

Абдурашидова Руниза Равильевна

**ИССЛЕДОВАНИЕ АБЕРРАЦИЙ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ПОВТОРОВ У  
ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ МЕДИАСТИНАЛЬНОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ  
КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМОЙ**

3.1.28. Гематология и переливание крови

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении  
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные руководители:**

кандидат медицинских наук

**Мангасарова Яна Константиновна**

доктор биологических наук

**Судариков Андрей Борисович**

**Официальные оппоненты:**

**Валиев Тимур Теймуразович** — доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, заведующий отделением детской онкологии и гематологии (химиотерапии гемобластозов) №1 научно-исследовательского института детской онкологии и гематологии им. академика РАМН Л. А. Дурнова федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

**Друй Александр Евгеньевич** — кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией молекулярной онкологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «03» декабря 2025 года в 13 часов 00 минут на заседании диссертационного совета 21.1.023.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России по адресу: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России и на сайте [www.blood.ru](http://www.blood.ru).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 года

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук

**Сысоева Елена Павловна**

### Актуальность темы исследования

Первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома (ПМВКЛ) является редким подтипом агрессивных В-клеточных лимфом, составляя всего 2–4 % всех случаев неходжкинских лимфом (Samus et al. 2022). Заболевание преимущественно поражает молодых взрослых, чаще женщин, что делает особенно важным уменьшение отдаленных последствий терапии, в том числе в аспектах фертильности и качества жизни (Мангасарова и др. 2018; Бабичева и Поддубная 2023; Renaud et al. 2025).

Прогноз при ПМВКЛ благоприятный с общей выживаемостью (ОВ) более 90 % на стандартной терапии R-DA-EPOCH (Мангасарова и др. 2024). Однако при развитии рецидивов или рефрактерности (P/P) прогноз резко ухудшается, а эффективность противорецидивной терапии ограничена (Мангасарова и др. 2016; Soumerai et al. 2014; Vassilakopoulos et al. 2023). В связи с этим особую актуальность приобретает разработка методов стратификации пациентов по рискам исхода заболевания. 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. Первично ПМВКЛ рассматривалась как вариант диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы (ДВКЛ), и лишь идентификация молекулярно-генетических особенностей позволила выделить её в самостоятельную нозологическую единицу (Wright et al. 2020; Morin et al. 2022; Rosenwald et al. 2003). Однако вопросы дифференциальной диагностики до конца не решены, что обосновывает целесообразность использования группы ДВКЛ для выявления и уточнения отличий, в том числе на уровне микросателлитных aberrаций. Одной из ключевых особенностей ПМВКЛ является способность опухоли избегать иммунного надзора, используя механизмы, направленные на индукцию Т-клеточной анергии и снижение иммуногенности (Rosenwald et al. 2003; Green et al. 2010). Эти процессы обусловлены прежде всего aberrациями в локусах 9p24.1 (*PD-L1/PD-L2*), 6p21.3 (*HLA*), 16p13.13 (*СИТА*) (Steidl et al. 2011; Mottok et al. 2018; Кузнецова и др. 2021; Roberts 2006).

Несмотря на определённые успехи в расшифровке патогенетических механизмов ПМВКЛ, оценка генетической нестабильности в рутинной клинической практике остаётся затрудненной. Поскольку информативность стандартных цитогенетических методов ограничена, в связи со скудной митотической активностью опухолевых клеток *in vitro*. В этом контексте особый интерес представляют микросателлитные повторы (МСП, или короткие tandemные повторы), как чувствительные маркеры микросателлитной нестабильности (MSI, microsatellite instability), aberrаций тетра-нуклеотидных повторов (EMAST, elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats), потери гетерозиготности (LOH, Loss of Heterozygosity),

хромосомных aberrаций. 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 маркеров, которые могут быть использованы для стратификации риска, оценки ответа на терапию и мониторинга минимальной остаточной болезни.

### **Степень разработанности темы исследования**

Аберрации МСП наиболее изучены при солидных неоплазиях (Bonneville et al. 2017). В гематологической практике, в том числе при лимфомах, этот подход используется сравнительно редко. Аберрации МСП по стандартным панелям COrDIS MSI и COrDIS Plus уже изучены у больных фолликулярной лимфомой, ДВКЛ, лимфомой высокой степени злокачественности (Сычевская и др. 2022).

Учитывая высокую полиморфность микросателлитов и их способность отражать хромосомные нарушения, особый интерес представляет анализ МСП вблизи генов, вовлечённых в патогенез (Xia et al. 2025; Gymrek 2017). При ПМВКЛ критически важными являются локусы 6p21.3 (*HLA*), 9p24.1 (*JAK2/PD-L1/PD-L2*) и 16p13.13 (*CITA*), где часто наблюдаются хромосомные нарушения, способствующие иммунному «ускользанию» опухоли (Steidl et al. 2011; Mottok et al. 2018; Кузнецова и др. 2021; Roberts 2006).

На сегодняшний день отсутствуют исследования, оценивающие частоту aberrаций МСП при ПМВКЛ по стандартным панелям и вблизи локусов 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13, 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 исследования**

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 (*CITA*) 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 работы**

Разработанный метод исследования aberrаций микросателлитных повторов 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 микросателлитных повторов в одном или более иммунорегуляторных 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 микросателлитных повторов 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 (2007–2021 гг.) и проспективной (2022–2025 гг.). Лабораторная работа была проспективной и состояла из 4 частей:

1. Исследование частоты MSI, LOH и EMASr 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 *СНТА*) с использованием оригинальной панели праймеров;
3. Цитогенетическое исследование методом хромосомного микроматричного анализа (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 значимо 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 апробации 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.

### **Материалы и методы исследования**

#### **Дизайн исследования и клиническая характеристика больных**

С апреля 2007 г. по июль 2024 г. в когортное исследование были включены 192 пациента, из них 114 (59,4 %) с ПМВКЛ и 78 (40,6 %) с ДВКЛ, которые составили группу сравнения только для молекулярного анализа. Медиана наблюдения в когорте больных ПМВКЛ составила 32 месяца (6–192). Индукционная терапия: R-DA-EPOCH — 76,3 % (87/114; медиана возраста 32 (19–69) года), R-mNHL-BFM-90 — 10,5 % (12/114; 26 (19–47) лет), R-DA-EPOCH + ниволумаб — 10,5 % (12/114; 31 (20–46) год), R-CHOP — 2,6 % (3/114; 30 (27–36) лет).

