Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства»
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»

На правах рукописи

Самарина Светлана Валерьевна

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ БОЛЬНЫХ ДИФФУЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМОЙ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

14.01.21 – гематология и переливание крови

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители: доктор медицинских наук
Грицаев Сергей Васильевич

кандидат медицинских наук
Дьяконов Дмитрий Андреевич

Киров - 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ……. 4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ…… 12
1.1 Общая характеристика, эпидемиология и классификация диффузной В-крупноклеточной лимфомы…….. 12
1.2 Морфологическая, иммуногистохимическая и цитогенетическая характеристика диффузной В-крупноклеточной лимфомы……... 14
1.3 Критерии прогноза при диффузной В-крупноклеточной лимфоме…… 16
1.3.1 Значение международного прогностического индекса и модификации шкалы IPI…… 16
1.3.2 Молекулярно-генетические и иммуногистохимические факторы прогноза……... 24
1.3.3 Новые молекулярно-генетические предикторы течения диффузной В-крупноклеточной лимфомы……... 28
1.4 Сигнальные белки PD-L1, PD-1 и их прогностическое значение при диффузной В-крупноклеточной лимфоме……... 29
1.5 Лечение диффузной В-крупноклеточной лимфомы……. 35
1.5.1 Схема RCHOP – «золотой стандарт» при лечении больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой……. 35
1.5.2 Лечение больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой в молекулярную эру……... 36
ГЛАВА 2 КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ССЛЕДОВАНИЯ…… 41
2.1 Характеристика пациентов…….. 41
2.2 Методы исследования……. 46
2.2.1 Стандартные гематологические методы исследования……. 46
2.2.2 Гистологические и иммуногистохимические исследования……... 46
2.2.3 Морфологические, иммуногистохимические, морфометрические исследования маркеров PD-L1 и PD-1…… 49

2.3 Методы статистической обработки данных…….. 50
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 53
3.1 Оценка взаимосвязи ответа на лечение с клинико-лабораторными показателями…….. 53
3.2 Алгоритм прогнозирования эффективности индукционной терапии RCHOP методом машинного обучения CART 61
3.3 Ассоциация экспрессии белка PD-L1 с клинико-лабораторными показателями и выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой…… 66
3.3.1 Взаимосвязь клинико-лабораторных показателей с дифференцированной экспрессией PD-L1……... 66
3.3.2 Экспрессия белка PD-L1 и выживаемость пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой……. 70
3.4 Ассоциация экспрессии белка PD-1 с клинико-лабораторными показателями и выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой…… 77
ЗАКЛЮЧЕНИЕ……... 81
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ…… 90
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ……. 91
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ…… 93

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) - наиболее часто встречающийся вариант агрессивных неходжкинских лимфом (НХЛ), течение которого характеризуется склонностью к быстрому прогрессирующему росту опухолевого образования, что определяет крайне неблагоприятный прогноз и высокую летальность больных: 5-летняя выживаемость составляет в среднем 30-50%, медиана выживаемости без лечения не превышает 1 года. В России уровень заболеваемости ДВККЛ составляет 4-5 случаев на 100 000 населения [1]. Особенностью заболевания является вариабельность клинического течения и ответа на первую линию терапии, обусловленная разнообразием морфологических, иммунофенотипических и молекулярно-генетических характеристик [2]. Применение таргетных препаратов, а также ранняя интенсификация лечения, в том числе с использованием высокодозных опций с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток является наиболее перспективным направлением в персонифицированной терапии больных ДВККЛ при неблагоприятных вариантах течения заболевания [3-6]. Такой подход может быть реализован при условии корректной стратификации больных на группы риска с учетом их возраста, коморбидного состояния и молекулярно-генетических аберраций, которые, с одной стороны, непосредственно задействованы в формировании патологического клона, с другой – рассматриваются как потенциальные мишени для лекарственного воздействия.

Необходимо отметить принципиальное значение стратификации больных ДВККЛ на группы риска в дебюте заболевания, когда адекватно выбранная терапия позволяет предотвратить иммунохимиоиндуцированную клональную эволюцию, снизить неоправданную токсичность химиотерапии и повысить эффективность лечения.

К настоящему времени разработаны шкалы, позволяющие с той или иной степенью достоверности прогнозировать вероятность возникновения рецидива и

продолжительность жизни. Большинство из них включают клинические, морфологические и лабораторные маркеры [7-9]. Наибольшее распространение получил Международный прогностический индекс (International Prognostic Index, IPI), включающий в себя анализ таких показателей, как возраст пациента, стадия заболевания по Ann Arbor, статус ECOG, наличие поражений экстранодальных органов, концентрацию лактатдегидрогеназы [7]. Применение IPI позволяет распределить больных ДВККЛ на группы низкого, промежуточно низкого, промежуточно высокого и высокого рисков, где 5-летняя общая выживаемость (ОВ) составляет 73%, 51%, 43% и 26% соответственно [7].

При этом в шкале IPI не учитывается морфологическая и молекулярно-генетическая гетерогенность заболевания. Это наглядно демонстрируют результаты ответа больных ДВККЛ на индукционную терапию по схеме R-CHOP, когда в 25-30% случаях достигается только частичный ответ, у 20% больных регистрируется первичная резистентность, в 10% случаях возникает ранний рецидив заболевания. Большинство из предложенных модификаций IPI отличаются только комбинацией ранее использованных клинических и лабораторных показателей [7, 8, 10].

Улучшению качества прогнозирования течения заболевания способствовало установление GCB и ABC подтипов ДВККЛ, а также изучение мутационного статуса гена *c-MYC* в сочетании с экспрессией генов *BCL2* и/или *BCL6* и выделение «double-hit» (DH) и «triple-hit» (TH) вариантов лимфомы [11-14]. Тем не менее, до настоящего времени не разработаны подходы к определению прогноза течения заболевания с учетом ключевых иммунологических и генетических механизмов, формирующих патологический клон у больных с однотипной гистологической картиной заболевания.

При попытке совместить факторы двух или более прогностических систем обычно применяется эмпирический подход к формированию групп риска или используется классический многофакторный анализ. В связи с этим наибольший интерес представляет метод машинного обучения, использование которого позволяет провести анализ большого количества данных на более высоком уровне

статистического анализа. Как показали C. Costa et al., алгоритм машинного обучения лишен предположений, а его использование обеспечивает максимальную точность и надежность при обработке больших объемов данных и разработке новых классификаций [15].

В последние десятилетия наиболее интенсивно развивается иммуноонкология. Перспективным направлением является определение уровня экспрессии белков PD-L1 и PD-1, изучение механизмов их регуляции, а также прогностической значимости [16]. Опухолевые клетки способны использовать PD-1/PD-L1-сигнальный путь для предотвращения активации опухольспецифических Т-лимфоцитов и тем самым уклоняться от распознавания иммунной системой. Изучение эффективности иммунотерапии, включающей в себя анти-PD-L1 и анти-PD-1 моноклональные антитела и приводящей к реактивации специфического противоопухолевого иммунного ответа, является одним из наиболее многообещающих направлений в лечении лимфопролиферативных заболеваний [17].

Таким образом, поиск новых предикторов, дальнейшее совершенствование алгоритма диагностики и, соответственно, выбора вида индукционной и противорецидивной терапии ДВККЛ, по-прежнему является актуальной проблемой онкогематологии. Несомненный научный и практический интерес представляет оценка прогностической значимости новых иммуногистохимических и молекулярно-генетических маркеров и их комбинаций, на основе которых возможен персонифицированный подход к лечению больных ДВККЛ.

Цель: Повышение качества стратификации больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой путем комплексного использования иммуногистохимических характеристик опухоли и шкалы IPI при диагностике заболевания.

Задачи

1. Оценить эффективность индукционной терапии по схеме RCHOP в зависимости от клинических показателей и биологических характеристик опухоли у больных

диффузной В-крупноклеточной лимфомой.

2. Установить прогностическое значение комплексного использования иммуногистохимического подтипа лимфомы и шкалы IPI путем применения метода машинного обучения CART (Classification and Regression Tree).

3. Определить пороговое значение экспрессии белков PD-L1 и PD-1 на клетках опухолевого субстрата больных ДВККЛ, позволяющие распределить пациентов с ДВККЛ на группы, различающиеся по общей и беспрогрессивной выживаемости.

4. Обнаружить взаимосвязь экспрессии PD-L1 и PD-1 у больных ДВККЛ с клинико-лабораторными характеристиками опухоли.

5. Установить ассоциацию экспрессии маркеров PD-L1 и PD-1 с общей и беспрогрессивной выживаемостью больных ДВККЛ.

Степень разработанности темы

К настоящему времени создано значительное количество шкал, которые позволяют с различной степенью достоверности прогнозировать вероятность возникновения рецидива и длительность периода выживаемости больных ДВККЛ. Большинство из них включает в себя анализ клинико-лабораторных показателей, которые не могут отразить все особенности течения заболевания [7-9]. Перспективными являются попытки использования в прогностической системе иммуногистохимических или молекулярных маркеров и их комбинаций [18]. Опубликованы первые результаты, определяющие значение экспрессии белков PD-L1 и PD-1 в прогнозе ДВККЛ [16, 17]. Определение порогового уровня экспрессии в дебюте заболевания позволяет наиболее точно оценить прогностическую роль контрольных иммунных точек, в частности PD-L1 и PD-1, которые являются мишенью для таргетной терапии. До настоящего времени окончательно не сформирована общепринятая точка зрения на прогностический потенциал различных иммуногистохимических и молекулярно-генетических маркеров.

Научная новизна

Впервые с помощью метода машинного обучения CART предложен способ стратификации больных ДВККЛ путем комплексного использования иммуногистохимического подтипа заболевания и шкалы IPI.

Впервые установлены пороговые значения биомаркеров PD-L1 и PD-1 методом CART.

Проанализирована взаимосвязь клинико-лабораторных характеристик больных ДВККЛ с экспрессией белков PD-L1 и PD-1 на клетках опухолевого субстрата.

Продемонстрировано прогностическое значение экспрессии белка PD-L1 у пациентов с ДВККЛ в группе высокого риска по шкале IPI, с выделением подгруппы больных с крайне неблагоприятным прогнозом.

Практическая и теоретическая значимость работы

Комплексное использование иммуногистохимического подтипа и шкалы IPI позволит улучшить стратификацию больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой при диагностике заболевания.

Определение экспрессии PD-L1 в группе высокого риска в дебюте заболевания позволяет выделить категорию больных с наиболее неблагоприятным прогнозом, что может служить основанием для интенсификации терапии и/или применения таргетных препаратов.

Методология и методы исследования

При выполнении работы использовались ретроспективный анализ клинических и лабораторных данных, статистические методы. Объект исследования – пациенты с впервые установленным диагнозом ДВККЛ, получавшие терапию 1 линии по схеме RCHOP. Изучаемые явления: взаимосвязь ответа на индукционную терапию с клинико-лабораторными параметрами больных ДВККЛ, сочетание IPI и иммуногистохимических подтипов

как новый алгоритм прогноза течения заболевания, экспрессия белков PD-L1 и PD-1 на клетках опухолевого субстрата ДВККЛ.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Эффективность индукционной терапии по схеме RCHOP зависит от соматического статуса пациента, варианта прогностического индекса и концентрации ЛДГ, стадии заболевания и не зависит от иммуногистохимического подтипа ДВККЛ.
2. Сочетанное использование шкалы IPI и иммуногистохимических подтипов (GCB и non-GCB) повышает качество стратификации больных ДВККЛ.
3. Гиперэкспрессия PD-L1 на клетках опухолевого субстрата коррелирует с non-GCB подтипом ДВККЛ.
4. Уровень экспрессии белка PD-L1 ≥24,5% на клетках опухолевого субстрата ассоциирован с неблагоприятным прогнозом у больных ДВККЛ высокого риска.

Степень достоверности и апробация работы

Диссертационная работа включает в себя анализ результатов диагностики и лечения 97 больных ДВККЛ. Достоверность результатов проведенной научной работы подтверждается использованием сертифицированного лабораторного оборудования, статистических программ для обработки качественных и количественных данных, соответствующих цели и задачам исследования.

Основные положения диссертации представлены в 8 докладах на научно-практических конференциях молодых ученых (Киров, 2018), «Алгоритмы диагностики и современные подходы к терапии лимфопролиферативных заболеваний» (Киров, 2019), «Злокачественные лимфомы» с международным участием (Москва, 2018), «Центр передового опыта в городской клинической больнице им. Боткина» (Москва, 2020); «Лимфофорум» (Москва, 2020); «Современные подходы к диагностике и лечению диффузной В-крупноклеточной лимфомы» (Екатеринбург 2021), «Лимфофорум» (Москва, 2021), на интернет-конференции «Чем мы лечим ДВККЛ сегодня? Опыт различных центров» (Москва,

2021).

Результаты работы представлены в 4 постерных докладах на конференциях: «Злокачественные лимфомы» в 2018, 2020 г.г. Москва, на IV и V Гематологических конгрессах в 2018, 2020 г. г. Москва.

По теме диссертации опубликовано 7 статей в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, где изложены основные результаты диссертационных исследований.

Опубликовано 16 тезисов, в том числе 6 в сборниках трудов международных конгрессов: 23th Congress of European Hematology Association June 14-17 2018 Stockholm, 24th Congress of European Hematology Association June 13-16 2019 Amsterdam, 25th Congress of European Hematology Association June 09-14 2020 Frankfurt, 15th International Conference on Malignant Lymphoma June 18-22 2019 Lugano, 26th Congress of European Hematology Association June 10-13 2021 Vienna.

Внедрение

Результаты диссертационной работы внедрены в практику лаборатории патоморфологии, используются в лечебном процессе клинико-диагностического, взрослого отделения гематологии и химиотерапии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства».

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 110 страницах машинописного текста. Состоит из введения, основной части, включающей обзор литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Список литературы содержит 155 источников, в том числе 6 отечественных и 149 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 29 рисунками и 21 таблицей.

Личный вклад автора

Автор участвовала в планировании данной работы, постановке цели и задач исследования, самостоятельно разрабатывала дизайн исследования, непосредственно участвовала в обследовании и ведении пациентов, проводила анализ данных, готовила публикации и доклады по теме диссертации.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общая характеристика, эпидемиология и классификация диффузной В-крупноклеточной лимфомы

Согласно определению ВОЗ (2017 г.) ДВККЛ - опухоль с диффузным характером роста, состоящая из В-клеток средних или крупных размеров, с ядрами равными или превышающими диаметр ядра макрофага или два диаметра малого лимфоцита [19].

ДВККЛ – наиболее распространенный вариант лимфопролиферативных заболеваний взрослых, составляющий 30-40% от всех неходжкинских лимфом (НХЛ) [19]. В России частота заболеваемости составляет в среднем 4-5 на 100 тыс. населения в год, ежегодно диагностируется около 2 500 новых случаев [1]. В 2016 г. в США всего зарегистрировано 27 650 больных ДВККЛ. В Европе число заболевших составляет 3-4 человека на 100 тыс. населения ежегодно.

Показатель ОВ находится в пределах 62,0% в США и 55,4% в Европе [2]. Болеют преимущественно лица пожилого возраста, медиана составляет 70 лет, хотя заболевание выявляется также у молодых людей и нередко у детей. Отмечено небольшое преобладание лиц мужского пола. В большинстве случаев течение заболевания агрессивное, с неблагоприятным исходом [20].

Экстранодальное поражение выявляется у 40% пациентов. Около трети из них имеют В-симптомы, а именно лихорадку, потерю веса, ночную потливость. Чаще всего клинические проявления обусловлены специфическим поражением конкретного органа. Приблизительно у половины больных заболевание выявляется в III - IV стадиях. Поражение костного мозга диагностируется в 10-20% случаев и связано со снижением выживаемости [21, 22].

ДВККЛ по клиническим и биологическим признакам - гетерогенное заболевание. В пересмотренной классификации ВОЗ, опубликованной в 2017 г., отражены коррективы, которые внесены в предыдущую классификацию от 2008 г., и на данный момент в ней выделяется четыре категории: ДВККЛ без четких диффренциальных признаков (NOS), другие В-крупноклеточные лимфомы, В-

клеточная лимфома высокой степени злокачественности и пограничная В-клеточная лимфома (таблица 1) [19].

Таблица 1 - Варианты диффузной В-крупноклеточной лимфомы (классификация ВОЗ пересмотра 2017 г.)

ДВККЛ, неопределенная иными признаками (NOS)	**Другие В-крупноклеточные опухоли**
Морфологические варианты центробластный иммунобластный анапластический Молекулярные подтипы герминальный (GCB) активированный (ABC) неклассифицируемый	Первичная медиастинальная (тимическая) крупноклеточная В-клеточная лимфома Крупноклеточная В-клеточная лимфома, богатая Т-лимфоцитами или гистиоцитами Первичная ДВККЛ ЦНС Первичная кожная ДВККЛ «тип нижних конечностей» EBV-позитивная ДВККЛ ДВККЛ, ассоциированная с хроническим воспалением Внутрисосудистая крупноклеточная В-клеточная лимфома Крупноклеточная В-клеточная лимфома с перестройкой *IRF4* Лимфоматоидный гранулематоз ALK-позитивная крупноклеточная В-клеточная лимфома Плазмобластная лимфома HHV8-ассоциированные лимфопролиферативные заболевания Первичная лимфома серозных полостей

Продолжение таблицы 1

В-клеточные лимфомы высокой степени злокачественности	**Пограничные категории**
В-клеточные лимфомы высокой степени злокачественности с *MYC* и *BCL2* и/или *BCL6* перестройкой, В-клеточные лимфомы высокой степени злокачественности, NOS	В-клеточная лимфома, неклассифицируемая с промежуточными чертами ДВККЛ и классической лимфомы Ходжкина

Высокозлокачественные В-клеточные лимфомы характеризуются транслокациями генов *c-MYC, BCL2* и/или *BCL6* или бластоидной морфологией клеток. В новой классификации также сохраняется деление лимфомы на молекулярно-генетические подтипы в зависимости от клеточного происхождения (GCB и ABC).

1.2 Морфологическая, иммуногистохимическая и цитогенетическая характеристика диффузной В-крупноклеточной лимфомы

Субстратом опухоли являются крупные В-лимфоидные клетки с выраженной атипией и полиморфизмом, с размером ядра в два и более раз превышающим размер такого у малого лимфоцита. Опухолевые элементы в большинстве случаев располагаются диффузно, но могут быть и разбросанными среди зрелых В-лимфоцитов, иногда на фоне Т-клеточного окружения, или формировать очаговые скопления. В зависимости от преобладания в субстрате определенного морфологического типа опухолевых клеток выделяют центробластные, иммунобластные, анапластические, а также смешанные гистологические варианты ДВККЛ, на долю которых приходится 80-90%, 8-10% и 2% и 1%, соответственно [23]. Принципиальным условием верификации диагноза является иммуногистохимическое исследование опухолевого субстрата, при выполнении которого обнаруживается экспрессия CD19, CD20 и CD22 антигенов В-линейной

принадлежности, а также выявляются факторы транскрипции генов PAX5, BOB1, BCL2, BCL6, CD10, MUM1, FOXP1 В-клеток [23]. В 50-70% случаев на мембране или в цитоплазме опухолевых клеток удается определить иммуноглобулины, чаще всего IgM. [24]. K. Georgiou с соавт. продемонстрировали наличие экспрессии экспрессию белка PD-L1 у 20-25% больных при наличии транслокации в хромосоме 9p24 [25].

Молекулярно-генетический анализ – необходимое условие для корректной диагностики и прогнозирования течения ДВККЛ. Сочетание нескольких мутаций – признак, встречающийся преимущественно у больных с агрессивным течением и/или резистентным вариантом заболевания. Обнаруживаемые хромосомные аберрации и/или повреждения генов, регулирующих апоптоз, пролиферацию и дифференцировку, рассматриваются как биологические события, инициирующие возникновение и развитие опухолевого клона [26, 27].

В настоящее время принято считать, что значимая роль в регуляции герминальной дифференцировки В-клеток принадлежит генам *c-MYC, BCL6* и *BCL2*. От уровня экспрессии каждого из них зависит прогноз заболевания, что подтверждено результатами исследований [28, 29]. Гиперэкспрессия *c-MYC* оказывает значительное влияние на аберрации других генов, в том числе ответственных за внутриклеточную регуляцию. Аномалии *c-MYC* при В-клеточных лимфомах могут быть представлены перестройкой гена, амплификацией и точечными мутациями. [28]. Все В-клеточные опухоли с перестройкой *c-MYC* характеризуются агрессивным клиническим течением и плохо поддаются терапии по стандартной схеме RCHOP [29].

Высокий уровень экспрессии BCL6 определяется при GCB-подтипе. В 35% случаев при этом варианте выявляется также перестройка гена *BCL2*, представленная транслокацией t(14;18)(q32;q21). При ABC молекулярном подтипе наблюдается экспрессия ряда генов, характеризующих нормальные плазматические клетки [29]. При этом запускается программа дифференцировки В-клеток в плазматические клетки, что в дальнейшем приводит к подавлению экспрессии *BCL6*, а также *c-MYC*.

1.3 Критерии прогноза при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

1.3.1 Значение международного прогностического индекса и модификации шкалы IPI

Повышение эффективности лечения больных ДВККЛ возможно при назначении персонифицированной терапии. Основным и доступным в рутинной клинической практике подходом к индивидуализации терапии является определение прогноза течения заболевания для каждого пациента с целью назначения риск-адаптированной терапии. Для прогнозирования течения ДВККЛ используют различные системы оценки рисков, базирующиеся на клинических, морфологических и генетических факторах [7, 30].

Одной из таких систем является международный прогностический индекс (IPI), разработанный в 1993 г. [7]. IPI рассчитывается по системе баллов и включает в себя такие параметры, как возраст пациента (старше 60 лет – 1 балл), стадия заболевания по Ann Arbor (3-4 стадия – 1 балл), соматический статус по шкале ECOG (>1 – 1 балл), поражение экстранодальных органов (>1 – 1 балл) и концентрация ЛДГ (> нормы – 1 балл). В IPI выделяются 4 группы риска: низкий, промежуточный низкий, промежуточный высокий и высокий, ассоциированные с разной выживаемостью больных ДВККЛ: 5-летняя ОВ составляет 73%, 51%, 43% и 26%, соответственно (рисунок 1) [7].

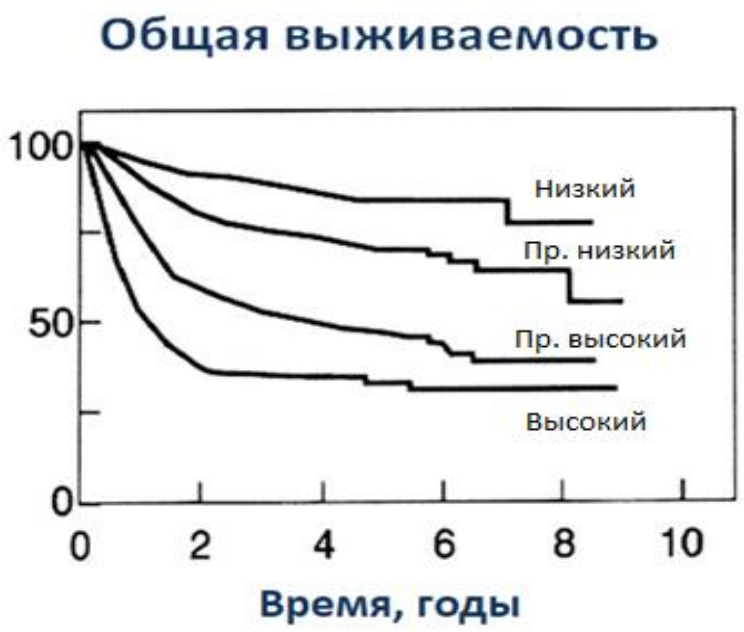

Рисунок 1 - Общая выживаемость больных ДВККЛ в зависимости от группы риска по шкале IPI [7].

Применение индукционной терапии по схеме RCHOP является «золотым стандартом» лечения больных ДВККЛ. На данный момент отсутствуют четкие критерии, позволяющие на этапе диагностики и/или ранних стадиях лечения обосновать целесообразность эскалации терапии, отражением чего являются в целом, невысокие показатели выживаемости. Данные ретроспективного анализа результатов лечения 82 пациентов с ДВККЛ в возрасте 18-76 лет свидетельствуют об снижении эффективности схемы R-CHOP при значении индекса IPI более 2 баллов [31]. L. Sehn с соавт. (2007) проанализировали результаты лечения 365 больных ДВККЛ и не получили достоверных различий при распределении пациентов в 4 ожидаемые группы риска по шкале IPI, т.к. кривые выживаемости двух групп низкого риска и двух - высокого риска практически полностью совпадали (рисунок 2) [9].

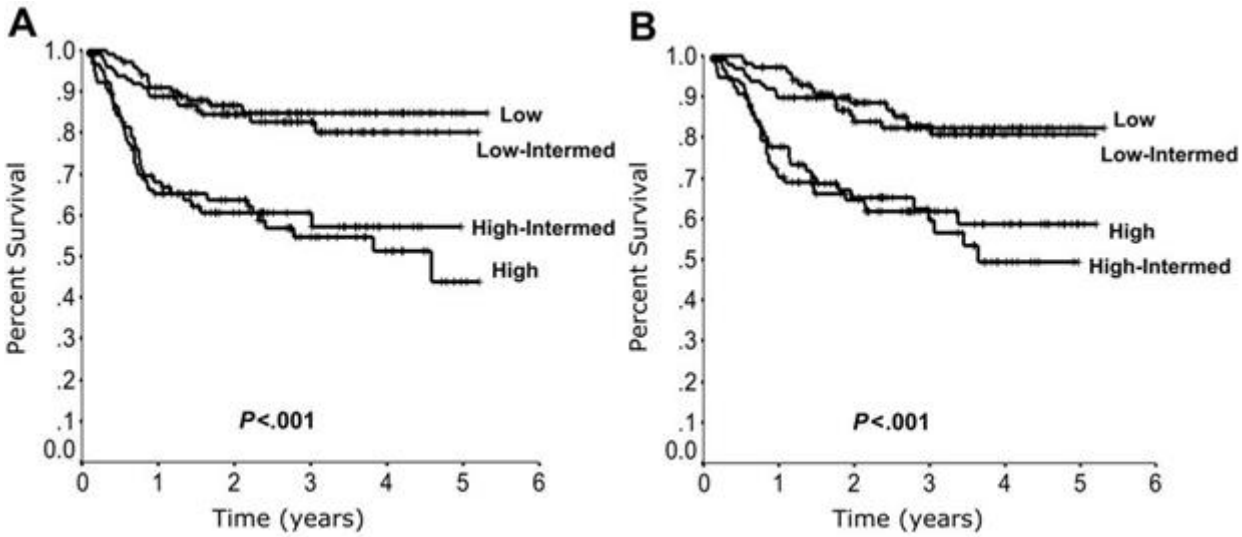

Рисунок 2 - Общая и безрецидивная выживаемость в зависимости от риска IPI в эру ритуксимаба [9].

В последние годы предпринимаются многочисленные попытки модифицировать шкалу IPI и адаптировать ее к реальной клинической практике (таблица 2). Разработаны аналоги IPI: aaIPI (адаптированный к возрасту Международный прогностический индекс, age adjusted IPI) и R-IPI (пересмотренный Международный прогностический индекс, Revised IPI), в которые включены те же клинические и биохимические параметры, что и в шкалу IPI [7, 9, 32]. После включения ритуксимаба в схемы лечения больных ДВККЛ Национальной всеобщей онкологической сетью (США) предприняты новые попытки обновления системы прогноза для более корректной стратификации пациентов на группы риска. Так, усовершенствованная шкала IPI (NCCN-IPI) включает в себя те же 5 факторов: возраст, концентрация ЛДГ, поражение более 1 экстранодальной зоны, стадия по классификации Ann-Arbor и соматический статус по шкале ECOG, при этом больные по возрасту разделяются на 4 группы, показатели ЛДГ - на две [10].

Таблица 2 - Международный прогностический индекс (IPI) и его варианты

Вариант IPI	**Прогностические факторы**	**Группы риска (баллы)**	**ОВ**
IPI (1993)	возраст: > 60 лет (1) ECOG: > 1 (1) стадия: 3 или 4 (1) ЛДГ: >верхней границы нормы (1) экстранодальные очаги: > 1 (1)	Низкий (0–1) Промежуточно низкий (2) Промежуточно высокий (3) Высокий(4–5)	73% 51% 43% 26%
aaIPI (адаптированный к возрасту) (> 60 лет) (1993)	стадия: 3 или 4 (1) ЛДГ > верхней границы нормы(1) экстранодальные очаги: > 1 (1)	Низкий (0) Промежуточно низкий (1) Промежуточно высокий (2) Высокий (3)	56% 44% 37% 21%
aaIPI (≤60 лет) (1993)	стадия: 3 или 4 (1) ЛДГ: > верхней границы нормы (1) экстранодальные очаги: > 1 (1)	Низкий (0–1) Промежуточно низкий (2) Промежуточно высокий (3) Высокий(4–5)	83% 69% 46% 32%
R-IPI (пересмотренный (2007)	возраст: > 60 (1) ECOG: > 1 (1) стадия: 3 или 4 (1) ЛДГ: > верхней границы нормы (1) экстранодальные очаги: > 1(1)	Очень хороший прогноз (0) Хороший (1–2) Плохой (3–5)	94% 79% 55%
NCCN-IPI (2014)	возраст: < 40 лет (0) 40–60 лет (1) 60–75 лет (2) > 75 лет (3) ЛДГ выше 1-3х норм (1) > 3× норм (2) ECOG: ≥2 (1) стадия 3 или 4 (1) экстранодальные очаги: ≥1 (1)	Низкий (0-1) Промежуточно низкий (2–3) Промежуточно высокий (4–5) высокий (≥6)	96% 82% 64% 33%

Этими дополнениями NCCN-IPI отличается от предыдущих вариантов IPI. Модифицированный NCCN-IPI более точно разграничивает подгруппы высокого и низкого рисков в сравнении со стандартным IPI: 5-летняя ОВ составляет 33% и

96%, соответственно. Результаты подтверждены на когорте из 1138 больных гематологами национального онкологического общества США. Это позволяет утверждать, что NCCN-IPI имеет больше преимуществ в стратификации пациентов в эру моноклональных антител, чем IPI [10].

