

Завалишина Л. Э.<sup>1</sup>, Андреева Ю. Ю.<sup>1</sup>, Олюшина Е. М.<sup>1</sup>,  
Тимофеев И. В.<sup>2</sup>, Тюляндин С. А.<sup>3</sup>, Франк Г. А.<sup>1</sup>

## Проблемы определения PD-L1 статуса рака мочевого пузыря с использованием разных клонов антител (22C3 и SP142)

1 - ФГБОУ ДО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, г. Москва, 2 - Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии», г. Москва, 3 - ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» МЗ РФ, г. Москва

Zavalishina L.E., Andreeva Y.Y., Oliushina E.M., Tsimafeyev I.V., Tjulandin S.A., Frank G.A.

## Problems of determining PD-L1 status of bladder cancer using different antibody clones (22C3 and SP142)

### Резюме

Иммунотерапия уротелиального рака мочевого пузыря (РМП) показала свою эффективность в международных клинических исследованиях и в настоящее время активно применяется для лечения данной онкологической патологии во многих странах, в том числе и в России. Иммуногистохимическое исследование на сегодняшний день - единственный способ определения PD-L1-статуса, который только начинает внедряться в рутинную практику и сопряжен с рядом трудностей. Целью нашего исследования являлось сравнение результатов иммуногистохимической оценки PD-L1-статуса РМП при использовании диагностических систем (22C3 и SP142) двух производителей (Agilent Technologies и Ventana) с применением различных систем оценки результатов тестирования и пороговых значений, а также изучение сопоставимости результатов количественной оценки экспрессии PD-L1 статуса. У 60 пациентов с уротелиальным РМП был изучен PD-L1 статус иммуногистохимическим методом. При получении близких к пороговым значениям для определения PD-L1-статуса CPS и IC, расхождения интерпретации PD-L1-статуса установленного иммуногистохимическим методом, для обоих клонов антител наблюдаются в 100% случаев. На основе полученных результатов мы считаем, что для наиболее достоверного определения PD-L1-статуса уротелиального РМП, необходимо учитывать, что при получении близких к пороговым значениям CPS или IC, целесообразно дополнительное иммуногистохимическое исследование с другим клоном с учетом того, какой иммуноонкологический препарат планируется для лечения.

**Ключевые слова:** Уротелиальный рак мочевого пузыря; экспрессия PD-L1

### Summary

Immunotherapy of urothelial bladder cancer (BC) has shown its effectiveness in international clinical studies and is currently being actively used to treat this cancer in many countries, including Russia. An immunohistochemical testing today is the only way to determine the PD-L1 status, which is just beginning to be introduced into routine practice and is fraught with some difficulties. The aim of our study was to compare the results of the immunohistochemical assessment of the PD-L1 status of the BC using diagnostic systems (22C3 and SP142) of two manufacturers (Agilent Technologies and Ventana) using different systems for evaluating test results and cut-off, and to study the comparability of the results of quantitative assessment of expression PD-L1 status. In 60 patients with urothelial BC, PD-L1 status was studied by immunohistochemistry. When obtaining close to the cut-off for determining the PD-L1 status of CPS and IC, discrepancies in the interpretation of the PD-L1 status determined by the immunohistochemical method are observed for both antibody clones in 100% of cases. Based on the obtained results, we believe that for the most reliable determination of the PD-L1 status of urothelial BC, it is necessary to take into account that when receiving close to CPS or IC cut-off, it is advisable to have an additional immunohistochemical testing with a different clone taking into account which immunooncological drug is planned for treatment.

**Key words:** urothelial bladder cancer, expression of PD-L1

## Введение

Рак мочевого пузыря (РМП) во всем мире является одной из наиболее часто встречающихся злокачественных опухолей мочевыводящих путей. Наиболее распространенным типом является уротелиальная карцинома, на долю которой приходится около 90% РМП в индустриально развитых странах [1]. В РФ по состоянию на 2017 год в общей структуре онкологической заболеваемости злокачественные новообразования мочевого пузыря составили 2,8%, при этом среди мужского населения злокачественные опухоли данной локализации достигают 4,7%. Прирост показателя заболеваемости составляет 28,32% (оба пола) и 24,09% (мужчины), что свидетельствует о неуклонном возрастании частоты встречаемости РМП в российской популяции [2].