Критерии формирования выборки были следующими: впервые установленный диагноз ПМВКЛ или ДВКЛ, отсутствие предшествующего лечения. Объем выборки был обусловлен наличием материала.

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.

### Характеристика больных

Клиническая часть работы была ретроспективной (2007–2021 гг.) и проспективной (2022–2025 гг.). 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. Подробная характеристика пациентов, включенных в исследование, приведена в Таблице 1.

**Таблица 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)	
▪ $\geq 2$ , 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)	18 (23)	
• Группа промежуточного риска, n (%)	90 (78,9)	36 (46,2)	
• Группа высокого риска, n (%)	2 (1,8)	24 (30,8)	

Примечание. Ann Arbor - система стадирования лимфом; ECOG — шкала оценки общего состояния, Eastern Cooperative Oncology Group; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; IPi — международный прогностический индекс, International Prognostic Index.

### Лабораторные методики

Лабораторная часть работы выполнена проспективно. Дизайн работы подробно представлен на Рисунке 1. Выборка пациентов для всех вариантов исследования осуществлялась по наличию доступного материала.



**Рисунок 1** — Дизайн лабораторной части исследования

Для исключения герминального характера нестабильности ДНК и неспецифических генетических изменений у всех пациентов анализ aberrаций МСП по локусам панели COrDIS Plus и оригинальной тест-системы (6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13) проводился не только в опухолевом материале, но и в контрольных образцах — клетках 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.

### Исследование микросателлитной нестабильности (MSI)

Исследование MSI выполнялось с использованием диагностической панели COrDIS MSI (ООО «Гордиз», Россия), в которую входит 5 мононуклеотидных маркеров (Таблица 3). Материалом для исследования служила опухолевая ДНК.

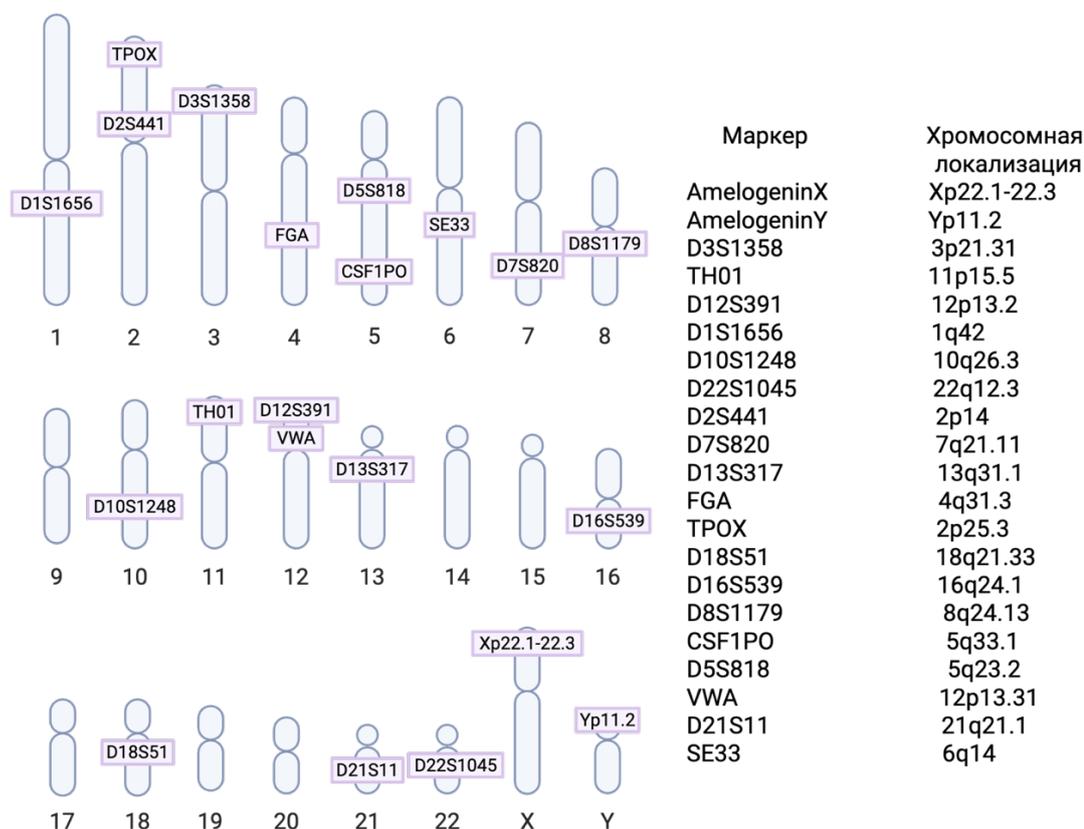
**Таблица 3** — Характеристики анализируемых маркеров MSI

Маркер	Структура повтора	Диапазон длины амплифицируемого фрагмента (пар нуклеотидов)	Хромосомный локус	Ген
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

Состояние MSI определялось по смещению распределения длин ампликонов в опухоли относительно MSI-отрицательного контроля. В зависимости от количества выявленных маркеров образцы классифицировались как: MSI высокого уровня (MSI-H, MSI-High) —  $\geq 2$ , MSI низкого уровня (MSI-L, MSI-Low) — 1, микросателлитная стабильность (MSS, Microsatellite stability) — отсутствие изменений

### Исследование aberrаций тетра nukлеотидных повторов (LOH и EMAST)

Анализ выполнялся с использованием панели COrDIS Plus (Рисунок 2). Материалом исследования для каждого пациента служили опухолевая и контрольная ДНК.



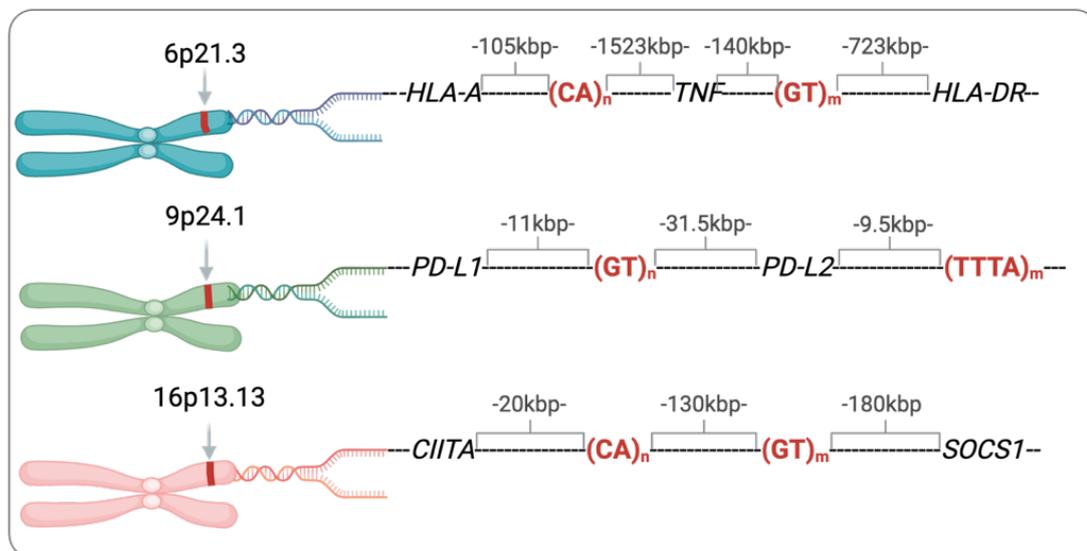
**Рисунок 2** — Характеристики анализируемых маркеров МСП. Схема создана с использованием сервиса BioRender.com