Шкала IPI и другие, созданные на ее основе системы, являются простыми и легко воспроизводимыми прогностическими моделями для определения БПВ и ОВ. При этом ни одна из них не предполагает решение проблемы выбора терапии в зависимости от прогноза.

По данным литературы, существуют дополнительные факторы, которые могут оказывать независимое влияние на прогноз течения заболевания, ОВ и БРВ (безрецидивную выживаемость) при ДВККЛ [33,34]. К ним относятся В-симптомы, поражение экстранодальных органов, индекс массы тела, гематологические и биохимические показатели. Как показал J. Wight с соавт. в крупном ретроспективном исследовании, наличие этих факторов связано с ухудшением БРВ и не зависит от IPI, морфологии клеток, мутации *TP53* и совместной экспрессии генов *c-MYC/BCL2* [33]. Поражение экстранодальных органов и их количество при ДВККЛ также влияет на прогноз заболевания. При этом не имеет значения, какой именно орган поражен, за исключением центральной нервной системы (ЦНС) [34]. Поражение ЦНС при диагностике ДВККЛ встречается редко и традиционно считается неблагоприятным фактором течения заболевания [35-37]. Рецидивы ДВККЛ с поражением ЦНС чаще возникают при вовлечении экстранодальных органов таких, как яички, матка, почки, надпочечники и, возможно, костный мозг [38]. Поражение костного мозга при ДВККЛ имеет самостоятельное прогностическое значение в эпоху ритуксимаба [39].

Немаловажную роль в прогнозе течения заболевания, по данным литературы, играют гематологические и биохимические показатели (таблица 3) [40-44]. В клиническом анализе крови большая роль придается значениям лейкоцитарной формулы, а именно абсолютному количеству лимфоцитов и моноцитов [40-44].

Таблица 3 - Модифицированные варианты IPI

Прогностическая система	**Прогностические факторы**	**Группы риска (баллы)**	**ОВ**
Kanemasa, 2016	возраст: > 60 (1) ECOG: > 1 (1) стадия: 3 или 4 (1) β2M: ≥3.2 мг/л (1)	Низкий (0) Промежуточно низкий (1–2) Промежуточно высокий (3) Высокий (4)	100% 87% 57,2% 23,4%
M-IPI-R, 2016	возраст: > 60 (1) ECOG: > 1 (1) стадия: 3 или 4 (1) ЛДГ: > верхней границы нормы (1) экстранодальные очаги: > 1 (1) CD37: отриц (2) ABC подтип: GEP (1)	Низкий (0–1) Промежуточно низкий (2–3) Промежуточный (4) Промежуточно высокий (5–6) Высокий (7–8)	95% 81% 57% 37% 20%
ИГХ + IPI, 2016	возраст: > 60 (1) ECOG: > 1 (1) стадия: 3 или 4 (1) ЛДГ> выше верхней границы нормы (1) экстрнодальные очаги: > 1 (1) CD37: отриц (3) MYC высокий:70% (1) BCL2 выше 70% (1)	Низкий (0–2) Промежуточно низкий (3–4) Промежуточный (5–6) Промежуточно высокий (7–8) Высокий (9–10)	91% 78% 50% 24% 8%
SIL индекс, 2016	стадия: ≥3 (1) растворимый интерлейкин-2: > 2500Ед/мл (1) ЛДГ > выше верхней границы нормы (1)	Низкий (0–1) Высокий (2–3)	79% 53%
GELTAMO IPI, 2017	возраст: < 65 (0) 65–79 (1) ≥80 (2) ECOG: 2 (1) 3–4 (2) стадия: 3 или 4 (1) ЛДГ: > выше верхней границы нормы (1) β2M: > выше верхней границы нормы (1)	Низкий (0) Промежуточно низкий (1–3) Промежуточно высокий (4) Высокий (> 5)	93% 79% 66% 39%

Продолжение таблицы 3

Лимфоцит: Моноцит-IPI, 2011	АКЛ: ≤1000/мл (1) АКМ: ≥630/мл (1)	Низкий (0) Промежуточный (1) Высокий (2)	83% 59% 30%
Chen, 2016	АКН: > выше верхней границы нормы (1) АКМ: > выше верхней границы нормы (1) ECOG: > 1 (1) экстранодальные очаги: > 1 (1) β2M: 1–1.5х нормы (1) 1.5–2х нормы (2) >2х норм (3)	Низкий 1 (0) Низкий 2 (1) Промежуточный (2) Высокий 1 (3–5) Высокий2 (6–7)	98% 92% 82% 66% 21%
NCCN-IPI плюс альбумин, 2017	возраст: < 40 лет (0) 40–60 лет (1) 60–75 лет (2) > 75 лет (3) ЛДГ: 1-3х норм (1) > 3х норм (2) ECOG: ≥2 (1) стадия: 3 или 4 (1) экстранодальные очаги: ≥1 (1) альбумин: < 35 г/л (2)	Низкий (0–2) Промежуточно низкий (3) Промежуточно высокий (4–7) Высокий (8–10)	93.5% 78% 55.7% 36.8%

Как установил J. Wang и соавт., снижение абсолютного количества лимфоцитов (АКЛ) связано с более низкой выживаемостью при ДВККЛ [43]. Существует гипотеза, заключающаяся в том, что циркулирующий пул лимфоцитов отражает количество Т-клеток в микроокружении опухоли, которое также имеет прогностическое значение [43]. По данные литературы показано, что АКЛ является независимым от IPI предиктором. Это в дальнейшем привело к включению данного показателя в систему прогноза и появлению новых прогностических моделей, например, Лимфоцит:Моноцит-IPI, созданной в 2011 году.

По данным A. Bari и соавт. низкое АКЛ имеет большую прогностическую значимость в эру ритуксимаба. Считается, что количество лимфоцитов играет важную роль в фармакокинетике этого препарата [42]. Проведен анализ АКЛ в

небольшой когорте больных ДВККЛ (n=43). Показано, что в основе неблагоприятного прогноза у пациентов с лимфопениями лежит снижение абсолютного показателя CD4+ [45]. Шкала АКЛ-R-IPI редко применяется в клинической практике. Напротив, как показали в своей статье C. Keane и соавт., повышенное абсолютное количество моноцитов (АКМ) при диагностике ДВККЛ предполагает более низкую выживаемость [46]. Неблагоприятный вариант прогноза – это сочетание низкого АКЛ и высокого АКМ, что продемонстрировано при мета-анализе в 9 ретроспективных исследованиях с более чем 4000 пациентами ДВККЛ. Это подтверждает важность определения количества циркулирующих лимфоцитов и соотношения лимфоцитов к моноцитам (АКЛ: АКМ) [47]. В то же время в исследовании X. Wei данный фактор не зависел от IPI [48].

Большое внимание при прогнозировании течения ДВККЛ уделяется бета-2 микроглобулину (β_2-МГ), увеличение которого отмечается примерно в 40% случаев. В нескольких ретроспективных исследованиях, проведенных в Японии, повышенные значения β2-МГ определяли худший результат у пациентов, получавших RCHOP-подобную терапию [48-50]. Показано, что чем выше уровень β2-МГ, тем хуже прогноз течения болезни, на основании чего предлагалось включение β2-МГ в прогностическую модель (таблица 3) [49]. Этот факт подтвержден в более крупных исследовательских работах, проведенных на других этнических группах в разных странах. Так, результаты исследований, выполненных в США и Южной Корее показали, что уровень β2-МГ выше референсных значений являлся самым значимым предиктором низких БРВ и ОВ при многофакторном анализе [51, 52]. В крупнейшем исследовании, включающем в себя почти 2000 пациентов ДВККЛ, изучена новая система оценки прогноза «GELTAMO-IPI», основанная на включении β2-МГ в NCCN-IPI с исключением поражения экстранодальных органов в качестве прогностического фактора [53]. В дополнение к определению важности показателя β2-МГ, эта модель более корректно различала группы низкого и высокого риска по сравнению с IPI (таблица 3). Механизм, лежащий в основе прогностического значения β2-МГ, еще не совсем определен. Полученные преимущественно ретроспективно данные представляются наиболее

надежными, хотя результаты их использования не доказаны в проспективных исследованиях и не продемонстрированы как независимые от других прогностические факторы, такие, как реаранжировка генов *c-MYC* и *BCL2*. В ряде работ предложены новые системы прогноза течения ДВККЛ, однако они не нашли широкого применения в реальной клинической практике [49, 50].

1.3.2 Молекулярно-генетические и иммуногистохимические факторы прогноза

Подтипы диффузной В-крупноклеточной лимфомы

A. Alizadeh и соавт. (2000), проанализировав профили экспрессии генов (GEP), разделили пациентов с ДВККЛ на три молекулярных подтипа [11]. При первом варианте опухолевые клетки биологически близки к В-клеткам герминативных центров фолликулов лимфатических узлов и носит название GCB-подтип (Germinal Center of B-lymfocyte). Второй вариант характеризуется злокачественными клетками ДВККЛ, по профилям генной экспрессии соответствующие активированным В-лимфоцитам крови, то есть В-лимфоцитам пост- фолликулярных этапов дифференцировки (ABC activated B-cells тип). Третий вариант – неклассифицируемый. Данные подгруппы представляют собой паттерны экспрессии генов, указывающие на различные стадии дифференцировки В-клеток. При этом пациенты с лимфомой GCB-подтипа имеют лучшую выживаемость по сравнению с больными ABC.

Подтип ABC обусловлен частыми мутациями в рецепторах В-клеток в сигнальном пути NFKB, в том числе в CARD11, CD79a/CD79b и MYD88. Мутации MYD88, L265P присутствуют у 29% пациентов с ABC и связаны с экстранодальным поражением (молочные железы, яичко, желудок, центральная нервная система) и плохим исходом [54]. Подтип GCB характеризуется частыми мутациями в фосфоинозитид-3-киназе (PI3K) и в апоптотическом пути. D.W. Scott. продемонстрировал новую методику GEP: типирование опухолевого материала, основанное на анализе 20 генов. Подтверждена совместимость со стандартом GEP >95% протестированных образцов [55]. Данная методика использовалась для

анализа больших групп пациентов, получавших индукционную терапию по схеме RCHOP в масштабных проспективных исследованиях. Результаты, полученные онкологическим обществом Британской Колумбии, показали более благоприятный прогноз для пациентов с профилем генов GCB, чем ABC [56]. Исследовательская группа (Германия) по изучению высокозлокачественных неходжкинских лимфом проанализировала выборки из двух рандомизированных исследований (RICOVER-60 и RMegaCHOEP) и не выявила различий между GCB и ABC подтипами [57]. Противоречия в полученных результатах могут быть связаны с отбором пациентов в основном с низкой группой риска. Исследовательская группа GOYA, проанализировав результаты выживаемости больных ДВККЛ в молекулярных подгруппах GCB, ABC и NOS (неклассифицированная), доказала значительно более высокую 3-летнюю БРВ для GCB подтипа (75% против 59% и 63% в других подгруппах соответственно) [58].

Поскольку методы GEP технически сложны при выполнения в рутинной практике, для определения подтипов разработаны многочисленные алгоритмы иммуногистохимического (ИГХ) анализа. Алгоритм C. Hans, основанный на определении маркеров экспрессии антигенов CD10, BCL6 и MUM1 / IRF4, является наиболее востребованным и разделяет ДВККЛ на GCB и non-GCB иммуногистохимические подтипы (рисунок 3) [59].

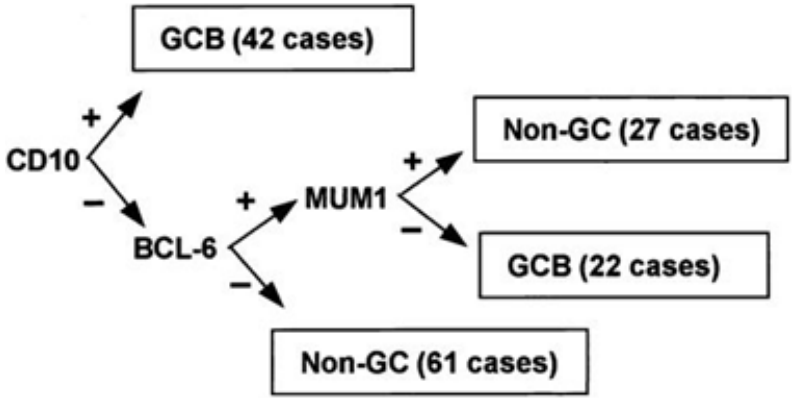

Рисунок 3 - Алгоритм C.P. Hans [59].

Согласованность алгоритма C.P. Hans с GEP составляет приблизительно 76% [59]. Показано, что у пациентов с подтипом GCB показатели ОВ и БРВ лучше по сравнению с результатами при non-GCB-варианте ДВККЛ (рисунок 4) [13].

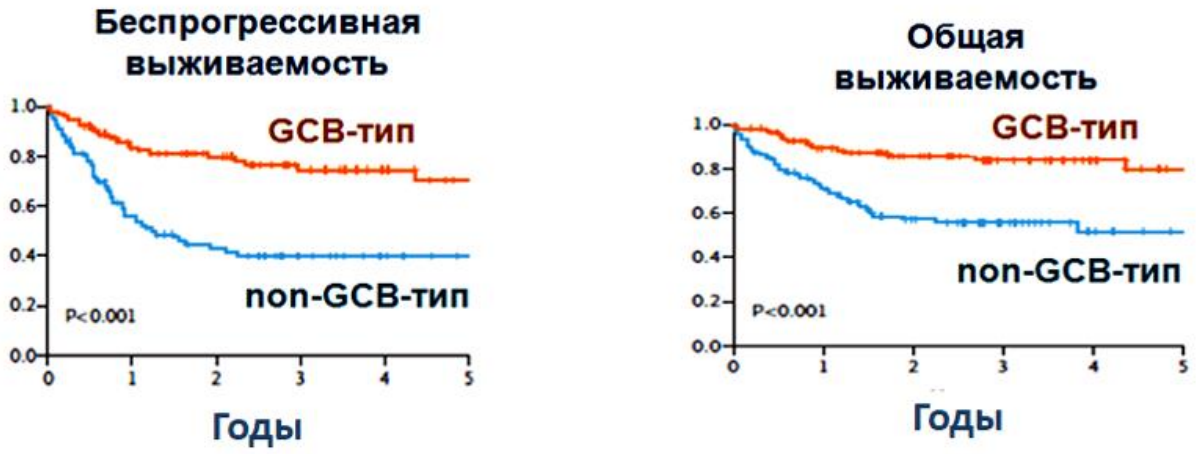

Рисунок 4 - Ассоциация выживаемости с иммуногистохимическими подтипами [13].

В настоящее время продолжается поиск молекулярных и иммунологических маркеров и определение их прогностической значимости, совершенствуются алгоритмы, применяемые для идентификации иммуногистохимических подгрупп, созданы другие иммуногистохимические алгоритмы [60-62]. В 2012 г. C. Visco и K. Young предложили алгоритм с исследованием четырех (CD10, GCET1, FOXP1, BCL6) и трех (CD10, FOXP1, BCL6) маркеров. Корреляция диагностического алгоритма с профилем экспрессии генов составляет 92,8% и 92,6%, соответственно [62]. Тем не менее исследования по выявлению корреляции между подтипом ДВККЛ и клиническим течением заболевания продолжаются [63].

Продемонстрировано, что установление non-GCB подтипа достаточно для прогнозирования снижения выживаемости больных ДВККЛ [64, 65]. В других работах иммуногистохимический подтип приобретал прогностическую значимость только при совместном анализе с IPI [66]. Так, Z. Ye с соавт. определили, что 5-летняя ОВ и БРВ больных ДВККЛ с подтипом GCB значимо выше, чем аналогичные показатели у пациентов с подтипом non-GCB. При этом наименьшая выживаемость больных ДВККЛ ассоциирована с подтипом non-GCB при балльном значении IPI от 2 до 5 [65].

Существуют другие системы оценки риска, например шкалы M-IPI-R, IPI + иммуногистохимический анализ (IPI + ИГХ), базирующиеся на сочетании

клинических, иммуногистохимических или генетических факторов прогноза [67,68]. Другие исследователи анализировали менее известные иммуногистохимические маркеры ДВККЛ для определения прогноза заболевания. Так, A. Perry с соавт. использовали в системе прогноза три фактора non-GCB: иммунофенотип, экспрессия SPARC (секретируемый белок, богатый цистеином) и микрососудистая плотность, чтобы разделить пациентов на прогностически благоприятные и неблагоприятные группы [69].

Генетические аберрации при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

Большинство опухолей из лимфатической ткани характеризуются наличием транслокаций, возникающих на различных этапах созревания лимфоцитов. При повреждении генов, отвечающих за регуляцию таких процессов, как апоптоз, пролиферацию и дифференцировку клеток, хромосомные перестройки, на молекулярном уровне запускается механизм, приводящий к развитию лимфомы [70, 71]. Наибольшее прогностическое значение в настоящее время имеют гены *c-MYC, BCL6 и BCL2*. Мутации в них могут приводить к запуску ряда триггерных механизмов, влияющих на дальнейшую дифференцировку клетки [71]. В-клеточные лимфомы с перестройкой генов *c-MYC и BCL2* и/или *BCL6* являются новыми единицами классификации ВОЗ 2017 г., которые включены в категорию В-клеточных лимфом высокой степени злокачественности [19]. Лимфомы с двойной транслокацией (double-hit lymphoma, DHL) и лимфомы с тройной перестройкой генов *c-MYC/BCL2/BCL6* (triple-hit lymphoma, THL) имеют агрессивное течение, зачастую протекая с вовлечением в процесс костного мозга и центральной нервной системы. Прогноз таких видов лимфом неблагоприятный. При этом большинство DHL относятся к подтипу GCB [72]. По данным разных авторов медиана выживаемости больных с DHL и THL низкая и варьирует от 4,5 до 18 мес. [14, 73, 74]. Лечение этих пациентов стандартной химиотерапией RCHOP малоэффективно, а медиана ОВ составила 12 мес.

Иммуногистохимическим методом выделяется еще один вариант ДВККЛ, имеющий неблагоприятный прогноз и не указанный в классификации ВОЗ 2017г.

Это лимфома с экспрессией двух белков *c-MYC и BCL2* (double-expressor lymphoma DEL). Такой фенотип чаще встречается в подгруппе ABC [72]. Онкогены *c-MYC* и *BCL2* вовлечены в механизмы пролиферации и апоптоза и являются ключевыми регуляторами в патогенезе ДВККЛ.

Одноименные хромосомные транслокации связаны с агрессивным и рефрактерным клиническим течением заболевания. Однако другие механизмы могут приводить к гиперэкспрессии этих белков на поверхности опухолевых клеток независимо от транслокационных событий. Двойная экспрессия *c-MYC* и *BCL2* встречается в 20-30% случаев ДВККЛ [14, 70, 75, 76]. Следует отметить, что экспрессия *c-MYC* без *BCL2* выявляется у 25–30% пациентов с лимфомой независимо от иммуногистохимического подтипа и не является неблагоприятным прогностическим фактором при лечении в фазе индукции по схеме RCHOP [77]. Однако в некоторых исследованиях данная экспрессия связана с худшей БРВ независимо от шкалы IPI и иммуногистохимического подтипа [78]. Эти данные предопределяют дальнейшие исследования и поиск новых предикторов заболевания.

1.3.3 Новые молекулярно-генетические предикторы течения диффузной В-крупноклеточной лимфомы

R. Schmitz и соавт. (2018 г.) опубликовали результаты многофакторного геномного анализа, проведенного на 574 гистологических образцах ДВККЛ и выявили 4 генетических подтипа в группах GCB и ABC [79]. Первый подтип характеризуется мутациями *MYD88* и *CD79B* (MCD) и чаще встречается среди ABC-лимфом. Второй характеризуется слиянием гена *BCL6,* мутациями *NOTCH2* (BN2) и представлен одинаковым соотношением среди ABC и GCB подтипов. В третьем присутствуют мутация *NOTCH1* (N1), она чаще встречается среди ABC. В четвертом - мутации *EZH2* и транслокация *BCL2* (EZB) и чаще присутствует в GCB лимфоме. Исследователями проведен анализ клинического прогноза у 117 пациентов: 5-летняя ОВ значительно различалась между группами и составляла 26%, 36%, 65% и 68% для MCD, N1, BN2 и EZB, соответственно.

B. Chapuy и соавт. (2018г.) провели секвенирование всего экзома генома для выявления частоты мутаций у 304 больных с впервые выявленной ДВККЛ [80]. Идентифицированы пять различных подгрупп ДВККЛ. В первой подгруппе редко обнаруживались перестройки гена *BCL6*, но определялись мутации *NOTCH2*, эта подгруппа чаще всего относилась к подтипу ABC. Вторая являлась независимой подгруппой от клеточного происхождения с часто встречающейся двухаллельной инактивацией *TP53*, потерей *CDKN2A* и геномной нестабильностью. Третья - представляла собой молекулярный подтип GCB с транслокациями гена *BCL2* и изменениями белка *OPTEN*. Четвертая подгруппа соответствовала GCB-подтипу с изменениями в *BCR/PI3K, JAK/STAT* и пути *BRAF*. Лимфомы пятой подгруппы чаще имели изменения в хромосоме 18q с повышенной экспрессией *BCL2* и *MALT1*, а также мутации в *CD79* и *MYD88*; эти опухоли в основном относились к подтипу ABC. Генетические подгруппы выделены в результате двух вышеупомянутых исследований, проведенных независимо друг от друга, причем подгруппы первая, третья и пятая соответствуют BN2 и EZB, MCD-подтипам соответственно.

Новые молекулярные классификации позволяют стратифицировать подтипы GCB и ABC на биологически различные подгруппы. Такой подход должен помочь в обосновании назначения таргетной терапии пациентам с ДВККЛ [81].

1.4 Сигнальные белки PD-L1, PD-1 и их прогностическое значение при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

Универсальность механизма иммунного контроля при развитии ряда онкогематологических заболеваний и эффективность терапии ингибиторами контрольных иммунных точек предопределили значительный интерес к изучению данной категории таргетных белков у больных НХЛ, в том числе ДВККЛ, не только в качестве возможных мишеней для терапевтического воздействия, но и как вероятных предикторов агрессивного течения заболевания [82-86]. К настоящему времени известно и находятся в стадии разработки более 10 белков – регуляторов Т-лимфоцитов. Наиболее хорошо изученные контрольные точки носят

ингибирующий характер и включают цитотоксическую Т-лимфоцитарно-ассоциированную молекулу-4 (CTLA-4), программируемый рецептор клеточной смерти-1 (PD-1, Programmed cell death - 1) и программируемый лиганд клеточной смерти-1 (PD-L1, Programmed cell death - ligand 1) [84].

Активация Т-клеток - первый этап эффективного иммунного ответа, реализуется путем взаимодействия Т-клеточного рецептора (TCR) с комплексом антиген - молекула главного комплекса гистосовместимости (MCH) на поверхности антигенпрезентирующих клеток [87]. Кроме того, для активации Т-лимфоцитов требуется дополнительный костимулирующий сигнал, позволяющий им отвечать на представленный антиген [88]. Второй сигнал обычно опосредуется CD28, но может быть представлен CD27 или рецептором фактора некроза опухоли [89]. Одновременное взаимодействие TCR с комплексом MHC/пептид и CD80/86, находящихся на поверхности антигенпрезентирующей клетки, с молекулой CD28 на поверхности Т-лимфоцита, запускает процесс его активации, пролиферации и продукции цитокинов [90]. Для предотвращения чрезмерной реакции иммунной системы Т-клетка может также получать сигналы подавления иммунного ответа. Эти сигналы передаются через иммунологические контрольные точки: PD-1 (CD279), CTLA4 (CD152) или В и Т-лимфоцитарный ингибирующий рецептор (BTLA) [89].

Иммунологические контрольные точки — это система ингибиторных механизмов, которые участвуют в регуляции активации иммунного ответа, модулируют его, ограничивают вызванные иммунными клетками повреждения органов и тканей, а также препятствуют запуску аутоиммунных реакций [91]. Эффективный иммунный ответ требует адекватного баланса между положительными и отрицательными костимуляторными сигналами.

При лимфоме баланс между активацией и подавлением иммунного ответа часто смещается в сторону глубокой иммуносупрессии [92]. Злокачественные клетки обычно способствуют реализации ингибиторных механизмов в микроокружении опухоли, вследствие чего снижается активность регуляторных Т-клеток (Treg) в опухолевом субстрате и микрооружении опухоли. Это

предопределяет секрецию различных иммуносупрессивных лигандов PD-1, таких как PD-L1 (CD274) и PD-L2 (CD273), что приводит к подавлению иммунного ответа [85, 93, 94].

Лиганд (PD-L1) к рецептору запрограммированной гибели клеток (PD-1) представляет собой белок, экспрессированный на поверхности опухолевых дендритных, Т-клеток, макрофагов и фибробластов [95,96]. Он является ключевым компонентом сигнального пути PD-1/PD-L1, участвующего в ингибировании опухоль-специфических Т-лимфоцитов (рисунок 5) [16, 90, 97, 98].

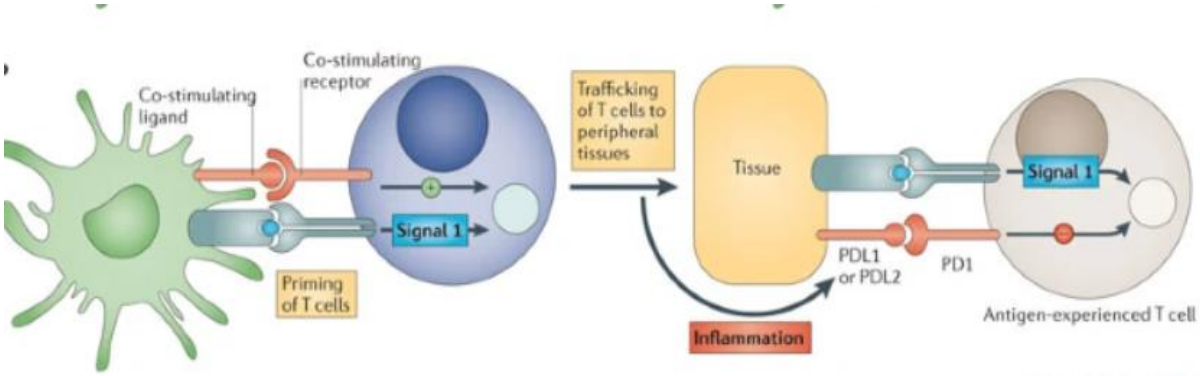

Рисунок 5 - Регуляция иммунного ответа [98].

При связывании PD-L1 с рецептором PD1 подавляется продукция цитокинов и развивается анергия Т-клеток [85, 97, 99]. Данные литературы подтверждают, что активация пути PD-1/ PD-L1 представляет собой механизм, который позволяет опухолям ускользать от надзора иммунной системы хозяина [100].

Все механизмы, ответственные за гиперэкспрессию PD-L1, окончательно не установлены [16]. Генетические изменения в локусах PD-L1 и PD-L2 хромосомы 9p24.1 (точечные мутации, амплификация или слияние) непосредственно вызывают активацию промотора гена PD-L1 и, следовательно, гиперэкспрессию PD-L1 [25, 101]. Инфекция EBV также влияет на развитие гиперэкспрессии PD-L1 [102]. Кроме того, экспрессия PD-L1 может быть индуцирована активацией сигнального пути JAK/STAT провоспалительными цитокинами, такими как IL-10 [103, 104]. Это происходит за счет активации гена JAK2 либо вследствие его

мутации, ингибирования SOCS-1, либо с помощью микроРНК miR-135a [105, 106]. Инфекция EBV напрямую активирует промотор PD-L1 через путь AP-1/cJUN/JUN-B и косвенно активирует его через стимуляцию пути JAK3-STAT5 воспалительными цитокинами [101, 103, 110, 112]. Другим механизмом, который приводит к активации пути JAK/STAT и в дальнейшем способствуют экспрессии PD-L1, может служить мутация *MYD88, L265P* в клетках ДВККЛ [104, 107, 108] (рисунок 6).

