрин, А. У. Магомедова [и др.] // Клиническая онкогематология. – 2011. – Т. 4. – № 2. С. 142–145.

23. CNS involvement in primary mediastinal large B-cell lymphoma / P.S. Bishop, D. Pearson, J. Janik [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 1999. – Vol. 17. – № 8. – P. 2479–2485. DOI: 10.1200/JCO.1999.17.8.2479.

24. Primary mediastinal B-cell lymphoma (PMBCL): The LYSA pragmatic guidelines / L. Renaud, M. Donzel, J. Decroocq [et al.] // European Journal of Cancer. – 2025. – Vol. 220. P. 115369. DOI: 10.1016/j.ejca.2025.115369.

25. Lymph node excisions provide more precise lymphoma diagnoses than core biopsies: a French Lymphopath network survey / C. Srykh, C. Chaouat, E. Pouillot [et al.] // Blood. – 2022. – Vol. 140. – № 24. – P. 2573-2583. DOI: 10.1182/blood.2022015520.

26. Molecular Characterization of Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphomas / M. Donzel, F. Pesce, A. Trecourt [et al.] // Cancers. – 2023. – Vol. 15. – № 19. – P. 4866. DOI: 10.3390/cancers15194866.

27. CD23 expression in mediastinal large B-cell lymphomas / M. Calaminici, K. Piper, A. M. Lee, A. J. Norton // Histopathology. – 2004. – Vol. 45. – № 6. – P. 619-624. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2004.01969.x.

28. Expression and Prognostic Significance of PD-L2 in Diffuse Large B-Cell Lymphoma / Q. Gu, J. Li, Z. Chen [et al.] // Frontiers in Oncology. – 2021. – Vol. 11. – P. 664032. DOI: 10.3389/fonc.2021.664032.

29. Expression pattern of PD -L1 and PD -L2 in classical Hodgkin lymphoma, primary mediastinal large B-cell lymphoma, and gray zone lymphoma / Y. Tanaka, A. M. Maeshima, J. Nomoto [et al.] // European Journal of Haematology. – 2018. – Vol. 100. – № 5. – P. 511-517. DOI: 10.1111/ejh.13033.

30. Outcomes after first-line immunochemotherapy for primary mediastinal B-cell lymphoma: a LYSA study / V. Camus, C. Rossi, P. Sesques [et al.] // Blood Advances. – 2021. – Vol. 5. – № 19. – P. 3862-3872. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021004778.

31. High PDL1/PDL2 gene expression correlates with worse outcome in primary mediastinal large B-cell lymphoma / V. Camus, P.J. Vially, F. Drieux [et al.] // Blood

Advances. – 2023. – Vol. 7. – № 23. – P. 7331-7345. DOI: 10.1182/bloodadvances.2023011169.

32. Immune checkpoints in B-cell Lymphoma: Still an Unmet challenge from Basic research to clinical practice / S. Li, Y. Pan, R. Ye [et al.] // International Immunopharmacology. – 2025. – Vol. 146. – P. 113717. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.113717.

33. Pophali, P. Immune checkpoint blockade in hematological malignancies: current state and future potential / P. Pophali, J. C. Varela, J. Rosenblatt // Frontiers in Oncology. – 2024. – Vol. 14. – P. 1323914. DOI: 10.3389/fonc.2024.1323914.

34. CTLA-4 promotes lymphoma progression through tumor stem cell enrichment and immunosuppression / Y. Chen, M. Li, J. Cao [et al.] // Open Life Sciences. – 2021. – Vol. 16. – № 1. – P. 909-919. DOI: 10.1515/biol.2021.0094.

35. The immunophenotypic spectrum of primary mediastinal large B-cell lymphoma reveals prognostic biomarkers associated with outcome / J. R. Bledsoe, R. A. Redd, R. P. Hasserjian [et al.] // American Journal of Hematology. – 2016. – Vol. 91. – № 10. – P. E436-E441.

36. The immunophenotypic spectrum of primary mediastinal large B-cell lymphoma reveals prognostic biomarkers associated with outcome / J. R. Bledsoe, R. A. Redd, R. P. Hasserjian [et al.] // American Journal of Hematology. – 2016. – Vol. 91. – № 10. – P. E436-E441. DOI: 10.1002/ajh.24485.

37. MAL Expression in Lymphoid Cells: Further Evidence for MAL as a Distinct Molecular Marker of Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphomas / C. Copie-Bergman, A. Plonquet, M. A. Alonso [et al.] // Modern Pathology. – 2002. – Vol. 15. – № 11. – P. 1172-1180. DOI: 10.1097/01.MP.0000032534.81894.B3.

38. Steidl, C. The molecular pathogenesis of primary mediastinal large B-cell lymphoma / C. Steidl, R. D. Gascoyne // Blood. – 2011. – Vol. 118. – № 10. – P. 2659-2669. DOI: 10.1182/blood-2011-05-326538.

39. MHC class II transactivator CIITA is a recurrent gene fusion partner in lymphoid cancers / C. Steidl, S. P. Shah, B. W. Woolcock [et al.] // Nature. – 2011. – Vol. 471. – № 7338. – P. 377-381. DOI: 10.1038/nature09754.

40. Molecular classification of primary mediastinal large B-cell lymphoma using routinely available tissue specimens / A. Mottok, G. Wright, A. Rosenwald [et al.] // *Blood*. – 2018. – Vol. 132. – № 22. – P. 2401-2405. DOI: 10.1182/blood.2018.05.851154.
41. Genomic analyses of PMBL reveal new drivers and mechanisms of sensitivity to PD-1 blockade / B. Chapuy, C. Stewart, A. J. Dunford [et al.] // *Blood*. – 2019. – Vol. 134. – № 26. – P. 2369-2382. DOI: 10.1182/blood.2019002067.
42. Genetic Characterization of Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma: Pathogenesis and Patient Outcomes / D. Noerenberg, F. Briest, C. Hennch [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2024. – Vol. 42. – № 4. – P. 452-466. DOI: 10.1200/JCO.23.01053.
43. Recurrent somatic mutations of PTPN1 in primary mediastinal B cell lymphoma and Hodgkin lymphoma / J. Gunawardana, F. C. Chan, A. Telenius [et al.] // *Nature Genetics*. – 2014. – Vol. 46. – № 4. – P. 329-335. DOI: 10.1038/ng.2900.
44. Recurrent mutations of the STAT6 DNA binding domain in primary mediastinal B-cell lymphoma / O. Ritz, C. Guiter, F. Castellano [et al.] // *Blood*. – 2009. – Vol. 114. – № 6. – P. 1236-1242. DOI: 10.1182/blood.2009.03.209759.
45. Somatic IL4R mutations in primary mediastinal large B-cell lymphoma lead to constitutive JAK-STAT signaling activation / E. Viganò, J. Gunawardana, A. Mottok [et al.] // *Blood*. – 2018. – Vol. 131. – № 18. – P. 2036-2046. DOI: 10.1182/blood.2017.09.808907.
46. Forlenza, C. J. Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma in Children and Young Adults / C. J. Forlenza, A. Chadburn, L. Giulino-Roth // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. – 2023. – Vol. 21. – № 3. – P. 323-330. DOI: 10.6004/jnccn.2023.7004.
47. Barr, P. M. Deregulation of NF- κ B, ie, a useful PMBL marker / P. M. Barr // *Blood*. – 2016. – Vol. 128. – № 23. – P. 2591-2592. DOI: 10.1182/blood.2016.10.743922.
48. Zhou, J. Primary Mediastinal Large B-cell Lymphoma: Diagnostic Challenges and Recent Advances / J. Zhou, H.Y. Wang // *Journal of Clinical and Translational Pathology*. – 2021. – Vol. 1, № 1. – P. 21–27. DOI: 10.14218/JCTP.2021.00008.
49. Combined Genetic Inactivation of β 2-Microglobulin and CD58 Reveals Frequent Escape from Immune Recognition in Diffuse Large B Cell Lymphoma / M. Challa-

Malladi, Y. K. Lieu, O. Califano [et al.] // *Cancer Cell*. – 2011. – Vol. 20. – № 6. – P. 728-740. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.11.006.