LOH-позитивные случаи определялись на основе аллельного дисбаланса (АД), то есть изменения интенсивности флуоресценции одного из аллелей при их гетерозиготном наследовании по сравнению с контрольным образцом. EMAST-позитивными считались образцы, в которых наблюдалось появление нового аллеля как минимум в одном тетра nukлеотидном локусе.

### Оригинальные диагностические тест-системы (LOH и EMAST)

На основании имеющихся литературных данных известно, что для больных ПМВКЛ характерны нарушения генов *HLA*, *PD-L1/PD-L2* и *CIITA*, однако частота микросателлитных нарушений и их прогностическая ценность в этих областях ранее не описаны. Для данного

исследования в лаборатории генной инженерии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России разработаны и опробованы три панели праймеров (синтез — ЗАО «Синтол», Москва) для анализа микросателлитов, ближайших к *HLA* (6p21.3), *PD-L1/PD-L2* (9p24.1), *CIITA* (16p13.13). Схема локализации исследуемых МСП представлена на Рисунке 3.



**Рисунок 3** — Схема локализации, исследуемых МСП. Схема создана с использованием сервиса BioRender.com

Наличие ЛОН в анализируемых локусах при гетерозиготном наследовании фиксировали по исчезновению пика одного из аллелей или снижению его относительной интенсивности в опухолевой ткани по сравнению с контролем. EMAST-позитивные случаи определяли по появлению нового аллеля минимум в одном ди-, три- или тетрануклеотидном локусе. При *cnLOH* наблюдалась утрата одного аллеля с дупликацией второго, что приводило к двум идентичным копиям фрагмента на гомологичных хромосомах. Дупликации/амплификации участка, содержащего МСП, проявлялись АД за счёт различной высоты пиков ПЦР-ампликонов гетерозиготного локуса. Таким образом, количественные изменения МСП в опухоли относительно контроля проявляются АД; однако по одному фрагментному анализу невозможно достоверно различить первопричину (делеция, дупликация, амплификация, *cnLOH* и т. д.).

### Хромосомный микроматричный анализ

ХМА образцов опухолевой ДНК выполнялся в лаборатории молекулярной патологии «Геномед» (Москва, Россия). 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:  $\geq 5000$  Кб для участков cnLOH и  $\geq 50$  Кб для делеций и дупликаций (Schoumans et al. 2016). Поскольку микросателлитные aberrации могут входить в более мелкие участки, для верификации нарушений в клинически значимых регионах 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13 дополнительно выполняли анализ без фильтра по размеру (порог детекции от 5 Кб и 5 SNP-маркеров).

### **Иммуногистохимическая оценка экспрессии PD-L1, HLA-DR, PD-1, CTLA-4**

Патоморфологическое исследование выполнялось на биоптатах опухоли. На каждом биоптате из исследуемой группы выполнялись реакции с антителами:

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

Экспрессию PD-L1 и HLA-DR оценивали в крупных опухолевых В-клетках (CD20+) полуколичественно (в %), при наличии «внутренних» позитивных контролей (макрофаги для PD-L1; Т-клетки/макрофаги для HLA-DR). Подсчёт проводили при  $\times 400$  с усреднением по нескольким полям, учитывая только жизнеспособные опухолевые клетки (зоны некроза и артефактов исключались).

Экспрессию PD-1 и CTLA-4 оценивали в мелких CD3+ Т-клетках реактивного микроокружения (в %) с сопоставлением результатов параллельного окрашивания на CD3; дополнительно учитывали выраженность Т-клеточной инфильтрации и степень фиброза. В качестве «внешнего» позитивного контроля использовали биоптат лимфатического узла с реактивными изменениями.

### **Статистическая обработка данных**

Для сравнения категориальных признаков применяли анализ таблиц сопряжённости: двусторонний критерий Фишера и  $\chi^2$ -критерий (при минимальных ожидаемых частотах  $\geq 5$ ). В качестве меры связи рассчитывали отношение шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ). Количественные независимые выборки сравнивали критерием Манна–Уитни. Анализ выживаемости выполняли методом Каплана–Мейера с лог-ранговым тестом. Основные конечные точки определялись как время до целевого события; целью событийного анализа была оценка распределения этого времени и его зависимости от факторов риска. Для оценки ОВ рассчитывался интервал от даты установления диагноза до смерти от любой причины или последнего контакта. Длительность жизни при БСВ определялась как время от начала химиотерапии 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  $P < 0,05$ .

## Результаты исследования

### Анализ aberrаций микросателлитных повторов по локусам панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus

Исследование MSI было выполнено у 85 больных ПМВКЛ и 53 ДВКЛ. 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 ( $P = 0,282$ ).

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. LOH одного или более локусов обнаружен у 50 % (43/86) и 50,9 % (26/51) больных ПМВКЛ и ДВКЛ, соответственно ( $P = 0,776$ ). EMAST был обнаружен у 51,2 % (44/86) больных ПМВКЛ и 23,5 % (12/51) ДВКЛ ( $P = 0,170$ ). Однако при сравнительном анализе по каждому локусу, EMAST 21q21.1 выявлен у 8,1 % (7/86) больных ПМВКЛ, в группе с ДВКЛ не было изменений анализируемого маркера ( $P = 0,035$ ). Вовлечение локуса 6q14 было выявлено у 20,9 % (18/86) и в 3,9 % (2/51) случаев ( $P = 0,004$ ) в группах ПМВКЛ и ДВКЛ соответственно. Таким образом, около половины случаев ПМВКЛ и ДВКЛ имели aberrации МСП по одному или нескольким локусам, включенным в стандартную панель COrDIS Plus.