Столь неутешительные данные статистики диктуют необходимость расширить спектр диагностических и лечебных возможностей современной российской онкологии.

До настоящего времени возможности лечения метастатического уротелиального рака мочевого пузыря были ограничены химиотерапией. Но у более 50% пациентов с прогрессирующей уротелиальной карциномой невозможно назначение высокотоксичной химиотерапии на основе цисплатина в качестве терапии первой линии из-за неудовлетворительного общего состояния и сопутствующих заболеваний [3,4]. Замена цисплатина карбоплатином не дает желаемого улучшения по эффективности, и, кроме того, 20% пациентов также не может быть назначено или продолжено лечение карбоплатином [3,5].

Таким образом, результаты системного химиотерапевтического лечения распространенных уротелиальных опухолей мочевого пузыря остаются неудовлетворительными. Старческий возраст и наличие коморбидных заболеваний нередко ограничивают возможности химиотерапевта из-за развития непереносимой токсичности [6].

Современный арсенал лекарственной терапии метастатического РМП значительно расширился благодаря разработке нового ряда иммунотерапевтических препаратов, влияющих на ключевые точки противоопухолевого иммунитета. Перспективность иммунотерапии при РМП была отмечена еще в середине 70-х годов прошлого века, когда в 1976 году Alvaro Morales использовал вакцину БЦЖ (штамм Grappier, Montreal) для лечения рецидивирующего немышечного инвазивного РМП (NMIBC). В 1980 году Lamm DL с коллегами завершили первое рандомизированное контролируемое исследование, доказывающее клинический эффект БЦЖ при NMIBC. В 1982 году Brosnan SA с соавторами был изменен режим внутривезикулярной БЦЖ терапии, описанный А. Morales, и также ими было принято решение отказаться от сопутствующих внутривезикулярных инъекций вакцины. В 1990 году вакцина БЦЖ была одобрена FDA для лечения рака *in situ* мочевого пузыря [7].

Однако до сих пор нет единого мнения о механизмах действия БЦЖ-терапии, описана ее токсичность, отмечена резистентность к данному методу лечения - около 30–40% пациентов не отвечают на терапию БЦЖ, этот метод

лечения имеет строго ограниченные показания и подходит только пациентам с NMIBC РМП и не рекомендован при инвазивных и метастатических стадиях заболевания [8]. И несмотря на то, что примерно 70–80% пациентов с впервые диагностированным РМП имеют неинвазивную или раннюю инвазивную (*nonmuscularispropria-invasive*) стадию, однако, согласно ВОЗ, рецидив таких опухолей является распространенным явлением и возникает в 50–70% случаев, а прогрессирование заболевания в 15–25% случаев [1].

Новым словом в иммунотерапии РМП стали ингибиторы иммунных контрольных точек - ингибитор рецептора PD-1 и его лиганда PD-L1.

Белок PD-1, расположенный на поверхности Т-клеток, связывается со своим лигандом PD-L1 и в меньшей степени с лигандом PD-L2, расположенными на поверхности опухолевых клеток, в результате чего ингибируется противоопухолевый иммунный ответ, осуществляемый цитотоксическими Т-клетками. Таким образом, опухоль способна уклоняться от иммунного надзора путем гиперэкспрессии лиганда программированной клеточной смерти PD-L1. Этот процесс отмечается как на опухолевых клетках, так и на иммунных клетках микроокружения в различных типах рака, в том числе и в уротелиальном [3].

Потенциальная эффективность ингибиторов контрольных точек при распространенном РМП обосновывается и тем, что уротелиальный рак характеризуется высокой мутационной нагрузкой [9], что свидетельствует о выраженной иммуногенности опухоли. Помимо этого, имеются данные, демонстрирующие, что высокая экспрессия PD-L1 в РМП прямо коррелирует со стадией заболевания и степенью дифференцировки опухоли [10]. Эти обстоятельства позволяют предположить потенциальную эффективность ингибиторов контрольных точек при распространенном уротелиальном РМП [6].