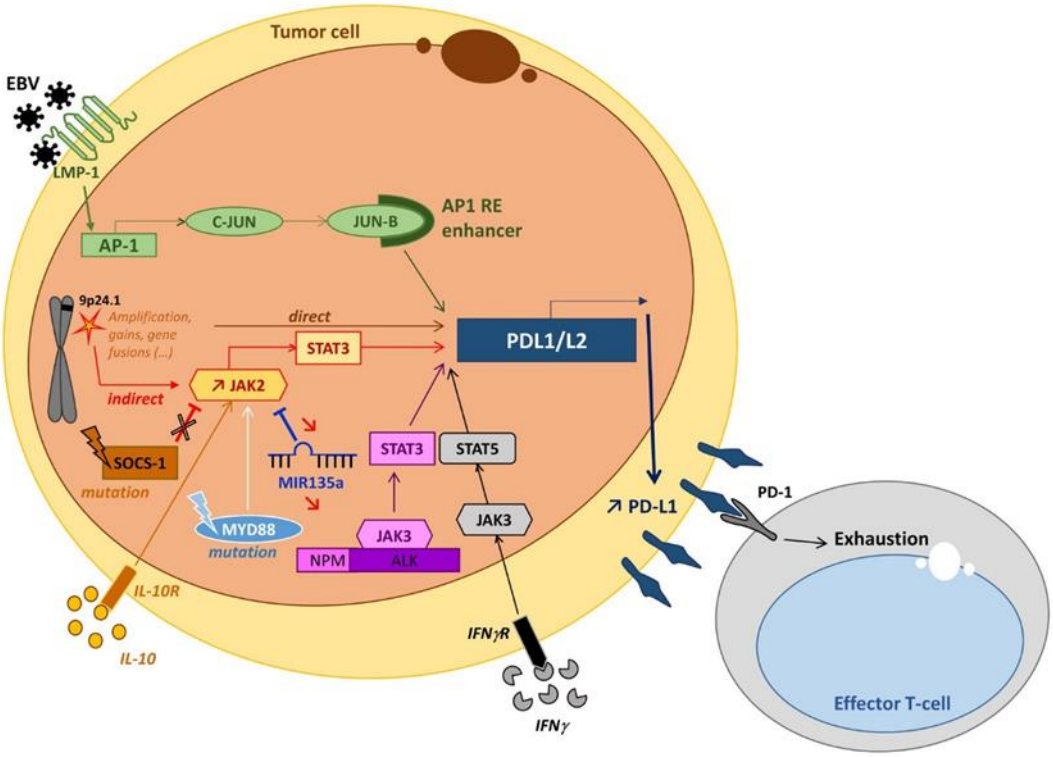

Рисунок 6 - Основные механизмы, приводящие к гиперэкспрессии PD-L1 при ДВККЛ [87]

Таким образом, основным механизмом защиты опухолевой клетки от гибели и ускользания от иммунного надзора является подавление активности Т-лимфоцитов за счет передачи ингибирующих сигналов через рецептор PD-1 и одновременно гиперэкспрессия лиганда PD-L1, связывание с которым приводит к ускользанию злокачественных клеток от иммунного надзора. Это ведет к прогрессированию заболевания и развитию резистентности к проводимой терапии, а также увеличению частоты рецидивов злокачественных лимфом [109, 110]. В то

же время эти механизмы подавления дают возможность модулировать иммунный ответ. Блокирование подавляющих сигналов через ингибиторные рецепторы или обеспечение агонистических сигналов через стимуляторные рецепторы является одним из способов, с помощью которого подавленный и истощенный иммунный ответ может быть реактивирован [111, 112].

При ДВККЛ экспрессия PD-L1 зарегистрирована примерно в 20-30% случаев заболевания. Однако эта цифра значительно варьирует в зависимости от применяемого порогового уровня, который колеблется от 5 до 30% и анализируемого клеточного субстрата (опухоль / не опухолевые клетки) [85, 103, 113, 114]. J. Kiyasu с соавт. (2015 г.) продемонстрировали, что использование в качестве пограничного значения уровня экспрессии белка PD-L1 на опухолевых клетках в пределах 30%, является более точным показателем при определении прогноза, чем другие пороговые значения [85]. Экспрессия PD-L2 менее изучена, так как клетки большинства НХЛ не несут этот белок [114].

При ДВККЛ в отличие от PD-L1, экспрессия PD-1, как правило, определяется на клетках микроокружения [113, 115, 116]. Обнаружено, что опухолевые клетки экспрессируют низкий уровень PD-1 на клеточной поверхности, а иногда коэкспрессируют как PD-1, так и PD-L1 [113, 115-117]. J. Kiyasu с соавт. (2015 г.) также сообщили в своем исследовании, что частота встречаемости экспрессии PD-1 на опухолевых клетках выше при GCB подтипе ДВККЛ и обратно коррелировала с количеством опухолевых клеток и элементов микроокружения, экспрессирующих PD-L1, хотя эти выводы остаются противоречивыми [85, 86, 118].

Данные литературы свидетельствуют о наличии прогностического значения экспрессии белков PD-L1 и PD-1, определяемых в гистологических образцах опухолевых тканей у больных ДВККЛ (рисунок 7). В одном из исследований обнаружены различия в БПВ и ОВ при высоком и низком уровне экспрессии белка PD-L1 (p=0,0773 и p=0,0447, соответственно) [119].

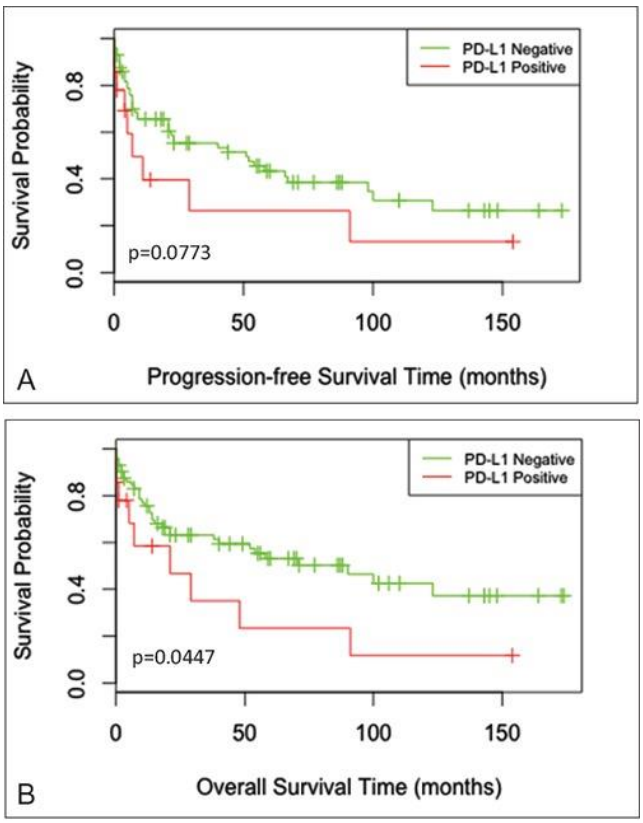

Рисунок 7 - Беспрогрессивная и общая выживаемость больных ДВККЛ в зависимости от экспрессии PD-L1 на клетках опухолевой ткани [119].

Этот же факт подтверждает J. Kiyasu и соавт. (2015) при исследовании 1200 образцов опухолевого субстрата [85]. У пациентов с гиперэкспрессией PD-L1 медиана ОВ короче, чем у пациентов с низкой экспрессией PD-L1. У пациентов с высокой экспрессией PD-L1, но с низкой PD-1, прогноз менее благоприятный, чем у пациентов с низким уровнем PD-L1 и высоким PD-1. Также обнаружено, что повышенные уровни растворимого PD-L1 (sPD-L1) в плазме у пациентов с ДВККЛ коррелируют с низкими показателями ОВ (3-летняя ОВ 76% против 89%, p<0,001) [120, 121]. Данные исследования показывают, что экспрессия на опухолевых клетках PD-L1 встречалась в основном при non-GCB подтипе ДВККЛ, при котором больные имеют неблагоприятный прогноз [85, 113, 114]. Эти результаты подтверждены китайскими учеными, чьи итоги ретроспективного исследования представлены в «China Journal of Cancer». У 204 пациентов с ДВККЛ исследователи определили значение положительной экспрессии PD-L1 в образцах опухолевой ткани, которое составляло 5% и более для опухолевых клеток и по меньшей мере

20% для клеток микроокружения. Экспрессия PD-L1 в опухолевых элементах и клетках опухолевого микроокружения преимущественно определялась при non-GCB подтипе ДВККЛ в отличие от GCB (p=0,02 и p=0,04, соответственно). У пациентов с экспрессией указанного маркера в микроокружении опухоли чаще развивалась резистентность к химиотерапии первой линии по сравнению с больными без экспрессии (p=0,03), а 5-летняя ОВ составляла 50,0% и 67,3%, соответственно (p=0,02). Экспрессия PD-L1 явилась независимым фактором риска. Исследователи также определяли взаимосвязь между белками ALK, CD5, CD30, c-MYC и PDL-1 у 109 пациентов, не обнаружив корреляции между этими показателями. При этом отмечено сочетание повышенной экспрессии PD-L1 в микроокружении опухоли с наличием мутации в гене *c-MYC,* что указывает на его роль в регуляции экспрессии данного биомаркера [16].

Однако результаты выполненных к настоящему времени исследований противоречивы и не дают однозначного ответа на вопрос о возможности использования белка PD-L1 в прогнозе выживаемости больных ДВККЛ [85, 86, 122].

1.5 Лечение диффузной В-крупноклеточной лимфомы

1.5.1 Схема RCHOP - «золотой стандарт» при лечении больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой

Стандартом первой линии терапии больных ДВККЛ является схема RCHOP, даже если лечение инициировано на поздних стадиях заболевания [123]. Впервые достижение ответа после лечения зафиксировано при назначении комбинированной химиотерапии CHOP в 70-х годах XX века [124]. В рандомизированном исследовании III фазы убедительно продемонстрирован клинический приоритет схемы CHOP в сочетании с приемлемой токсичностью [124, 125]. Следующим важным этапом в эволюции терапии больных ДВККЛ стала регистрация ритуксимаба – моноклонального антитела к мембранному белку CD20 В-клеток [126–128]. Эффективность этого препарата впервые установлена

исследовательской группой GELA у пациентов старше 60 лет, которая обнаружила значимое увеличение частоты достижения ремиссий в группе больных, получавших RCHOP, по сравнению с пациентами, лечившихся только химиотерапией без применения моноклонального антитела (76% против 63%, соответственно), а также увеличение 2-летней БРВ (57% против 39%, соответственно) [127]. При последующем наблюдении выявлены различия в 10-летней ОВ: 43,5% против 27,6% и увеличение БРВ молодых пациентов с благоприятным прогнозом на 20%: 74,3% против 55,8% [127, 128]. Тем не менее низкая 5-летняя выживаемость больных ДВККЛ с промежуточно высоким и высоким IPI рисками (43% и 26%) обусловливает актуальность поиска более эффективных методов лечения [7].

Анализируя результаты применения схемы RCHOP, необходимо отметить ее наибольшую эффективность у больных GCB подтипом ДВККЛ. В то же время при назначении дополнительных химиопрепаратов (схемы R-DA-EPOCH, RACVBP) при non-GCB подтипе либо при неблагоприятном течении заболевания результаты не всегда показывали улучшение выживаемости, а эффективность схем нивелировалась возрастанием частоты нежелательных явлений с увеличением летальных исходов и, как следствие, снижением показателей ОВ [129-131]. Неудовлетворительными остаются результаты лечения больных ДВККЛ с перестройкой гена *MYC* [132].

Признавая клиническую эффективность схемы RCHOP в первой линии терапии больных ДВККЛ, следует отметить ее низкую эффективность в случае неблагоприятного варианта лимфомы, а попытки увеличить результативность интенсификацией лечебного пособия (включение дополнительных цитостатиков и/или увеличение дозировок) не привело к ожидаемым результатам.

1.5.2 Лечение больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой в молекулярную эру

В то время как современные прогностические системы не всегда точно демонстрируют, какие пациенты будут отвечать на целевую терапию, новые

предикторы течения заболевания, возможно, помогут улучшить стратификацию больных, а включение таргетных препаратов в персонифицированную терапию будет способствовать увеличению ОВ и БРВ.

Ибрутиниб, ингибитор тирозинкиназы Брутона (BTK), показал высокую результативность при лечении нескольких типов В-клеточных лимфом, вызванных активацией В-клеточного рецептора, в том числе при ДВККЛ. Схема R-CHOP с ибрутинибом в индукционной терапии наиболее эффективна у пациентов с non-GCB подтипом [79, 133, 134].

Получены доказательства преимущества добавления леналидамида к схеме RCHOP. Доклинические данные свидетельствуют о том, что противоопухолевые свойства леналидомида включают в себя блокаду фактора некроза опухоли, фактора роста эндотелия сосудов и NFkB пути [135]. Леналидомид изучался в сочетании с иммунохимиотерапией R-CHOP [3]. По результатам исследования II фазы, проведенного U. Vitolo и соавт., показано, что леналидомид может нивелировать негативный прогноз, связанный с non-GCB подтипом ДВККЛ [136].

Получены данные об эффективности ингибиторов протеасом, таких как бортезомиб при ABC подтипе ДВККЛ. В сочетании с химиотерапией продемонстрировано увеличение частоты ответов (83% против 13%) и удлинения медианы ОВ (10,8 мес против 3,4 мес) при ABC подтипе по сравнению с GCB [137].

В недавних исследованиях CAVALLI и GOYA показаны результаты лечения антиапоптотическими ингибиторами при рефрактерном течении ДВККЛ. При гиперкспрессии и транслокации *BCL2* особый интерес вызывает изучение его ингибиторов, таких как венетоклакс [138, 139].

Перспективным направлением в лечении больных ДВККЛ при рефрактерном и рецидивирующем течении заболевания является использование препарата полатузумаб ведотин (ингибитор CD79b рецепторов на опухолевых клетках). В исследовании GO29365 фазы Ib / II данного препарата продемонстрировано улучшение показателей общего ответа (ОО) и ОВ по сравнению с химиотерапией по схеме BR у пациентов с рецидивирующим / рефрактерным течением ДВККЛ, не являющихся кандидатами на аутоТГСК (аутологичную транплантацию

гемопоэтическими стволовыми клетками) [140]. Частота полного ответа (ПО) с использованием полатузумаба ведотина с химиотерапией BR составила 40% против 17,5% для пациентов, которые получали только BR (p=0,026). Медиана ОВ в группе пациентов, получавших полатузумаб ведотин с BR, составила 12,4 мес. по сравнению с 4,7 мес. у пациентов, которым проводилась лечение без ингибитора CD79b рецепторов (HR, 0.42; 95% CI, 0.24-0.75, 0,24-0,75; p=0,002) [141].

CAR-T терапия при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

Перспективным подходом к лечению больных ДВККЛ является CAR-T терапия. Эффективность этого вида иммунотерапии заключается в генетическом программировании Т-клеток с формированием рецепторов к антигенам опухолевого субстрата. Первым модифицированным продуктом, используемым при CAR-T терапии, был axi-cel (axicabtagene ciloleucel). В исследовании ZUMA ОО составил 82%, ПО - 54% [142, 143]. В дальнейшем были созданы другие аналоги, продемонстрировавшие обнадеживающие результаты этого вида терапии [144]. Несмотря на значительный прогресс, существует много проблем, связанных с использованием CAR-T терапии. В частности, отмечается краткосрочный эффект этого метода.

Биспецифические антитела в терапии диффузной В-крупноклеточной лимфомы

В последние годы в онкогематологии одним из перспективных направлений является разработка биспецифических антител. Молекулы (BiTE) состоят из двух одноцепочечных вариабельных фрагментов, специфичных для CD3 и опухолевого антигена. В отличие от CAR-T терапии, BiTE представляют собой готовые лекарственные препараты без необходимости специализированного производства индивидуально для пациента [145]. Блинатумумаб был первым в своем классе CD19-специфическим BiTE, одобренным FDA (Food and Drug Administration) в 2014 г. для лечения пациентов с рецидивирующим или рефрактерным острым

лимфобластным лейкозом. В дальнейшем начались его исследования при лимфопролиферативных заболеваниях [145]. Другие биспецифические антитела, направленные против CD19 и CD20 (мосунетузумаб, глофитомаб и др.), находятся на стадии клинических испытаний, при этом показывают высокие результаты у пациентов с рефрактерными и рецидивирующими агрессивными лимфомами [146, 147].

Ингибиторы контрольных иммунных точек в терапии больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой

При ДВККЛ в опухолевом субстрате кроме опухолевых присутствуют иммунные клетки, способные регулировать рост и пролиферацию злокачественных В-клеток. Существуют два основных подхода в иммунотерапии. Первый - заключается в использовании препаратов, блокирующих ингибиторные сигналы на апоптоз через рецепторы иммунных контрольных точек и, тем самым, повышающих цитотоксическую способность иммунных клеток. Блокада рецепторов PD-1 или CTLA-4 позволяет Т-клеткам оставаться активированными и подавлять злокачественные клетки. Второй подход заключается в дополнительной активации ингибированных Т-клеток путем передачи сигналов через костимуляторные молекулы, включая CD27 или CD40 или путем добавления иммуностимулирующих цитокинов [87].

В настоящее время разработка препаратов - блокаторов контрольных точек различных звеньев иммунитета (CTLA4, PD-1, PD-L1 и др.) с высоким противоопухолевым эффектом представляет огромный интерес. В этом направлении иммунотерапии опухолей получены очень хорошие результаты [84, 90]. Рецептор запрограммированной смерти (PD-1) является одной из наиболее важных молекул, ограничивающих противоопухолевый ответ Т-клеток. Роль ингибиторов пути PD-1 у пациентов с В-клеточными лимфопролиферативными заболеваниями недостаточно изучена [148]. Один из первых препаратов из группы ингибиторов контрольных иммунных точек - пидилизумаб показал безопасность и эффективность при рефрактерном или рецидивирующем течении ДВККЛ [149].

Ведутся исследования для определения эффективности препарата ниволумаб при ДВККЛ и других НХЛ. По данным A. Lesokhin и соавт., пациенты с рефрактерной или рецидивирующей ДВККЛ получали монотерапию ниволумабом 3мг/кг каждые 2 недели в течение 2 лет. Достижение ОО составило 36% (ПО- 18%; ЧО- 18%) [150].

Получены данные о применении пембролизумаба - препарата нового поколения ингибиторов контрольных иммунных точек, механизм действия которого направлен на блокаду рецептора PD-1. На международной конференции в Лугано в 2019г. S. Smith и соавт. представили результаты лечения пациентов с впервые выявленной ДВККЛ иммунохимиотерапией RCHOP в сочетании с пембролизумабом. При анализе результатов через 18 месяцев ОО составил 93%, при этом ПО - 83%. Отмечалась высокая БРВ и ОВ (82% и 97%, соответственно). В этом исследовании комбинация пембролизумаба + RCHOP не обладала более выраженной токсичностью, чем при RCHOP и была связана с высокой частотой ПО [151].

Таким образом, анализ литературы свидетельствует о наличии нерешенных проблем, связанных с корректной стратификацией больных ДВККЛ на группы риска. Это затрудняет назначение своевременной и адекватной терапии, направленной, прежде всего, на получение ответа и достижение длительной, граничащей с выздоровлением, выживаемости больных агрессивными вариантами ДВККЛ. Перспективным методом решения указанной проблемы может стать комплексный анализ потенциальных биологических маркеров в сочетании с традиционными прогностическими моделями.

ГЛАВА 2 КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика пациентов

Исследования проведены в период с 2010 по 2018 гг. на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства» и Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства».

В исследование включены 97 больных с диагнозом ДВККЛ, из которых 48 мужчин (49,5%) и 49 женщин (50,5%). Медиана возраста составила 59 лет (от 29 до 83 лет), 46 (47,4%) больных были старше 60 лет. Диагноз ДВККЛ устанавливали в соответствии с классификацией опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ 2017 г. [19]. В исследование не включались пациенты моложе 18 лет, с первичной лимфомой ЦНС, яичка, первичной медиастинальной крупноклеточной лимфомой, «Double-hit» и «Triple-hit» лимфомами. Все гистологические блоки подвергались проведению Fish анализа для исключения лимфом высокой степени злокачественности (DHL и THL).

Стадия заболевания устанавливалась в соответствии с классификацией Ann-Arbor по результатам КТ с внутривенным болюсным контрастированием органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза [32]. Первая, вторая, третья и четвертая стадии диагностированы у 13 (13,4%), 27 (27,8%), 20 (20,6%) и 37 (38,2%) больных, соответственно. Соматический статус оценивался по шкале ECOG. Количество пациентов, имевших в дебюте заболевания ≥2 баллов – 43 (44,3%) человека. Показатели ЛДГ выше референсных значений имели 75 (65,2%) больных. По результатам иммуногистохимического исследования у 36 (37,1%) обследованных диагностирован иммуногистохимический GCB подтип, у 61 (62,9%) - non-GCB. В соответствии с критериями IPI, низкий, промежуточный

низкий, промежуточный высокий и высокий варианты установлены у 27 (27,8%), 27 (27,8%), 20 (20,6%) и 23 (23,8%) больных, соответственно. В зависимости от ответа на индукционную терапию пациенты были распределены в группы с ПО, ЧО, стабилизацией и прогрессированием после индукционной терапии по схеме RCHOP: 60 (61,9%), 22 (22,7%), 7 (7,2%) и 8 (8,2%) больных соответственно. Медиана наблюдения за обследуемыми составила 17 (4-168) месяцев. Клинико-лабораторные характеристики больных, включенных в исследование, представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Общая характеристика пациентов (n=97)

Показатель	n	%
Возраст:		
<60 лет	51	52,6%
≥60 лет	46	47,4%
Пол:		
мужчины	48	49,5%
женщины	49	50,5%
Стадия по Ann Arbor:		
I	13	13,4%
II	27	27,8%
III	20	20,6%
IV	37	38,2%
Индекс IPI:		
низкий	27	27,8%
промежуточный низкий	27	27,8%
промежуточный высокий	20	20,6%
высокий	23	23,8%
ИГХ подтип ДВККЛ:		
GCB	36	37,1%
non-GCB	61	62,9%
Концентрация ЛДГ (норма 135-214 Ед/л):		
выше верхней границы нормы	67	69,1%
ниже нижней границы нормы	30	30,9%
ECOG:		
≥2 баллов	43	44,3%
<2 баллов	54	55,7%
Ответ на терапию:		
полный	60	61,9%
частичный	22	22,7%
стабилизация	7	7,2%
прогрессирование	8	8,2%

Проведен ретроспективный анализ экспрессии PD-L1 на 85 гистологических образцах опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ Медиана возраста составила 59 (29-83) лет. Клинико-лабораторная характеристики больных, включенных в исследование с биомаркером PD-L1 представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Характеристика пациентов, включенных в исследование с биомаркером PD-L1 (n=85)

Показатель	n	%
Возраст:		
<60 лет	51	60,0%
≥60 лет	34	40,0%
Пол:		
мужчины	44	51,8%
женщины	41	48,2%
Стадия по Ann Arbor:		
I	13	15,3%
II	23	27,0%
III	19	22,4%
IV	30	35,3%
Индекс IPI:		
низкий	24	28,2%
промежуточный низкий	24	28,2%
промежуточный высокий	17	20,0%
высокий	20	23,5%
ИГХ подтип ДВККЛ:		
GCB	29	34,1%
non-GCB	56	65,9%
Концентрация ЛДГ (норма 135-214Ед/л):	58	
выше верхней границы нормы	27	68,2%
ниже нижней границы нормы		31,8%
ECOG:		
≥2 баллов	40	47,0%
<2 баллов	45	53,0%

Проведен ретроспективный анализ экспрессии PD-1 на 68 гистологических образцах опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ. Медиана возраста больных составила 59 (29-83) лет. Клинико-лабораторная характеристика обследуемых, включенных в исследование с биомаркером PD-1, представлена в таблице 6.

Таблица 6 - Характеристика больных, включенных в исследование с биомаркером PD-1 (n=68)

Показатель	n	%
Возраст:		
<60 лет	41	60,3%
≥60 лет	27	39,7%
Пол:		
мужчины	40	58,8%
женщины	28	41,2%
Стадия по Ann Arbor:		
I	12	17,6%
II	15	22,0%
III	18	26,4%
IV	23	33,8%
Индекс IPI:		
низкий	14	20,5%
промежуточный низкий	16	23,5%
промежуточный высокий	19	28,0%
высокий	19	28,0%
ИГХ подтип ДВККЛ:		
GCB	21	30,9%
non-GCB	47	69,1%
Концентрация ЛДГ (норма 135-14Ед/л):		
выше верхней границы нормы	48	70,6%
ниже нижней границы нормы	20	29,4%
ECOG:		
≥2 баллов	32	47,1%
<2 баллов	36	52,9%

Лечение проводилось во взрослом отделении гематологии и химиотерапии, в клиникодиагностическом отделении гематологии и химиотерапии с дневным стационаром ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России в период с 2010 по 2018 г.г.

Индукционную терапию по схеме RCHOP получали 97 больных. Схема RCHOP включала в себя введение ритуксимаба 375 мг/м^2 в/в за 4 часа 0 день, доксорубицин 50 мг/м^2 в/в кап. 1 день, винкристин 2 мг в/в струйно 1 день, циклофосфан 750 мг/м^2 в/в кап. 1 день, преднизолон 60 мг/м^2 внутрь 1-5 день.

Медиана количества индукционных курсов – 6, минимальное количество -2, максимальное - 8. Интервалы между курсами составляли 21 день. Оценка

противоопухолевого ответа проводилась после 2, 4 и 6 курсов терапии и включала в себя проведение компьютерной томографии (КТ) с внутривенным болюсным контрастированием, общий анализ крови, оценку концентрации ЛДГ. После окончание лечения проводилось КТ или ПЭТ-КТ (позитронно-эмиссионная томография) всего тела для уточнения глубины ремиссии.

Ответ оценивался в соответствии с рекомендациями, разработанными международной рабочей группой в Лугано в 2014г.: выделялся полный ответ (ПО), частичный ответ (ЧО), стабилизация, прогрессирование (таблица 7) [152].

Таблица 7 - Критерии ответа в соответствии с рекомендациями, разработанными международной рабочей группой в Лугано

Ответ	ПЭТ-КТ	КТ	Трепанобиопсия
Полный	Остаточная опухолевая масса по шкале Deauville 1-3 балла	Целевые лимфоузлы <1,5см поражения экстранодальных очагов нет	Нет поражения КМ
Частичный	Остаточная опухолевая масса по шкале Deauville 4-5 баллов	Целевые лимфоузлы сократились ≥50%	Может сохраняться поражение КМ, но меньше по сравнению с исходным уровнем.
Стабилизация	Остаточная опухолевая масса по шкале Deauville 4-5 баллов	Целевые лимфоузлы сократились <50% или увеличились, но менее, чем на 50% от исходного, новых очагов поражения нет	Может сохраняться поражение КМ
Прогрессия	Остаточная опухолевая масса по шкале Deauville 4-5 баллов	Целевые лимфоузлы увеличились ≥50% от исходного, появление новых очагов поражения	Сохраняется поражение КМ или может появиться вновь

2.2 Методы исследования

2.2.1 Стандартные гематологические методы исследования

Верификацию диагноза проводили согласно стандарту обследования для пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями [153]: сбор анамнеза болезни, жизни, общий анализ крови, биохимический анализ крови, КТ с внутривенным болюсным контрастированием органов грудной клетки, КТ или МРТ органов брюшной полости и малого таза.

В клинической лаборатории ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России выполнены общий и биохимический анализы крови. Общий анализ крови проводился с помощью анализатора SYSMEX XT-40001, оценивался уровень гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов, подсчитывалась лейкоцитарная формула. Биохимический анализ выполнялся анализатором HITACHI cobas c311. В биохимическом анализе крови оценивали концентрацию ЛДГ. Исследование КТ органов грудной, брюшной полости и малого таза проводилось в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России на компьютерном томографе Ingenuity Core.

2.2.2 Гистологические и иммуногистохимические исследования

В качестве материала для исследования были использованы образцы биопсии лимфоузлов или других, вовлеченных в патологический процесс, органов и тканей (парафиновые блоки), с дальнейшим проведением гистологического, иммуногистохимического, морфометрического анализов. Исследование для верификации диагноза и установления иммуногистохимического подтипа проводили в лаборатории патоморфологии ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России.

Операционный материал фиксировали 24-48 часов в 10% растворе нейтрального забуференного формалина, после чего промывали под водопроводной водой в гистологических кассетах в течение 2 часов. Проводку ткани проводили в гистопроцессоре замкнутого типа Tissue-Tek® VIP™ 5 Jr по адаптированному протоколу. После проводки образцы заливали в парафиновые

блоки. На ротационном микротоме Sakura Accu-Cut SRM™ 200 (Sakura, Япония) изготавливали срезы толщиной 2-4 мкм. Окраску образцов проводили общепринятым методом - гематоксилином-эозином.

Следующим этапом проводили иммуногистохимическое исследование препаратов лимфоузлов или других вовлеченных в патологический процесс органов и тканей.

Срезы на стеклах с полилизиновым покрытием депарафинизировали 90 мин. в термостате при 60^0 С. Обезвоживали при 4-кратной смене этанола по 3 мин. Затем проводили тепловую демаскировку антигенов (раскрытие эпитопов антигенов) путем помещения срезов в камеру Decloaking Chamber™ Plus в буферных растворах с соответствующей pH. Для блокирования эндогенной пероксидазной активности помещали срезы в 3% раствор перекиси водорода на 30 мин. Стандартное иммуногистохимическое исследование состояло из последовательного наслаивания на гистологические срезы первичных антител, затем вторичных (связующих) и визуализации иммунной реакции антител, меченных ферментом пероксидазой хрена. Для окрашивание комплекса «антиген-антитело» использовали рабочий раствор диаминобензидина (DAB). Протокол проведения ИГХ анализа представлен в таблице 8.

Таблица 8 - Протокол ведения иммуногистохимического окрашивания (адаптированный)

Операции	Наименование	Время (продолжительность инкубации)
1	Раскапывание первичных а/т на срезы (30-40 мкл в зависимости от площади срезов)	45 мин. во влажной камере горизонтально
2	Промывка в Трис-буфере (pH=7,6)	15 мин.
3	Раскапывание вторичных антител (связующих) на срезы (EnVision flex mous linker)	15 мин. во влажной камере горизонтально

Продолжение таблицы 8

4	Промывка в Трис-буфере (pH=7,6)	15 мин.
5	Раскапывание фермента HRP (пероксидаза хрена) на срезы	15 мин. во влажной камере горизонтально
6	Промывка в Трис-буфере (pH=7,6)	15 мин.
7	Раскапывание раствора диаминобензидина (DAB) раскапать на срезы	от 3 мин. до 5 мин. (под вытяжкой, т.к. – канцероген)
8	Промывка в Трис-буфере (pH=7,6)	15 мин.
9	Докрашивание ядер клеток гематоксилином по Карраци	6 мин.
10	Промывка в проточной воде	2 мин.
11	Дегидратацию в батарее спиртов 96° (I,II,III)	3 мин.
12	Карбол-ксилол (просветление)	5 мин.
13	Ксилол	5 мин.
14	Заключение в бальзам	-

Для верификации диагноза ДВККЛ использовались антитела к c-MYC, BCL2, CD10, CD3, CD20, BCL6, MUM1, CyclinD1, Ki-67 (таблица 9). Постановку иммуногистохимических реакций осуществляли по стандартной методике в соответствии с протоколом для систем визуализации En VISION (DAB+, «Dako» Дания). Исследование экспрессии белков в опухолевой ткани проводили морфометрическим способом на световом микроскопе «AxioScope.A1» (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) со встроенной фото/видеокамерой и программным обеспечением анализа изображений. Исследование проводили с применением окуляров x10 и объективов x5, 10, 20, 40. Верификация иммуногистохимического подтипа выполнена 97 больным исследуемой группы (GCB или non-GCB) на основании алгоритма C.P. Hans [59]. Для оценки экспрессии маркеров CD10, MUM1, BCL6 использовали общепринятые критерии: ≥ 30 %, ≥70%, ≥30%, соответственно.

