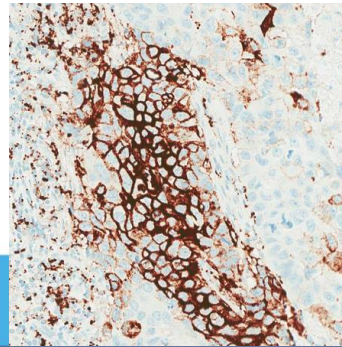
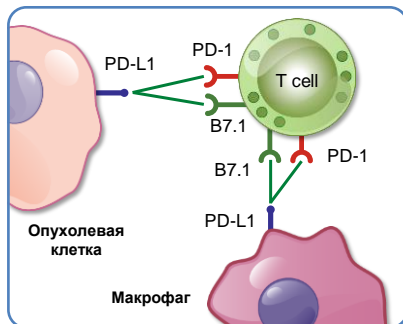


# Роль патолога в выборе стратегии лечения пациентов с распространенным уротелиальным раком

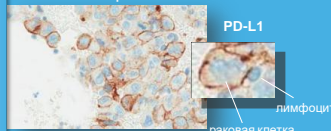
Д.М.Н.  
Ю.Ю.Андреева



## Экспрессия PD-L1 – потенциальный биомаркер для атезолизумаба и других онкоиммунологических агентов



Наличие инфильтрирующих опухоль Т-клеток может вести к повышенной экспрессии PD-L1 и иммунной резистентности



Опухолевые и иммунные клетки, инфильтрирующие опухоль, экспрессируют PD-L1  
Экспрессия PD-L1 в микроокружении опухоли может ингибировать противоопухолевую активность Т-клеток

## Образцы уротелиального рака (УР)

- **Требования к образцу:**

- Архивированные или свежие образцы ткани с инвазивным УР, полученные после резекции, иссечения, ТУР или биопсии
- Папиллярные карциномы приемлемы, если они имеют инвазивный компонент
- Любой вариант УР, в том числе с саркоматоидной дифференцировкой
- Образцы как первичной опухоли, так и метастатических очагов
- Адекватный объем: не менее 50 жизнеспособных опухолевых клеток с ассоциированной стромой

- **Критерий исключения:**

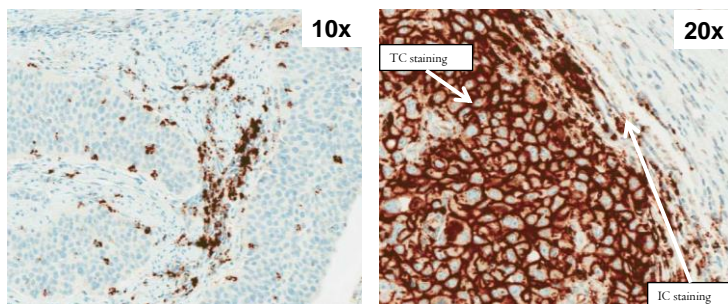
- Цитологические образцы и декальцинированные образцы метастатических поражений костей неприемлемы из-за отсутствия валидированных исследований.



3

PD-L1 (SPI42) демонстрирует яркое окрашивание в инфильтрирующей опухоли иммунных клетках (IC) и опухолевых клетках (TC)

**Для уротелиального рака оценивается только окрашивание IC**



4

## Характеристики окрашивания

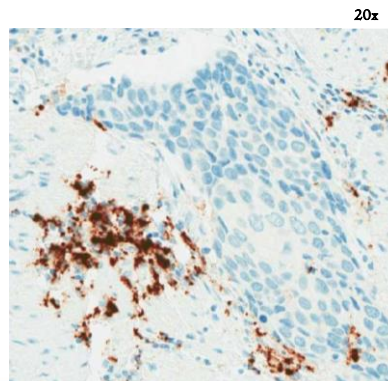
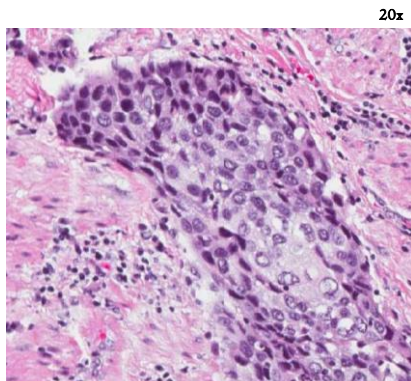
Характеристики опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток	
Типы клеток, демонстрирующие окрашивание	Лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки и гранулоциты
Типы клеток, включенные в оценку	Лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки и гранулоциты
Картина	Агрегаты в строме, единичные клетки, рассеянные среди опухолевых клеток с точечным, линейным или циркулярным окрашиванием
Знаменатель при подсчете	Площадь области опухоли