В настоящий момент два препарата-ингибитора иммунных контрольных точек, атезолизумаб и пембролизумаб одобрены FDA для применения у пациентов, не отвечающих на терапию цисплатином.

Атезолизумаб - первый ингибитор контрольных точек, одобренный для лечения пациентов с местно-распространенным или метастатическим уротелиальным раком после прогрессирования на химиотерапии на основе платины. Одобрение атезолизумаба в первой линии терапии больных, которые не подлежат лечению цисплатином, было основано на результатах крупного международного клинического исследования 2 фазы IMvigor211, в котором принимали участие 123 пациента в 47 исследовательских центрах [11]. В данном исследовании Атезолизумаб применяли в стандартной схеме (1200 мг, внутривенное введение каждые 21 день до прогрессирования). Основной конечной точкой, оцениваемой в исследовании, была объективная частота ответа, как во всей популяции пациентов, так и у пациентов с экспрессией PD-L1. Медиана наблюдения составила 17,2 месяца. Оцененная объективная частота ответа 23% во всей популяции и 28% у пациентов с выраженной экспрессией PD-L1

достоверно превышала исторический контроль. Ответы были долговременными; медианная продолжительность ответа не была достигнута. Медиана общей выживаемости достигла 15,9 мес. [12].

Другим иммунопрепаратом, который применяется для терапии этой группы пациентов является пембролизумаб. Решение об ускоренном одобрении пембролизумаба в качестве терапии первой линии было принято на основе результатов 2 фазы международного клинического исследования KEYNOTE-052 [13]. В этом исследовании участвовали 370 пациентов, которым невозможно было назначить лечение на основе цисплатина. Все пациенты получали пембролизумаб (200 мг, внутривенное введение каждые 3 недели). Основной конечной точкой была скорость объективного ответа. При медиане наблюдения 11,5 месяцев показатель объективного ответа составил 28,9%, медианная продолжительность ответа не была достигнута [13]. Медиана общей выживаемости от начала назначения пембролизумаба был 11,5 месяцев, 6 - и 12-месячной общей выживаемости были 67,2% и 47,5% соответственно. PD-L1 в сочетании с положительной оценкой в 10% и более ассоциировался с более высокой частотой ответов (47,3%) и лучшей общей выживаемостью (18,5 месяцев). Частота ответов была существенно выше у пациентов с экспрессией PD-L1 и составила 39%.

Результаты проведенных клинических исследований доказали, что пациентам, которым ранее назначение системной терапии РМП было строго ограничено или же вовсе противопоказано, в настоящее время имеется возможность назначения эффективного системного лечения методом иммунотерапии.

Однако для того, чтобы оценить потенциальную эффективность данных иммунопрепаратов, связанную с уровнем экспрессии PD-L1, необходимо иммуногистохимическое определение уровня экспрессии PD-L1, при проведении которого выявляются объективные трудности. Патолог, проводящий иммуногистохимическое исследование обязательно должен учитывать, что для разных клонов антител существуют различные способы оценки наличия положительного PD-L1-статуса РМП, так же, как и различные пороговые значения (cut-off). Существование этих различий вполне закономерно связано с особенностями фармакодинамики данных иммунопрепаратов.

Оба иммунопрепарата направлены на ингибирование взаимодействия PD-1/PD-L1, которое является ключевым фактором регуляции работы Т-лимфоцитов при иммунном противоопухолевом ответе [14], однако, между ними есть существенные различия.