50. Detection of Aberrant CD58 Expression in a Wide Spectrum of Lymphoma Subtypes: Implications for Treatment Resistance / S. Younes, S. Zhao, S. Bharadwaj [et al.] // *Modern Pathology*. – 2023. – Vol. 36. – № 10. – P. 100256. DOI: 10.1016/j.modpat.2023.100256.

51. Inducible down-regulation of MHC class I results in natural killer cell tolerance / M. D. Bern, B. A. Parikh, L. Yang [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2019. – Vol. 216. – № 1. – P. 99-116. DOI: 10.1084/jem.20181076.

52. Характеристика цитогенетических и молекулярно-генетических нарушений гена СИТА у пациентов с первичной медиастинальной (тимической) В-крупноклеточной лимфомой / С.А. Кузнецова, В.Л. Сурин, Я.К. Мангасарова [и др.] // *Клиническая онкогематология*. – 2021. – Т. 14. – № 2. – С. 173-178. DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-2-173-178.

53. Major histocompatibility complex: antigen processing and presentation / P. Cruz-Tapias, J. M. Anaya, Y. Shoenfeld [et al.] // *Autoimmunity: from bench to bedside* / eds. J. M. Anaya, Y. Shoenfeld, A. Rojas-Villarraga. – Bogota : El Rosario University Press, 2013. – Chapter 10. – Текст : электронный ресурс. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459467/> (дата обращения: 30.03.2025).

54. Hazini, A. Deregulation of HLA-I in cancer and its central importance for immunotherapy / A. Hazini, K. Fisher, L. Seymour // *Journal for Immunotherapy of Cancer*. – 2021. – Vol. 9. – № 8. – P. e002899. DOI: 10.1136/jitc.2021.002899.

55. Roberts, R. A. Loss of major histocompatibility class II gene and protein expression in primary mediastinal large B-cell lymphoma is highly coordinated and related to poor patient survival / R. A. Roberts // *Blood*. – 2006. – Vol. 108. – № 1. – P. 311-318. DOI: 10.1182/blood.2006.01.003528.

56. Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy / D. Chowell, L. G. T. Morris, C. M. Grigg [et al.] // *Science*. – 2018. – Vol. 359. – № 6375. – P. 582-587. DOI: 10.1126/science.aao4572.

57. Addition of rituximab to CHOP-like chemotherapy in first line treatment of primary mediastinal B-cell lymphoma / K. Lisenko, G. Dingeldein, M. Cremer [et al.] // *BMC Cancer*. – 2017. – Vol. 17. – № 1. – P. 359. DOI: 10.1186/s12885-017-3332-3.
58. Rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisolone (R-CHOP) in the management of primary mediastinal B-cell lymphoma: a subgroup analysis of the UK NCRI R-CHOP 14 versus 21 trial / M. Gleeson, E. A. Hawkes, D. Cunningham [et al.] // *British Journal of Haematology*. – 2016. – Vol. 175. – № 4. – P. 668-672. DOI: 10.1111/bjh.14287.
59. Primary mediastinal B-cell lymphoma treated with CHOP-like chemotherapy with or without rituximab: results of the Mabthera International Trial Group study / M. Rieger, A. Österborg, R. Pettengell [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2011. – Vol. 22. – № 3. – P. 664-670. DOI: 10.1093/annonc/mdq418.
60. Outcome of primary mediastinal large B-cell lymphoma using R-CHOP: impact of a PET-adapted approach / A. R. Hayden, P. Tonseth, D. G. Lee [et al.] // *Blood*. – 2020. – Vol. 136. – № 24. – P. 2803-2811. DOI: 10.1182/blood.2019004296.
61. Savage, K. J. Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma / K. J. Savage // *The Oncologist*. – 2006. – Vol. 11. – № 5. – P. 488-495. DOI: 10.1634/theoncologist.11 5 488.
62. Primary mediastinal large B-cell lymphoma (PMLBCL): long-term results from a retrospective multicentre Italian experience in 138 patients treated with CHOP or MACOP-B/VACOP-B / G. Todeschini, S. Secchi, E. Morra [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2004. – Vol. 90. – № 2. – P. 372-376. DOI: 10.1038/sj.bjc.6601460 DOI: 10.1038/sj.bjc.6601460.
63. Induction chemotherapy strategies for primary mediastinal large B cell lymphoma with sclerosis: a retrospective multinational study on 426 previously untreated patients / P. L. Zinzani, M. Martelli, M. Bertini [et al.] // *Haematologica*. – 2002. – Vol. 87. – № 12. – P. 1258-1264. DOI: 10.1038/sj.bjc.6601460.
64. Dose-Adjusted EPOCH-Rituximab Therapy in Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma / K. Dunleavy, S. Pittaluga, L. S. Maeda [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2013. – Vol. 368. – № 15. – P. 1408-1416. DOI: 10.1056/NEJMoa1214561.

65. R-CHOP versus dose-adjusted R-EPOCH in frontline management of primary mediastinal B-cell lymphoma: a multi-centre analysis / N. N. Shah, A. Szabo, S. F. Huntington [et al.] // *British Journal of Haematology*. – 2018. – Vol. 180. – № 4. – P. 534-544. DOI: 10.1111/bjh.15051.
66. Клинические рекомендации. Агрессивные нефолликулярные лимфомы: диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности с перестройкой генов с-МУС и BCL2/BCL6, первичная медиастинальная В-клеточная лимфома, медиастинальная лимфома серой зоны, лимфома Беркитта, плазмобластная лимфома /Е. Н. Паровичникова, И. В. Поддубная, О. В. Левковский, С. Р. Варфоломеева. – 2024. – С. 44–46.
67. NCCN Guidelines® Insights: B-Cell Lymphomas, Version 6.2023: Featured Updates to the NCCN Guidelines / A. D. Zelenetz, L. I. Gordon, J. S. Abramson [et al.] // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. – 2023. – Vol. 21. – № 11. – P. 1118-1131. DOI: 10.6004/jnccn.2023.0057.
68. Ответ-адаптированная стратегия терапии первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы: результаты проспективного одноцентрового клинического исследования / Я. К. Мангасарова, Р. Р. Абдурашидова, А. У. Магомедова [и др.] // *Клиническая онкогематология*. – 2024. – Т. 17. – № 4. – С. 335–346. DOI: 10.21320/2500-2139-2024-17-4-335-346.
69. Outcomes of Patients with Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma Refractory or Relapsed after Frontline R-EPOCH Chemotherapy / J. Bakos, S. Escribano Serrat, Y. Sawalha [et al.] // *Blood*. – 2023. – Vol. 142. – № Suppl. 1. – P. 3110-3110. DOI: 10.1182/blood.2023.178740.
70. Hang, H. Prognostic factors and clinical survival outcome in patients with primary mediastinal diffuse large B-cell lymphoma in rituximab era: A population-based study / H. Hang, H. Zhou, L. Ma // *Medicine*. – 2024. – Vol. 103. – № 8. – P. e37238. DOI: 10.1097/MD.00000000000037238.
71. Treatment of primary mediastinal B-cell lymphoma with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone is associated with a high rate of primary refractory disease / J. D. Soumerai, M. D. Hellmann, Y. Feng [et al.] //

Leukemia & Lymphoma. – 2014. – Vol. 55. – № 3. – P. 538-543. – DOI: 10.3109/10428194.2013.810738.