Таблица 9 - Характеристика антител, используемых при верификации диагноза диффузной В-крупноклеточной лимфомы и установлении иммуногистохимического подтипа

Название антитела	Клон	Разве-дение	Визуализация
MYC (c-MYC)	EP121	1:50	ядра клеток
BCL2	124	RTU	цитоплазма клеток
CD10	56c6	RTU	мембрана клеток
CD3	Поликлон	RTU	мембрана, цитоплазма клеток
CD20	L-26	RTU	мембрана клеток
BCL6	PG-B6p	RTU	ядра клеток
MUM1	MUM1p	RTU	ядра клеток
Cyclin D1	SP4	RTU	ядра клеток
Ki-67	MIB-1	RTU	ядра клеток

2.2.3. Морфологические, иммуногистохимические, морфометрические исследования маркеров PD-L1 и PD-1

Морфологические, иммуногистохимические и морфометрические исследования PD-L1, PD-1 проводили в лаборатории по изучению лейкозов РосНИИГТ ФМБА России.

Иммуногистохимические реакции выполняли по стандартной методике, основываясь на рекомендациях фирмы-производителя первичных антител. В ходе работы был подобран оптимальный протокол. Срезы помещали на стекло с полилизиновым покрытием, высушивали в термостате в течение 18 часов при 37°С, депарафинировали, гидратировали и производили демаскировку антигена в буфере pH 9,0 на водяной бане (PT-модуль, «Dako», Дания) при 97°С в течение 25 минут. Эндогенную пероксидазную активность блокировали инкубацией в течение 10 мин. в растворе, блокирующем пероксидазу (EnVision, «Dako», Дания). Панель первичных антител, используемая в исследованиях, представлена в таблице 10. Для визуализации использовали полимерную систему EnVision («Dako», Дания) с диаминобензидином (DAB). Инкубацию с раствором HRP выполняли в течение 30

мин. при комнатной температуре, визуализацию с DAB на протяжении 3-7 мин. при комнатной температуре. Препараты докрашивали гематоксилином, дегидратировали в спиртах, просветляли в ксилоле и заключали в Витрогель (Биовитрум, Россия). Проведены общепринятые отрицательные и положительные контрольные процедуры при обработке параллельных срезов. Отрицательный контроль выполнен с заменой первичных антител на TBS-буфер.

Изучение гистологических препаратов проводилось с помощью микроскопа Nikon ECLIPSE Ni-U (Япония) с окуляром x10, при объективах x20, x40. Фотографирование и морфометрия выполнена с помощью цифровой фотокамеры Nikon DSFi2 и программы анализа цифрового изображения NIS-Elements BR V. 4.40 (Япония) (таблица10).

Экспрессию маркеров PD-L1, PD-1 определяли как процент клеток в опухолевом субстрате, имеющих специфическое окрашивание.

Таблица 10 - Характеристика антител, используемых в исследовании PD-L1, PD-1

Название антитела	Клон	Разведение	Визуализация
PD-L1	22C3	1:100	Мембрана опухолевых клеток
PD-1	MRQ-22	1:100	Мембрана клеток микроокружения

2.3 Методы статистической обработки данных

Статистическую обработку результатов, полученных в ходе исследования, проводили с использованием MS Office Excel версии 2016, программного продукта IBM SPSS Statistics версии 25 и метода машинной обработки данных CART. Описательный анализ данных включал в себя определение общепринятых среднеарифметических величин, медианы (Me) с интерквартильным размахом [Q_1-Q_3]. С целью определения целесообразности применения методов непараметрического анализа, каждая из сравниваемых совокупностей оценивалась на предмет ее соответствия закону нормального распределения. Для этого использовался критерий Колмогорова-Смирнова, рекомендуемый при числе

исследуемых более 60.

Для сравнения частотных характеристик показателей применяли критерий хи-квадрат ($\chi 2$) Пирсона для четырехпольных и многопольных (post hoc анализ) таблиц сопряженности. Условием использования метода хи-квадрат ($\chi 2$) Пирсона являлись значения ожидаемых частот не менее 5. В случае меньшего числа наблюдений применяли точный двусторонний критерий Фишера (F). Для расчета меры силы взаимосвязи между изучаемыми факторами использовали показатель относительного риска (OR) с вычислением 95% CI.

Анализ ОВ и БПВ выполняли с применением метода Каплан-Мейера. Для сравнения кривых выживаемости использовали критерии log-rank test. Расчёты проводили с применением программного обеспечения для статистической обработки и визуализации данных R, версия 3.3.3. Различия между показателями считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Для оценки влияния определенных независимых предикторов на риск развития неблагоприятного события для ОВ и БПВ и с целью прогнозирования риска наступления события применяли модель пропорциональных рисков или регрессии Кокса. На основании данных анализа регрессии Кокса разработана комбинированная прогностическая модель.

Для создания прогностической модели ОВ ДВККЛ использовали метод машинного обучения - деревья классификации и регрессии CART (Classification and Regression Tree) [15]. Метод машинного обучения CART представляет собой алгоритм, позволяющий рекурсивно делить исходный набор данных на подгруппы, которые становятся все более и более гомогенными относительно определенных признаков и максимально гетерогенны между собой, в результате чего формируется древовидная иерархическая структура. При анализе выживаемости в подгруппы попадают больные, выживаемость которых наиболее гомогенна внутри каждой подгруппы и наиболее гетерогенна между ними. Основная группа делится по тому критерию или по тому пороговому значению критерия, который дает максимальное различие в показателях выживаемости в подгруппах.

Учитывая статистическую значимость влияния факторов IPI и

иммуногистохимического подтипа на ОВ и БПВ, использовалась та же модель для определения БПВ. Прогностически значимый пороговый уровень экспрессии белков PD-L1, PD-1 в опухолевых клетках вычисляли методом CART. Время ОВ рассчитывали от начала лечения до летального исхода или до последней информации о больном. Время БПВ рассчитывали от начала лечения до развития рецидива/прогрессирования заболевания или летального исхода.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Оценка взаимосвязи ответа на лечение с клинико-лабораторными показателями

Все обследованные пациенты распределены на 4 группы в зависимости от полученного ответа после проведенной терапии: ПО, ЧО, стабилизация и прогрессирование, согласно критериям ответа, зарегистрированы у 60 (62%), 22 (23%), 7 (7%), 8 (8%) больных, соответственно [152].

Проведен сопоставительный анализ ответов на лечение в группах больных I-II (n=40) и III-IV (n=57) стадиями ДВККЛ. Полученные данные свидетельствуют о статистически значимой взаимосвязи распространенности опухолевого процесса с ответом на проведенную терапию ($p<0,001$). Частота выявления ПО чаще встречалась у больных с I-II стадиями по сравнению с пациентами с III-IV стадиями заболевания (85% и 46%, соответственно). Достижение ЧО отмечалась в 2,3 раза чаще у лиц с III-IV, чем среди обследуемых с I-II стадиями ($p_{1-2}=0,019$). Стабилизация и прогрессирующее течение заболевания встречалось у 10,5% и 14% пациентов с распространенным опухолевым процессом. При I-II стадии ни у одного пациента не отмечалась прогрессия; стабилизация установлена в 2,5% случаях (таблице 11).

Таблица 11 – Сравнение частоты ответа на терапию в зависимости от стадии ДВККЛ

Стадии заболевания	Ответ на терапию				P
	Полный ответ, n=60 абс. (%)	Частичный ответ, n=22 абс. (%)	Стабилизация, n=7 абс. (%)	Прогрессирование (рецидив), n=8 абс. (%)	
	1	2	3	4	
I- II, n=40	34 (85)	5 (12,5)	1(2,5)	0	$p<0,001$ $p_{1-2}=0,019$
III-IV, n=57	26 (46)	17 (29,8)	6 (10,5)	8 (14)	

В результате проведенного анализа получены статистически значимые

межгрупповые различия ответа на терапию и стадиями заболевания (p<0,001). На рисунке 8 представлена частота ответа на лечение в зависимости от стадии ДВККЛ.

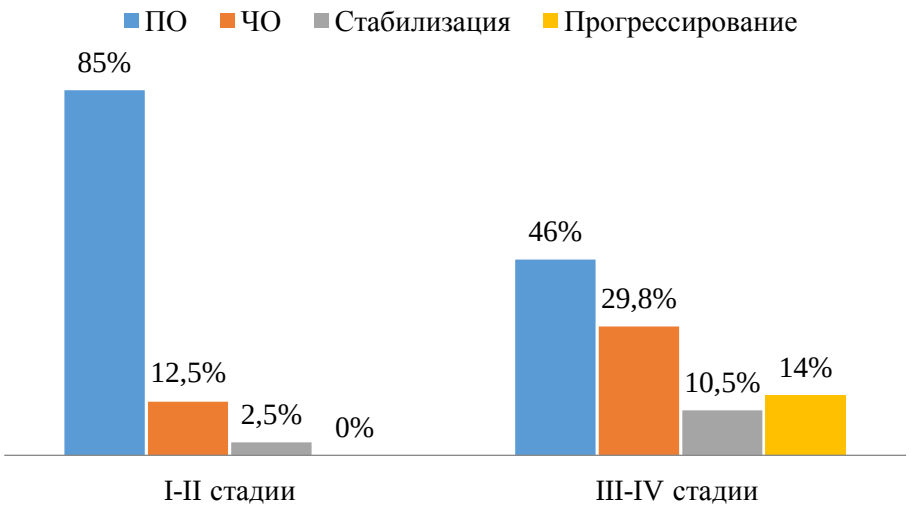

Рисунок 8 - Ответ на терапию в зависимости от стадии заболевания

Проведен сравнительный анализ достижения ответов у пациентов, имеющих в дебюте заболевания соматический статус по шкале ECOG <2 (n=54) баллов и ≥2 (n=43) баллов. Получены данные, свидетельствующие о статистически значимой взаимосвязи статуса пациентов по шкале ECOG с ответом на проведенную терапию (p<0,001), (таблица 12).

Таблица 12 – Сравнение частоты ответа на терапию в зависимости от статуса больных по шкале ECOG

Статус по шкале ECOG	Ответ на терапию				P
	Полный ответ, n=60 абс. (%)	Частичный ответ, n=22 абс. (%)	Стабилизация, n=7 абс. (%)	Прогрессирование (рецидив), n=8 абс. (%)	
	1	2	3	4	
<2 баллов, n=54	45(83,3)	7 (13)	2 (3,7)	0	p<0,001 p_{1-2}=0,001 p_{1-3}=0,033
≥2 баллов, n=43	15 (34,9)	15 (34,9)	5 (11,6)	8 (18,6)	

У пациентов с ECOG <2 ПО определялся чаще по сравнению с пациентами, имевшими соматический статус ≥2 баллов (83,3% и 34,9%, соответственно). При

этом регистрация ЧО отмечалась чаще в 2,5 раза у пациентов с ECOG ≥ 2, чем у больных с более благоприятным соматическим статусом. Ни у одного обследуемого с ECOG <2 баллов при постановке диагноза не отмечалась прогрессия заболевания в отличие от обследуемых, имеющих ≥2 баллов. На рисунке 9 отражено распределение ответа на лечение в зависимости от статуса ECOG.

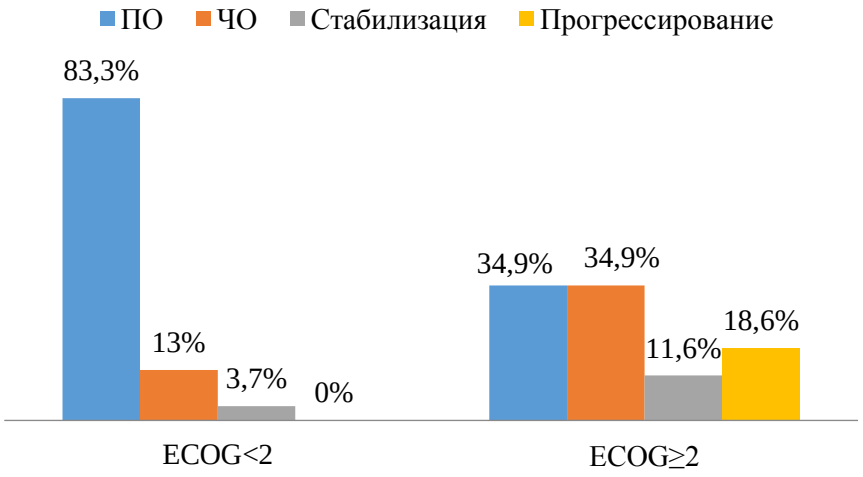

Рисунок 9 - Распределение ответа на лечение в зависимости от количества баллов по шкале ECOG

Таким образом, установлено, что соматический статус по шкале ECOG ≥ 2 баллов является неблагоприятным фактором для достижения ПО после индукционной терапии по схеме RCHOP. Причиной этого может быть биологическая гетерогенность, большая опухолевая масса, выраженная интоксикация, а также коморбидность и, как следствие, редукция доз и удлинение межкурсовых интервалов.

Обнаружена взаимосвязь концентрации ЛДГ у больных в дебюте заболевания с ответом на терапию; p=0,001. Результаты представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Сравнение частоты ответа на терапию в зависимости от концентрации лактатдегидрогеназы в сыворотке крови

Концентрация ЛДГ	Ответ на терапию				P
	Полный ответ, n=60 абс. (%)	Частичный ответ, n=22 абс. (%)	Стабилизация, n=7 абс. (%)	Прогрессирование (рецидив), n=8 абс. (%)	
	1	2	3	4	
норма, n=30	27 (90)	2 (6,7)	1 (3,3)	0	p=0,001 p_{1-2}=0,008
выше нормы, n=67	33 (49,3)	20 (29,9)	6 (9)	8 (11,9)	

В случаях с концентрацией фермента в пределах референтных значений в сыворотке крови выявление ПО у больных было в 1,8 раза выше, чем в случаях с повышенной концентрацией ЛДГ (90% против 49,3%, соответственно; p_{1-2}=0,008). Ни у одного пациента с уровнем ЛДГ в пределах нормы не определялось прогрессирующее течение заболевания. Взаимосвязь ответа на терапию с концентрацией ЛДГ представлена на рисунке 10.

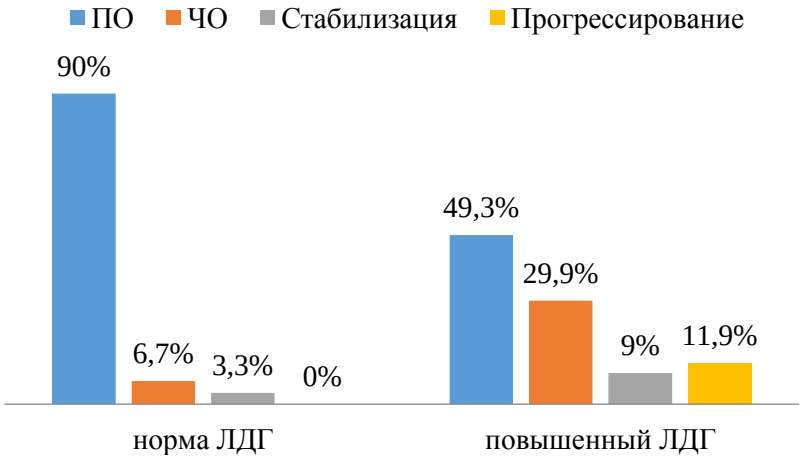

Рисунок 10 - Распределение ответа на лечение в зависимости от концентрации ЛДГ в сыворотке крови

При сравнении значений IPI по группам риска с ответом на терапию установлены достоверные межгрупповые различия; p=0,001 (таблица 14). Достижение ПО выявлено у 21,7% пациентов с высоким риском IPI. Примерно с той же частотой встречалась прогрессия заболевания - 26,1% случаев. Больные, достигшие ЧО, выявлены в 34,8% случаях от всей группы высокого риска.

Стабилизация заболевания в этой же группе после иммунохимиотерапии по схеме RCHOP определялось у 17,4% обследуемых.

Таблица 14 - Сравнение частоты ответа на терапию в зависимости от группы риска по шкале IPI

Риск по шкале IPI	Ответ на терапию				p
	Полный ответ, n=60 абс. (%)	Частичный ответ, n=22 абс. (%)	Стабилизация, n=7 абс. (%)	Прогрессирование (рецидив), n=8 абс. (%)	
	1	2	3	4	
Низкий, n=27	23 (85,2)	3 (11,1)	1 (3,7)	0	p=0,001
Промежуточно низкий, n=27	24 (88,9)	3 (11,1)	0	0	
Промежуточно высокий, n=20	8 (40,0)	8 (40,0)	2 (10,0)	2 (10,0)	
Высокий, n=23	5 (21,7)	8 (34,8)	4 (17,4)	6 (26,1)	

В группе пациентов с низким уровнем индекса ПО достигнут в 85,2% случаев, ЧО – у 11,1% больных. Стабилизация наблюдалась у 3,7% пациентов с низким риском. Прогрессирующее течение не определялось при промежуточном низком и низком риске по IPI. Достижение ПО и ЧО суммарно составило 96,3% при низком риске и 100% при промежуточном низком риске IPI, что имеет достоверные отличия от группы высокого риска p=0,001. Приведенные данные отражают высокую гетерогенность ДВККЛ. На рисунке 11 представлена взаимосвязь ответа на проведенное лечение с группой риска по шкале IPI.

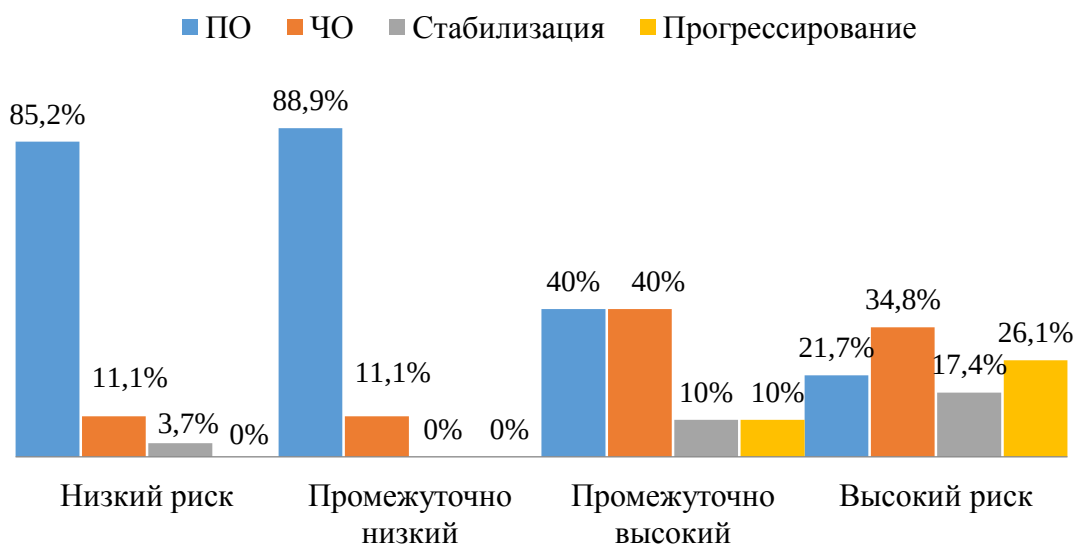

Рисунок 11 – Взаимосвязь ответа на лечение с группой риска по IPI

Таким образом, в проанализированной группе больных установлено, что высокий IPI связан с наименее благоприятным ответом на индукционную терапию по схеме RCHOP в сравнении с другими группами риска.

При анализе достижения ответов на лечение в зависимости от иммуногистохимических подтипов ДВККЛ различия в группах не достигли статистической значимости. Тем не менее наблюдалась определенная тенденция преобладания неудач терапии у пациентов с non-GCB вариантом заболевания (таблица 15).

Таблица 15 – Сравнение частоты ответа на терапию в зависимости от подтипа диффузной В-крупноклеточной лимфомы

ИГХ подтип	Ответ на терапию				P
	Полный ответ, n=60 абс. (%)	Частичный ответ, n=22 абс. (%)	Стабилизация, n=7 абс. (%)	Прогрессирование (рецидив), n=8 абс. (%)	
	1	2	3	4	
GCB n=36	25 (69,4)	9 (25)	0	2 (5,6)	p=0,147
non-GCB n=61	35 (57,4)	13 (21,3)	7 (11,5)	6 (9,8)	

Таким образом, выявленная вариабельность ответов после проведения

индукционной терапии по схеме RCHOP может рассматриваться как основание для смены тактики терапии отдельной категории больных ДВККЛ и поиска новых предикторов, ассоциированных с агрессивным течением заболевания.

Влияние клинико-лабораторных показателей и иммуногистохимического подтипа на БПВ и ОВ

Для определения влияния концентрации ЛДГ, иммуногистохимического подтипа, риска по шкале IPI, стадии заболевания и статуса по ECOG на БПВ и ОВ пациентов проведен регрессионный анализ Кокса. Установлено, что статистически значимыми факторами прогноза как для ОВ, так и для БПВ являлись иммуногистохимический подтип non-GCB, высокий риск по шкале IPI и тяжелый соматический статус больных (таблица 16).

Таблица 16 - Результаты однофакторного регрессионного анализа Кокса для общей выживаемости и беспрогрессивной выживаемости

Параметр	ОВ			БПВ		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
ЛДГ повышенный	2,9	0,85-9,68	0,090	2,2	1,01-4,75	0,051
ИГХ подтип (non-GCB)	6,9	1,62-29,69	0,009*	2,5	1,19-5,29	**0,016**
Риск IPI высокий	7,5	2,15-26,76	0,002*	5,4	2,26-13,06	**<0,001**
Риск IPI промежуточный высокий	1,8	0,40-8,06	0,440	2,38	0,91-6,19	0,075
Риск IPI промежуточный низкий	0,7	0,12-4,16	0,691	0,9	0,35-2,68	0,948
Стадия 3	2,4	0,68-8,53	0,176	2,3	0,94-5,50	0,068
Стадия 4	2,4	0,78-7,49	0,127	1,83	0,81-4,12	0,068
ECOG ≥2 баллов	3,9	1,54-10,09	0,004*	2,8	1,46-5,25	**0,002**

При анализе ОВ у больных с I стадией заболевания отсутствовали неблагоприятные события, поэтому данная группа исключена из анализа в модели Кокса.

С помощью многофакторного анализа оценено прогностическое значение одновременно нескольких предикторов. В исследование были включены показатели, имеющие статистическую значимость после проведения однофакторного анализа: ИГХ подтип (non-GCB), риск IPI высокий и ECOG ≥2 баллов (таблица 17).

Таблица 17 – Результаты многофакторного регрессионного анализа Кокса предикторов общей и беспрогрессивной выживаемости

Параметр	ОВ			БПВ		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
ИГХ подтип (non-GCB)	5,2	1,21-22,71	0,027*	2,5	1,17-5,27	**0,018**
Риск IPI высокий	5,3	0,88-31,48	0,049*	5,1	1,51-17,15	**0,009**
ECOG ≥2 баллов	1,3	0,32-5,24	0,726	1,1	0,43-3,05	0,781

Установлено, что независимыми факторами прогноза, влияющими на продолжительность выживаемости больных являлись негерминальный подтип ДВККЛ и высокий риск по шкале IPI. При этом риск развития летального исхода при ОВ у названных предикторов был близким по значению показателей (HR=5,2; p=0,027 и HR=5,3; p=0,049, соответственно).

Определение влияния на БПВ и ОВ иммуногистохимического подтипа non-GCB и высокого риска по шкале IPI позволяет рассматривать комбинацию этих факторов с целью повышения качества стратификации больных ДВККЛ на группы риска с разной выживаемостью.

3.2. Алгоритм прогнозирования эффективности индукционной терапии RCHOP методом машинного обучения CART

Шкала IPI является основной прогностической системой, признанной мировым сообществом и позволяющей определить прогноз заболевания в дебюте ДВККЛ в зависимости от клинико-гематологических факторов. Однако в ней не учтен биологический фенотип болезни, что не позволяет на этапе диагностики индивидуализировать лечение. Таким образом, несомненный интерес представляет собой комбинация показателей шкалы IPI и биологических маркеров опухоли для наиболее эффективной стратификации пациентов.

Исследование выполнено в 3 этапа. На первом - проведен анализ ассоциации иммуногистохимического подтипа ДВККЛ с ОВ. Иммуногистохимические подтипы GCB и non-GCB установлены у 36 (37%) и 61 (63%) больных, соответственно. Обнаружены статистически значимые различия в сравниваемых группах пациентов; p=0,002 (рисунок 12).

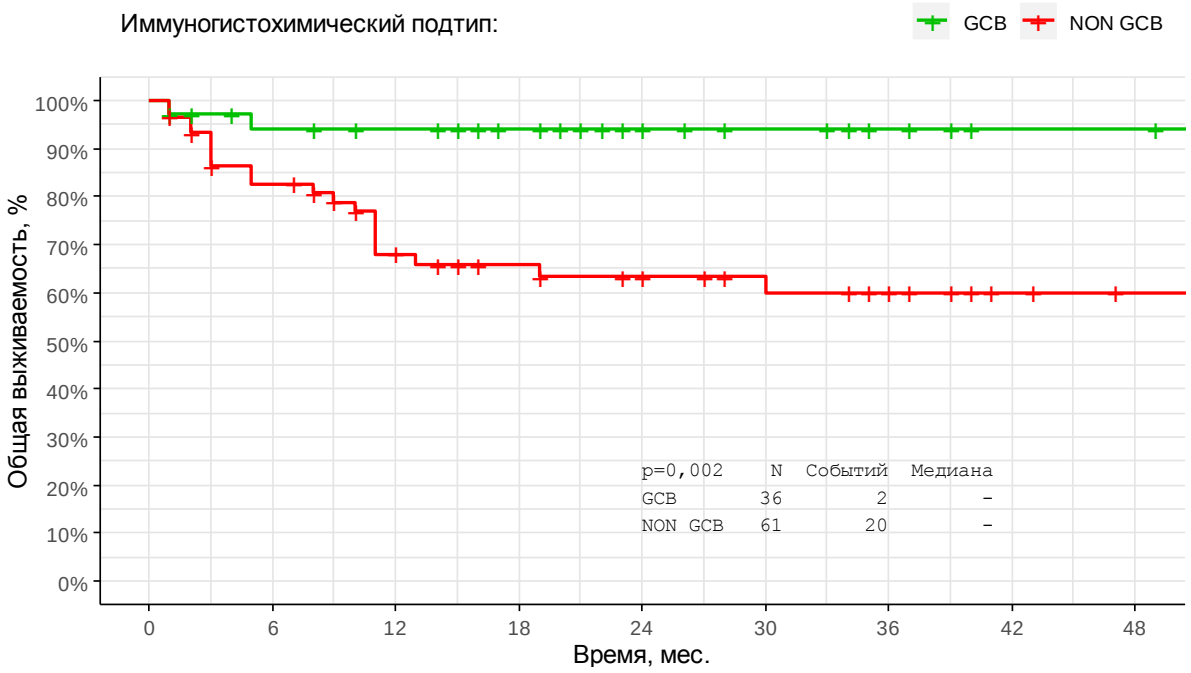

Рисунок 12 - Общая выживаемость больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой в зависимости от иммуногистохимического подтипа

В группе больных с GCB подтипом 4-летняя ОВ была в 1,6 раза выше по сравнению с пациентами, имевшими non-GCB вариант (94% и 60% соответственно).

На втором этапе проанализировано значение группы риска по шкале IPI в отношении ОВ. Распределение больных по группам в зависимости от IPI следующее: низкий, промежуточно низкий, промежуточно высокий и высокий риски установлены у 27 (28%), 27 (28%), 20 (20%) и у 23 (24%) пациентов соответственно.

При анализе 4-летней ОВ выявлены достоверные межгрупповые различия, которые обусловлены крайне низкой выживаемостью больных в группе высокого риска по сравнению с другими вариантами IPI (36%; медиана выживаемости 11 месяцев); p<0,001. ОВ обследуемых с низким, промежуточно низким и промежуточным высоким рисками была сопоставимой при недостигнутой медиане (88%, 90% и 71% соответственно); p>0,05 (рисунок 13).