Атезолизумаб - ингибитор PD-L1, локализирующийся на опухолевых и иммунных клетках микроокружения опухоли. Действие препарата заключается в блокировании взаимодействия лиганда PD-L1 с его рецептором PD-1, присутствующим на поверхности цитотоксических Т-клеток, что позволяет активизировать противоопухолевый иммунный ответ. В клиническом исследовании IMvigor211 определение экспрессии PD-L1 проводилось иммуногистохимическим методом с помощью монокло-

нальных антител SP142 (Ventana). Для оценки биомаркеров использовались архивные парафиновые блоки ткани опухоли, фиксированной формалином. PD-L1-статус опухоли в данном клиническом исследовании определяли по системе оценки ICTC: отношение площади, занимаемой иммунными клетками, экспрессирующими PD-L1 к площади опухоли, под которой понимали все жизнеспособные клетки опухоли, иммунные клетки микроокружения и гранулемы, умноженное на 100 и выраженное в процентах, пороговое значение (cut-off)  $\geq 5\%$ .

Действие пембролизумаба по своей биологической сути аналогично действию атезолизумаба, и также заключается в ингибировании взаимодействия PD-1/PD-L1 и восстановлении эффективного противоопухолевого иммунного ответа. Но, в отличие от атезолизумаба, пембролизумаб является ингибитором PD-1, рецептора иммунных клеток. В клиническом исследовании пембролизумаба определение PD-L1 статуса опухоли проводилось иммуногистохимическим методом с помощью моноклональных антител 22C3 (AgilentTechnologies) на тканях, фиксированных формалином и залитых в парафин. Использовался закрытый набор для фармакодиагностики PD-L1 IHC 22C3 PharmDx (Dako, Inc.). В данном клиническом исследовании использовалась иная система оценки - CPS: отношение как опухолевых, так и иммунных клеток (макрофагов или лимфоцитов), экспрессирующих PD-L1, ко всем жизнеспособным опухолевым клеткам в образце, умноженное на 100, пороговое значение (cut-off)  $\geq 10$ .

Таким образом, патолог, проводя иммуногистохимическое исследование с целью определения PD-L1-статуса РМП, в зависимости от того какой клон антител он будет использовать SP142 (Ventana) или 22C3 (AgilentTechnologies), должен применять разные системы оценки PD-L1-статуса и различные пороговые значения (cut-off).

*Целью* исследования, проведенного на базе кафедры патологической анатомии ДПО ФГБОУ РМАНПО являлось сравнение результатов иммуногистохимической оценки PD-L1-статуса РМП при использовании диагностических систем (22C3 и SP142) двух производителей (AgilentTechnologies и Ventana) с применением различных систем оценки результатов тестирования и пороговых значений, а также изучение сопоставимости результатов количественной оценки экспрессии PD-L1 статуса. В связи с наличием различных систем оценки, применяемых при использовании разных клонов антител и соответственно, различных точек отсечения (cut-off), принятых в настоящее время, нельзя однозначно утверждать, что негативный PD-L1-статус опухоли, определенный с помощью иммуногистохимической реакции с одним клоном антител, не окажется положительным при проведении иммуногистохимического исследования с другим клоном. Для патолога особенно проблематично интерпретировать PD-L1-статус при получении результатов, близких к пороговым значениям (cut-off). Поэтому решение вопроса о целесообразности проведения дополнительного иммуногистохимического исследования

Табл. 1. Результаты значений PD-L1-статусов, определенных ИГХ-методом с клонами антител 22C3 и SP142.

PD-L1-статус	22C3	SP142
положительный	4 (6,7%)	5 (8,3%)
негативный	55 (91,7%)	53 (88,3%)
пограничный	1 (1,7%)	2 (3,3%)
Всего случаев:	60	

с другим клоном антител, при получении в предыдущем исследовании результатов, близких к пороговым значениям (cut-off), для более достоверного определения PD-L1-статуса при РМП также важно.

## Материалы и методы

Материалом для исследования послужили 60 образцов операционного и биопсийного материала уротелиального рака мочевого пузыря, предоставленных кафедрой патологической анатомии РМАНПО. Пациенты были преимущественно мужского пола - 90%, средний возраст (оба пола) - 64 года (29 - 87 лет). Распределение по стадии TNM (UICC, 2018): стадия T1 - 58,3% (35/60), T2 - 38,3% (23/60), при этом T2a - 47,8% (11/23), а T2b - 52,2% (12/23), T3 - 3,3% (2/60), T3a - 50% (1/2), T3b - 50% (1/2). Распределение по степени дифференцировки опухоли (WHO classification, 2016): low-grade - 41,7% (25/60), high-grade - 58,3% (35/60). Все парафиновые блоки содержали достаточное количество материала для исследования экспрессии белка 2 антителами с использованием как позитивного, так и негативного контролей.