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).

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

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. Всем больным исходно на материале без специфического поражения был проведен анализ наследования по изучаемым маркерам. Гомозиготность по обоим маркерам вблизи *PD-L1/PD-L2* выявлена у 6,7 % (6/90) больных ПМВКЛ и 25% (14/56) — ДВКЛ ( $P = 0,002$ ). Гомозиготность по обоим маркерам вблизи *HLA* зафиксирована у 15,6 % (7/45) при ПМВКЛ и 4,5 % (1/22) при ДВКЛ ( $P = 0,186$ ). Вблизи *СИТА* гомозиготность отмечена у 10 % (9/90) больных

ПМВКЛ и 20 % (10/50) — ДВКЛ ( $P = 0,118$ ). Больные с гомозиготным наследованием по обоим маркерам пары в дальнейшем не включались в анализ в связи с невозможностью оценки ЛОН.

#### *Анализ aberrаций микросателлитных повторов локуса бр21.3*

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 бр21.3) обнаружен у 65,8 % (25/38) больных ПМВКЛ и у 33,3 % (7/21) больных ДВКЛ ( $P = 0,017$ ). Все случаи АД были представлены феноменом ЛОН; EMASТ не был выявлен. АД по обоим маркерам пары локуса бр21.3 был обнаружен у 44,7 % (17/38) и 19% (4/21) больных ПМВКЛ и ДВКЛ соответственно ( $P = 0,043$ ).

#### *Анализ aberrаций микросателлитных повторов 9p24.1*

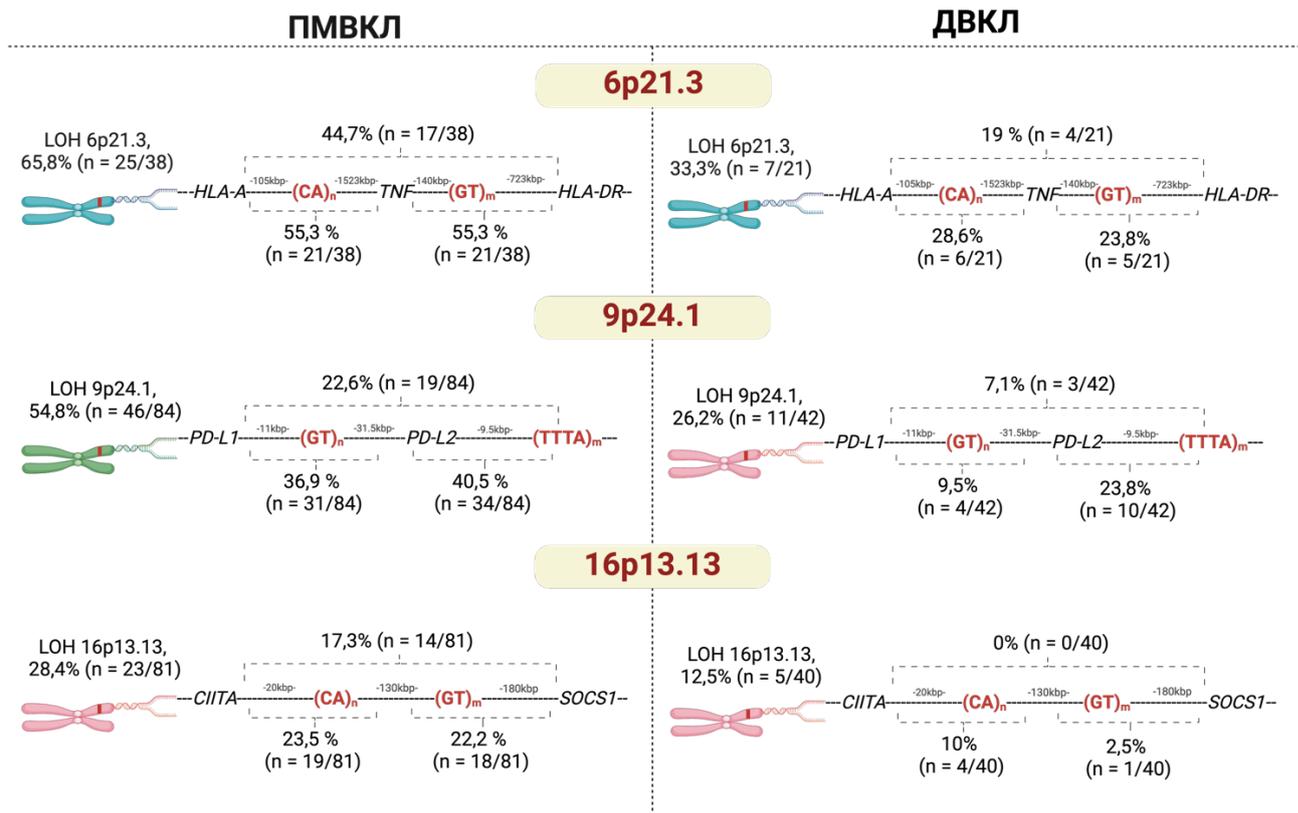
В исследование включено 84 больных ПМВКЛ и 42 ДВКЛ, имеющих гетерозиготное наследование хотя бы по одному маркеру пары. Вовлечение маркеров локуса 9p24.1 было выявлено у 58,3 % (49/84) и 26,2 % (11/42) больных ( $P = 0,001$ ) ПМВКЛ и ДВКЛ, соответственно. АД по обоим маркерам локуса 9p24.1 был обнаружен у 22,6 % (19/84) и 7,1 % (3/42) больных ПМВКЛ и ДВКЛ, соответственно ( $P = 0,024$ ) больных ПМВКЛ.

#### *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 ( $P = 0,011$ ). 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 ( $P = 0,002$ ).

В сумме АД по обоим маркерам в парах бр21.3, 9p24.1 и 16p13.13 у ПМВКЛ отмечался у 44,7 % (17/38), 22,6 % (19/84) и 17,3 % (14/81) соответственно (Рисунок 4). Это указывает на крупномасштабные хромосомные события, затрагивающие *HLA*, *PD-L1/PD-L2* и *CITA*.

Сопоставление стандартной и оригинальной панелей показало: COrDIS Plus фиксирует МСП-абerrации примерно у половины больных обеих нозологий, тогда как оригинальная панель демонстрирует существенно более высокую частоту АД именно при ПМВКЛ (бр21.3, 9p24.1, 16p13.13), что согласуется с патогенезом ПМВКЛ (копийные/структурные перестройки указанных регионов). Для ДВКЛ информативность панелей существенно не различалась.