72. Incidence and risk factors for central nervous system relapse in patients with primary mediastinal large B-cell lymphoma in the rituximab era / T. P. Vassilakopoulos, F. Panitsas, Z. Mellios [et al.] // Hematological Oncology. – 2023. – Vol. 41. – № 1. – P. 97-107. DOI: 10.1002/hon.3096.

73. Pathobiology of Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma / S. A. Pileri, P. L. Zinzani, G. Gaidano [et al.] // Leukemia & Lymphoma. – 2003. – Vol. 44. – № Suppl. 3. – P. S21-S26. DOI: 10.1080/10428190310001623810.

74. Major impact of prognosis by age and sex in patients with primary mediastinal large B-cell lymphoma / H.-J. Shih, M.-C. Kuo, T.-L. Lin [et al.] // Oncology Letters. – 2023. – Vol. 27. – № 2. – P. 57. DOI: 10.3892/ol.2023.14190.

75. Pembrolizumab in Relapsed or Refractory Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma: Final Analysis of KEYNOTE-170 / P. L. Zinzani, C. Thieblemont, V. Melnichenko [et al.] // Blood Journal. – 2023. – Vol. 142. – № 2. – P. 141-145. DOI: 10.1182/blood.2022019340.

76. Matsutani, T. Editorial: Novel biomarkers in tumor immunity and immunotherapy / T. Matsutani, E. Akbay, E. Elkord // Frontiers in Immunology. – 2024. – Vol. 15. – Editorial. – P. 1405082. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1405082.

77. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy / S. L. Topalian, J. M. Taube, R. A. Anders, D. M. Pardoll // Nature Reviews Cancer. – 2016. – Vol. 16. – № 5. – P. 275-287. DOI: 10.1038/nrc.2016.36..

78. Sunshine, J. PD-1/PD-L1 inhibitors / J. Sunshine, J. M. Taube // Current Opinion in Pharmacology. – 2015. – Vol. 23. – P. 32-38. DOI: 10.1016/j.coph.2015.05.011.

79. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer / N. A. Rizvi, M. D. Hellmann, A. Snyder [et al.] // Science. – 2015. – Vol. 348. – № 6230. – P. 124-128. DOI: 10.1126/science.aaa1348.

80. Development of tumor mutation burden as an immunotherapy biomarker: utility for the oncology clinic / T. A. Chan, M. Yarchoan, E. Jaffee [et al.] // Annals of Oncology. – 2019. – Vol. 30. – № 1. – P. 44-56. DOI: 10.1093/annonc/mdy495.

81. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade / D. T. Le, J. N. Durham, K. N. Smith [et al.] // *Science*. – 2017. – Vol. 357. – № 6349. – P. 409-413. DOI: 10.1126/science.aan6733.
82. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair–Deficient/Microsatellite Instability–High Metastatic Colorectal Cancer / M. J. Overman, S. Lonardi, K. Y. M. Wong [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2018. – Vol. 36. – № 8. – P. 773-779. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.9901.
83. 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. – № 7528. – P. 568-571. DOI: 10.1038/nature13954.
84. B2M gene expression shapes the immune landscape of lung adenocarcinoma and determines the response to immunotherapy / Y. Zhao, Y. Cao, Y. Chen [et al.] // *Immunology*. – 2021. – Vol. 164. – № 3. – P. 507-523. DOI: 10.1111/imm.13384.
85. Impaired HLA Class I Antigen Processing and Presentation as a Mechanism of Acquired Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors in Lung Cancer / S. Gettinger, J. Choi, K. Hastings [et al.] // *Cancer Discovery*. – 2017. – Vol. 7. – № 12. – P. 1420-1435. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-0593.
86. Negrini, S. Genomic instability — an evolving hallmark of cancer / S. Negrini, V. G. Gorgoulis, T. D. Halazonetis // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2010. – Vol. 11. – № 3. – P. 220-228. DOI: 10.1038/nrm2858.
87. Subramanian, S. Genome-wide analysis of microsatellite repeats in humans: their abundance and density in specific genomic regions / S. Subramanian, R. K. Mishra, L. Singh // *Genome Biology*. – 2003. – Vol. 4. – № 2. – P. R13. DOI: 10.1186/gb-2003-4-2-r13.
88. Characterization and distribution of repetitive elements in association with genes in the human genome / K.-C. Liang, J. T. Tseng, S.-J. Tsai, H. S. Sun // *Computational Biology and Chemistry*. – 2015. – Vol. 57. – P. 29-38. DOI: 10.1016/j.compbiolchem.2015.02.007.

89. Multicancer analyses of short tandem repeat variations reveal shared gene regulatory mechanisms / F. Xia, M. A. Verbiest, O. Lundström [et al.] // *Briefings in Bioinformatics*. – 2025. – Vol. 26. – № 3. – P. bbaf219. DOI: 10.1093/bib/bbaf219.
90. Gymrek, M. A genomic view of short tandem repeats / M. Gymrek // *Current Opinion in Genetics & Development*. – 2017. – Vol. 44. – P. 9-16. DOI: 10.1016/j.gde.2017.01.012.
91. Анализ микросателлитной нестабильности при первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфоме: фокус на PD-L1/PD-L2 и СИТА / Р. Р. Абдурашидова, Н. В. Рисинская, Я. К. Мангасарова [и др.] // *Гематология и трансфузиология*. – 2024. Т. 69. – № 3. – С. 297–318. DOI: 10.35754/0234 5730 2024 69 3 297 318.
92. Simple sequence repeats: genetic modulators of brain function and behavior / J. W. Fondon, E. A. D. Hammock, A. J. Hannan, D. G. King // *Trends in Neurosciences*. – 2008. – Vol. 31. – № 7. – P. 328-334. DOI: 10.1016/j.tins.2008.03.006.
93. Abundant contribution of short tandem repeats to gene expression variation in humans / M. Gymrek, T. Willems, A. Guilmatre [et al.] // *Nature Genetics*. – 2016. – Vol. 48. – № 1. – P. 22-29. DOI: 10.1038/ng.3461.
94. Polymorphic tandem repeats within gene promoters act as modifiers of gene expression and DNA methylation in humans / J. Quilez, A. Guilmatre, P. Garg [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2016. – Vol. 44. – № 8. – P. 3750-3762. DOI: 10.1093/nar/gkw219.
95. Expanded GGGGCC Hexanucleotide Repeat in Noncoding Region of C9ORF72 Causes Chromosome 9p-Linked FTD and ALS / M. DeJesus-Hernandez, I. R. Mackenzie, B. F. Boeve [et al.]. // *Neuron*. – 2011. – Vol. 72. – № 2. – P. 245-256. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.09.011.
96. A Hexanucleotide Repeat Expansion in C9ORF72 Is the Cause of Chromosome 9p21-Linked ALS-FTD / A. E. Renton, E. Majounie, A. Waite [et al.] // *Neuron*. – 2011. – Vol. 72. – № 2. – P. 257-268. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.09.010.