Исследование проводилось иммуногистохимическим методом с использованием набора PD-L1 IHC 22C3 PharmDx (Dako, Inc.) и антител PD-L1 SP142 с системой детекции Opti View DAB IHC Detection Kit с амплификацией сигнала (VentanaMedicalSystems, Inc.). С каждого образца опухоли делали по 2 среза - один для нанесения первичных антител и второй для реагента негативного контроля. В качестве контроля протокола исследования применяли стекла с образцами клеточных культур (NCL-H226 - позитивная клеточная линия и MCF-7 - негативная клеточная линия), образцы ткани миндалина (для 22C3 и SP142) и плаценты (для SP142) в каждом цикле постановки реакции. Для всех антител применялся автоматизированный метод иммуногистохимического исследования, для 22C3 исследование проводилось на автостейнере AvtostainerLink 48 (ASL48) (Dako, Inc.) с использованием оптимизированного закрытого протокола, заложенного в автоматизированную платформу. Для постановки реакции с антителом SP142 (VentanaMedicalSystems, Inc.) использовался иммуногистостейнер VENTANA BenchMark ULTRA (VentanaMedicalSystems, Inc.) по протоколам, рекомендованным в инструкциях к антителам и системой внешнего контроля качества NordiQC.

На первом этапе анализа оценивалась правильность окрашивания позитивных и негативных клеточных линий и позитивного тканевого контроля (ткань миндалина и плаценты). Затем проводили оценку иммуногистохимических реакций на образцах уротелиального рака. Для каждого антитела оценивали визуально (ManualScoring) наличие фактической иммуногистохимической реакции

как в опухолевых клетках, так и в иммунных клетках и оценивали PD-L1 статус опухоли по системам и их пороговым значениям (cut-off) рекомендованным в настоящее время для уротелиального рака мочевого пузыря.

Для антитела 22C3 использовалась система оценки CPS: отношение как опухолевых, так и иммунных клеток, экспрессирующих PD-L1, ко всем жизнеспособным опухолевым клеткам в образце, умноженное на 100, пороговое значение (cut-off)  $\geq 10$ .

Для антитела SP142 использовалась система оценки IC: отношение площади, занимаемой иммунными клетками, экспрессирующими PD-L1 к площади опухоли, под которой понимают все жизнеспособные клетки опухоли, иммунные клетки микроокружения и гранулемы, умноженное на 100 и выраженное в процентах, пороговое значение (cut-off)  $\geq 5\%$ .

Также для каждого из антител мы учитывали точки отсечения, близкие к пороговым значениям для определения PD-L1 статуса. Для антитела 22C3 это было значение CPS равное 9. Для антитела SP142 - значение IC, равное 4%. В нашем исследовании мы решили интерпретировать определенный по подобным результатам (CPS 9 и IC 4%) PD-L1 статус как «пограничный».

В соответствии с рекомендациями по оценке результатов экспрессии PD-L1 оценивалось только наличие мембранного окрашивания в опухолевых и иммунных клетках независимо от его интенсивности.

Все полученные препараты оценивались визуально независимо друг от друга 4 патологами и затем сканировались для создания цифрового архива изображений. При расхождении в оценке препаратов патологи принимали консенсусное решение.

## Результаты и обсуждение

В нашем анализе значений PD-L1-статусов, установленных иммуногистохимическим методом с использованием клонов 22C3 и SP142, существенных различий между этими двумя антителами выявлено не было (Табл.1).