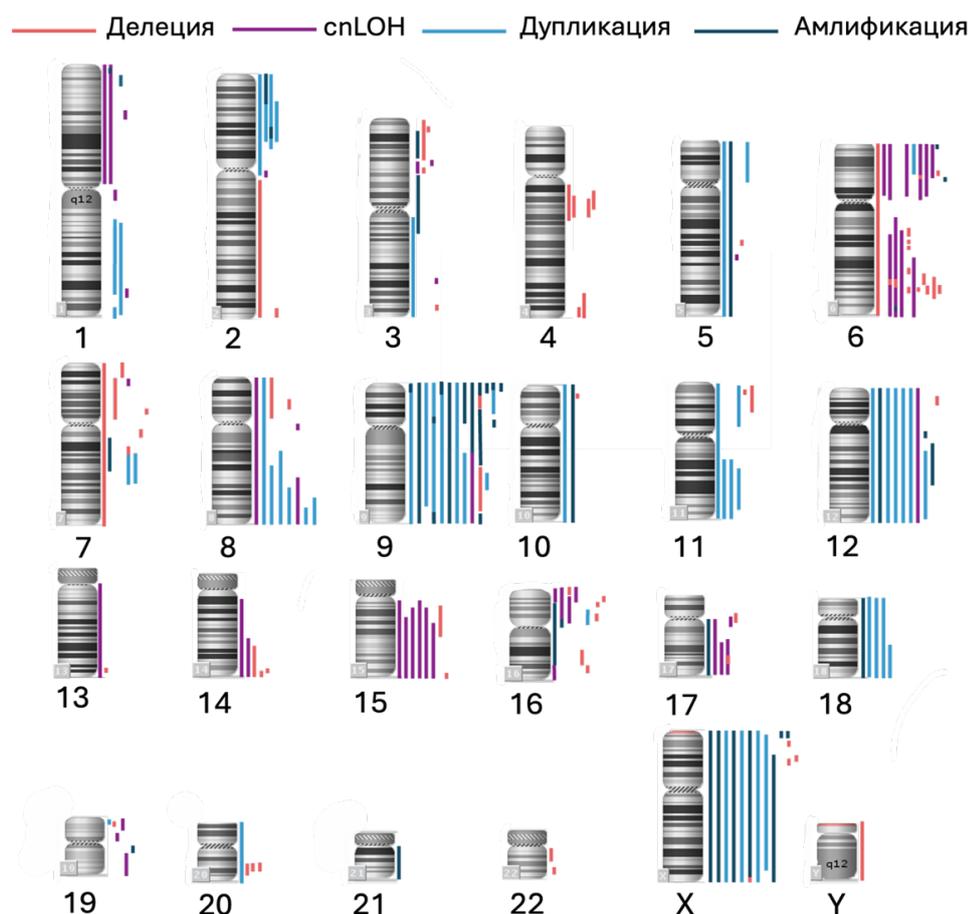


**Рисунок 4** — Локализация и частота АД 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13 при ПМВКЛ и ДВКЛ

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.

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

ХМА 15 образцов ПМВКЛ выявил геномные нарушения у всех пациентов: дупликации/амплификации, делеции и *cnLOH*. Медиана числа aberrаций на пациента — 15 (диапазон 6–25). Чаще всего вовлекались хромосомы 6 и 9 — у 86,7 % (13/15). Амплификации на 9-й хромосоме регистрировались у 73,3 % (11/15). На 6-й хромосоме преобладали делеции (73,3 %, 11/15) и *cnLOH* (60 %, 9/15). Биаллельная делеция 17q24.1 выявлена у 1 пациента (6,7 %). Визуализация нарушений по геномной протяжённости (Рисунок 5) показала широкое распределение aberrаций по всем хромосомам, однако с концентрацией на 9, 12 и X, где были частыми случаи трисомии и тетраисомии.

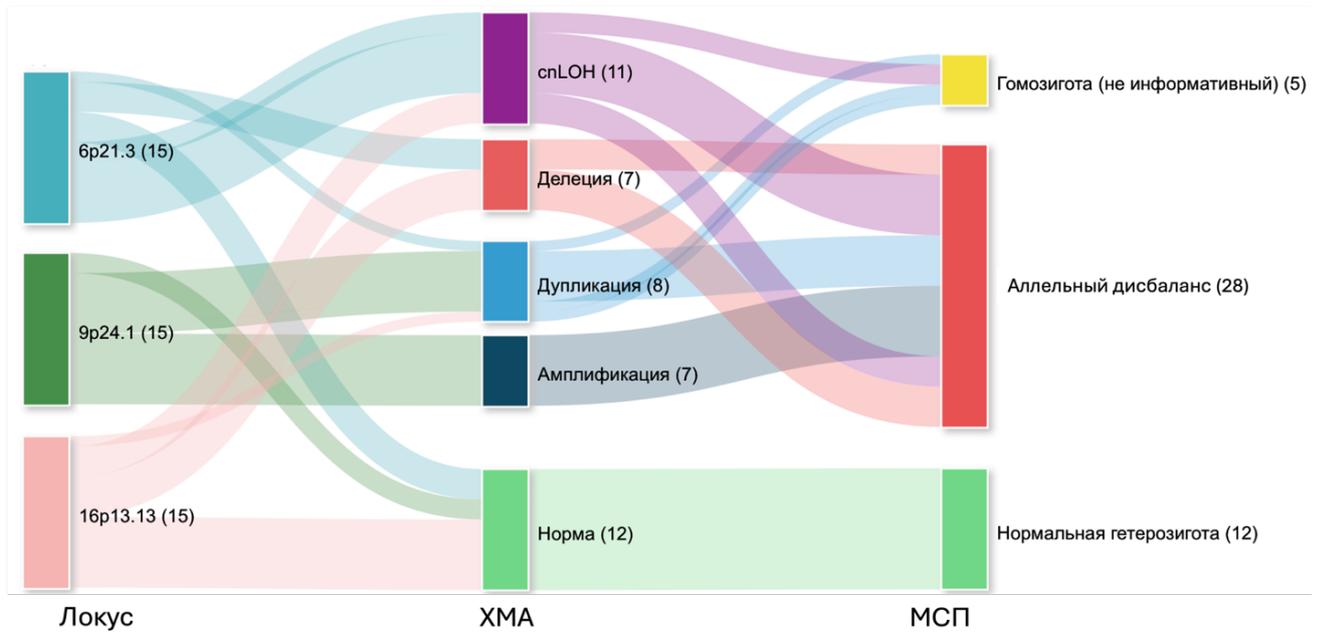


**Рисунок 5** — Локализация хромосомных нарушений при ПМВКЛ, n = 15

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

Сопоставление результатов ХМА и исследования МСП: во всех случаях АД, выявленного оригинальной панелью, ХМА фиксировал структурные нарушения соответствующих регионов. При сохранении нормального гетерозиготного состояния МСП локальные хромосомные события по ХМА не обнаруживались. В 11,1 % (5/45) анализов полная гомозиготность МСП делала оценку АД неинформативной при наличии нарушений по ХМА. Сопоставление результатов ХМА и анализа МСП представлено на Рисунке 6.