## Инфильтрирующие опухоль иммунные клетки (IC)

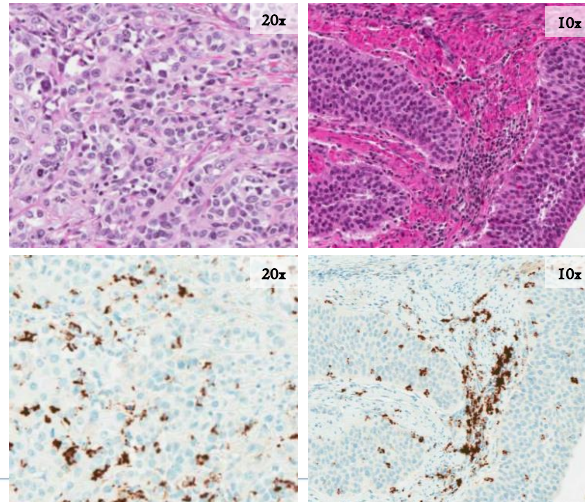
Гетерогенная популяция IC морфологически представлена

- Лимфоцитами, макрофагами, дендритными клетками и гранулоцитами
- Часто демонстрируют пунктирное или линейное окрашивание, распределенное в виде агрегатов во внутренней и перитуморальной строме



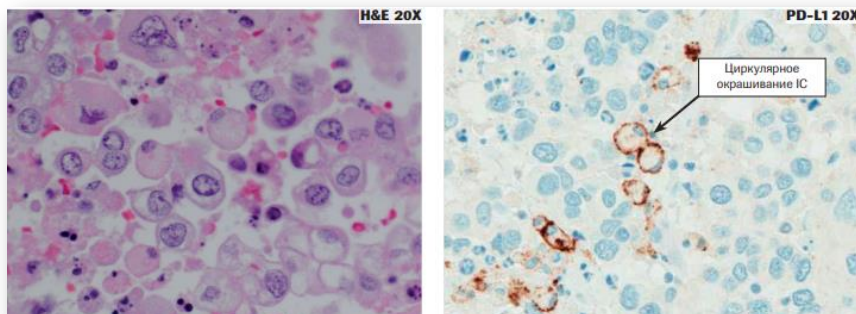
## Варианты окрашивания IC

Иногда IC диффузно распределены среди TC с или без образованием агрегатов в строме



7

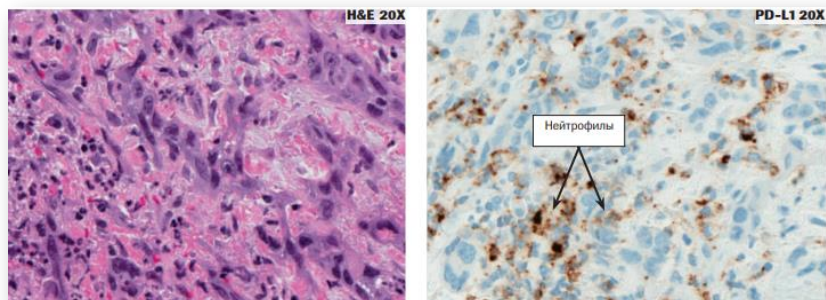
## Оценка иммунных клеток (IC)



Макрофаги, дендритные клетки



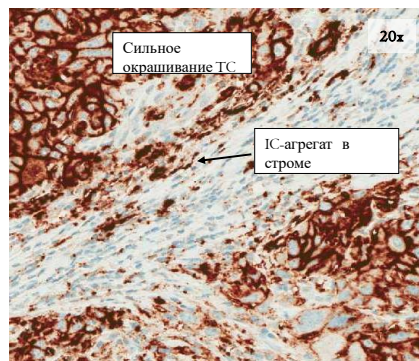
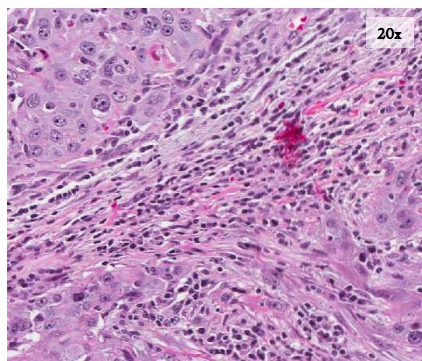
## Оценка иммунных клеток (IC)