При сравнении значений PD-L1-статуса, определенного на одинаковых образцах, но с использованием разных клонов антител, основные отличия касались только тех случаев, которые были определены по результатам IC и CPS, близким к пороговым значениям. Случай со значением CPS, равным 9, при постановке реакции с SP142 имел IC 5%, таким образом, был установлен позитивный PD-L1-статус. В двух случаях с близкими к точкам отсечения IC 4% при постановке реакции с клоном 22C3 были получены значения CPS 15 и 0, что позволило оценить PD-L1-статус как позитивный и негативный соответственно (Табл.2), (Рис. 1-2 и Рис. 3-4 — рисунки к ста-

**Табл. 2. Соответствие значений CPS и IC, определенных ИГХ-методом с клонами антител 22С3 и SP142 (зеленый – значения, соответствующие позитивному PD-L1-статусу, лиловый – значения, соответствующие негативному PD-L1-статусу, оранжевый – значения, близкие к пороговым (cut-off) для определения PD-L1-статуса).**

22С3 (CPS)	SP142 (IC%)
25	2
15	4
100	55
100	7
9	5
5	7
0	4
0	5

ть находятся на специальной цветной вставке журнала — прим. ред.).

Таким образом, негативный PD-L1-статус, установленный иммуногистохимическим методом с использованием клонов 22С3 и SP142, при сравнении между собой в большинстве случаев совпадает, процент расхождений небольшой: с антителом 22С3 –  $\approx 5,45\%$  (3/55), с антителом SP142  $\approx 1,89\%$  (1/53). Полное соответствие позитивного PD-L1-статуса, определенного при использовании разных клонов антител, наблюдается при выраженных положительных значениях CPS и IC, соответственно. При получении близких к пороговым значениям для определения PD-L1-статуса CPS и IC, расхождения интерпретации PD-L1-статуса установленного иммуногистохимическим методом, для обоих клонов антител наблюдаются в 100% случаев (Табл.2).

### Заключение

Иммунотерапия уротелиального РМП показала свою эффективность в международных клинических исследованиях и в настоящее время активно применяется для лечения данной онкологической патологии во многих странах, в том числе и в России. Но для того, чтобы добиться клинического эффекта при использовании препаратов-ингибиторов иммунных контрольных точек, необходима качественная и тщательная патоморфологическая диагностика, которая заключается в установлении PD-L1-статуса опухоли иммуногистохимическим методом. Иммуногистохимическое исследование на сегодняшний

день - единственный способ определения PD-L1-статуса, который только начинает внедряться в рутинную практику. При этом патологоанатом сталкивается с целым рядом трудностей и вопросов, которые будут в дальнейшем обсуждаться и решаться профессиональным медицинским сообществом – как патологов, так и онкологов. В своей работе мы затронули вопрос целесообразности проведения дополнительного иммуногистохимического исследования с другим клоном антител при получении в предыдущем исследовании результатов, близких к пороговым значениям (cut-off) и ввели условный термин «пограничный PD-L1-статус». На основе полученных результатов мы считаем, что для наиболее достоверного определения PD-L1-статуса уротелиального РМП, необходимо учитывать, что при получении близких к пороговым значений CPS или IC, целесообразно дополнительное иммуногистохимическое исследование с другим клоном с учетом того, какой иммуноонкологический препарат планируется для лечения. Отрицательные, а также выраженные положительные результаты CPS или IC, в большинстве случаев не требуют дополнительных исследований для своего подтверждения. ■