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.



**Рисунок 6** — Сопоставление результатов хромосомного микроматричного анализа и исследования микросателлитных повторов,  $n = 15$

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

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

Опухолевые клетки ПМВКЛ экспрессировали белок PD-L1 в 41,3 % (19/46) случаев (мембранная реакция), и во всех этих образцах экспрессия была интенсивной — более 90 % опухолевых клеток. 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). Экспрессия HLA-DR отсутствовала у 23,9 % (11/46).

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<sup>+</sup> Т-клеток не превышала 30 %. 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.

В целом, 97,8 % (45/46) больных имели экспрессию одной или нескольких иммунных контрольных точек. Однако у 23,9 % (11/46) из них отсутствовала экспрессия HLA-DR, что может свидетельствовать о нарушении антигенной презентации и способствовать формированию механизмов иммунного уклонения. Учитывая, что снижение экспрессии молекул МНС класса II

рассматривается как потенциальный предиктор резистентности к ИИКТ, этот феномен требует дальнейшего изучения.

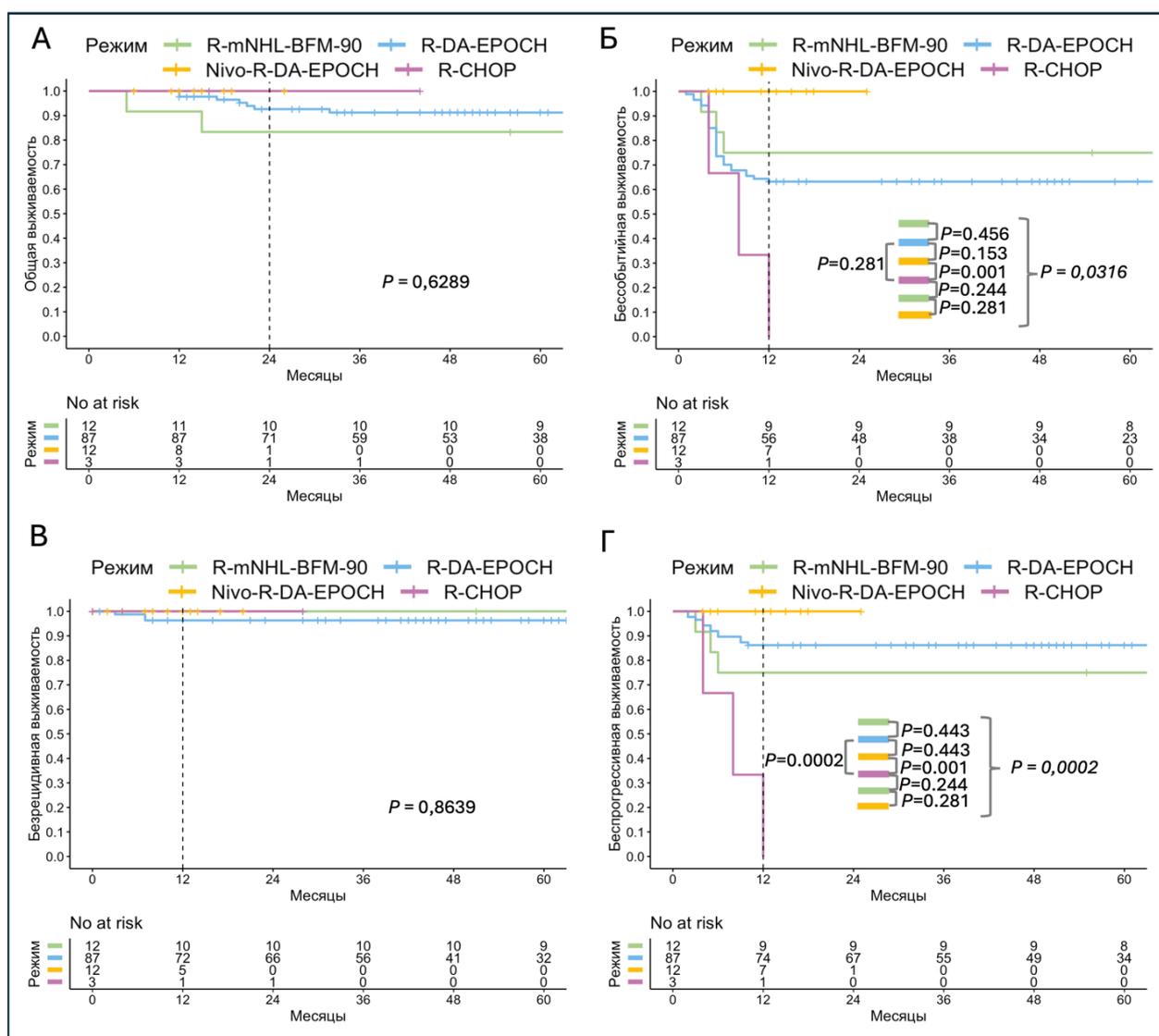
*Сопоставление экспрессии PD-L1, HLA-DR и аллельного дисбаланса локусов 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13*

При анализе ассоциаций между экспрессией HLA-DR и АД локусов 6p21.3 (вблизи гена *HLA*) и 16p13.13 (вблизи гена *СИТА*) достоверных корреляций выявлено не было ( $P = 0,622$  и  $P = 0,066$ , соответственно). Тем не менее, в настоящем исследовании размер выборки был ограничен ( $n = 10$ ), что, вероятно, повлияло на статистическую мощность анализа. При сопоставлении экспрессии PD-L1 и АД в области генов *PD-L1/PD-L2* (локус 9p24.1) обнаружена значимая корреляция ( $P = 0,046$ ).