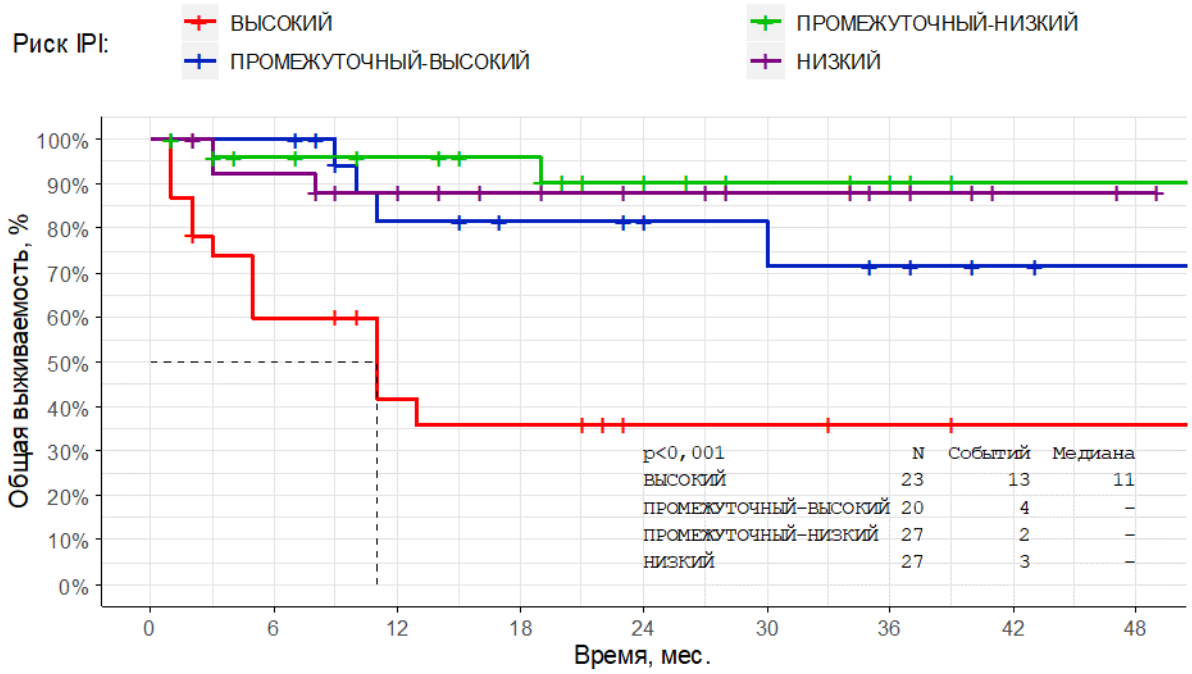

Рисунок 13 - Общая выживаемость больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой в зависимости от IPI риска

По результатам исследования обнаружено, что показатели ОВ при низком и промежуточных рисках по шкале IPI не имеют статистически значимых различий

при проведении индукционной терапии по схеме RCHOP. Принципиальным недостатком шкалы IPI является приоритет клинических маркеров при отсутствии указаний на молекулярно-генетические аберрации, вовлеченные в механизмы патогенеза развития ДВККЛ. В то же время попытки использовать только GCB и non-GCB подтипы в качестве самостоятельных предикторов течения ДВККЛ не всегда позволяют точно прогнозировать течение заболевания, т.к. исключаются такие важные клинические и лабораторные характеристики, используемые в шкале IPI как стадия заболевания, соматический статус по шкале ECOG, возраст, концентрация ЛДГ.

На третьем этапе исследования создан алгоритм прогноза ОВ методом машинного обучения CART с учетом индекса IPI и иммуногистохимического подтипа ДВККЛ (рисунок 14).

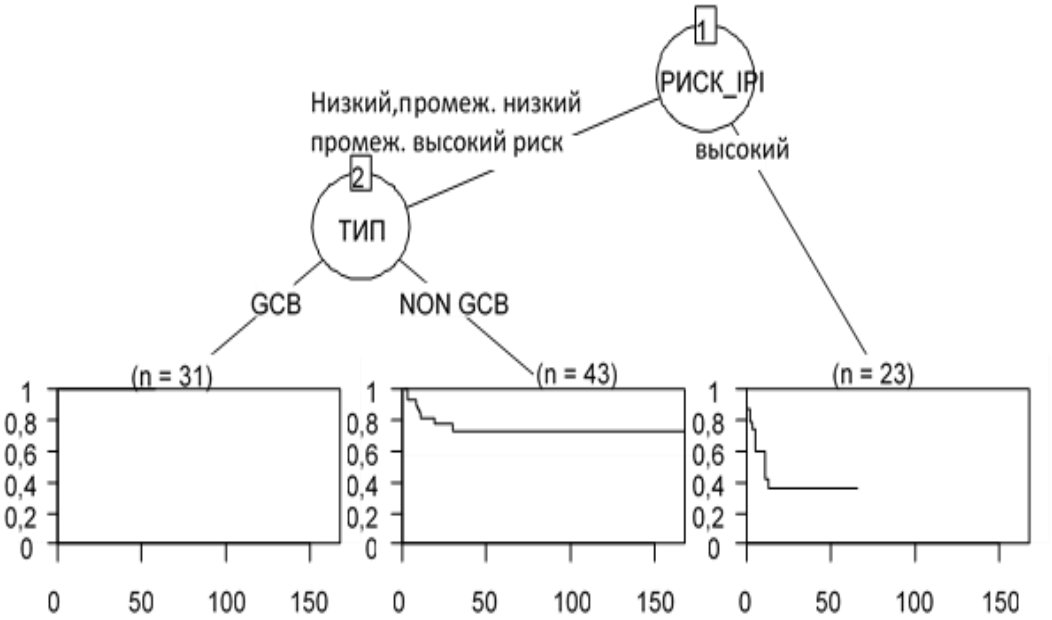

Рисунок 14 - Алгоритм прогноза общей выживаемости больных в зависимости от иммуногистохимического подтипа и группы риска по IPI

С помощью построенной модели сформированы 3 группы риска. В каждой из групп проанализирована ОВ и БПВ при проведении индукционной терапии по схеме RCHOP. Различия в исследуемых группах пациентов достигли статистической значимости; $p<0,001$ (рисунок 15).

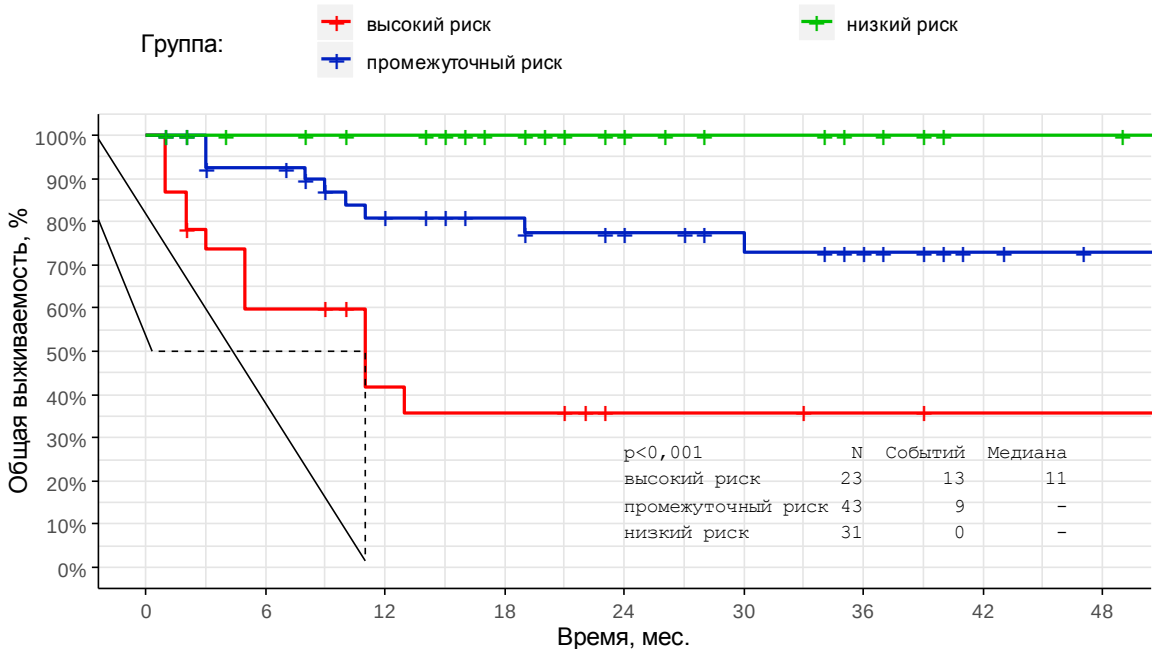

Рисунок 15 - Общая выживаемость больных ДВККЛ в группах, сформированных при сочетании групп риска по шкале IPI и иммуногистохимического подтипа

Группу 1 составил 31 пациент с низким, промежуточно низким и промежуточно высоким рисками по IPI в сочетании с подтипом GCB. У данных больных ОВ за 2 и 4 года наблюдения соответствовала 100%. Медиана ОВ в группе низкого риска не достигнута. Такую группу обозначили как группу низкого риска.

В группу 2 включены 43 больных ДВККЛ с низким, промежуточно низким и промежуточно высоким рисками по шкале IPI в сочетании с non-GCB подтипом, она обозначена как группа промежуточного риска. При этом 2-летняя ОВ составила 76%, 4-летняя ОВ – 73% (медиана не достигнута). Такую группу обозначили как группу промежуточного риска.

Группа 3 включала 23 пациента с высоким IPI независимо от иммуногистохимического подтипа заболевания. При анализе 2-летняя ОВ соответствовала 36%, за 4 года – 36% (медиана выживаемости 11 месяцев). Группа 3 обозначена как группа высокого риска.

В результате построенной модели сформированы прогностические группы риска, отражающие ОВ с учетом клинических и биологических факторов риска при ДВККЛ (таблица 18).

Таблица 18 - Общая выживаемость больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой в зависимости от комбинации риска по шкале IPI и подтипа

Группы	Число больных	Медиана ОВ, мес	2-летняя ОВ, %	4-летняя ОВ, %
Группа 1	31	Не достигнута	100	100
Группа 2	43	Не достигнута	76	73
Группа 3	23	11,0	36	36

Анализ БПВ показал достоверные различия в исследуемых группах (p<0,001; рисунок 16). Установлено, что 2-летняя и 4-летняя выживаемость в группе низкого риска составила 81% и 58%, соответственно (медиана не достигнута). У пациентов с промежуточным риском - 50% и 43%, соответственно (медиана 36 месяцев). Самая низкая выживаемость наблюдалась у больных с высоким риском IPI - 25% и 0% соответственно (медиана - 5 мес.).

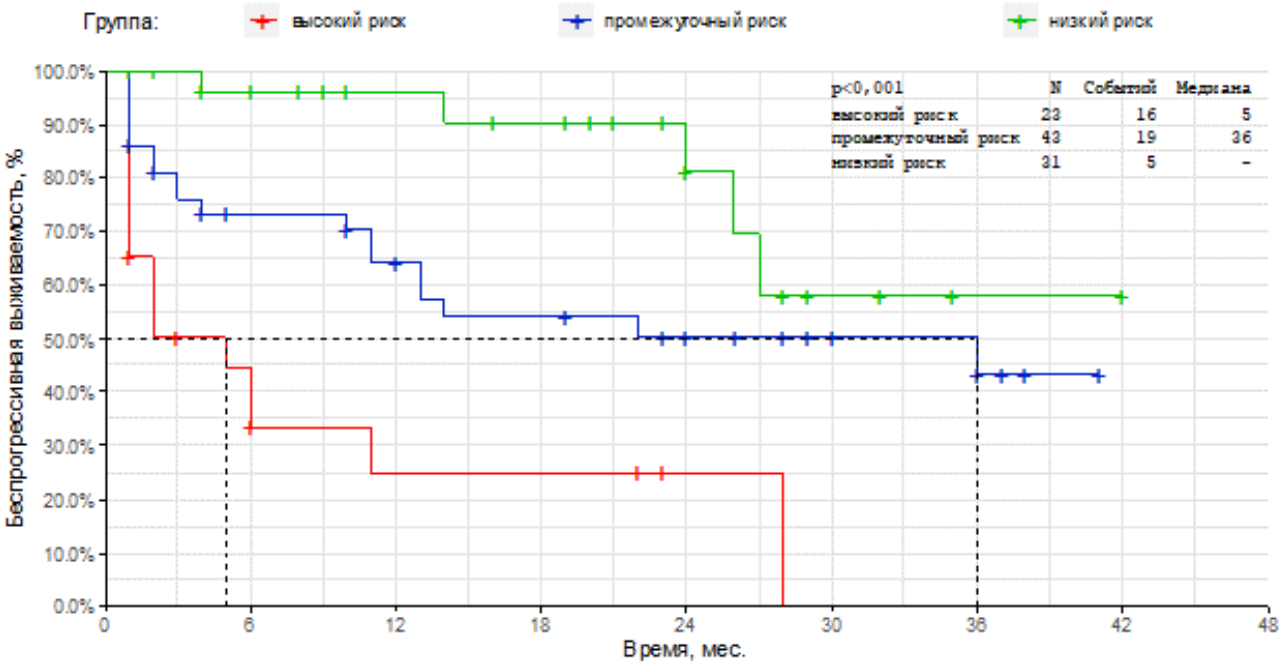

Рисунок 16 - Беспрогрессивная выживаемость больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой в группах, сформированных при сочетании групп риска IPI и иммуногистохимического подтипа

Таким образом, установлено, что совместное использование иммуногистохимического подтипа и шкалы IPI на этапе диагностики ДВККЛ позволяет стратифицировать больных на 3 группы, различающиеся по выживаемости. В то же время отсутствие дополнительной прогностической значимости иммуногистохимического подтипа в случае высокого риска по шкале IPI и наличие промежуточного варианта, не предоставляющего возможность корректного выбора интенсивности лечебного пособия, является основанием для дальнейшего поиска новых биологических маркеров прогноза.

3.3 Ассоциация экспрессии белка PD-L1 с клинико-лабораторными показателями и выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой

3.3.1. Взаимосвязь клинико-лабораторных показателей с дифференцированной экспрессией PD-L1

Наличие механизма иммунного контроля при развитии ряда онкогематологических заболеваний и необходимость поиска новых таргетных препаратов для лечения пациентов с ДВККЛ предопределили значительный интерес к изучению белков PD-L1 и PD-1 у больных неходжкинскими лимфомами. Указанные белки рассматриваются не только в качестве возможных мишеней для терапевтического воздействия, но и как вероятные предикторы агрессивного течения заболевания. При этом вопрос о прогностической значимости экспрессии белков PD-1 и PD-L1 окончательно не решен [86].

Исследование экспрессии маркера PD-L1 на клетках опухолевого субстрата проведено у 85 пациентов с ДВККЛ. При использовании алгоритма машинного обучения CART определен пороговый уровень экспрессии PD-L1, который соответствовал 24,5% (рисунок 17).

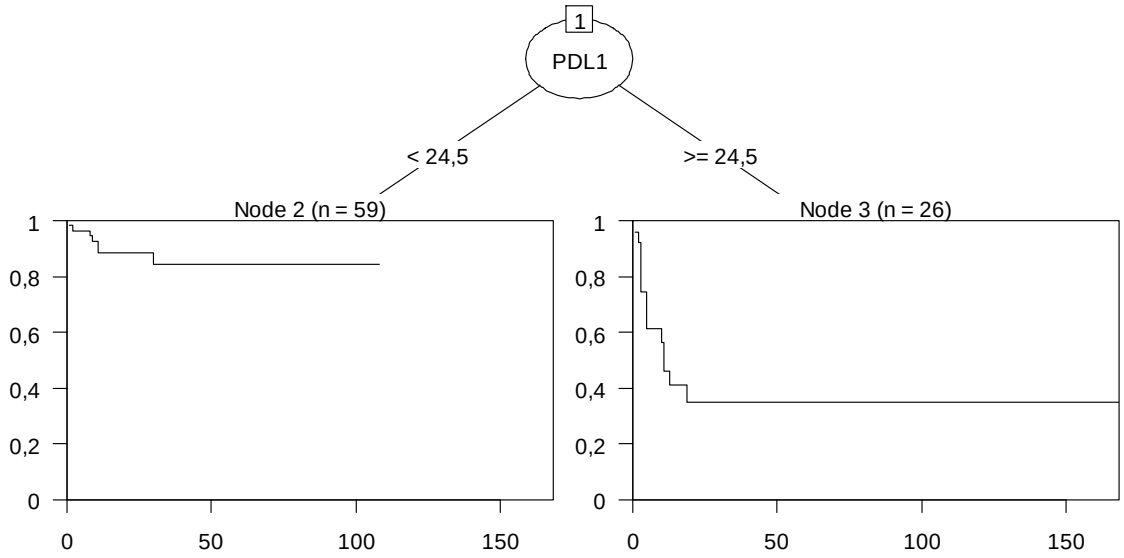

Рисунок 17 - Определение порогового уровня PD-L1 методом CART

Полученные данные подтверждены методом ROC анализа, на основе которого с незначительной разницей в результатах в пределах статистической значимости выделен пороговый уровень для доли опухолевых клеток, экспрессирующих белок PD-L1 в 23% (рисунок 18).

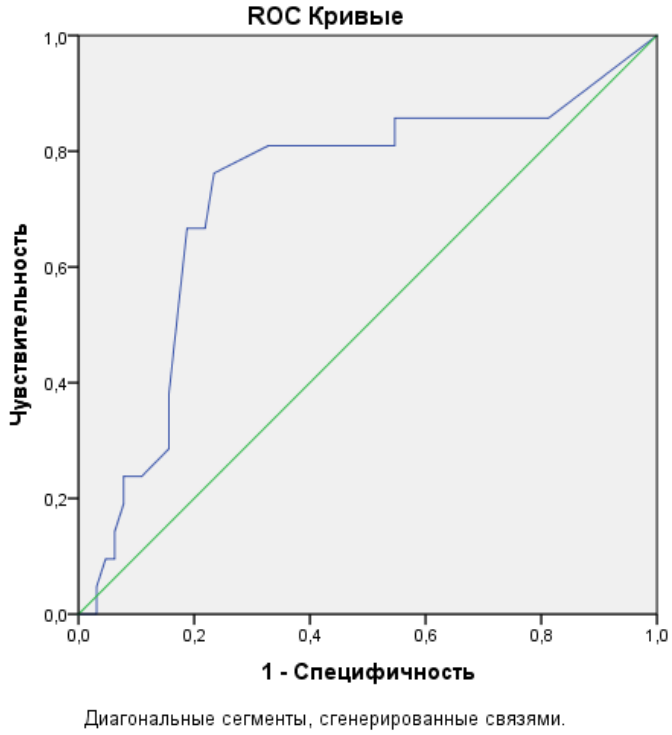

Рисунок 18 - ROC-кривая для биомаркера PD-L1

Для оценки качества ROC анализа использовали характеристику площади под ROC-кривой AUC (Area under curve). В исследовании AUC соответствовала значению 0,72±0,07 (95%CI=0,6-0,8), p=0,002.

В исследованиии уровень маркера <24,5% расценивали как низкую экспрессию, а ≥24,5% как гиперэкспрессию. В соответствии с этим критерием пациенты разделены на группы с низкой и высокой экспрессией PD-L1. В данной когорте низкая экспрессия указанного белка обнаружена у 59 (69,5%) больных. В группу с высокой экспрессией вошли 26 (30,5%) пациентов (рисунок 19).

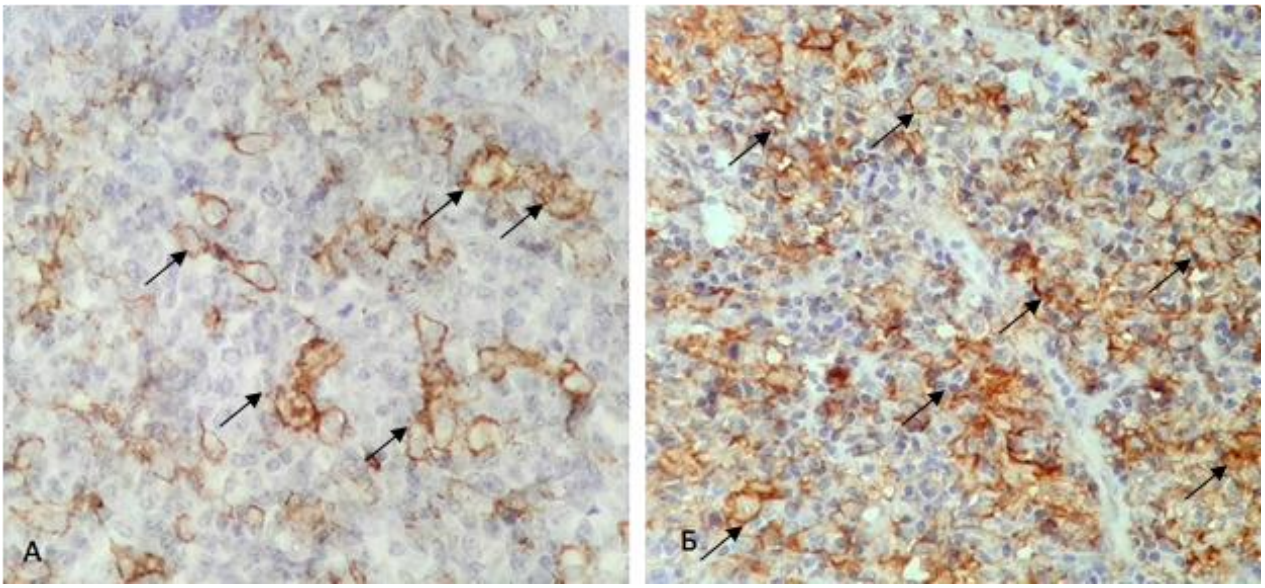

Рисунок 19 - Гистологический срез лимфатического узла. Иммуногистохимическое окрашивание моноклональным антителом PD-L1 (клон 22C3). Продукт реакции окрашен в коричневый цвет (стрелки): А – низкая экспрессия, Б – высокая экспрессия; ув. х200.

Проведен анализ взаимосвязи низкой и высокой степени экспрессии PD-L1 с клинико-лабораторными характеристиками больных ДВККЛ (таблица 19). Отмечено увеличение частоты встречаемости гиперэкспрессии PD-L1 в группе пациентов с non-GCB подтипом опухоли (81%) по сравнению с GCB вариантом заболевания (19%), p=0,05.

Таблица 19 - Взаимосвязь экспрессии PD-L1 с клинико-лабораторными показателями

Показатель	PD-L1<24,5% n=59, абс. (%)	PD-L1≥24,5% n=26, абс. (%)	P
Пол: - мужской - женский	 27 (46) 32 (54)	 17 (65) 9 (35)	p=0,095
Возрастная группа: < 60 лет ≥ 60 лет	 36 (61) 23 (39)	 15 (57) 11 (43)	p=0,774
Концентрация ЛДГ: - повышена - нормальная	 37 (63) 22 (37)	 21 (81) 5 (19)	p=0,099
Стадия: - I - II - III - IV	 11 (19) 16 (27) 11 (19) 21 (35)	 2 (7) 7 (27) 8 (31) 9 (35)	p=0,457
Риск по IPI: - низкий - промежуточно низкий - промежуточно высокий - высокий	 17(29) 19 (32) 12 (20) 11 (19)	 7 (27) 5 (19) 5 (19) 9 (35)	p=0,643
Подтип: - GCB - non-GCB	 24 (41) 35 (59)	 5 (19) 21 (81)	**p=0,05**

Примечание: нормальные показатели концентрации ЛДГ в сыворотке крови 145-224 Ед/л.

Не обнаружено различий в экспрессии PD-L1 по полу, возрасту, концентрации ЛДГ, стадиям, группам риска по шкале IPI (p>0,05). Однако отмечалась тенденция к преобладанию надпорогового уровня исследуемого маркера у мужчин, по сравнению с таковой у женщин: 65% и 35%. соответственно, p=0,095.

3.3.2 Экспрессия белка PD-L1 и выживаемость пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой

Экспрессия PD-L1 у больных в общей когорте

При высокой экспрессии PD-L1 2-летняя БПВ была в 1,7 раза ниже по сравнению с низкой экспрессией указанного маркера: 34% и 58% соответственно (p=0,012). Медиана БПВ при гиперэкспрессии PD-L1 соответствовала 5 месяцам, при низкой экспрессии - 36 месяцам (рисунок 20).

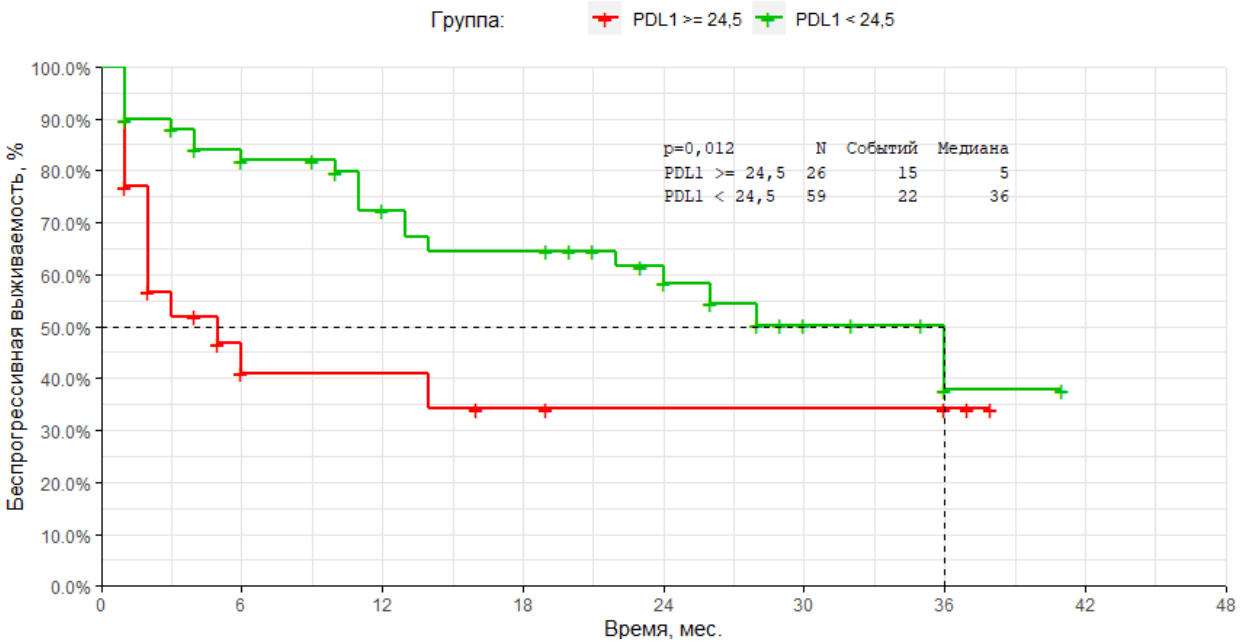

Рисунок 20 - Взаимосвязь уровня экспрессии PD-L1 и 2-летней беспрогрессивной выживаемости в общей когорте пациентов

При распределении по группам с высокой и низкой экспрессией PD-L1 показатели ОВ были значимо выше в случае низкой экспрессии исследуемого белка. Так, 2-летняя ОВ больных с экспрессией PD-L1 выше и ниже порогового уровня составила 35% и 89%, соответственно (p<0,001). Медиана ОВ в группе с гиперэкспрессией маркера соответствовала 11 месяцам, с низкой экспрессией - не достигнута (рисунок 21).

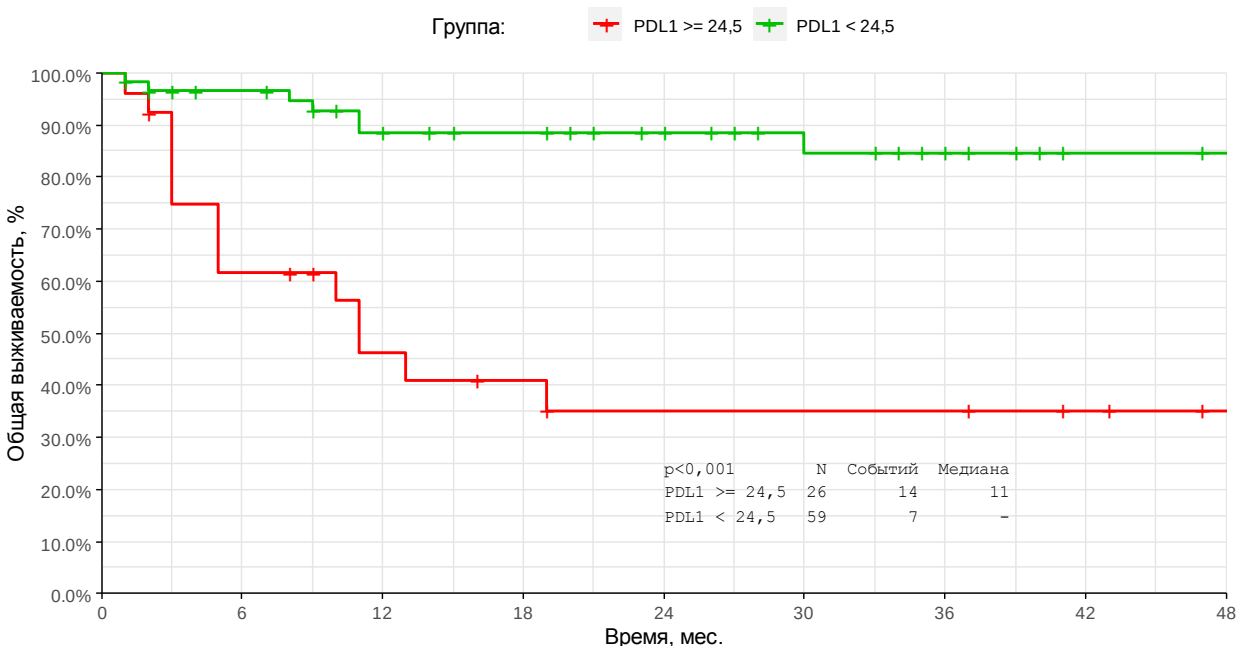

Рисунок 21 - Взаимосвязь уровня экспрессии PD-L1 и 2-летней общей выживаемости в общей когорте пациентов

Таким образом, установлено, что результаты 2-летней БПВ и ОВ при гиперэкспрессии PD-L1 имеют достоверно значимые различия в общей когорте больных.

Экспрессия PD-L1 у больных в группе низкого риска в комплексной модели прогнозирования

Проведен анализ в группах, сформированных на основе сочетания ИГХ подтипа ДВККЛ и варианта IPI риска. Изучены показатели выживаемости у пациентов с различным относительным числом опухолевых клеток с экспрессией белка PD-L1 (см. подглаву 3.2).

Низкая и высокая доля опухолевых клеток, экспрессирующих PD-L1 в данной группе, выявлена у 21 (84%) и 4 (16%) больных, соответственно. При низкой экспрессии 2-летняя БПВ соответствовала 76%, медиана не достигнута (рисунок 22). При этом 2-летняя ОВ у больных с низкой экспрессией указанного маркера составляла 100%. У 4 пациентов с гиперэкспрессией биомаркера PD-L1 продолжительность жизни от постановки диагноза составила 4, 16, 2 и 6 месяцев соответственно.