## Различия окрашивания IC и TC

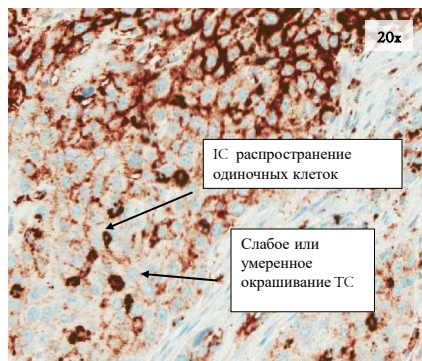
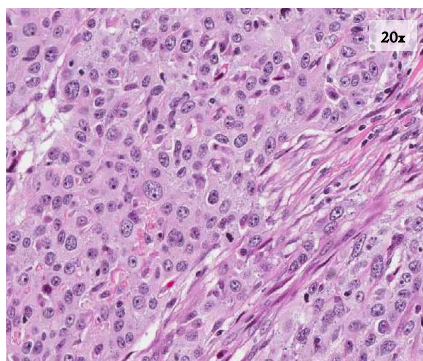
- Обзор соответствующих H&E
- Обзор PD-L1-стекла на большом увеличении.

Сценарий I: Сильное окрашивание TC с редкими IC на H&E - оценка IC в строме



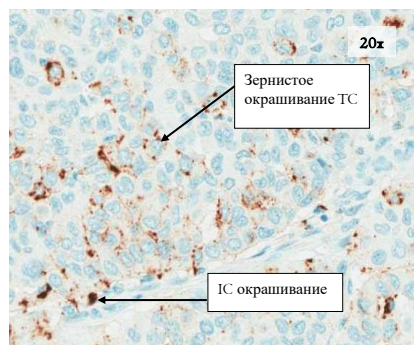
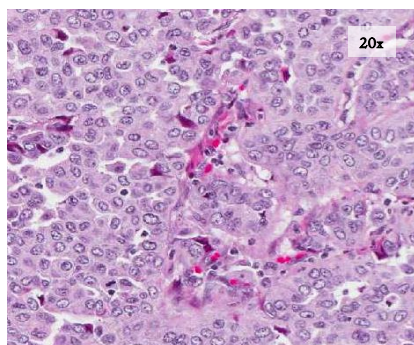
## Различия окрашивания IC и TC

Сценарий 2: Слабое или умеренное окрашивание TC со множеством IC среди TC на H&E - оценка IC в строме и среди TC



## Различия окрашивания IC и TC

Сценарий 3: Скан IC на H&E и TC демонстрируют зернистое или бисерное окрашивание - связано с окрашиванием TC



## Метод оценки

- Ткани уротелиальной карциномы, окрашенные на PD-L1, **оцениваются только по окрашиванию IC**.
- **IC оценивают как долю площади области опухоли**, которую занимают иммунные клетки с окрашиванием PD-L1 любой интенсивности. Включено любое окрашивание IC, **независимо от типа клеток или локализации**.
- Площадь области опухоли определяется как **площадь, занимаемая жизнеспособными опухолевыми клетками, и связанной с ними интратуморальной и прилегающей перитуморальной стромой**
- **Некротизированная опухоль исключается** из определения площади области опухоли.
- В фрагментированных образцах тканей, в том числе полученных при ТУР и биопсиях, где трудно различить интратуморальную и перитуморальную строму, в определении площади области опухоли **включена только строма, которая прилегает к отдельным гнездам опухолевых клеток**. Строма, являющаяся частью фрагмента, но не прилежащая к жизнеспособной опухоли исключается



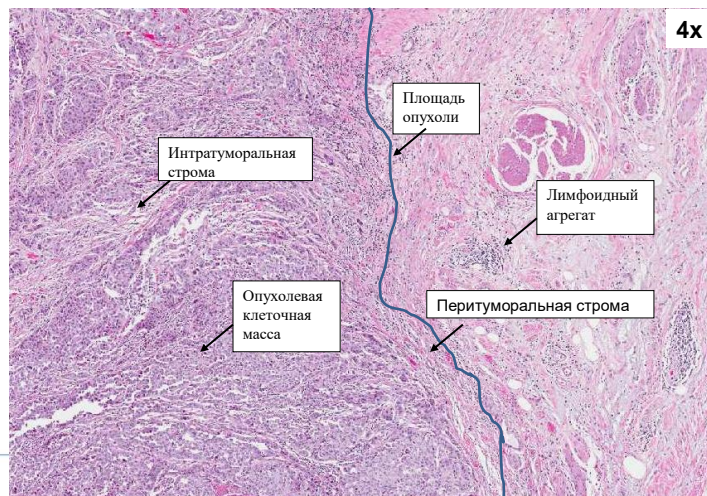
## Алгоритм оценки результатов PD-L1 при уротелиальной карциноме