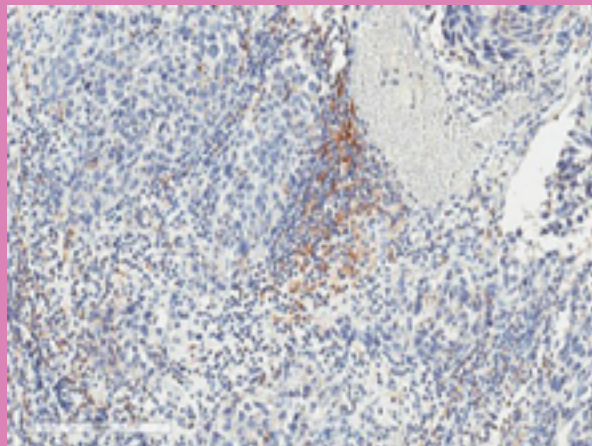
*Завалишина Лариса Эдуардовна, д.б.н., профессор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Андреева Юлия Юрьевна, д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Олюшина Екатерина Максимовна, ординатор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Тимофеев Илья Валерьевич, директор Бюро по изучению рака почки, исполнительный директор, член правления общероссийской общественной организации «Российское общество клинической онкологии», Тюляндин Сергей Алексеевич, д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе, заведующий отделением клинической фармакологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, председатель общероссийской общественной организации «Российское общество клинической онкологии», Франк Георгий Авраамович, д.м.н., академик РАН, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Автор, ответственный за переписку — Олюшина Екатерина Максимовна, ординатор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, 125284, Россия, г. Москва, ул. Поликарпова, д. 10/12, e-mail: catya.olyushina@yandex.ru*

### Литература:

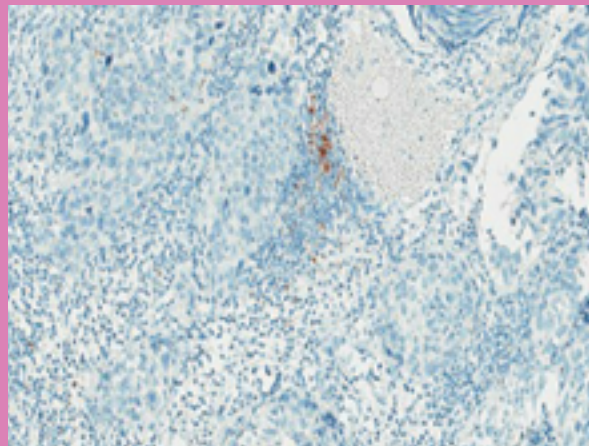
1. Moch H., Humphrey P.A., Ulbright T.M., Ulbright T.M., Reuter V.E., ed. *WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs (4th edition)* IARC: Lyon 2016.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г. В., ред. *Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2018.
3. Завалишина Л. Э., Повилайтите П.Е., Раскин Г. А., Андреева Ю. Ю., Петров А.В., Харитонова Е.А. и др. Оценка экспрессии PD-L1 у пациентов с уротелиальным раком, имеющих противопоказания к назначению препаратов платины. *Злокачественные опухоли*. 2019; 9 (1): 10-15. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2019-9-1-10-15>

4. Tsimafeyeu I., Tjulandin S. First-line checkpoint inhibitors in PD-L1-positive patients with advanced urothelial carcinoma. *BJU Int.* 2019; 123 (4): 563-565. doi: 10.1111/bju.14627.
5. Sonpavde G., Galsky M.D., Latini D., Chen G.J. Cisplatin-ineligible and chemotherapy-ineligible patients should be the focus of new drug development in patients with advanced bladder cancer. *Clin Genitourin Cancer* 2014; 12: 71-73. doi: 10.1016/j.clgc.2013.11.016.
6. Волкова М. И., Груднева Я. В., Ольшанская А. С. Иммуноterapia уротелиального рака: реалии и перспективы. *Онкоурология.* 2017; 13 (4): 16-24. doi: 10.17650/1726-9776-2017-13-4-16-24
7. Alhunaidi O., Zlotta A.R. The use of intravesical BCG in urothelial carcinoma of the bladder. *Escancermedicalscience.* 2019; 13: 905. doi:10.3332/escancer.2019.905.
8. Горелов А. И., Симбирцев А. С., Журавский Д. А., Горелова А.А. Ингибиторы PD-1/PD-L1 в лечении рака мочевого пузыря: от медиатора иммунного ответа к таргетной терапии. *Урологические ведомости.* 2018; 8 (2): 64-72. doi: 10.17816/uroved8264-72
9. Kandoth C., McLellan M.D., Vandin F., Ye K., Niu B., Lu C., et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature.* 2013; 502 (7471): 333-339. doi: 10.1038/nature12634.
10. Inman B.A., Sebo T.J., Frigola X., Dong H., Bergstralh E.J., Frank I., et al. PD-L1 (B7-H1) expression by urothelial carcinoma of the bladder and BCG-induced granulomata. *Cancer.* 2007; 109: 1499-1505. doi:10.1002/cncr.22588
11. Powles T, Durán I, van der Heijden M.S., Loriot Y, Vogelzang N.J., De Giorgi U., et al. Atezolizumab versus chemotherapy in patients with platinum-treated locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (IMvigor211): a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet.* 2018; 391 (10122): 748-757. doi: 10.1016/S0140-6736(17)33297-X
12. Balar A.V., Galsky M.D., Rosenberg J.E., Powles T., Petrylak D.P., Bellmunt J., et al. Atezolizumab as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet.* 2017; 389 (10064): 67-76. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32455-2
13. Balar A.V., Castellano D., O'Donnell P.H., Grivas P., Vuky J., Powles T., et al. First-line pembrolizumab in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and unresectable or metastatic urothelial cancer (KEYNOTE-052): a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2017; 18 (11): 1483-1492. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30616-2
14. Франк Г.А., Кузнецова О.А., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Олюшина Е.М., Виноградов И.Ю., и др. PD-L1-статус рака молочной железы. *Архив патологии.* 2019; 81 (2): 3-9. [https://doi.org/10.17116/](https://doi.org/10.17116/patol2019810213)