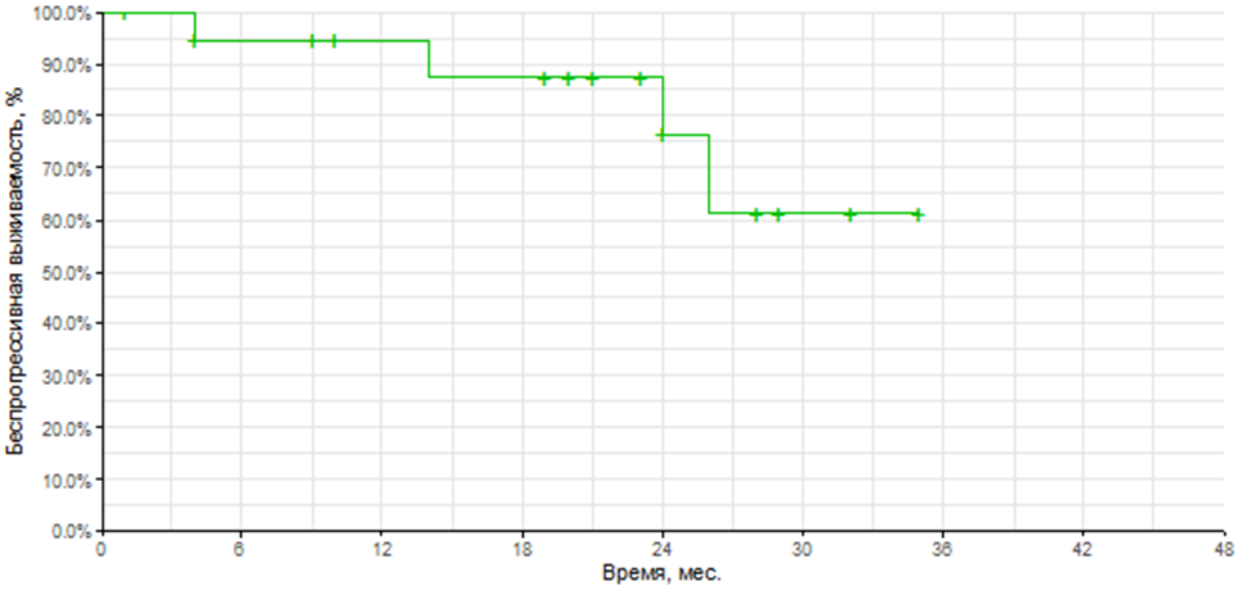

Рисунок 22 - Беспрогрессивная выживаемость пациентов с ДВККЛ в группе GCB подтип и IPI риск любой кроме высокого, уровень экспрессии PD-L1 низкий

Экспрессия белка PD-L1 у больных в группе промежуточного риска в комплексной модели прогнозирования

В группу промежуточного риска вошли 40 пациентов. Гиперэкспрессия PD-L1 выявлена у 13 (32,5%) больных, а низкая выраженность биомаркера установлена у 27 (67,5%) пациентов. При анализе 2-летней БПВ не обнаружено статистически значимых различий в зависимости от относительного числа PD-L1 экспрессирующих клеток: 46% и 49%, соответственно; p=0,803 (рисунок 23). Медиана БПВ составила 14 мес. при гиперэкспрессии PD-L1, 22 мес. – при низкой экспрессии биомаркера.

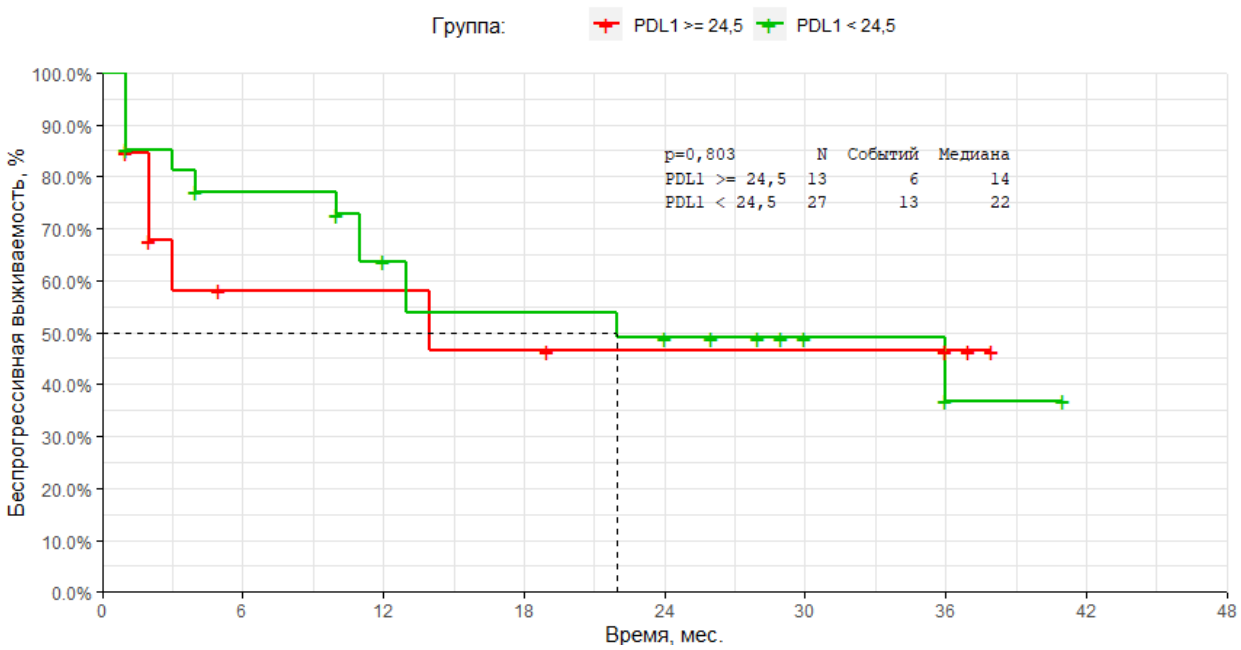

Рисунок 23 - Беспрогрессивная выживаемость пациентов с ДВККЛ в группе non-GCB подтип и IPI риск любой кроме высокого

При оценке 2-летней ОВ установлены статистически значимые различия. При высокой экспрессии PD-L1 2-летняя ОВ была в 1,7 раза ниже по сравнению с низкой экспрессией указанного маркера: 52% и 87% соответственно (p=0,049). Медиана ОВ не достигнута (рисунок 24).

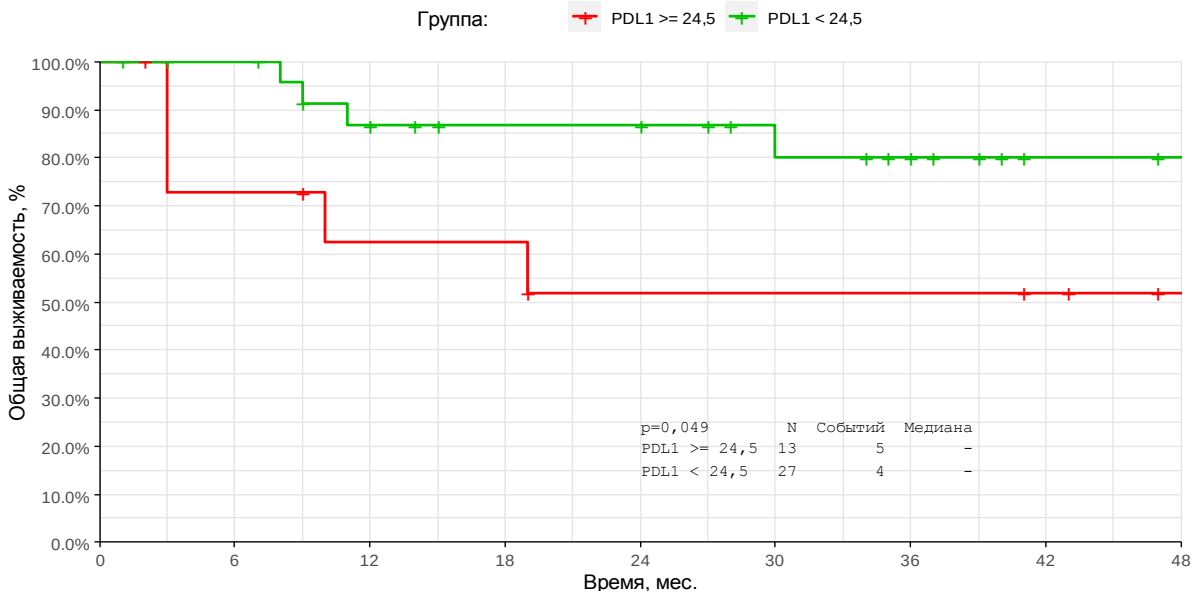

Рисунок 24 - Общая выживаемость пациентов группы 2 (non-GCB подтип и IPI риск любой кроме высокого)

Экспрессия белка PD-L1 у больных в группе высокого риска в комплексной модели прогнозирования

Экспрессия PD-L1 была изучена у 20 пациентов в группе высокого риска. Надпороговый уровень экспрессии PD-L1 (≥ 24,5% опухолевых клеток) зарегистрирован в 45% случаев. Доля клеток с уровнем экспрессии PD-L1 ниже порогового выявлена у 55% больных. У всех обследуемых с высокой экспрессией PD-L1 констатирован летальный исход ко времени окончания наблюдения с медианой БПВ 2 месяца. Данный результат объясняется тем, что у 90% пациентов с гиперэкспрессией PD-L1 через 6 месяцев после инициации лечения по схеме RCHOP развился рецидив ДВККЛ либо прогрессирование заболевания. Доля оставшихся под наблюдением больных в группе с низкой экспрессией PD-L1 составила 46% при медиане БПВ 11 месяцев; p=0,002 (рисунок 25).

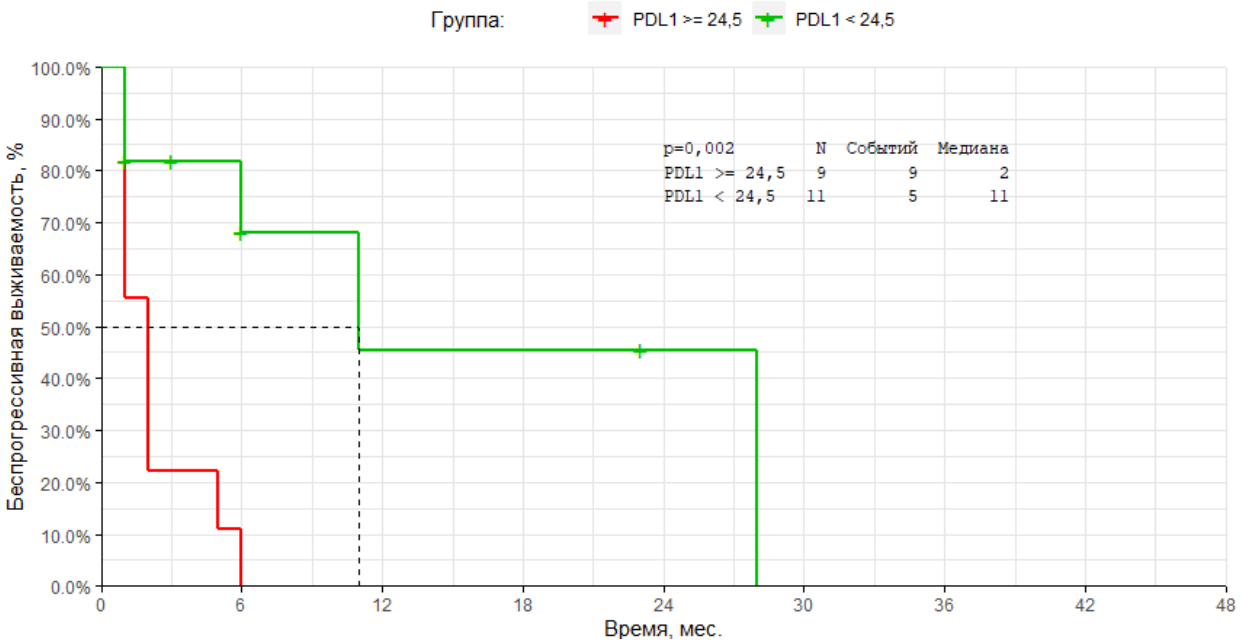

Рисунок 25 - Беспрогрессивная выживаемость пациентов группы высокого риска и экспрессия PD-L1 (высокий IPI-риск независимо от подтипа GCB/non-GCB)

Подобные результаты получены при оценке показателей 2-летней ОВ. У пациентов с гиперэкспрессией PD-L1 медиана ОВ составила 5 месяцев, 2-летняя ОВ - 0%. В группе больных с низкой экспрессией биомаркера медиана ОВ не достигнута, а показатель 2-летней ОВ составил 66%; p=0,008 (рисунок 26).

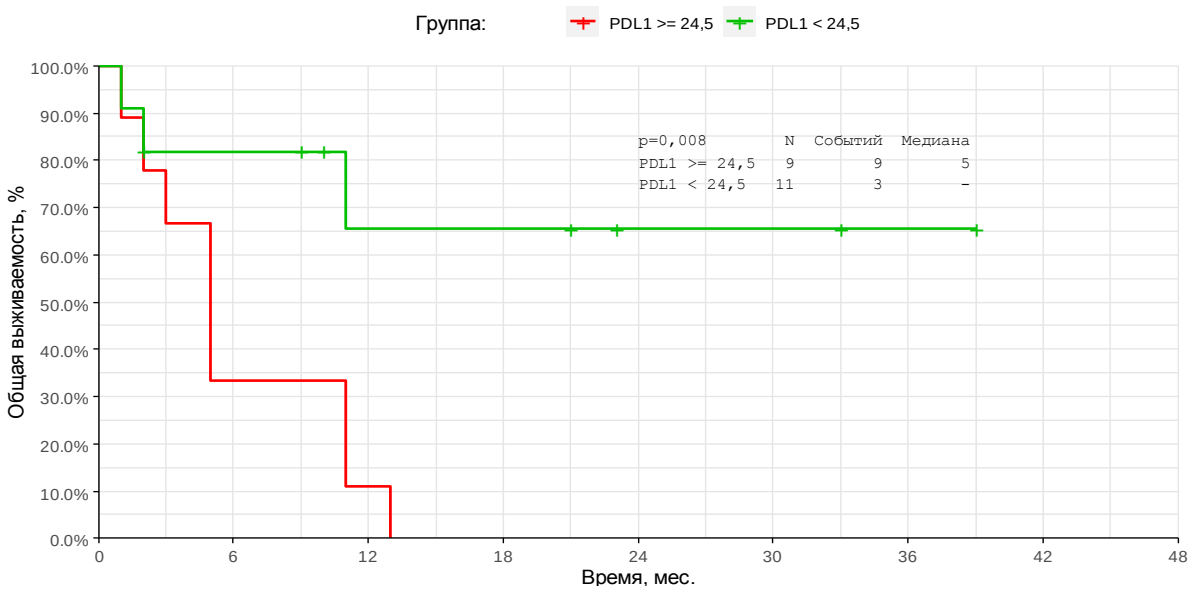

Рисунок 26 - Общая выживаемость пациентов группы высокого риска и экспрессия PD-L1 (высокий IPI-риск независимо от подтипа GCB/non-GCB; уровень экспрессии PD-L1 низкий / высокий)

Далее с использованием регрессионного анализа Кокса выполнена оценка значения высокого риска по шкале IPI, подтипа non-GCB и гиперэкспрессии PD-L1 для БПВ и ОВ (таблица 20).

Таблица 20 – Результаты однофакторного регрессионного анализа Кокса предикторов общей и беспрогрессивной выживаемости больных ДВККЛ

Параметр	ОВ			БПВ		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
Экспрессия PDL1 (≥24,5%)	6,5	2,6-16,2	<0,001*	5,2	2,11-13,1	**<0,001**
ИГХ подтип (non-GCB)	5,7	1,34-24,7	0,019*	5,9	1,38-25,5	**0,017**
Риск IPI (высокий)	6,5	2,72-15,7	<0,001*	6,2	2,56-15,1	**<0,001**

По результатам анализа указанные критерии статистически значимо влияли на общую и беспрогрессивную выживаемость. При этом риск неблагоприятного исхода при гиперэкспрессии PD-L1 и высоком IPI при ОВ и БПВ был сопоставимым. С использованием многофакторного регрессионного анализа Кокса оценено

независимое влияние одновременно нескольких предикторов на ОВ и БПВ (таблица 21).

Таблица 21 – Результаты многофакторного регрессионного анализа Кокса предикторов общей и беспрогрессивной выживаемости у больных ДВККЛ

Параметр	ОВ			БПВ		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
Экспрессия PDL1 ≥24,5%	4,1	1,58-10,7	0,004*	4,1	1,62-10,7	**0,003**
ИГХ подтип (non-GCB)	3,2	0,71-14,1	0,132	1,9	0,83-4,14	0,133
Риск IPI высокий	3,7	1,43-12,5	0,031*	4,6	1,86-11,7	**0,001**

Независимыми факторами прогноза течения ДВККЛ являлись экспрессия PD-L1≥24,5% и высокий риск по шкале IPI. Так, наличие гиперэкспрессия маркера увеличивало риск неблагоприятного события при ОВ и БПВ в 4 раза (p=0,004 и p=0,003 соответственно). Биомаркер PD-L1 расценен как независимый фактор прогноза течения ДВККЛ в группе пациентов высокого риска.

Таким образом, экспрессия белка PD-L1≥24,5% в опухолевых клетках чаще ассоциировалась с non-GCB подтипом ДВККЛ. Гиперэкспрессия указанного маркера является независимым предиктором для БПВ и ОВ в группе высокого риска. Высокая экспрессия PD-L1 позволяет дополнительно стратифицировать пациентов в группе высокого риска. Пациентам с гиперэкспрессией PD-L1 в опухолевых клетках следует рекомендовать другую стратегию индукционной терапии, включающую в себя интенсификацию лечебной опции, либо назначение дополнительно к химиотерапии таргетных препаратов, в частности, ингибиторов контрольных иммунных точек.

3.4 Ассоциация экспрессии белка PD-1 с клинико-лабораторными показателями и выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой

Для определения прогностической значимости уровня экспрессии белка PD-1 в БПВ и ОВ ДВККЛ проанализированы данные 68 пациентов. Используя алгоритм машинного обучения CART, установлены пограничные значения экспрессии белка PD-1 на клетках опухолевого микроокружения. Пороговый уровень определен как отсутствие экспрессии биомаркера PD-1 (рисунок 27).

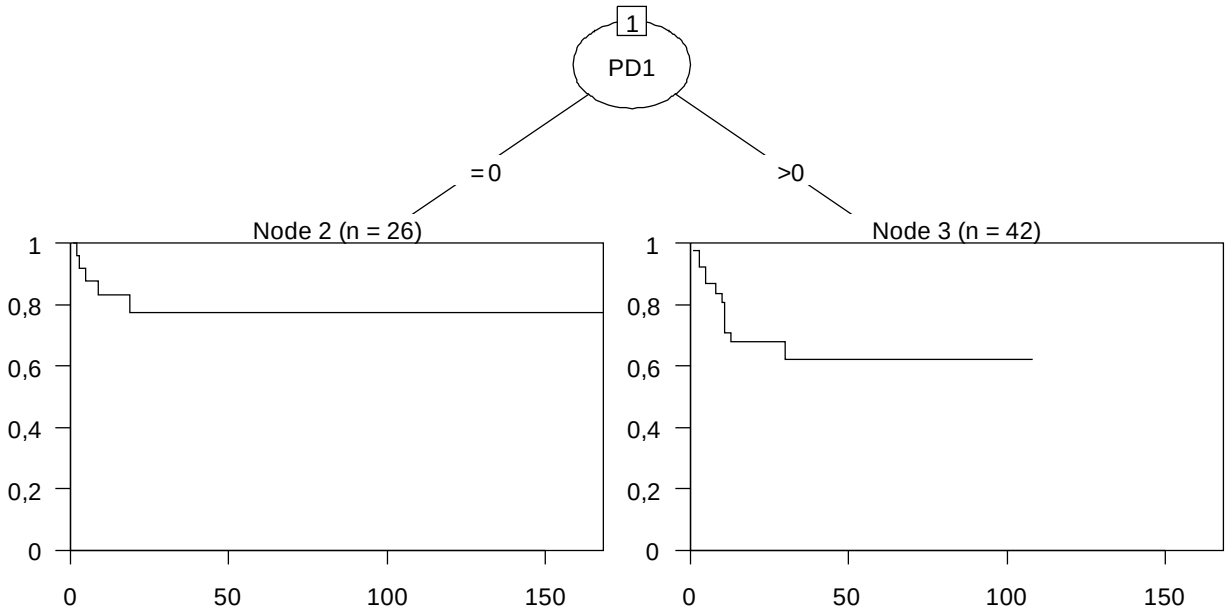

Рисунок 27 - Определение порогового уровня (наличие/отсутствие) экспрессии белка PD-1 методом CART

В соответствии с этим значением пациентов разделили на группы с наличием и отсутствием экспрессии указанного маркера: 42 (61,7%) и 26 (38,3%) больных, соответственно. Проанализирована взаимосвязь степени экспрессии PD-1 и клинико-лабораторных характеристик ДВККЛ. В результате анализа статистически значимых межгрупповых различий не установлено ($p>0,05$). Корреляция уровня экспрессии PD-1 с клинико-лабораторными показателями представлена в таблице 21.

Таблица 21 - Взаимосвязь уровня экспрессии PD-1 с клинико-лабораторными показателями

Показатель	PD-1+, n=42 абс. (%)	PD-1-, n=26 абс. (%)	P
Пол: - мужской - женский	26 (62) 16 (38)	14 (54) 12 (46)	p=0,512
Возрастная группа: < 60 лет ≥ 60 лет	26 (62) 16 (38)	15 (58) 11 (42)	p=0,774
Уровень ЛДГ: - повышен - норма	29 (69) 13 (31)	19 (73) 7 (27)	p=0,723
Стадия: - I - II - III - IV	5 (12) 8 (19) 11 (26) 18 (43)	7 (27) 7 (27) 7 (27) 5 (19)	p=0,653
Риск IPI: - высокий - промежуточный высокий - промежуточный низкий - низкий	10 (24) 11 (26) 11 (26) 10 (24)	4 (15) 5 (19) 8 (31) 9 (35)	p=0,508
Подтип: - GCB - nonGCB	14 (33) 28 (67)	7 (27) 19 (73)	p=0,578

Не выявлено взаимосвязи клинико-лабораторных показателей с наличием экспрессии белка PD-1. Обращает на себя внимание, что наличие исследуемого маркера чаще обнаруживалась в IV стадии, чем в I: в 18 (43%) и 5 (12%) случаях, но статистическая достоверность отсутствовала.

Установлено, что при наличии экспрессии PD-1 и при ее отсутствии 2-летняя БПВ составляла 35% и 62%, соответственно. Различие статистически незначимое: p = 0,167. В случае экспрессии PD-1 медиана БПВ составила 13 месяцев и 36 месяцев, если белок не определялся (рисунок 28).

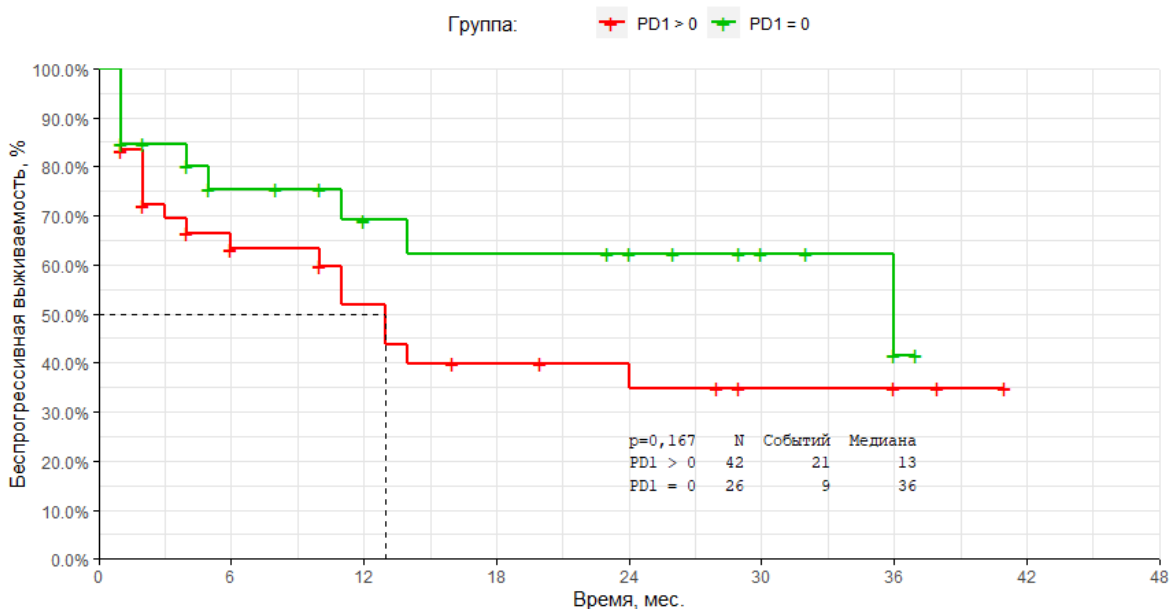

Рисунок 28 - Взаимосвязь беспрогрессивной выживаемости и уровня экспрессии PD-1 в общей когорте пациентов

Показатели 2-летней ОВ в группах больных с разной экспрессией PD-1 также значимо не различались: 67% и 77%, соответственно. Медиана не достигнута ни в одной из двух групп; p = 0,34 (рисунок 29).

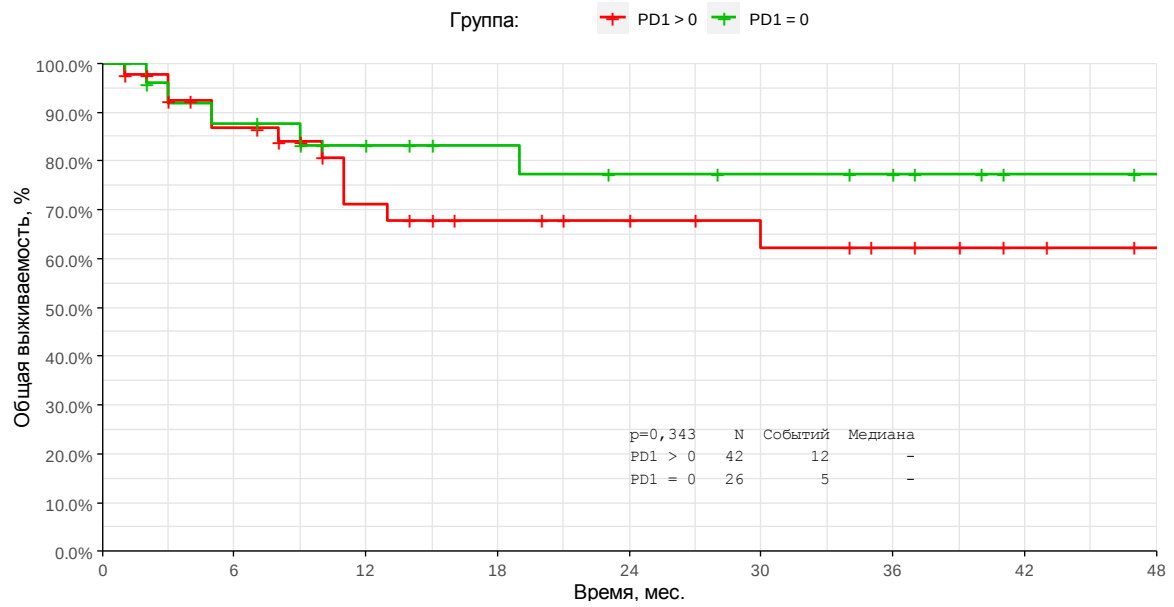

Рисунок 29 - Взаимосвязь общей выживаемости и уровня экспрессии PD-1 в общей когорте пациентов

В отличии от PD-L1 экспрессия белка PD-1 не имела информативной ценности в качестве потенциального предиктора эффективности терапии больных ДВККЛ в общей когорте пациентов.

Экспрессия белка PD-1 в группах низкого, промежуточного и высокого риска у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой в комплексной модели прогнозирования

Дополнительно проведен анализ выживаемости в зависимости от экспрессии PD-1 в трех ранее сформированных группах (см. подглаву 3.2). Экспрессия данного белка изучена у 18 пациентов в группе низкого риска. У 11 (61%) обследуемых обнаружена экспрессия маркера. Установлено, что независимо от наличия или отсутствии экспрессии PD-1 показатели БПВ больных не имели различий, p=0,632. 2-летняя ОВ в этой группе, как было установлено ранее, составила 100%.

Экспрессия PD-1 изучена у 36 пациентов из группы промежуточного риска. Наличие данного маркера выявлено у 21 (58%) больных. При анализе БПВ и ОВ установлено, что степень экспрессии белка PD-1 не оказывала значимого влияния на показатели выживаемости. Так, 2-летняя БПВ в промежуточной группе в случае обнаружения экспрессии PD-1 составила 32%, а при ее отсутствии - 68%; p=0,083. При этом медиана БПВ соответствовала 11 и 36 месяцам. Отмечена тенденция к увеличению БПВ при отсутствии экспрессии PD-1. У больных промежуточной группы при наличии и отсутствии исследуемого маркера 2-летняя ОВ составила 65% и 84%, соответственно; p=0,153. Медиана в обоих случаях не достигнута.

В группе высокого риска экспрессия PD-1 проанализирована у 14 пациентов. При этом наличие экспрессии выявлено у 10 (71%) больных. Обнаружено отсутствие статистически значимых различий в БПВ и ОВ при наличии и отсутствии экспрессии PD-1: 2-летняя БПВ составила 28% и 25% (p=0,909), а 2-летняя ОВ - 25% и 23%, соответственно; p=0,422.