97. Budowle, B. Short tandem repeats — how microsatellites became the currency of forensic genetics / B. Budowle, A. Sajantila // *Nature Reviews Genetics*. – 2024. – Vol. 25. – № 7. – P. 450-451. DOI: 10.1038/s41576 024 00721 1.
98. Abebe, B. Exploring the Role of Short Tandem Repeats (STR) in Forensic Biotechnology: Challenges and Innovations / B. Abebe, T. Mitiku, N. Birhane // *International Journal of Biochemistry, Biophysics & Molecular Biology*. – 2024. – Vol. 9. – № 2. – P. 42-49. DOI: 10.11648/j.ijbbmb.20240902.12.
99. Wyner, N. Forensic Autosomal Short Tandem Repeats and Their Potential Association With Phenotype / N. Wyner, M. Barash, D. McNevin // *Frontiers in Genetics*. – 2020. – Vol. 11. – P. 884. DOI: 10.3389/fgene.2020.00884.
100. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток пациентам с множественной миеломой / М. В. Фирсова, Л. П. Менделеева, Е. Н. Паровичникова [и др.] // *Терапевтический архив*. – 2021. – Т. 93. – № 7. – С. 778–784. DOI: 10.26442/00403660.2021.07.200929.
101. The clinical utility of microsatellite instability in colorectal cancer / Z. Diao, Y. Han, Y. Chen [et al.] // *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. – 2021. – Vol. 157. – P. 103171. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2020.103171.
102. Genetic Instability Caused by Loss of MutS Homologue 3 in Human Colorectal Cancer / A. C. Haugen, A. Goel, K. Yamada [et al.] // *Cancer Research*. – 2008. – Vol. 68. – № 20. – P. 8465-8472. DOI: 10.1158/0008 5472.CAN 08 0002.
103. A Highly Sensitive Pan-Cancer Test for Microsatellite Instability / J. W. Bacher, E. B. Udho, E. E. Strauss [et al.] // *The Journal of Molecular Diagnostics*. – 2023. – Vol. 25. – № 11. – P. 806-826. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2023.07.003.
104. Comprehensive analysis of indels in whole-genome microsatellite regions and microsatellite instability across 21 cancer types / A. Fujimoto, M. Fujita, T. Hasegawa [et al.] // *Genome Research*. – 2020. – Vol. 30. – № 3. – P. 334-346. DOI: 10.1101/gr.255026.119.
105. Role of Microsatellite Instability as Pan-Cancer Agnostic Marker of Solid Tumours in Personalized Medicine / A. K. Kaler, S. Fatima, O. Dhurat [et al.] // *Current Tissue*

Microenvironment Reports. – 2024. – Vol. 5. – № 3. – P. 69-77. DOI: 10.1007/s43152-024-00054-5.

106. Применение метода коротких tandemных повторов для аутентификации клеточных линий / М. Д. Хорольский, И. С. Семенова, Е. В. Мельникова, Ю. В. Олефир // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2019. – Т. 19. – № 4. – С. 251–260. DOI:10.30895/2221-996X-2019-19-4-251-260.

107. Оценка размера ДНК-мишени для эффективности измерения химеризма в циркулирующей свободной ДНК / Е. Е. Никулина, Н. В. Рисинская, О. Е. Дубова [и др.] // Трансплантология. – 2024. – Т. 16. – № 4. – С. 458–472. DOI: 10.23873/2074-0506-2024-16-4-458-472.

108. PB1954: COMPARING STR PROFILES OF DNA ISOLATED FROM DIVERSE TUMOR SITES IN MULTIPLE MYELOMA / M. Firsova, N. Risinskaya, E. Nikulina [et al.] // HemaSphere. – 2022. – Vol. 6. – № Suppl. 1. – P. 1827-1828. DOI: 10.1097/01.HS9.0000850652.89879.f4.

109. PB1836: LOSS OF HETEROZYGOSITY IN AML PATIENTS WITH INV (16) / D. Bessmertniy, Z. Fidarova, I. Lukyanova [et al.] // HemaSphere. – 2023. – Vol. 7. – № Suppl. 3. – P. e20522c4. DOI: 10.1097/01.HS9.0000974188.20522.c4.

110. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types / R. J. Hause, C. C. Pritchard, J. Shendure, S. J. Salipante // Nature Medicine. – 2016. – Vol. 22. – № 11. – P. 1342-1350. DOI: 10.1038/nm.4191.

111. Boland, C. R. Microsatellite Instability in Colorectal Cancer / C. R. Boland, A. Goel // Gastroenterology. – 2010. – Vol. 138. – № 6. – P. 2073-2087.e3. DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.064.

112. Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome) and Microsatellite Instability / A. Umar, C. R. Boland, J. P. Terdiman [et al] // JNCI Journal of the National Cancer Institute. – 2004. – Vol. 96. – № 4. – P. 261-268. DOI: 10.1093/jnci/djh034.

113. Landscape of Microsatellite Instability Across 39 Cancer Types / R. Bonneville, M. A. Krook, E. A. Kautto [et al] // JCO Precision Oncology. – 2017. – № 1. – P. 1-15. DOI: 10.1200/PO.17.00073.

114. Comprehensive Characterization of Cancer Driver Genes and Mutations / M. H. Bailey, C. Tokheim, E. Porta-Pardo [et al.] // *Cell*. – 2018. – Vol. 173. – № 2. – P. 371-385.e18. DOI: 10.1016/j.cell.2018.02.060.
115. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency / D. T. Le, J. N. Uram, H. Wang [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2015. – Vol. 372. – № 26. – P. 2509-2520. DOI: 10.1056/NEJMoa1500596.
116. Detecting mismatch repair deficiency in solid neoplasms: immunohistochemistry, microsatellite instability, or both? / C. Wang, L. Zhang, E. Vakiani, J. Shia // *Modern Pathology*. – 2022. – Vol. 35. – № 11. – P. 1515-1528. DOI: 10.1038/s41379-022-01109-4.
117. Analysis of Concordance Between Next-Generation Sequencing Assessment of Microsatellite Instability and Immunohistochemistry-Mismatch Repair From Solid Tumors / R. Ali-Fehmi, H. B. Krause, R. T. Morris [et al.] // *JCO Precision Oncology*. – 2024. – № 8. – P. e2300648. DOI: 10.1200/PO.23.00648.
118. MSIsensor: microsatellite instability detection using paired tumor-normal sequence data / B. Niu, K. Ye, Q. Zhang [et al.] // *Bioinformatics*. – 2014. – Vol. 30. – № 7. – P. 1015-1016. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt755.
119. Recommendations for the Care of Individuals With an Inherited Predisposition to Lynch Syndrome: A Systematic Review / N. M. Lindor, G. M. Petersen, D. W. Hadley [et al.] // *JAMA*. – 2006. – Vol. 296. – № 12. – P. 1507. DOI: 10.1001/jama.296.12.1507.
120. Multipopulation Analysis of Polymorphisms in Five Mononucleotide Repeats Used to Determine the Microsatellite Instability Status of Human Tumors / O. Buhard, F. Cattaneo, Y. F. Wong [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2006. – Vol. 24. – № 2. – P. 241-251. DOI: 10.1200/JCO.2005.02.7227.
121. Vilar, E. Microsatellite instability in colorectal cancer—the stable evidence / E. Vilar, S. B. Gruber // *Nature Reviews Clinical Oncology*. – 2010. – Vol. 7. – № 3. – P. 153-162. DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.237.
122. Микросателлитная нестабильность (MSI, EMAST) в патогенезе фолликулярной лимфомы / К. А. Сычевская, С. К. Кравченко, Н. В. Рисинская [и

др.] // Онкогематология. – 2021. – Т. 16. – № 2. – С. 56–69. DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-2-56-69.

123. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition / T. S. Boland, S. N. Thibodeau, S. R. Hamilton [et al.] // *Cancer research*. – 1998. – Vol. 58. – № 22. – P. 5248-5257.

124. Detection of microsatellite instability in endometrial cancer: advantages of a panel of five mononucleotide repeats over the National Cancer Institute panel of markers / Y. F. Wong, T. H. Cheung, K. W. K. Lo [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2006. – Vol. 27. – № 5. – P. 951-955. DOI: 10.1093/carcin/bgi333.

125. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR / N. Suraweera, A. Duval, M. Reperant [et al.] // *Gastroenterology*. – 2002. – Vol. 123. – № 6. – P. 1804-1811. DOI: 10.1053/gast.2002.37070.

126. Deciphering Elevated Microsatellite Alterations at Selected Tetra/Pentanucleotide Repeats, Microsatellite Instability, and Loss of Heterozygosity in Colorectal Cancers / Y. Wang, C. L. Vnencak-Jones, J. M. Cates, C. Shi. // *The Journal of Molecular Diagnostics*. – 2018. – Vol. 20. – № 3. – P. 366-372. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2018.02.001.

127. MSI-L/EMAST is a predictive biomarker for metastasis in colorectal cancer patients / A. Torshizi Esfahani, S. Y. Seyedna, E. Nazemalhosseini Mojarad [et al.] // *Journal of Cellular Physiology*. – 2019. – Vol. 234. – № 8. – P. 13128-13136. DOI: 10.1002/jcp.27983.

128. Carethers, J. EMAST is a Form of Microsatellite Instability That is Initiated by Inflammation and Modulates Colorectal Cancer Progression / J. Carethers, M. Koi, S. Tseng-Rogenski // *Genes*. – 2015. – Vol. 6. – № 2. – P. 185-205. DOI: 10.3390/genes6020185.

129. Yarchoan, M. Tumor Mutational Burden and Response Rate to PD-1 Inhibition / M. Yarchoan, A. Hopkins, E. M. Jaffee // *New England Journal of Medicine*. – 2017. – Vol. 377. – № 25. – P. 2500-2501. DOI: 10.1056/NEJMc1713444.

130. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden:

a systematic review-based approach / C. Luchini, F. Bibeau, M. J. L. Ligtenberg [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2019. – Vol. 30. – № 8. – P. 1232-1243. DOI: 10.1093/annonc/mdz116.

131. Neoantigens: promising targets for cancer therapy / N. Xie, G. Shen, W. Gao [et al.] // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2023. – Vol. 8. – № 1. – P. 9. DOI: 10.1038/s41392-023-01480-5.

132. Guan, J. DNA mismatch repair in cancer immunotherapy / J. Guan, G.-M. Li // *NAR Cancer*. – 2023. – Vol. 5. – № 3. – P. zcad031. DOI: 10.1093/narcan/zcad031.

133. Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma: Novel Precision Therapies and Future Directions / H. Chen, T. Pan, Y. He [et al.] // *Frontiers in Oncology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 654854. DOI: 10.3389/fonc.2021.654854.

134. ABCL-371 STR Loci Allele Imbalance at 9p24.1 in Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma / R. Abdurashidova, N. Risinskaya, Y. Mangasarova [et al.] // *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*. – 2022. – Vol. 22. – № Suppl. 374. DOI: 10.1016/S2152-2650(22)01531-2.

135. Mismatch Repair Pathway, Genome Stability and Cancer / N. Pećina-Šlaus, A. Kafka, I. Salamon, A. Bukovac // *Frontiers in Molecular Biosciences*. – 2020. – Vol. 7. – P. 122. DOI: 10.3389/fmolb.2020.00122.

136. Raeker, M. O. Immunological Features with DNA Microsatellite Alterations in Patients with Colorectal Cancer / M. O. Raeker, J. M. Carethers // *Journal of Cancer Immunology*. – 2020. – Vol. 2. – № 3. – P. 116-127. DOI: 10.33696/cancerimmunol.2.024.

137. Watson, M. M. C. Prevalence and implications of elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotides in cancer / M. M. C. Watson, M. Berg, K. Søreide // *British Journal of Cancer*. – 2014. – Vol. 111. – № 5. – P. 823-827. DOI: 10.1038/bjc.2014.404.

138. Microsatellite Instability at Selected Tetranucleotide Repeats Is Associated with p53 Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer1 / S. A. Ahrendt, P. A. Decker, K. Doffek [et al.] // *Cancer Research*. – 2000. – Vol. 60. – № 9. – P. 2488-2491. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-00-0297.

139. MSH3-Deficiency Initiates EMAST without Oncogenic Transformation of Human Colon Epithelial Cells / C. Campregher, G. Schmid, F. Ferik [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7. – № 11. – P. e50541. DOI: 10.1371/journal.pone.0050541.
140. Payseur, B. A. A Genomic Portrait of Human Microsatellite Variation / B. A. Payseur, P. Jing, R. J. Haas // Molecular Biology and Evolution. – 2011. – Vol. 28. – № 1. – P. 303-312. DOI: 10.1093/molbev/msq208.
141. Identification and Selective Degradation of Neopeptide-Containing Truncated Mutant Proteins in the Tumors with High Microsatellite Instability / W. K. Kim, M. Park, M. Park [et al.] // Clinical Cancer Research. – 2013. – Vol. 19. – № 13. – P. 3369-3382. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2465.
142. Tan, K. Nonsense-mediated RNA decay: an emerging modulator of malignancy / K. Tan, D. G. Stupack, M. F. Wilkinson // Nature Reviews Cancer. – 2022. – Vol. 22. – № 8. – P. 437-451. DOI: 10.1038/s41568-022-00461-z.
143. Differential nonsense mediated decay of mutated mRNAs in mismatch repair deficient colorectal cancers / J. El-Bchiri, O. Buhard, V. Penard-Lacronique [et al.] // Human Molecular Genetics. – 2005. – Vol. 14. – № 16. – P. 2435-2442. DOI: 10.1093/hmg/ddi247.
144. Immune Response Against Frameshift-Induced Neopeptides in HNPCC Patients and Healthy HNPCC Mutation Carriers / Y. Schwitalle, M. Kloor, S. Eiermann [et al.] // Gastroenterology. – 2008. – Vol. 134. – № 4. – P. 988-997. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.012.
145. Devilee, P. Ever since Knudson / P. Devilee, A.-M. Cleton-Jansen, C. J. Cornelisse // Trends in Genetics. – 2001. – Vol. 17. – № 10. – P. 569-573. DOI: 10.1016/S01689525(01)024167.
146. Loss of heterozygosity as a predictor to map tumor suppressor genes in cancer: molecular basis of its occurrence: / S. Thiagalingam, R. L. Foy, K. Cheng [et al.] // Current Opinion in Oncology. – 2002. – Vol. 14. – № 1. – P. 65-72. DOI: 10.1097/00001622-200201000-00012.
147. Interhomolog recombination and loss of heterozygosity in wild-type and Bloom syndrome helicase (BLM)-deficient mammalian cells / J. R. LaRocque, J. M. Stark, J. Oh

[et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2011. – Vol. 108. – № 29. – P. 11971-11976. DOI: 10.1073/pnas.1104421108.