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

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 достигнуты. 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. Объективный ответ после индукционной терапии составил 84,2 % (96/114), из них ПО 69,3 % (79/114). Прогрессия констатирована у 6,5 % (18/114) больных. У 2,6 % (3/114) пациентов констатирован ранний рецидив с изолированным поражением ЦНС. Медиана времени до ремиссии 4 месяца. Случаи Р/Р, частичной ремиссии 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.

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 ( $n = 3$ ). Частота ПО: 100 % (12/12) для Nivo-R-DA-EPOCH; 67,8 % (59/87) для R-DA-EPOCH (ещё 18,4 % частичный ответ); 75 % (9/12) для R-mNHL-BFM-90; 0 % для R-CHOP. Прогрессирование: 0 % (Nivo-R-DA-EPOCH), 13,8 % (R-DA-EPOCH), 25 % (R-mNHL-BFM-90), 100 % (R-CHOP). Межгрупповые различия значимы (ПО:  $P = 0,003$ ; прогрессирование:  $P = 0,002$ ). Рецидивы после ПО редки (3,4 % при R-DA-EPOCH). Учитывая малые объёмы в подгруппах Nivo-R-DA-EPOCH и R-CHOP, для прогностического анализа выделены R-DA-EPOCH и R-mNHL-BFM-90. На Рисунке 7 представлены кривые выживаемости в зависимости от протокола лечения.



**Рисунок 7** — 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)

Классические предикторы (IPI, Ann Arbor > II, ЛДГ↑, Bulky > 6/12 см, инвазия мягких тканей/молочных желёз и плевры/перикарда) не ассоциировались ни с риском смерти, ни с неблагоприятным событием в когорте больных ПМВКЛ, получавших терапию R-DA-EPOCH/R-mNHL-BFM-90 ( $P > 0,05$ ).

### Прогностическая роль aberrаций микросателлитных повторов у больных первичной медиастиальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой на протоколах R-DA-EPOCH/R-mNHL-BFM-90

*Прогностическая роль aberrаций микросателлитных повторов 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). 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). 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).

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.

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

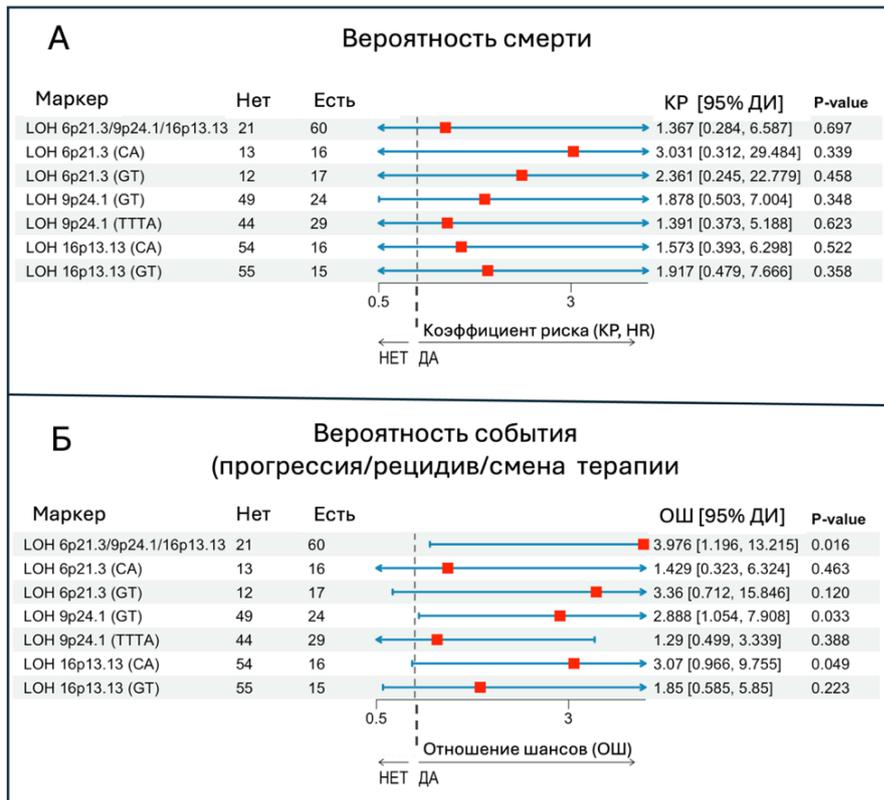
Однофакторный анализ прогностической роли aberrаций МСП по локусам оригинальной панели праймеров (6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13) был выполнен для феномена LOH. Из-за редкой встречаемости анализ EMAST в качестве предиктора был нецелесообразен.

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 8). При этом риск смерти не имел значимых различий (КР 1,367 [0,284–6,587];  $P = 0,697$ ) (Рисунок 8). Анализ ОВ пациентов с АД по одному или более локусам оригинальной панели праймеров не выявил статистически значимых различий между группами ( $P = 0,69$ ). 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 9А).

Маркеры LOH 6p21.3 (CA) и LOH 6p21.3 (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 8). ОВ, БСВ и вероятность достижения ремиссии также достоверно не зависели от LOH 6p21.3 (CA и GT) ( $P > 0,05$ ).

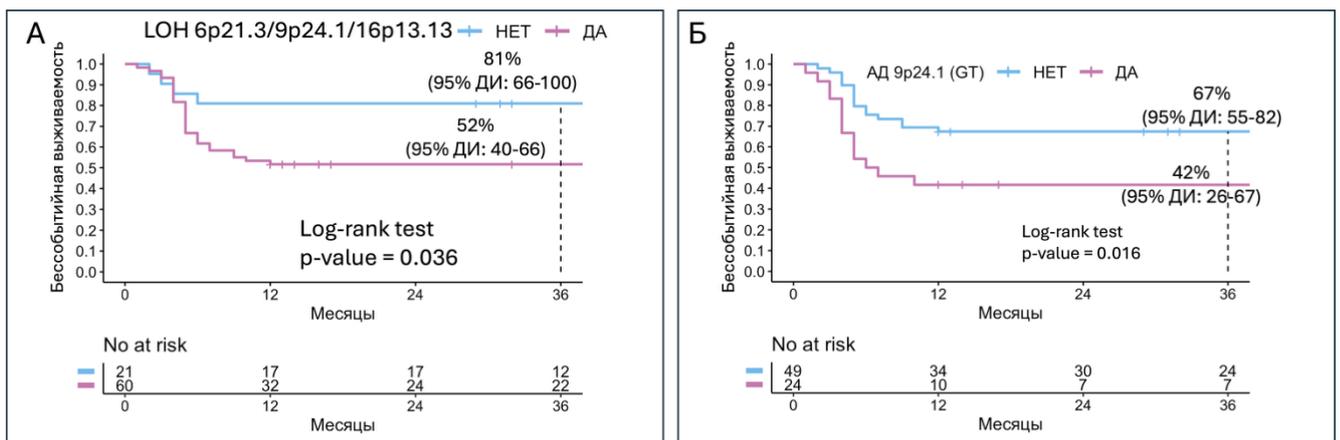
Маркеры LOH 9p24.1 (GT) и LOH 9p24.1 (TTTA) не были ассоциированы с большим риском смерти (КР 1,878 [0,503–7,004];  $P = 0,348$  и КР 1,391 [0,373–5,188];  $P = 0,623$  соответственно (Рисунок 8)) и снижением ОВ ( $P = 0,34$  и  $P = 0,62$  соответственно). БСВ на сроке 36 месяцев в группе с LOH 9p24.1 (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],  $P = 0,033$ ) (Рисунки 8 и 9Б). LOH 9p24.1 (TTTA) не был ассоциирован со снижением БСВ ( $P = 0,78$ ; ОШ 1,290 [0,499–