Таким образом, в исследовании не получены достоверных доказательств о прогностической значимости экспрессии белка PD-1 по отношению к выживаемости больных ДВККЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отличительной особенностью ДВККЛ является биологическая гетерогенность, проявляющаяся разной эффективностью индукционных курсов и сроков наступления рецидива [2]. Стандартом лечения первой линии больных ДВККЛ служит комбинированная иммунохимиотерапия по схеме RCHOP, которая позволяет достичь полных ремиссий в 76% случаев, а 5-летняя БПВ и ОВ составляют 47% и 58%, соответственно [123]. Многочисленные клинические исследования посвящены оптимизации подходов к терапии и улучшению результатов лечения, в том числе с применением высокодозной химиотерапии и современных таргетных препаратов [133, 135, 154].

В основе повышения эффективности лечения больных ДВККЛ лежит принцип персонифицированной терапии, основанный на стратификации пациентов на группы риска. Для прогнозирования течения ДВККЛ используют различные системы оценки рисков на основе шкалы IPI, базирующиеся на клинических и лабораторных характеристиках [7-10].

Качество прогнозирования улучшилось после выделения GCB и ABC подтипов ДВККЛ, а также изучения мутационного статуса гена *c-MYC* в сочетании с экспрессией генов *BCL2* и/или *BCL6* [11-14]. Тем не менее, и в этом случае не всегда удается с высокой долей вероятности прогнозировать течение и развитие прогрессирования заболевания.

Основная причина развития рецидивов – различие ключевых иммунологических и генетических механизмов, формирующих патологический клон у отдельно взятых больных с внешне однотипными морфологическими и гистологическими характеристиками заболевания. В связи с этим была сформулирована цель настоящего исследования, согласно которой оценена выживаемость больных ДВККЛ на основе комплексного использования клинических и иммуногистохимических показателей у 97 пациентов.

На первом этапе изучено значение клинико-лабораторных и иммуногистохимических характеристик опухоли в достижении ответа при

проведении индукционной терапии по схеме RCHOP. Выделены независимые факторы для БПВ и ОВ: иммуногистохимический подтип и IPI.

При анализе ответов в соответствии с критериями Лугано установлена значимость некоторых клинико-лабораторных показателей. При проведении сравнительного анализа результатов у пациентов, имевших в дебюте заболевания соматический статус по шкале ECOG <2 баллов и ≥2 баллов установлены статистически значимые различия в достижении ответа. Так, больные, имевшие ≥2 баллов в дебюте заболевания, достигают ПО в 2,3 раза реже, чем пациенты с более благоприятным соматическим статусом; p<0,001. Это может быть связано с большой опухолевой массой и выраженной интоксикацией, а также коморбидностью, что ведет к редукции доз и удлинению межкурсовых интервалов. Достижение ЧО чаще определялось у пациентов с более тяжелым соматическим статусом: 34,9% против 13,0%. Ни у одного из больных с ECOG<2 баллов при постановке диагноза не отмечалась прогрессирующее течение заболевания, что отличает эту группу от соматически более тяжелых, где прогрессия обнаружена в 18,6% случаях. Таким образом, установлена значимость шкалы ECOG в достижении ответа после проведения индукционной иммунохимиотерапии по схеме RCHOP.

При сравнении частоты и глубины ответов на лечение у больных с I-II и III-IV стадиями обнаружено, что ПО в 1,8 раз чаще регистрируется у пациентов с I-II стадиями, по сравнению с больными, которые имеют более распространенный процесс в дебюте заболевания. В то же время, частота достижения ЧО после индукционной терапии по схеме RCHOP в 2,3 раза выше при III-IV стадиях. Прогрессирование ДВККЛ не отмечено ни у одного пациента с I-II стадиями. Таким образом, глубина достижения ответа после стандартной терапии RCHOP определяется распространенностью опухолевого процесса и соответственно снижением эффективности проводимой терапии при наличии III-IV стадии патологического процесса.

Установлена корреляция концентрации ЛДГ в дебюте заболевания с достижением ответа. В 90% случаях пациенты достигали ПО при референсных

значениях ЛДГ. В то же время достижение ПО при повышенным уровне ЛДГ обнаруживалось в 2 раза реже; p<0,001. При нормальных показателях ЛДГ ни в одном случае не было обнаружено прогрессирующее течение заболевания. Таким образом, указанный лабораторный маркер показал себя как вероятный предиктор благоприятного ответа при референсных значениях в дебюте ДВККЛ. При повышенном уровне вероятность достижения того или иного ответа предположить затруднительно.

Проанализировано распределение ответов у больных с GCB и non-GCB иммуногистохимическими подтипами. Обнаружено, что ПО чаще регистрировался у пациентов с GCB подтипом, прогрессирование в 3 раза реже, чем при non-GCB. Однако статистически значимых различий в распределении ответов в зависимости от иммуногистохимических вариантов не выявлялось (p=0,147), но сохранялась тенденция к менее благоприятному ответу при non-GCB подтипе.

Пациенты с низким риском по шкале IPI достигали ПО в 85,2 % случаев, что почти в 6 раз чаще, чем достижение других вариантов ответа на индукционную терапию RCHOP. Прогрессия заболевания не встретилась ни в одном случае при низком IPI. Частота достижения ПО при высоком риске ниже в 4 раза, чем при низком риске IPI; p<0,001. Обращает на себя внимание тот факт, что у пациентов с высоким риском ПО зафиксирован примерно с той же частотой, что и прогрессирующее течение заболевания после проведения первой линии терапии.

Таким образом, установлено, что при высоком риске по шкале IPI реже всего встречается благоприятный ответ на лечение после индукционной терапии по схеме RCHOP в сравнении с другими группами риска. При этом достижение ПО и прогрессирование заболевания отмечалось, практически, с одинаковой частотой, что может свидетельствовать о равной возможности пациентов достичь как ПО, так и прогрессию болезни при высоком риске. Это еще раз подтверждает гетерогенность ДВККЛ, несовершенство IPI и необходимость поиска новых прогностических маркеров. Таким образом, обнаруженная вариабельность ответа в соответствии с критериями Лугано может рассматриваться как основание для

смены тактики терапии отдельной категории больных ДВККЛ и поиска новых предикторов, ассоциированных с агрессивным течением заболевания.

Проанализировано влияние клинико-лабораторных факторов риска на ОВ и БПВ пациентов. Оценивали следующие факторы: стадия заболевания, индекс IPI, иммуногистохимический подтип, концентрация ЛДГ и статус по ECOG. В результате установлено, что как при ОВ, так и при БПВ на прогноз течения ДВККЛ влияли только высокий риск по IPI, подтип non-GCB и тяжелый соматический статус больных. Полученные данные сопоставимы с рядом зарубежных работ [7-14]. В многофакторной модели независимое прогностическое значение в отношении течения ДВККЛ имел высокий риск по шкале IPI и подтип non-GCB. У пациентов из группы с высоким IPI вероятность наступления неблагоприятного события как для ОВ, так для БПВ был в 5 раз выше, чем при низком IPI: HR=5,3; p=0,049 и HR=5,1; p=0,009, соответственно. При негерминальном варианте ДВККЛ по сравнению с пациентами, имевшими GCB подтип, риск развития летального исхода у больных был в 5,2 раза выше (p=0,027), вероятность развития прогрессии (рецидива) заболевания возрастало в 2,5 раза (p=0,018). Полученные результаты позволяют рассматривать комбинацию данных систем прогнозирования как перспективное направление для улучшения стратификации больных на группы риска.

Для создания алгоритма, основанного на сочетании IPI и иммуногистохимических подтипов, выбран метод машинного обучения CART. В результате получена модель прогнозирования течения заболевания, согласно которой больные ДВККЛ разделены на 3 группы: группа низкого риска (GCB подтип в сочетании с низким, промежуточным низким и промежуточным высоким IPI); группа промежуточного риска (non-GCB в сочетании с низким, промежуточным низким и промежуточным высоким IPI) и группа высокого риска, независимо от иммуногистохимического подтипа. В группе низкого риска прогнозируется благоприятное течение заболевания при назначении в первой линии терапии схемы RCHOP, 2-летняя ОВ соответствует 100%. В группе промежуточного риска 2-летняя ОВ составила 76%. В группе высокого риска при

тех же условиях прогноз самый неблагоприятный, ОВ составила всего 36%, что доказывает недостаточную эффективность RCHOP терапии; p<0,001. На основании созданной комбинированной модели прогноза ОВ определена БПВ. Подтверждена прогностическая значимость модели для БПВ: различия между группами статистически достоверны. Так, 2-летняя БПВ между группами высокого и низкого риска отличалась более, чем в 3 раза, между группами высокого и промежуточного риска - в 2 раза; p<0,001. Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что на этапе диагностики ДВККЛ сочетание иммуногистохимического подтипа и шкалы IPI позволяет эффективно стратифицировать больных на группы риска. Преимущество данного подхода состоит в дополнительном анализе биологических факторов при использовании шкалы IPI.

Полученные различия в прогнозе заболевания обосновывают применение разных терапевтических опций в соответствующих группах риска. Так, в группе низкого риска стандартом терапии первой линии остается схема лечения RCHOP. В группе высокого риска следует рассматривать иные подходы к терапии, включающие в себя высокодозную химиотерапию с аутологичной трансплантацией стволовых клеток молодым пациентам с низкой коморбидностью, или новые лекарственные препараты, такие, как иммуномодуляторы, ингибиторы киназы Брутона, ингибиторы контрольных иммунных точек в комбинации с иммунохимиотерапией [133-142,149,154]. Группа промежуточного риска наиболее сложная. В этой группе необходимо учитывать дополнительные факторы, а вид терапии и интенсивность лечения выбирать с учетом комплексного анализа большего числа показателей.

Перспективным направлением является возможность улучшения результатов терапии больных ДВККЛ посредством включения ингибиторов PD-L1 и/или PD-1 в схемы полихимиотерапии на начальном этапе лечения. Для установления значения экспрессии маркера PD-L1 в прогнозе ДВККЛ проведено исследование, в которое вошли 85 пациентов с ДВККЛ. С помощью метода статистического анализа CART установлен пороговый уровень экспрессии для PD-L1 в размере

24,5%. Количество пациентов с гиперэкспрессией PD-L1 составило 30,5% от общего числа исследуемых. Известно, что использование в качестве пограничного значения уровня экспрессии белка PD-L1 на опухолевых клетках в пределах 30% является более точным показателем при определении прогноза, чем другие пороговые значения [85, 119]. С учетом полученных данных пациентов разделили на группы с высокой и низкой степенью экспрессии указанного маркера на опухолевых клетках, провели сравнительный анализ клинических особенностей и прогностической значимости в общей когорте и в группах, сформированных на основе комбинации иммуногистохимического подтипа и шкалы IPI.

В результате исследования установлен ряд закономерностей, связанных с особенностями экспрессии белка PD-L1. Так, частота встречаемости гиперэкспрессии на опухолевых клетках преобладала у пациентов с non-GCB вариантом заболевания по сравнению с больными с GCB подтипом ДВККЛ: 81% против 19% ($p=0,05$), соответственно, что согласуется с результатами других авторов [16]. Не обнаружено различий в экспрессии PD-L1 в зависимости от пола, возраста, стадии, концентрации ЛДГ, группы риска по шкале IPI ($p>0,05$). Отмечена тенденция к преобладанию надпорогового уровня исследуемого маркера у мужчин, по сравнению с таковой у женщин: 65% и 35%, соответственно, $p=0,095$.

По результатам проведенного исследования установлено, что гиперэкспрессия PD-L1 в общей когорте больных ассоциируется с более низкими показателями выживаемости. Так, 2-летняя БПВ имела достоверные различия между высокой и низкой экспрессией исследуемого белка: 34% и 58%, соответственно; $p=0,012$. Такая же тенденция наблюдалась и при ОВ, где 2-летняя ОВ при гиперэкспрессии была ниже в 2,5 раза, $p<0,001$.

Учитывая гетерогенность ДВККЛ и отсутствие связи высокой и низкой экспрессии PD-L1 с полом, возрастом, стадией, концентрацией ЛДГ, проведен анализ корреляции выживаемости больных со степенью выраженности экспрессии PD-L1 в группах, сформированных путем комбинации варианта IPI и иммуногистохимического подтипа. Этот этап необходим для определения

категории пациентов, нуждающейся на стадии диагностики в проведении иммуногистохимических исследований для определения экспрессии PD-L1.

Принципиальной находкой выполненного исследования является факт обнаружения биологической гетерогенности ДВККЛ у больных из группы высокого риска по шкале IPI: выраженность экспрессии белка PD-L1 предопределяет крайне неблагоприятное течение заболевания, т.к. у 90% обследованных через 6 месяцев после инициации лечения по схеме RCHOP развился рецидив либо прогрессирование заболевания. Исходя из этого, больных ДВККЛ с высоким риском по шкале IPI, у которых экспрессия PD-L1 в дебюте заболевания превышает 24,5%, следует относить к группе сверхвысокого риска, лечение которых должно включать назначение в первой линии таргетных препаратов и/или проведение интенсифицированной терапии с максимально ранними сроками выполнения аутоТГСК. Подтверждением этого может быть сообщение A. Younes и соавт. о значимом улучшении БПВ и ОВ больных ДВККЛ высокого риска при назначении атезолизумаба (ингибитора иммунных точек) в индукционной терапии [155].

С помощью метода регрессии Кокса установлено, что экспрессия белка PD-L1 является независимым фактором прогноза для ОВ и БПВ всей когорты пациентов. Так, риск развития неблагоприятного события как для ОВ, так и в случаях с БПВ был в 4,1 раза выше при гиперэкспрессии маркера по сравнению с его низким уровнем (p=0,004; HR=4,1; 95%CI=1,58-10,7 и p=0,004; HR=4,1; 95%CI=1,62-10,7, соответственно).

Таким образом, значение экспрессии PD-L1≥24,5% в группе высокого риска ассоциируется с низкой БПВ и ОВ и может рассматриваться как предиктор неблагоприятного прогноза ДВККЛ в случае индукционной терапии по схеме RCHOP. Гиперэкспрессия белка PD-L1 при non-GCB подтипе приводит к достоверному снижению ОВ. Полученные данные создают предпосылки рассматривать указанный белок в качестве вероятного предиктора течения заболевания у больных ДВККЛ.

Учитывая, что в механизме уклонения опухолевых клеток от иммунного надзора участвует путь PD-1/PD-L1, проведено определение наличия экспрессии белка PD-1 на клетках опухолевого субстрата у 68 больных. По данным литературы гиперэкспрессия PD-1 может снижать противоопухолевый иммунитет эффекторных Т-клеток [16]. В нашем исследовании с помощью метода CART определено пограничное значение (наличие/отсутствие маркера) экспрессии данного белка. По результатам исследования установлено отсутствие корреляции между экспрессией PD-1 с полом, возрастом, стадией, индексом IPI, иммуногистохимическим подтипом. После проведения однофакторного анализа не выявлено достоверной значимости в ОВ и БПВ при наличии и отсутствии экспрессии PD-1 ни в общей когорте, ни в группах риска с учетом комбинации шкалы IPI и иммуногистохимического подтипа.

Таким образом, определение риска по шкале IPI недостаточно для эффективной стратификации больных ДВККЛ на группы риска, что обосновывает потребность в новых биологических маркерах, сопряженных с неблагоприятным течением ДВККЛ. Создание комбинированной модели с использованием биологических факторов позволяет разделить пациентов на группы риска и выделить группу неблагоприятного прогноза выживаемости. Обнаружение гиперэкспрессии PD-L1 в группе высокого риска ассоциировано с крайне неблагоприятным ответом на терапию RCHOP и может являться дополнительным фактором прогноза течения ДВККЛ. Взаимосвязи маркера PD-1 с клинико-лабораторными характеристиками лимфомы и выживаемостью пациентов не выявлено.

ВЫВОДЫ:

1.Полный ответ на индукционную схему RCHOP регистрируется у 61% больных ДВККЛ и коррелирует со значениями шкалы ECOG, IPI, стадиями заболевания и концентрацией ЛДГ. Взаимосвязи иммуногистохимического подтипа и достижением полного ответа на лечение не обнаружено.

2. Предложенная комплексная модель, полученная методом CART и включающая в себя иммуногистохимические подтипы и группы риска по шкале IPI, позволяет на этапе диагностики ДВККЛ стратифицировать больных на 3 группы, различающиеся по выживаемости. Показатели БПВ и ОВ в группах значимо различались: БПВ в группах низкого, промежуточного и высокого рисков соответствовала 81%, 50%, 25%; ОВ соответствовала 100%, 76%, 36% соответственно ($p<0,001$).

3. Установлен прогностически значимый уровень экспрессии белка PD-L1 ≥ 24,5% на клетках опухолевого субстрата у больных ДВККЛ, позволяющий распределить больных ДВККЛ на группы, различающиеся по ОВ и БПВ.

4. Обнаружена взаимосвязь гиперэкспрессии PD-L1 на клетках опухолевого субстрата с non-GCB подтипом ($p=0,05$). Ассоциации маркера PD-1 с клинико-лабораторными характеристиками ДВККЛ не выявлено.

5. Гиперэкспрессия белка PD-L1 коррелирует с крайне неблагоприятным прогнозом заболевания у больных с высоким риском IPI при проведении индукционной иммунохимиотерапии по схеме RCHOP: 2-летняя БПВ при высокой и низкой экспрессии 0% и 46% ($p= 0,002$), ОВ 0% и 66% ($p= 0,008$). Взаимосвязи маркера PD-1 с выживаемостью пациентов с ДВККЛ не обнаружено.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При определении прогноза при ДВККЛ использование комплексной модели, включающей в себя совокупный анализ группы риска по шкале IPI и иммуногистохимического подтипа, способствует повышению уровня стратификации.

2. У больных с высоким риском IPI необходимо включение в алгоритм диагностики информации об уровне экспрессии PD-L1 на клетках опухолевого субстрата, что позволит выделить пациентов с крайне агрессивным течением заболевания, являющихся кандидатами на новые схемы лечения в фазе индукции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

аутоТГСК - аутологичная трансплантация гемопоэтическими стволовыми клетками

БПВ – беспрогрессивная выживаемость

БТК – тирозинкиназа Брутона

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДВККЛ – диффузная В-крупноклеточная лимфома

ИГХ – иммуногистохимия

КТ - компьютерная томография

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

НХЛ – неходжкинская лимфома

ОВ – общая выживаемость

ОО-общий ответ

ПО - полный ответ

ЧО – частичный ответ

ABC /**n**on- GCB – В-клетка постгерминального происхождения

BCR – (**B**-**c**ell **R**eceptor), В-клеточный рецептор

BCL – (**B**-**c**ell **l**ymphoma), белок В-клеточной лимфомы

BTLA - Т-лимфоцитарный ассоциированный белок

β2-МГ - **β2**-микроглобулины

CART (**C**lassification **a**nd **R**egression **T**ree) Деревья классификации и регрессии

CD – (**c**ell **o**f **d**ifferentiation), кластер дифференцировки клетки

c-Myc – (**m**yelo**c**ytomatosis **v**iral **o**ncogene **h**omolog), протоонкогенный белок, фактор транскрипции

CI – (**C**onfidence **I**nterval), доверительный интервал

CTLA4/CD152 - цитотоксический Т-лимфоцитарный ассоциированный белок 4

DHL - **d**ouble-**h**it **l**ymphoma

DEL - **d**ouble-**e**xpressor **l**ymphoma

ECOG – (**E**astern **C**ooperative **O**ncology **G**roup), Восточная Кооперативная Группа

Исследования Рака

F – точный двусторонний критерий Фишера

FDA (Food and Drug Administration) –контроль пищи и лекарств

GCB – (**G**erminal **c**enter **B**-cell), В-клетка герминального происхождения

GEP – (**G**ene **E**xpression **P**rofile), профиль экспрессии генов

HR – (**H**azard **R**atio), соотношение рисков

IPI – (**I**nternational **P**rognostical **I**ndex)- Международный прогностический индекс

JAK – (**Ja**nus **K**inase), фермент янус-тирозинкиназа

Me – **м**едиана

NF-kB – (**N**uclear **F**actor **k**appa **B**), транскрипционный ядерный фактор «каппа-В»

OR – (**O**dds **R**atio), отношение шансов

PD1 – (Programmed cell death – 1) рецептор запрограммированной клеточной смерти 1

PD-L1 – (Programmed cell death ligand – 1) лиганд рецептора запрограммированной смерти 1

THL - **t**riple-**h**it **l**ymphoma

Tp53 – протеин 53

χ^2 – двухсторонний критерий хи-квадрат Пирсона

R-CHOP – (**R**ituximab, **C**yclophosphamide, Doxorubicinum, **O**ncovin, **P**rednisolone), ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизолон

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Давыдов, М.И. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. / М.И. Давыдов, Е.М. Аксель // М. Издательская группа РОНЦ. - 2014. - С. 226.
2. Crump, M. Outcomes in refractory diffuse large B-cell lymphoma: results from the international SCHOLAR-1 study / M. Crump, S.S. Neelapu, U. Farooq, et al. // Blood. –2017. –Vol.130 (16). - P.1800-1808.
3. Castellino, A. Lenalidomide plus R-CHOP21 in newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): long-term follow-up results from a combined analysis from two phase 2 trials. / A. Castellino, A. Chiappella, B.R. LaPlant, et at. // Blood. Cancer J. - 2018. - Nov 8. - Vol. 8 (11). - P. 108.
4. Тумян, Г. С. Материалы 13-й Международной конференции по злокачественным лимфомам / Г. С. Тумян // Клиническая онкогематология. - 2015.- №8. - С.455-470.
5. Kameoka, Y. Safety and efficacy of high-dose ranimustine (MCNU) containing regimen followed by autologous stem cell transplantation for diffuse large B-cell lymphoma / Y. Kameoka, T. Akagi, K. Murai, et al. // Int J. Hematol.- 2018. - Vol. 108 (5) - P. 510-515.
6. Skarbnik, A., Safety and Efficacy Data for Combined Checkpoint Inhibition with Ipilimumab (Ipi) and Nivolumab (Nivo) As Consolidation Following Autologous Stem Cell Transplantation (ASCT) for High-Risk Hematological Malignancies / A. Skarbnik, M. Donato, et al. // Blood. - 2018. - Vol. 132. - P. 256.
7. Shipp, M., The International NonHodgkin’s Lymphoma Prognostic Factors Project: a predictive model for aggressive non-Hodgkin’s lymphoma / M. Shipp, D. Harrington , J. Anderson et al. // N Engl J Med. - 1993. - Vol. 329. - P. 987-994.
8. Prochazka, K., NCCN-IPI score-independent prognostic potential of pretreatment uric acid levels for clinical outcome of diffuse large B-cell lymphoma patients / K. Prochazka, T. Melchardt, F.Posch, et al. //. Br J Cancer. - 2016. – Vol. 115(10). - P.1264-72.

9. Sehn, L.H. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP / L.H Sehn, B. Berry, M. Chhanabhai, C. Fitzgerald, et al. // Blood. - 2007. - Mar 1. - Vol. 109 (5). - P. 1857-61.
10. Zhou, Z, An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the rituximab era / Z. Zhou, L. Sehn, A. Rademaker, et al. // Blood. - 2014. - Vol. 123(6). - P. 837-42.
11. Alizadeh, A., Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene-expression profiling / A. Alizadeh, M.B. Eisen, M.B Davis, et al.// Nature. - 2000. - Vol. 403 - P. 503-51.
12. Leval, L., Variability in immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and it‘s clinical relevance. / L. Leval., N. Harris // Histopath. - 2003. - Vol. 43 (6). - P. 509-528.
13. Lenz, G. Stromal gene signatures in large-Bcell lymphomas. / G. Lenz, G. Wright, S . Dave, et al. // N Engl J Med. - 2008. - Vol. 359 (22). - P. 2313-2323.
14. Johnson, N. Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. / N. Johnson, K. Savage, O. Ludkovski, et al. // Blood. - 2009. - Vol. 114 (11). - P. 2273-2279.
15. Costa, C. Machine Learning Provides an Accurate Classification of Diffuse Large B-Cell Lymphoma from Immunohistochemical Data. / C. Costa. // Journal of pathology informatics. - 2018. - Vol. 9 (21).
16. Hu, L.Y. Expression and clinical value of programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) in diffuse large B cell lymphoma: a retrospective study. / L.Y. Hu, XL. Xu, HL. Rao, et al. // Chin J Cancer. - 2017. - Dec 16. - Vol. 36(1) 94.
17. Matsuk, E. Checkpoint Inhibitors and Other Immune Therapies for Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma / E. Matsuki, A. Younes et al. // Curr Treat Options Oncol. - 2016 June. - Vol. 17(6). - P.31.
18. Xu-Monette, Z.Y. Assessment of CD37 B-cell antigen and cell of origin significantly improves risk prediction in diffuse large B-cell lymphoma / Z.Y. Xu-

Monette, L. Li, J.C. Byrd, K.J. Jabbar, G.C. Manyam, et al. // Blood. – 2016. – Vol. 128 (26). – P. 3083–100.

19. Swerdlow, S.H. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. / S.H. Swerdlow, E .Campo, N. Harris, et al. // 4th ed. Lyon: IARC - 2017.
20. Martelli, M. Diffuse large B-cell lymphoma / M. Martelli, A.Ferreri, C. Agostinelli, et al. // Crit Rev Oncol Hematol. - 2013. - Vol. 87. - P. 146-71.
21. Yao, Z, Concordant bone marrow involvement of diffuse large B-cell lymphoma represents a distinct clinical and biological entity in the era of immunotherapy. / Z. Yao, Deng L, ZY Xu-Monette et. al. // Leukemia. - 2017. - Jul 12. - Vol. 32 (2) - P. 353-363.
22. Brudno, J. Discordant bone marrow involvement in non-Hodgkin lymphoma. / J. Brudno, T. Tadmor, S. Pittaluga, et al. // Blood. - 2016. - Vol. 127 (8). - P. 965 - 70.
23. Korkolopoulou, P. Recent advances in aggressive large B-cell lymphomas: a comprehensive review/ P. Korkolopoulou, T. Vassilakopoulos, V. Milionis, et al. // Adv Anat Pathol.- 2016. - Vol. 23 (4). - P. 202-43.
24. Loddenkemper, C. Differential Emu enhancer activity and expression of BOB.1/OBF.1, Oct2, PU.1, and immunoglobulin in reactive B-cell populations, B-cell non- Hodgkin lymphomas, and Hodgkin lymphomas. / C. Loddenkemper, I . Anagnostopoulos, M. Hummel, et al. // J Pathol. - 2004. - Vol. 202 (1) - P. 60-9.
25. Georgiou, K. Genetic basis of PD-L1 overexpression in diffuse large B-cell lymphomas. / K. Georgiou, L. Chen, M. Berglund, et al. // Blood. - 2016. - Vol. 127 - (24). - P. 3026 - 34.
26. Tagawa, H. Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. / H. Tagawa, M. Suguro, S. Tsuzuki, et al. // Blood. - 2005. -Vol. 106 (5) - P. 1770-7.
27. Karube, K. Integrating genomic alterations in diffuse large B-cell lymphoma identifies new relevant pathways and potential therapeutic targets. / K. Karube, A. Enjuanes, I. Dlouhy, et al. // Leukemia. – 2017. - Aug 14.

28. Kramer, M.H. Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. / M. Kramer, J. Hermans, E. Wijburg, et al. // Blood. - 1998. - Vol. 92 (9) - P. 3152-62.

29. Barrans, S. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. / S. Barrans, S. Crouch, A. Smith, et al. // J Clin Oncol. - 2010. – Vol. 28 (20). - P. 3360-5.

30. Bellas, C. Immunohistochemical and molecular characteristics with prognostic significance in diffuse large B-cell lymphoma. / C. Bellas, D. Garcia, Y. Vicente, et al. // PLoS One. - 2014. - Vol. 9 (6). - P. 98169.

31. Li, J. Rituximab in combination with CHOP chemotherapy for the treatment of diffuse large B cell lymphoma in Chinese patients / J. Li, L. Wang, Y. Shen et al. // Annals of Hematology September. - 2007. - Vol. 86 (9). - P. 639-645.

32. Rosenberg, S.A. Validity of the Ann Arbor staging classification for the non-Hodgkin's lymphomas. / S.A. Rosenberg // Cancer Treat Rep. - 1977. - Vol. 61 (6). - P. 1023-7.

33. Wight, J. Prognostication of diffuse large B-cell lymphoma in the molecular era: moving beyond the IPI. / J. Wight, G. Chong, E. Hawkes. et al. // Blood Revievs. - 2018 Sep. - Vol. 32 (5). - P. 400-415.

34. El-Galaly, T.C. The number of extranodal sites assessed by PET/CT scan is a powerful predictor of CNS relapse for patients with diffuse large B-cell lymphoma: An international multicenter study of 1532 patients treated with chemoimmunotherapy. / T.C. El-Galaly, D.Villa, T.Y. Michaelsen, et al. // Eur J Cancer. - 2017. - Vol. 75. - P.195-203.

35. Cai, Q.Q. New risk factors and new tendency for central nervous system relapse in patients with diffuse large B-cell lymphoma: a retrospective study. / Q.Q. Cai, L.Y. Hu, Q.R. Geng, et al. // Chin J. Cancer. - 2016. - Vol. 35 (1) 87.

36. Fletcher, C.D. Central nervous system involvement in diffuse large B-cell lymphoma: an analysis of risks and prevention strategies in the post-rituximab era. / C.D. Fletcher, B.S. Kahl. // Leuk Lymphoma. - 2014. - Vol. 55 (10). - P. 2228-40.

37. Kanemasa, Y. Central nervous system relapse in patients with diffuse large B cell lymphoma: analysis of the risk factors and proposal of a new prognostic model. / Y. Kanemasa, T. Shimoyama, Y. Sasaki, et al. // Ann Hematol. - 2016. - Vol. 95 (10). - P. 1661-9.

38. El-Galaly, T.C. Uterine, but not ovarian, female reproductive organ involvement at presentation by diffuse large B-cell lymphoma is associated with poor outcomes and a high frequency of secondary CNS involvement. / T.C. El-Galaly, C.Y. Cheah, M. Hutchings, et al. // Br J. Haematol. - 2016. - Vol. 175 (5). - P. 876-83.