148. Tuna, M. Uniparental disomy in cancer / M. Tuna, S. Knuutila, G. B. Mills // Trends in Molecular Medicine. – 2009. – Vol. 15. – № 3. – P. 120-128. DOI: 10.1016/j.molmed.2009.01.005.

149. Radiation-Induced DNA Damage Cooperates with Heterozygosity of TP53 and PTEN to Generate High-Grade Gliomas / P. K. Todorova, E. Fletcher-Sananikone, B. Mukherjee [et al.] // Cancer Research. – 2019. – Vol. 79. – № 14. – P. 3749-3761. DOI: 10.1158/0008 5472.CAN 19 0680.

150. CDKN2A/B Homozygous Deletions in Astrocytomas: A Literature Review / A. Yuile, L. Satgunaseelan, J. Q. Wei [et al.] // Current Issues in Molecular Biology. – 2023. – Vol. 45. – № 7. – P. 5276-5292. DOI: 10.3390/cimb45070335.

151. Drivers of genomic loss of heterozygosity in leiomyosarcoma are distinct from carcinomas / N. D. Seligson, J. Tang, D. X. Jin [et al.] // npj Precision Oncology. – 2022. – Vol. 6. – № 1. – P. 29. DOI: 10.1038/s41698-022-00271-x.

152. Knudson, A. G. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma / A. G. Knudson // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1971. – Vol. 68. – № 4. – P. 820-823.

153. Loss of heterozygosity at a second locus on chromosome 11 in sporadic Wilms tumor cells / A. E. Reeve, S. A. Sih, A. M. Raizis, A. P. Feinberg // Molecular cell biology. – 1989. – Vol. 9. – № 4. – P. 1799-803. DOI: 10.1128/mcb.9.4.1799-1803.1989.

154. Loss of heterozygosity in sporadic primary cutaneous melanoma / E. Healy, I. Rehman, B. Angus, J. L. Rees // Genes, Chromosomes & Cancer. – 1995. – Vol. 12. – № 2. – P. 152-156. DOI: 10.1002/gcc.2870120211.

155. Loss of heterozygosity for the short arm of chromosome 1 in human neuroblastomas: correlation with N-myc amplification / C. T. Fong, N. C. Dracopoli, P. S. White [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1989. – Vol. 86. – № 10. – P. 3753-3757. DOI: 10.1073/pnas.86.10.3753.

156. Loss of heterozygosity of chromosome 8 microsatellite loci implicates a candidate tumor suppressor gene between loci D8S87 and D8S133 in human prostate cancer / J.

Trapman, H. F. Sleddens, M. M. van der Weiden [et al.] // *Cancer research*. – 1994. – Vol. 54. – № 23. – P. 6061-6064.

157. A two hit model for developmental defects in Gorlin syndrome / S. Levanat, R. J. Gorlin, S. Fallet S [et al.] // *Nature Genet*. – 1996. – Vol. 12. – № 1. – P. 85-87. DOI: 10.1038/ng0196-85.

158. Loss of heterozygosity occurs at the D11S29 locus on chromosome 11q23 in invasive cervical carcinoma / P. B. Bethwaite, J. Koreth, C. S. Herrington, J. O. McGee // *British Journal of Cancer*. – 1995. – Vol. 71. – № 4. – P. 814–818. DOI: 10.1038/bjc.1995.157.

159. High resolution mapping of chromosome 6 deletions in cervical cancer / N. Mazurenko, M. Attaleb, T. Gritsko [et al.] // *Oncology Reports*. – 1999. – Vol. 6. – № 4. – P. 859-963. DOI: 10.3892/or.6.4.859.

160. Loss of heterozygosity: what is it good for? / G. L. Ryland, M. A. Doyle, D. Goode [et al.] // *BMC Med Genomics*. – 2015. – Vol. 8. – P. 45. DOI: 10.1186/s12920-015-0123-z.

161. Zhang, X. Targeting Loss of Heterozygosity: A Novel Paradigm for Cancer Therapy / X. Zhang, T. Sjöblom // *Pharmaceuticals*. – 2021. – Vol. 14. – № 1. – P. 57. DOI: 10.3390/ph14010057.

162. Systematic reanalysis of copy number losses of uncertain clinical significance / G. J. Burghel, J. M. Ellingford, R. Wright [et al.] // *Journal of Medical Genetics*. – 2024. – Vol. 61. – № 7. – P. 621-625. DOI: 10.1136/jmg.2023.109559.

163. O’Keefe, C. Copy neutral loss of heterozygosity: a novel chromosomal lesion in myeloid malignancies / C. O’Keefe, M. A. McDevitt, J. P. Maciejewski // *Blood*. – 2010. – Vol. 115. – № 14. – P. 2731-2739. DOI: 10.1182/blood.2009.10.201848.

164. Engel, E. A new genetic concept: Uniparental disomy and its potential effect, isodisomy / E. Engel // *American Journal of Medical Genetics*. – 1980. – Vol. 6. – A new genetic concept. – № 2. – P. 137-143. DOI: 10.1002/ajmg.1320060207.

165. Lapunzina, P. The consequences of uniparental disomy and copy number neutral loss-of-heterozygosity during human development and cancer / P. Lapunzina, D. Monk // *Biology of the Cell*. – 2011. – Vol. 103. – № 7. – P. 303-317. DOI: 10.1042/BC20110013.

166. Makishima, H. Pathogenesis and Consequences of Uniparental Disomy in Cancer / H. Makishima, J. P. Maciejewski // *Clinical Cancer Research*. – 2011. – Vol. 17. – № 12. – P. 3913-3923. DOI: 10.1158/1078 0432.CCR 10 2900.
167. Clinical significance and mechanisms associated with segmental UPD / P. R. Papenhausen, C. A. Kelly, S. Harris [et al.] // *Molecular Cytogenetics*. – 2021. – Vol. 14. – № 1. – P. 38. DOI: 10.1186/s13039-021-00555-0.
168. Eckert, K. A. Every microsatellite is different: Intrinsic DNA features dictate mutagenesis of common microsatellites present in the human genome / K. A. Eckert, S. E. Hile // *Molecular Carcinogenesis*. – 2009. – Vol. 48. – № 4. – P. 379-388. DOI: 10.1002/mc.20499.
169. Loss of heterozygosity detected in a short tandem repeat (STR) locus commonly used for human DNA identification / R. J. Rubocki, K. J. Duffy, K. L. Shepard // *Journal of Forensic Sciences*. – 2000. – Vol. 45. – № 5. – P. 1087-1089. DOI: 10.1520/JFS14834J.
170. Utility of Circulating Cell-Free DNA in Assessing Microsatellite Instability and Loss of Heterozygosity in Breast Cancer Using Human Identification Approach / N. A. Al Sharhan, S. A. Messaoudi, S. R. Babu [et al.] // *Genes*. – 2022. – Vol. 13. – № 4. – P. 590. DOI: 10.3390/genes13040590.
171. Loss of heterozygosity (LOH)--implications for human genetic identification / W. Pepiński, I. Sołtyszewski, M. Skawrońska [et al.] // *Folia Histochemica et Cytobiologica*. – 2009. – Vol. 47. – № 1. – P. 105-110. DOI: 10.2478/v10042 009 0019 x.
172. Cui, Z. LOH Detected by Microsatellite Markers Reveals the Clonal Origin of Recurrent Laryngeal Squamous Cell Carcinoma / Z. Cui, X. Pan, Q. Wang // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – № 11. – P. e111857. DOI: 10.1371/journal.pone.0111857.
173. Loss of Heterozygosity in the Tumor DNA of De Novo Diagnosed Patients Is Associated with Poor Outcome for B-ALL but Not for T-ALL / N. Risinskaya, Y. Kozhevnikova, O. Gavrilina [et al.] // *Genes*. – 2022. – Vol. 13. – № 3. – P. 398. DOI: 10.3390/genes13030398.
174. Short, E. The role of inherited genetic variants in colorectal polyposis syndromes / E. Short, J. Sampson // *Advances in Genetics*. – 2019. – Vol. 103. – P. 183-217. DOI: 10.1016/bs.adgen.2018.11.002.