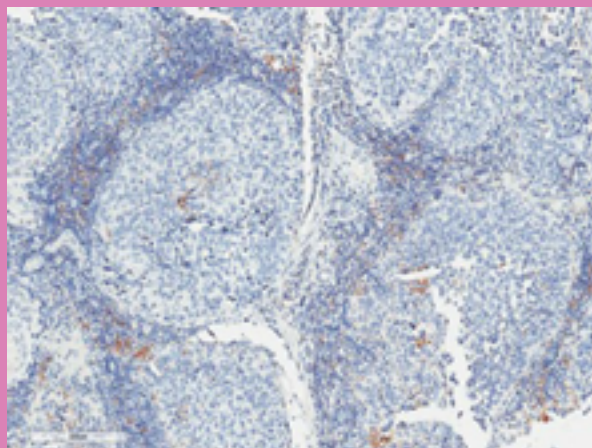
*Завалишина Л. Э., Андреева Ю. Ю., Олюшина Е. М., Тимофеев И. В., Тюляндин С. А., Франк Г. А.*  
**Проблемы определения PD-L1 статуса рака мочевого пузыря с использованием разных клонов антител (22C3 и SP142)**



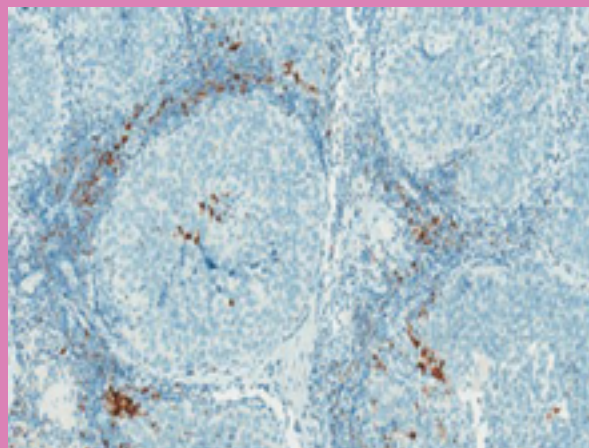
**Рисунок 1. ИГХ с применением клона 22С3. CPS = 15. Позитивный PD-L1-статус. x200**



**Рисунок 2. ИГХ с применением клона SP142. IC= 4%. Негативный («пограничный») PD-L1-статус. x200**



**Рисунок 3. ИГХ с применением клона 22С3. CPS = 9. Негативный («пограничный») PD-L1-статус. x200**



**Рисунок 4. ИГХ с применением клона SP142. IC = 5%. Позитивный PD-L1-статус. x200**