39. Campbell, J. The prognostic impact of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma varies according to the degree of infiltration and presence of discordant marrow involvement. / J. Campbell, JF. Seymour, J. Matthews J, et al. // Eur J Haematol. - 2006. - Vol. 76 (6). - P. 473-80.

40. Kim, D.H. Absolute lymphocyte counts predicts response to chemotherapy and survival in diffuse large B-cell lymphoma. / D.H. Kim, J.H. Baek, Y.S. Chae, et al. // Leukemia. - 2007. - Vol. 21 (10). - P. 2227-30.

41. Cox M. Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic factor in diffuse large B-cell-lymphoma. / M. Cox, I. Nofroni, L. Ruco, et al. // Leuk Lymphoma. - 2008. - Vol. 49 (9). - P. 1745-51.

42. Bari, A. Prognostic models for diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era: a never-ending story / A. Bari, L. Marcheselli, S. Sacchi, et al. // Ann Oncol. - 2010. - Vol. 21 (7). - P. 1486-91.

43. Wang, J. Lymphocyte-to-monocyte ratio is associated with prognosis of diffuse large B-cell lymphoma: correlation with CD163 positive M2 type tumor-associated macrophages, not PD-1 positive tumor-infiltrating lymphocytes. / J. Wang, K. Gao, W. Lei, et al. // Oncotarget. - 2017. - Vol.8 (3). - P. 5414-25.

44. Oki, Y. Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic marker in patients with diffuse large B-cell lymphoma and suggests patients' survival benefit from rituximab. / Y. Oki, K. Yamamoto, H. Kato, et al. // Eur J Haematol. - 2008. - Vol. 81 (6). - P. 448-53.

45. Judd, J. Low level of blood CD4 (+) T cells is an independent predictor of inferior progression-free survival in diffuse large B-cell lymphoma. / J. Judd, E. Dulaimi, T. Li, M. Millenson, et al. // Clin Lymphoma Myeloma Leuk. - 2017. - Vol. 17 (2). - P.83-8.

46. Keane, C. CD4(+) tumor infiltrating lymphocytes are prognostic and independent of R-IPI in patients with DLBCL receiving R-CHOP chemo-immunotherapy/ C. Keane, D. Gill, F. Vari, et al. // Am J Hematol. - 2013. - Vol. 88 (4). - P.273-6.

47. Lin, B. Prognostic role of peripheral blood lymphocyte/ monocyte ratio at diagnosis in diffuse large B-cell lymphoma: a meta-analysis. / B. Lin, C. Chen, Y. Qian, et al. // Leuk Lymphoma. - 2015. - Vol.56 (9). - P. 2563-8.

48. Wei, X. Low lymphocyte-to-monocyte ratio predicts unfavorable prognosis in non-germinal center type diffuse large B-cell lymphoma. / X. Wei, F. Huang, Y. Wei, et al. // Leuk Res. - 2014. - Vol. 38 (6). - P. 694–8.

49. Kanemasa, Y. Beta-2 microglobulin as a significant prognostic factor and a new risk model for patients with diffuse large B-cell lymphoma. / Y. Kanemasa, T. Shimoyama, Y. Sasaki, et al. // Hematol Oncol. - 2017. - Vol. 35 (4). - P. 440-446.

50. Miyashita, K. Beta-2 microglobulin is a strong prognostic factor in patients with DLBCL receiving R-CHOP therapy. / K. Miyashita, N. Tomita, M. Taguri, et al. // Leuk Res. - 2015. - S0145-2126 (15). - 30368-4.

51. Seo, S. Prognostic significance of serum beta-2 microglobulin in patients with diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era. / S. Seo, J. Hong, S. Yoon, et al. // Oncotarget. - 2016. - Vol. 7 (47). - P. 76934-43.

52. Chen, Y. Prognostic significance of baseline peripheral absolute neutrophil, monocyte and serum beta2-micro- globulin level in patients with diffuse large b-cell

lymphoma: a new prognostic model. / Y. Chen, S. Neelapu, L. Feng, et al. // Br J Haematol. - 2016. - Vol. 175 (2). - P. 290-9.

53. Montalban, C. Validation of the NCCN-IPI for diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): the addition of beta2 -microglobulin yields a more accurate GELTAMO-IPI. / C. Montalban, A. Diaz-Lopez, et al. // Br J Haematol. - 2017. - Vol. 176 (6). - P. 918-28.

54. Ngo, V. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. / V. NGO, R. Young, R. Schmitz, et al // Nature. - 2011. - Vol. 470 (7332). - P. 115-119.

55. Scott, D. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. / D. Scott, G. Wright, P. Williams, et al. // Blood. - 2014. - Vol. 123 (8). - P. 1214-1217.

56. Scott, D. Prognostic significance of diffuse large B-Cell lymphoma cell of origin determined by digital gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue biopsies. / D. Scott, A. Mottok, D. Ennishi, et al. // J Clin Oncol. - 2015. - Vol. 33 (26) - P. 2848-2856.

57. Staiger, A.M. Clinical impact of the cell of origin classification and the MYC/bcl2 dual expresser status in diffuse large B cell lymphoma treated with in prospective clinical trials of the german high-grade non-hodgkin's lymphoma study group. / AM. Staiger, M. Ziepert, H. Horn, et al. //. J Clin Oncol. - 2017. - Vol. 35 (22). - P. 2515-2526.

58. Vitolo, U. Obinutuzumab or rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone in previously untreated diffuse large b-cell lymphoma. / U. Vitolo, M. Trneny, D. Belada, et al. // J. Clin Oncol. - 2017. - Vol. 35 (31). - P. 3529-3537.

59. Hans, C. P. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. / C. P. Hans, D. Weisenburger, T. Greiner, et al. // Blood. - 2004. - Vol. 103 (1). - P. 275-282.

60. Meyer, P. Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. / P. Meyer, K.

Fu, T. Greiner, et al. // Journal of Clinical Oncology. 2011. - Vol. 29 (2). - P. 200-207.

61. Muris, J. Immunohistochemical profiling based on Bcl-2, CD10 and MUM1 expression improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma. / J. Muris, C. Meijer, W. Vos, et al. // J Pathol. - 2006. - Vol. 208 (5). - P. 714-723.

62. Visco, C. Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular subtype classification in diffuse large Bcell lymphoma: A report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. / C. Visco, Y. Li, Z. Xu-Monette, R. Miranda, et al. // Leukemia. - 2012. - Vol. 26 (9). - P. 2103-2113.

63. Colomo, L. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large Bcell lymphoma. / L. Colomo, A. Lopez-Guillermo, M. Perales // Blood. 2003. - Vol. 101 (1) - P. 78-84.

64. Rashidi, A. Outcomes with R-CEOP for R-CHOP-ineligible patients with diffuse large B-cell lymphoma are highly dependent on cell of origin defined by Hans criteria. / A. Rashidi, E. Oak, K. Carson, N. Wagner-Johnston, et al. // Leuk Lymphoma. - 2016. - Vol. 57(5). - P. 1191-3.

65. Ye, Z.Y. Subgrouping and outcome prediction of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry. / Z.Y. Ye, Y.B. Cao, T.Y. Lin, et al. // Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. - 2007. - Vol. 36(10). - P. 654-9.

66. Montalbán, C. Differential prognostic impact of GELTAMO-IPI in cell of origin subtypes of Diffuse Large B Cell Lymphoma as defined by the Hans algorithm. / C. Montalbán, A. Díaz-López, A. Martín et al. // Br J Haematol. - 2018. - Vol. 182(4). - P. 534-541.

67. Xu-Monette, Z. Assessment of CD37 B-cell antigen and cell of origin significantly improves risk prediction in diffuse large B-cell lymphoma. / Z. Xu-Monette, L. Li, J. Byrd et al. // Blood. - 2016. - Vol. 128 (26). - P. 3083-3100.

68. Tsuyama, N. BCL2 expression in DLBCL: reappraisal of immunohistochemistry with new criteria for therapeutic biomarker evaluation. / N. Tsuyama, S. Sakata, S. Baba, et al. // Blood. - 2017. - Vol. 130 (4). - P. 489-500.

69. Perry, A.M. A new biologic prognostic model based on immunohistochemistry predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma / A.M. Perry, T.M. Cardesa-Salzmann, P.N. Meyer // Blood. - 2012. - Vol. 120 (11). - P. 2290-6.

70. Horn, H. MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. / H. Horn, M. Ziepert, C. Becher, et al. // Blood. - 2013. - Vol. 121 (12). - P. 2253-2263.

71. Мисюрина, А.Е. Экспрессия белков MYC и BCL2 у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой / А. Е. Мисюрина, С. К. Кравченко, Т. Н. Обухова и др. // Клиническая онкогематол. - 2015. - Т.1 (8). - С.44-53.

72. Aukema, S.M. Biological characterization of adult MYC-translocation-positive mature B-cell lymphomas other than molecular Burkitt lymphoma. / S.M. Aukema, M. Kreuz, C. Kohler, et al. // Haematologica. - 2014. - Vol. 99 (4) - P. 726-735.

73. Le Gouill, S. The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-MYC rearrangement./ S. Le Gouill, P. Talmant., C. Touzeau. et al. // Haematologica. - 2007. - Vol. 92 (10). - P 1335-1342.

74. Tomita, N. BCL2 and MYC Double-Hit Lymphoma/Leukemia. / N. Tomita // J Clin Exp Hematopathol. - 2011. - Vol. 51 (1). - P. 7-12.

75. Green, T.M. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse largeB-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. / T. M. Green, K.H. Young, C. Visco, et al. // J Clin Oncol. - 2012. - Vol. 30. - P. 3460-3467.

76. Perry, A.M. MYC and BCL2 protein expression predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab./ A.M. Perry, Y. Alvarado-Bernal, J.A. Laurini, et al. // Br J Haematol. - 2014. - Vol. 165 (3) - P. 382-391.

77. Hu, S. MYC/BCL2 protein coexpression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-

CHOP Consortium Program. / S. Hu, Z.Y. Xu-Monette, A. Tzankov, et al. // Blood. - 2013.- Vol. 121 (20). - P. 4021-4031.

78. Sehn, L.H. Prognostic Impact of BCL2 and MYC expression and translocation in untreated DLBCL results from the Phase III Goya Study. / L.H. Sehn, M.Z. Oestergaard, M. Trneny. // Hematol Oncol. - 2017. - Vol. 35 (S2). - P. 31.

79. Schmitz, R, Genetics and pathogenesis of diffuse large B-Cell lymphoma. / R. Schmitz, G.W. Wright, D.W. Huang, et al. // N Engl J Med. - 2018. - Vol. 378 (15). - P. 1396-1407.

80. Chapuy, B. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. / B. Chapuy, C. Stewart, A. Dunford, et al. // Nat Med. - 2018. - Vol. 24 (5). - P. 679-690.

81. Chiappella, A. Are We Ready to Treat Diffuse Large B-cell and High-Grade Lymphoma According to Major Genetic Subtypes? / A. Chiappella, J . Crombie, A. Guidetti, et al. // Hema Sphere. - 2019. - Vol 3 (5). - P.284.

82. Keir, M.E. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. / M.E. Keir, M.J. Butte, G.J. Freeman, et al. // Annu Rev Immunol. - 2008. - Vol. 26. - P. 677–704.

83. Vassilakopoulos, T. Immunotherapy in Hodgkin Lymphoma: Present Status and Future Strategies / T. Vassilakopoulos, C. Chatzidimitriou, J. Asimakopoulos, et al. // Cancers (Basel). - 2019. - Vol. 11 (8). - P. 1071.

84. Marin-Acevedo, J. Next generation of immune checkpoint inhibitors and beyond / J. Marin-Acevedo, E. Kimbrough , Ya. Lou // J Hematol Oncol. - 2021. - Vol. 14. P. 45.

85. Kiyasu, J. Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. / J. Kiyasu, H. Miyoshi, A. Hirata, et al. // Blood. - 2015. - Vol. 126. - P. 2193-201.

86. Kwon, D. Clinicopathological analysis of programmed cell death 1 and programmed cell death ligand 1 expression in the tumour microenvironments of diffuse large B cell lymphomas. / D. Kwon, S. Kim, P. Kim, et al. // Histopathology. - 2016. - Vol. 68 (7). - P. 1079-89.

87. Ansell, SM. Harnessing the power of the immune system in non-Hodgkin lymphoma: immunomodulators, checkpoint inhibitors, and beyond. / S.M. Ansell // Hematology Am Soc Hematol Educ Program. - 2017 (1). - P. 618-621.

88. Yao, S. Advances in targeting cell surface signalling molecules for immune modulation. / S. Yao, Y. Zhu, L. Chen // Nat Rev Drug Discov. - 2013. - Vol. 12 (2). - P. 130-146.

89. Kean, L.S. Advances in targeting co-inhibitory and co-stimulatory pathways in transplantation settings: the yin to the yang of cancer immunotherapy. / L.S. Kean, L.A. Turka, B.R. Blazar // Immunol Rev. - 2017. - Vol. 276 (1). - P. 192-212.

90. Ключагина, Ю.И. Роль рецептора PD1 и его лигандов PDL1 и PDL2 в иммунотерапии опухолей. / Ю.И. Ключагина, З.А. Соколова, М.А. Барышникова. // Онкопедиатрия. - 2017. - Том 4 (1). - С. 49-55.

91. Боголюбова, А.В. Иммунотерапия опухолей, основанная на блокировке иммунологических контрольных «точек» («чекпойнтов») / А.В. Боголюбова, Г.А. Ефимов, М.С. Друцкая, и др. // Медицинская иммунология. - 2015. - Т.17 (5) - С. 395-406.

92. Yang, ZZ. Malignant B cells skew the balance of regulatory T cells and TH17 cells in B-cell non-Hodgkin’s lymphoma. / Z.Z. Yang, A.J. Novak, S.C. Ziesmer et al. // Cancer Res. - 2009. - Vol. 69 (13). - P. 5522-5530.

93. Roemer, MG. PD-L1 and PD-L2 genetic alterations define classical Hodgkin lymphoma and predict outcome. / M.G. Roemer, R.H. Advani, A.H. Ligon, et al. // J Clin Oncol. - 2016. - Vol. 34 (23). - P. 2690-2697

94. Okazaki, T. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application. / T. Okazaki, S. Chikuma, Y. Iwai // Nat Immunol. - 2013. - Vol.14 (12). - P. 1212-1218.

95. Wu, C. Immunohistochemical localization of programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) in gastric carcinoma and its clinical significance. / C. Wu, Y. Zhu, J. Jiang, et al. // Acta Histochem. - 2006. - Vol. 108 (1). - P.19-24.

96. Zou, W. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: mechanisms, response biomarkers, and combinations. / W. Zou, J. Wolchok, L. Chen // Sci Transl Med. - 2016. - Vol. 8 (328). - P. 328-324.

97. Chen, J. Regulation of PD-L1: a novel role of pro-survival signalling in cancer. / J. Chen, C. Jiang, L. Jin, et al. // Ann Oncol. - 2016. - Vol. 27 (3). - P.409-416.

98. Pardoll, D.M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. / D.M. Pardoll // Nat. Rev. Cancer. - 2012. - Vol. 12. - P. 252-264.

99. Nomi, T. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. / T. Nomi, M. Sho, T. Akahori, et al. // Clin Cancer Res. - 2007. - Vol 13 (7). - P.:2151-7.

100. Xu, F. Clinicopathological and prognostic value of programmed death ligand-1 (PD-L1) in renal cell carcinoma: a meta-analysis. / F. Xu, L. Xu, Q. Wang, et al. // Int J Clin Exp Med. - 2015. - Vol.8 (9). - P. 14595-603.

101. Green, M. 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. Green, S. Monti, S. Rodig, et al. // Blood. - 2010. - Vol. 116. - P. 3268-77.

102. Green, M. Constitutive AP-1 activity and EBV infection induce PD-L1 in Hodgkin lymphomas and posttransplant lymphoproliferative disorders: implications for targeted therapy. / M. Green, S. Rodig, P. Juszczynski, J. Ouyang, et al. // Clin Cancer Res. - 2012. - Vol. 18 (6). - P.1611-8.

103. Chen, B. PD-L1 expression is characteristic of a subset of aggressive B-cell lymphomas and virus-associated malignancies. / B. Chen, B. Chapuy, J. Ouyang, et al. // Clin Cancer Res. - 2013. - Vol. 19 (13). - P. 3462-73.

104. Gupta, M. Elevated serum IL-10 levels in diffuse large B-cell lymphoma: a mechanism of aberrant JAK2 activation. / M. Gupta, J. Han, M. Stenson, et al. // Blood. - 2012. - Vol. 119 (12). - P. 2844-53.

105. Weniger, M. Mutations of the tumor suppressor gene SOCS-1 in classical Hodgkin lymphoma are frequent and associated with nuclear phospho-STAT5 accumulation.

/ M. Weniger, I. Melzner, C. Menz, et al. // Oncogene. - 2006. - Vol. 25. - P. 2679-84.

106. Navarro, A. Regulation of JAK2 by miR-135a: prognostic impact in classic Hodgkin lymphoma. / A. Navarro, T. Diaz, A. Martinez, et al. // Blood. - 2009. - Vol. 114 (14). - P. 2945-51.
107. Cheah, C.Y. Targeting the programmed death-1/programmed death-ligand 1 axis in lymphoma. / C.Y. Cheah, N.H. Fowler, S.S. Neelapu // Curr Opin Oncol. - 2015. - Vol. 27. - P. 384-91.
108. Marzec, M. Oncogenic kinase NPM/ALK induces through STAT3 expression of immunosuppressive protein CD274 (PD-L1, B7-H1). / M. Marzec, Q. Zhang, A. Goradia, et al. // Proc Natl Acad Sci USA. - 2008. - Vol. 105 (52). - P. 20852–57.
109. Naidoo, J. Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies. / J. Naidoo, D. Page, B. Li, et al. // Ann Oncol. - 2015. - Vol. 26 (12). - P. 383.
110. Thompson, R.H. Tumor B7-H1 is associated with poor prognosis in renal cell carcinoma patients with long-term follow-up. / R.H. Thompson, S.M. Kuntz, B.C. Leibovich, et al. // Cancer Res. - 2006. - Vol. 66 (7). - P. 3381-3385.
111. Goodman, A. PD-1-PD-L1 immune-checkpoint blockade in B-cell lymphomas. / A. Goodman, S. Patel, R. Kurzrock // Nat Rev Clin Oncol. - 2017. - Vol. 14 (4). - P. 203-220.
112. Armand, P. Checkpoint blockade in lymphoma. / P. Armand // Hematology Am Soc Hematol Educ Program. - 2015. - Vol. 2015 (1). - P. 69-73.
113. Laurent, C. Several immune escape patterns in non-Hodgkin's lymphomas./ C. Laurent, K. Charmpi, P. Gravelle, et al. // OncoImmunology. - 2015. - Vol. 4 (8). - P.1026530.
114. Andorsky, D. Programmed death ligand 1 is expressed by non-hodgkin lymphomas and inhibits the activity of tumor-associated T cells. / D. Andorsky, R. Yamada R, J. Said, et al. // Clin Cancer Res. - 2011. - Vol. 17 (13). - P. 4232- 44.

115. Muenst, S. Diagnostic and prognostic utility of PD-1 in B cell lymphomas. / S. Muenst, S. Hoeller, N. Willi, et al. // Dis Markers. - 2010. - Vol. 29 (1). - P. 47-53.

116. Xerri, L. Programmed death 1 is a marker of angioimmunoblastic T-cell lymphoma and B-cell small lymphocytic lymphoma/chronic lymphocytic leukemia. / L. Xerri, B. Chetaille, N. Serriari, et al. // Hum Pathol. - 2008. - Vol. 39 (7). - P. 1050-58.

117. Tonino, S. Expansion of effector T cells associated with decreased PD-1 expression in patients with indolent B cell lymphomas and chronic lymphocytic leukemia. / S. Tonino, P. van de Berg, S. Yong, et al. // Leuk Lymphoma. - 2012. - Vol. 53 (9). - P. 1785-94.

118. Ko, Y. Prognostic Implication of Programmed Death- 1-Positive Tumor-infiltrating Lymphocytes in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. / Y. Ko, Y. Oh, C. Park, et al. // Korean J Pathol. - 2011. - Vol. 45. - P. 573–81.

119. Xing, W. PD-L1 expression in EBV-negative diffuse large B-cell lymphoma: clinicopathologic features and prognostic implications. / W. Xing, K. Dresser, R. Zhang, et. al. // Oncotarget. - 2016. - Vol. 7 (37). - P. 59976-59986.

120. Rossille, D. High level of soluble programmed cell death ligand 1 in blood impacts overall survival in aggressive diffuse large B-Cell lymphoma: results from a French multicenter clinical trial. / D. Rossille, M. Gressier, D. Damotte, et al. // Leukemia. - 2014. - Vol. 28. - P. 2367-75.

121. Fest, T. Validation of Elevated Blood Soluble PD-L1 as an Independent Prognostic Marker in Newly Diagnosed Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL). / T. Fest, J. Cerhan, M. Gandhi, et al. // Blood. - 2014. - Vol. 124. - P. 2998.

122. Mixue, Xie Prognostic and clinicopathological significance of PD-1/PD-L1 expression in the tumor microenvironment and neoplastic cells for lymphoma / Mixue Xie, Xianbo Huang, Xiujin Ye, et al. // International Immunopharmacology. - 2019. - Vol 77. - P.105999.

123. Эффективность ритуксимабсодержащей программы R-CHOP при лечении диффузной В-крупноклеточной лимфомы / Т. Д. Луцкая, А. К. Коленков, Т. А. Тимина и др. // Онкогематология. - 2011. - №3. - С. 18-23.

124. DeVita, V. Advanced diffuse histiocytic lymphoma, a potentially curable disease. / V. DeVita, G. Canellos, B. Chabner, et al. // Lancet. - 1975. - Vol. 1 (7901). - P. 248-250.

125. Fisher, R. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. / R. Fisher, et al. // N. Engl. J. Med. - 1993. - Vol. 328. - P. 1002-1006.

126. Coiffier, B. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. / B. Coiffier, E. Lepage, J. Briere, et al. // N Engl J Med. - 2002. - Vol. 346 (4). - P. 235-242.

127. Coiffier, B. Longterm outcome of patients in the LNH 98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab RCHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. / B. Coiffier, et al. // Blood. - 2010. - Vol. 116 (12). - P. 2040-2045.

128. Pfreundschuh, M. CHOP like chemotherapy with or without rituximab in young patients with good prognosis diffuse large B-cell lymphoma: 6 year results of an open label randomised study of the MabThera International Trial (MInT) Group. / M. Pfreundschuh, C. Thieblemont, E. Van Den Neste, et al. // Lancet Oncol. - 2011. - Vol. 12. - P. 1013-1022.

129. Récher, C. Intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab versus standard CHOP plus rituximab for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma (LNH03–2B): an open label randomised phase 3 trial. / C. Récher, B. Coiffier, C. Haioun, et al. // Lancet. - 2011. - Vol. 378 (9806). - P. 1858-1867.

130. Wilson, W.H. A Cancer and Leukemia Group B multi-center study of DA-EPOCH-rituximab in untreated diffuse large B-cell lymphoma with analysis of outcome by molecular subtype. / W.H. Wilson., S.H. Jung, P. Porcu, et al. // Haematologica. - 2012. - Vol. 97. - P. 758-765.

131. Miyazaki, K. Treatment of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. / K. Miyazaki // J Clin Exp Hematop. - 2016. - Vol. 56 (2). - P. 79-88.

132. Cuccuini, W. MYC+ diffuse large B-cell lymphoma is not salvaged by classical R-ICE or R-DHAP followed by followed by BEAM plus autologous stem cell

transplantation. / W. Cuccuini, J. Briere, N. Mounier, et al // Blood. - 2012. - Vol. 119 (20). - P. 4619-4624.

133. Davis, R.E. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. / R.E. Davis, V.N. Ngo, G. Lenz, et al. // Nature. - 2010. - Vol. 463 (7277). - P. 88-92.

134. Wilson, W.H. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. / W.H. Wilson, R.M. Young, R. Schmitz, et al. // Nat Med. - 2015. - Vol.21 (8). - P. 922-926.

135. Kotla, V. Mechanism of action of lenalidomide in hematological malignancies. / V. Kotla, S. Goel, S. Nischal, et al. // J Hematol Oncol. - 2009. - Vol.2. - P.36.

136. Vitolo, U. Lenalidomide plus RCHOP21 in elderly patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: results of the REAL07 open-label, multicentre, phase 2 trial. / U. Vitolo, A. Chiappella, S. Franceschetti, et al. // Lancet Oncol. -2014. - Vol.15 (7). - P. 730-737.

137. Dunleavy, K. Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. / K. Dunleavy, S. Pittaluga, M. Czuczman, et al. // Blood. - 2009.- Vol. 113 (24). - P. 6069-6076.

138. Morschhauser, F. A phase II study of venetoclax plus R-CHOP as first-line treatment for patients with diffuse large B-cell lymphoma. / F. Morschhauser, P. Feugier, I. Flinn, et al. // Blood. 2021. - Vol. 137 (5). - P. 600-609.

139. Davids, M.S. Phase I first-in-human study of venetoclax in patients with relapsed or refractory non-hodgkin lymphoma. / M.S. Davids, A.W. Roberts, J.F. Seymour, et al. // J Clin Oncol. - 2017. - Vol. 35 (8). - P. 826-833.

140. European Commission approves Roche’s Polivy for people with previously treated aggressive lymphoma [news release]. Roche. Published January 21, 2020. https://bit.ly/2GcYia0. Accessed January 21, 2020.

141. Sehn, L.H. Polatuzumab vedotin in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. / L.H. Sehn, A.F. Herrera, C.R. Flowers, et al. // J Clin Oncol. - 2020. - Vol. 38 (2). - P. 155-165.

142. Neelapu, S.S. Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. / S.S. Neelapu, F.L. Locke, N.L. Bartlett, et al. //N Engl J Med. - 2017. - Vol. 377 (26). - P. 2531-2544.

143. Borchmann, P. An updated analysis of JULIET, a global pivotal Phase 2 trial of tisagenlecleucel in adult patients with relapsed or refractory (r/r) diffuse large b-cell lymphoma (DLBCL). / P. Borchmann, C. Tam, U. Jager, et al. // EHA Congress. - 2018. - Stockholm, Sweden.- Abstract S799.

144. Abramson, J.S. Updated safety and long term clinical outcomes in TRANSCEND NHL 001, pivotal trial of lisocabtagene maraleucel (JCAR017) in R/R aggressive NHL / J.S. Abramson, L.I. Gordon, M.L. Palomba, et al. //. J Clin Oncol. - 2018. - Vol. 36. - Abstract 7505.

145. Goebeler, M. T-Cell Engager (BiTE) antibody construct blinatumomab for the treatment of patients with relapsed/refractory non-hodgkin lymphoma: final results from a phase I Study. / M. Goebeler, S. Knop, A. Viardot, et al. // J Clin Oncol. - 2016. - Vol. 34 (10). - P. 1104-1111.

146. Budde, L.E. Mosunetuzumab, a fulllength bispecific CD20/CD3 antibody, displays clinical activity in relapsed/refractory B-Cell NON Hodgkin Lymphoma (NHL): Interim Safety and Efficacy Results from a Phase I Study. / L.E. Budde, L.H. Sehn, S.A. Assouline, et al. // Blood.- 2018. - Vol. 132 (S1). - P. 399.

147. Hutchings, M. CD20-Tcb (RG6026), a Novel “2:1” format T-cell-engaging bispecific antibody, induces complete remissions in relapsed/refractory B-cell non hodgkin lymphoma: preliminary results from A Phase I first in human trial. / M. Hutchings, G. Iacoboni, F. Morschhauser, et al. // Blood. – 2018. – Vol. 132 (S1). - P. 226.

148. Yi, Xiaa. Young Signaling Pathway and Dysregulation of PD1 and its Ligands in Lymphoid Malignancies. / Yi Xiaa, L. Medeirosa, H. Ken // Biochim Biophys Acta. – 2016. - Vol. 1865 (1). - P. 58-71.

149. Westin, J. Safety and activity of PD1 blockade by pidilizumab in combination with rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: a single group, open-label,

phase 2 trial. / J. Westin, F. Chu, M. Zhang, et al. // Lancet Oncol. - 2014. - Vol. 15 (1). - P. 69-77.

150. Lesokhin, A.M. Nivolumab in Patients With Relapsed or Refractory Hematologic Malignancy: Preliminary Results of a Phase Ib Study. / A.M. Lesokhin, S.M. Ansell, P. Armand. // 2016 by American Society of Clinical Oncology.
151. Smith, S.D. Pembrolizumab with RCHOP in previously untreated Diffuse large B-cell and grade 3b follicular lymphoma: final results of a phase I trial / S.D. Smith, R.C. Lynch, B.G. Till, et al. // Abstract 15th International Conference on Malignant Lymphoma Palazzo dei Congressi, Lugano, Switzerland. - 2019.
152. Cheson, B.D. Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. / B.D. Cheson, R.I. Fisher, S.F. Barrington, et al. // J. Clin Oncol. - 2014. - Vol. 32. - P. 3059-68.
153. Поддубная, И. В. Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний / И. В. Поддубная, В. Г. Савченко // М., ООО «БукиВеди». - 2018. - С.58.
154. Nakaya, A. Upfront high-dose chemotherapy combined with autologous stem cell transplantation: Potential survival benefit for patients with high-risk diffuse large B-cell lymphoma. / A. Nakaya, S. Fujita, A. Satake, et al. // Oncol Lett. - 2017. - Vol. 14 (3). - P. 3803-3808.
155. Younes, A. Safety And Efficacy Of Atezolizumab In Combination With Rituximab Plus Chop In Previously Untreated Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL): Updated Analysis Of A Phase I/II Study. / A. Younes, J. Burke, B. Cheson, et al. // Blood. - 2019. - Vol. 134. - P. 2874.