175. Assessing copy number aberrations and copy neutral loss of heterozygosity across the genome as best practice: An evidence based review of clinical utility from the cancer genomics consortium (CGC) working group for myelodysplastic syndrome, myelodysplastic/myeloproliferative and myeloproliferative neoplasms / R. Kanagal-Shamanna, J. C. Hodge, T. Tucker [et al.] // *Cancer Genetics*. – 2018. – Vols. 228-229. – P. 197-217. DOI: 10.1016/j.cancergen.2018.07.003.
176. High-resolution structural variant profiling of myelodysplastic syndromes by optical genome mapping uncovers cryptic aberrations of prognostic and therapeutic significance / H. Yang, G. Garcia-Manero, K. Sasaki [et al.] // *Leukemia*. – 2022. – Vol. 36. – № 9. – P. 2306-2316. DOI: 10.1038/s41375-022-01652-8.
177. Maletzki, C. Microsatellite instability in hematological malignancies: Hypermutation vs. immune control—who is challenging who? / C. Maletzki, S. Stier, M. Linnebacher // *OncoImmunology*. – 2013. – Vol. 2. – № 8. – P. e25419. DOI: 10.4161/onci.25419.
178. Frameshift-derived neoantigens constitute immunotherapeutic targets for patients with microsatellite-unstable haematological malignancies / C. Maletzki, F. Schmidt, W. G. Dirks [et al.] // *European Journal of Cancer*. – 2013. – Vol. 49. – № 11. – P. 2587-2595. DOI: 10.1016/j.ejca.2013.03.022.
179. Анализ вариантов нестабильности микросателлитных повторов и потери гетерозиготности у пациентов с фолликулярной лимфомой, диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой и В-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности / К. А. Сычевская, А. Е. Мисюрина, Е. Е. Никулина [и др.] // *Онкогематология*. – 2022. – Т. 17. – № 2. – С. 60–74. DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-2-60-74.
180. Сычевская, К. А. Клиническое значение молекулярных маркеров нестабильности генома опухолевых клеток у больных В-клеточными лимфомами: специальность 3.1.28: дис. ... канд. мед. наук / Ксения Андреевна Сычевская. – М., 2020. – 153 с.
181. Классификация ВОЗ опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей / Д. В.

- Барам, З. П. Асауленко, И. Н. Спиридонов, Ю. А. Криволапов // Архив патологии. – 2023. – Т. 85. – № 4. – С. 24–31. DOI: 10.17116/patol202385504124.
182. A simple and efficient method for DNA extraction from skin and paraffin-embedded tissues applicable to T-cell clonality assays / J. V. Sidorova, B. V. Biderman, E. E. Nikulina, A. B. Sudarikov // *Experimental Dermatology*. – 2012. – Vol. 21. – № 1. – P. 57-60. DOI: 10.1111/j.1600 0625.2011.01375.x.
183. Guidelines for genomic array analysis in acquired haematological neoplastic disorders / J. Schoumans, J. Suela, R. Hastings [et al.] // *Genes, Chromosomes and Cancer*. – 2016. – Vol. 55. – № 5. – P. 480-491. DOI: 10.1002/gcc.22350.
184. Microsatellite instability and its associations with the clinicopathologic characteristics of diffuse large B-cell lymphoma / T. Tian, J. Li, T. Xue [et al.] // *Cancer Medicine*. – 2020. – Vol. 9. – № 7. – P. 2330-2342. DOI: 10.1002/cam4.2870.
185. Detailed characterization of a homozygously deleted region corresponding to a candidate tumor suppressor locus at 21q11-21 in human lung cancer / H. Yamada, K. Yanagisawa, S. Tokumaru [et al.] // *Genes, Chromosomes and Cancer*. – 2008. – Vol. 47. – № 9. – P. 810-818. DOI: 10.1002/gcc.20582.
186. Chromosome 6 Suffers Frequent and Multiple Aberrations in Thymoma / M. Inoue, A. Marx, A. Zettl [et al.] // *The American Journal of Pathology*. – 2002. – Vol. 161. – № 4. – P. 1507-1513. DOI: 10.1016/S0002 9440(10)64426 4.
187. Amplification of 9p24.1 in diffuse large B-cell lymphoma identifies a unique subset of cases that resemble primary mediastinal large B-cell lymphoma / Y. Wang, K. Wenzl, M. K. Manske [et al.] // *Blood Cancer Journal*. – 2019. – Vol. 9. – № 9. – P. 73. DOI: 10.1038/s41408-019-0233-5.
188. Characterization of DLBCL with a PMBL gene expression signature / G. Duns, E. Viganò, D. Ennishi [et al.] // *Blood*. – 2021. – Vol. 138. – № 2. – P. 136-148. DOI: 10.1182/blood.2020007683.
189. Profiling diverse sequence tandem repeats in colorectal cancer reveals co-occurrence of microsatellite and chromosomal instability involving Chromosome 8 / G. Shin, S. U. Greer, E. Hopmans [et al.] // *Genome Medicine*. – 2021. – Vol. 13. – № 1. – P. 145. DOI: 10.1186/s13073 021 00958 z.

190. Chromosomal Imbalances in the Colorectal Carcinomas with Microsatellite Instability / L. S. Li, N.-G. Kim, S. H. Kim [et al.] // *The American Journal of Pathology*. – 2003. – Vol. 163. – № 4. – P. 1429-1436. DOI: 10.1016/S0002 9440(10)63500 6.
191. Levine, J. Analyzing imbalance of short tandem repeats for pancreatic cancer detection / J. Levine, S. Finkelstein, V. A. Timmaraju // *Journal of Clinical Oncology*. – 2024. – Vol. 42. – № Suppl. 16. – P. e16359-e16359. DOI: 10.1200/JCO.2024.42.16_suppl.e16359.
192. The impact of short tandem repeat variation on gene expression / S. F. Fotsing, J. Margoliash, C. Wang [et al.] // *Nature Genetics*. – 2019. – Vol. 51. – № 11. – P. 1652-1659. DOI: 10.1038/s41588-019-0521-9.
193. Short tandem repeat mutations regulate gene expression in colorectal cancer / M. A. Verbiest, O. Lundström, F. Xia [et al.] // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 3331. DOI: 10.1038/s41598-024-53739-0.
194. Genomic Landscape of Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma Cell Lines / H. Dai, S. Ehrentraut, S. Nagel [et al.] // *PLOS ONE*. – 2015. – Vol. 10. – № 11. – P. e0139663. DOI: 10.1371/journal.pone.0139663.
195. Further delineation of chromosomal consensus regions in primary mediastinal B-cell lymphomas: an analysis of 37 tumor samples using high-resolution genomic profiling (array-CGH) / S. Wessendorf, T. F. E. Barth, A. Viardot [et al.] // *Leukemia*. – 2007. – Vol. 21. – № 12. – P. 2463-2469. DOI: 10.1038/sj.leu.2404919.
196. Genetic lesions in diffuse large B-cell lymphomas / M. Testoni, E. Zucca, K. H. Young, F. Bertoni // *Annals of Oncology*. – 2015. Vol. 26. – № 6. – P. 1069-1080. DOI: 10.1093/annonc/mdv019.
197. Genetic mechanisms of HLA-I loss and immune escape in diffuse large B cell lymphoma / M. Fangazio, E. Ladewig, K. Gomez [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2021. – Vol. 118. – № 22. – P. e2104504118. DOI: 10.1073/pnas.2104504118.
198. Genomic rearrangements involving programmed death ligands are recurrent in primary mediastinal large B-cell lymphoma / D. D. W. Twa, F. C. Chan, S. Ben-Neriah