3,339],  $P = 0,388$ ). Вероятность достижения ремиссии к 4 месяцу не различалась между группами ( $P = 0,34$  и  $P = 0,82$  соответственно).



**Рисунок 8** — Вероятность смерти, события (прогрессия, рецидив, смена терапии) в зависимости от наличия ЛОН по локусам 6p21.3, 9p24.1 и 16p13.13: А — вероятность смерти; Б — вероятность неблагоприятного события (прогрессия/рецидив/смена терапии)

Примечание. ЛОН — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.



**Рисунок 9** — (А) БСВ в зависимости от наличия ЛОН одного или более локусов оригинальной панели (6p21.3, 9p24.1, 16p13.13) и (Б) БСВ в зависимости от наличия ЛОН 9p24.1 (GT)

Примечание. ЛОН — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности.

Маркеры ЛОН 16p13.13 (CA) и ЛОН 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 8). ОВ, БСВ и вероятность достижения ремиссии также достоверно не зависели от LOH 16p13.13 (CA и GT) ( $P > 0,05$ ).

В отличие от стандартных панелей COrDIS MSI и COrDIS Plus, ориентированная на патогенез ПМВКЛ оригинальная панель продемонстрировала прогностическую ценность: наличие LOH как минимум в одном из иммунорегуляторных 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 LOH 9p24.1 (GT) ( $P = 0,016$ ). Для 6p21.3 и 16p13.13 значимых ассоциаций не получено, что может быть обусловлено: меньшим размером подгрупп и низкой частотой событий. При этом наблюдается согласованная тенденция к худшим исходам при наличии LOH в указанных областях, требующая подтверждения в более крупной когорте.

#### **Прогностическая роль экспрессии PD-L1, HLA-DR, PD-1 и CTLA-4**

Экспрессия PD-L1 и HLA-DR на опухолевых клетках не ассоциировалась с риском смерти/события (КР 0,846 и 0,659;  $P = 0,892$  и  $0,734$ ; ОШ 1,099 и 0,808;  $P = 0,577$  и  $0,539$ ). Экспрессия PD-1 на Т-клетках не влияла на риск события (ОШ 2,444 [0,263–22,735],  $P = 0,387$ ). Для CTLA-4 статистический анализ ограничен из-за крайне малого числа отрицательных случаев; значимых ассоциаций не получено.

#### **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 EMAST) 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 *CITTA* 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 работ, опубликованных по теме диссертации

1. 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.
2. 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.
3. Мутации в гене *TP53* и цитогенетические нарушения в опухолевых клетках у пациентов с первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфомой / Я. К. Мангасарова, Б. В. Бидерман, Т. Н. Обухова [и др., в том числе **Р. Р. Абдурашидова**] // Гематология и трансфузиология. – 2025. Т. 70. – № 1. – С. 27–39.
4. Prognostic Impact of Biomarkers in PMBCL: Rationale for Early Integration of Immune Checkpoint Inhibitors / Y. Mangasarova, **R. Abdurashidova**, N. Risinskaya [et al.] // *Explor Target Antitumor Ther.* – 2025. – Vol. 6. – P. 1002318.
5. 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.
6. PB2344: STR-Loci Allele Imbalance at 9p24.1 and PD-L1 expression in primary mediastinal B-cell lymphoma / **R. Abdurashidova**, N. Risinskaya, Y. Mangasarova [et al.] // *Hemasphere.* – 2023. – Vol. 7. – № Suppl. 1. – P. e8901843.
7. **Абдурашидова, Р. Р.** Прогностическое значение экстрамедиастинального поражения при первичной медиастинальной В-клеточной крупноклеточной лимфоме / **Р. Р. Абдурашидова**, Я. К. Мангасарова, Е. Е. Звонков // Гематология и трансфузиология. – 2024. Т. 69. – № 2. Приложение. – С. 156–157.
8. Прогностическое значение aberrаций микросателлитных повторов в регионах *PDL1/PD-L2*, *СИТА* и экспрессии PD-1, PDL-1, CTLA-4 И HLA-DR при первичной медиастинальной

В-клеточной крупноклеточной лимфоме / **Р. Р. Абдурашидова**, Я. К. Мангасарова, Н. В. Рисинская [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2024. Т. 69. – № 2. Приложение. – С. 156.

### Список сокращений и условных обозначений

АД – аллельный дисбаланс

БПВ – беспрогрессивная выживаемость

БРВ – безрецидивная выживаемость

БСВ – бессобытийная выживаемость

ДВКЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИГХ – иммуногистохимия

иИКТ – ингибиторы иммунных контрольных точек

Кб – килобаза

КР – коэффициент риска

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

МСП – микросателлитный повтор

ОВ – общая выживаемость

ОШ – отношение шансов

ПМВКЛ – первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома

ПО – полный ответ

ПЦР – полимеразная цепная реакция

Р/Р – рецидив/рефрактерность

ХМА – хромосомный микроматричный анализ

ЧР – частичная ремиссия

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

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

ECOG – Eastern cooperative oncology group, шкала оценки общего состояния

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

HLA – human leukocyte antigen, антиген лейкоцитов человека

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

IPI – *international prognostic index*, международный прогностический индекс

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

LOH – *loss of heterozygosity*, потеря гетерозиготности

MHC – *major histocompatibility complex*, главный комплекс гистосовместимости класса

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

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