[et al.] // *Blood*. – 2014. – Vol. 123. – № 13. – P. 2062-2065. DOI: 10.1182/blood 2013 10 535443.

199. PD-L1 Expression Is Characteristic of a Subset of Aggressive B-cell Lymphomas and Virus-Associated Malignancies / B. J. Chen, B. Chapuy, J. Ouyang [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2013. – Vol. 19. – № 13. – P. 3462-3473. DOI: 10.1158/1078 0432.CCR 13 0855.

200. Walker, L. S. K. The emerging role of CTLA4 as a cell-extrinsic regulator of T cell responses / L. S. K. Walker, D. M. Sansom // *Nature Reviews Immunology*. – 2011. – Vol. 11. – № 12. – P. 852-863. DOI: 10.1038/nri3108.

201. Rowshanravan, B. CTLA-4: a moving target in immunotherapy / B. Rowshanravan, N. Halliday, D. M. Sansom // *Blood*. – 2018. – Vol. 131. – CTLA-4. – № 1. – P. 58-67. DOI: 10.1182/blood 2017 06 741033.

202. Prognostic factors, therapeutic approaches, and distinct immunobiologic features in patients with primary mediastinal large B-cell lymphoma on long-term follow-up / H. Zhou, Z. Y. Xu-Monette, L. Xiao [et al.] // *Blood Cancer Journal*. – 2020. – Vol. 10. – № 5. – P. 49. DOI: 10.1038/s41408 020 0312 7.

203. Alsaafeen, B. H. Resistance mechanisms to immune checkpoint inhibitors: updated insights / B. H. Alsaafeen, B. R. Ali, E. Elkord // *Molecular Cancer*. – 2025. – Vol. 24. – № 1. – P. 20. DOI: 10.1186/s12943-024-02212-7.

204. HLA-DR expression in melanoma: from misleading therapeutic target to potential immunotherapy biomarker / K. Amrane, C. Le Meur, B. Besse [и др.] // *Frontiers in Immunology*. – 2024. – Vol. 14. – P. 1285895. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1285895.

205. Major Histocompatibility Complex Class II and Programmed Death Ligand 1 Expression Predict Outcome After Programmed Death 1 Blockade in Classic Hodgkin Lymphoma / M. G. M. Roemer, R. A. Redd, F. Z. Cader [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2018. – Vol. 36. – № 10. – P. 942-950. DOI: 10.1200/JCO.2017.77.3994.

206. Dunleavy, K. Primary mediastinal B-cell lymphoma: biology and evolving therapeutic strategies / K. Dunleavy // *Hematology*. – 2017. – Vol. 2017. – № 1. – P. 298-303. DOI: 10.1182/asheducation-2017.1.298.

207. End-of-treatment and serial PET imaging in primary mediastinal B-cell lymphoma following dose-adjusted EPOCH-R: a paradigm shift in clinical decision making / C. Melani, R. Advani, M. Roschewski [et al.] // *Haematologica*. – 2018. – Vol. 103. – № 8. – P. 1337-1344. DOI: 10.3324/haematol.2018.192492.
208. Radiation and Dose-densification of R-CHOP in Primary Mediastinal B-cell Lymphoma: Subgroup Analysis of the UNFOLDER Trial / G. Held, L. Thurner, V. Poeschel [et al.] // *HemaSphere*. – 2023. – Vol. 7. – № 7. – P. e917. DOI: 10.1097/HS9.0000000000000917.
209. Incidence of Central Nervous System Relapse in Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma: Implications for Central Nervous System Prophylaxis / I. Okcu, Y. Wang, A. M. Bock [et al.] // *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. – 2025. – Vol. 25. – № 2. – P. 116-123. DOI: 10.1016/j.clml.2024.07.019.
210. Prognostic significance of clinical characteristics and 18 Fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography quantitative parameters in patients with primary mediastinal B-cell lymphoma / Y. Liu, J. Jiang, L. Liu [et al.] // *Journal of International Medical Research*. – 2022. – Vol. 50. – № 1. – P. 03000605211063027. DOI: 10.1177/03000605211063027.
211. Improved survival for dose-intensive chemotherapy in primary mediastinal B-cell lymphoma: a systematic review and meta-analysis of 4,068 patients / M. R. Cook, L. S. Williams, C. S. Dorris [и др.] // *Haematologica*. – 2023. – Vol. 109. – № 3. – P. 846-856. DOI: 10.3324/haematol.2023.283446.
212. Mechanisms Controlling PD-L1 Expression in Cancer / J.-H. Cha, L.-C. Chan, C.-W. Li [et al.] // *Molecular Cell*. – 2019. – Vol. 76. – № 3. – P. 359-370. DOI: 10.1016/j.molcel.2019.09.030.

ПРИЛОЖЕНИЕ

(справочное)

Протоколы терапии ПМВКЛ

R-mNHL-BFM-90 - modified nonhogkin lymphoma Berlin-Frankfurt-Munster 1990, модифицированный протокол терапии BFM 1990 года для неходжкинских лимфом

- Блок А:
 - Дексаметазон - dexamethasone
 - Ифосфамид - ifosfamide
 - Метотрексат – methotrexate
 - Цитарабин – cytarabine
 - Этопозид – etoposide
 - Винкристин – vincristine
 - Доксорубицин - doxorubicin
- Блок Б:
 - Дексаметазон – dexamethasone
 - Циклофосфамид – cyclophosphamide
 - Метотрексат – methotrexate
 - Винкристин – vincristine
 - Доксорубицин - doxorubicin

R-CHOP

- Ритуксимаб – rituximab
- Циклофосфамид - cyclophosphamide
- Доксорубицин – doxorubicin
- Винкристин - vincristine
- Преднизолон - prednisolone

R-DA-EPOCH – dose adjusted R-EPOCH, дозорегулируемый R-EPOCH

- Ритуксимаб – rituximab
- Этопозид – etoposide
- Преднизолон – prednisolone
- Винкристин – vincristine
- Циклофосфамид - cyclophosphamide
- Доксорубицин – doxorubicin

Nivo-R-DA-EPOCH – dose adjusted R-EPOCH

- Ниволумаб - nivolumab
- Ритуксимаб – rituximab
- Этопозид – etoposide
- Преднизолон – prednisolone
- Винкристин – vincristine
- Циклофосфамид - cyclophosphamide
- Доксорубицин – doxorubicin