Окраска инфильтрирующих опухоль иммунных клеток (IC)	Экспрессия PD-L1
Отсутствие какого-либо заметного окрашивания PD-L1 (OR) Наличие заметного окрашивания PD-L1 любой интенсивности в инфильтрирующих опухоль иммунных клетках, покрывающих <5% площади области опухоли, занимаемой опухолевыми клетками и связанной с интратуморальной и прилегающей перитуморальной стромой	< 5% IC
Наличие заметного окрашивания PD-L1 любой интенсивности в инфильтрирующих опухоль иммунных клетках, покрывающих ≥ 5% площади области опухоли, занимаемой опухолевыми клетками и связанной с интратуморальной и прилегающей перитуморальной стромой	≥ 5% IC



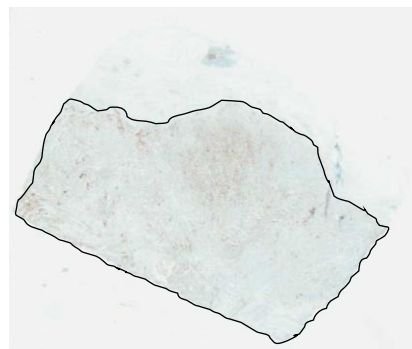
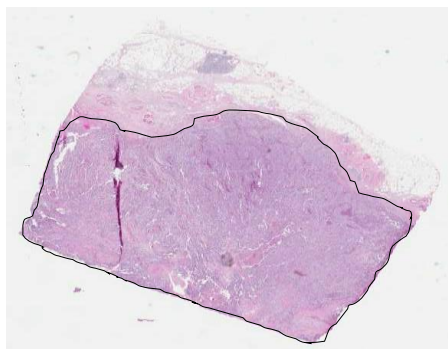
## Метод подсчета – площадь опухоли

- ИС оценивают как долю площади опухоли, занятой ИС, показывающую окрашивание PD-L1 любой интенсивности
- Под площадью опухоли понимают опухолевые клетки с ассоциированной внутриопухолевой и смежной перитуморальной десмопластической стромой



## Площадь опухоли в различных образцах ткани

### Резекция мочевого пузыря

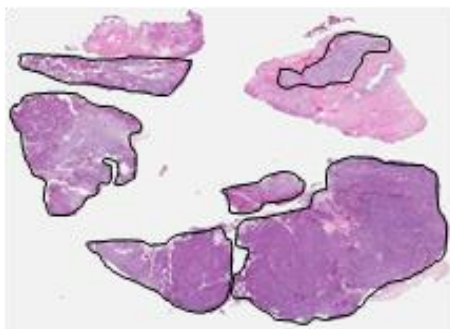


все изображения с 1x увеличением.



## Площадь опухоли в различных образцах ткани

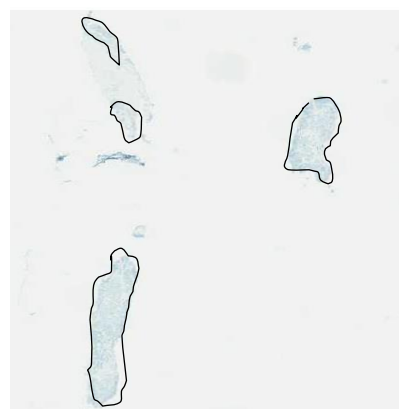
### ТУР опухоли мочевого пузыря



все изображения с 1x увеличением.

## Площадь опухоли в различных образцах ткани

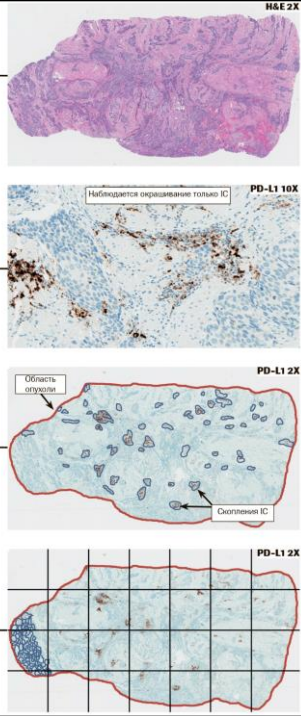
### Биопсия



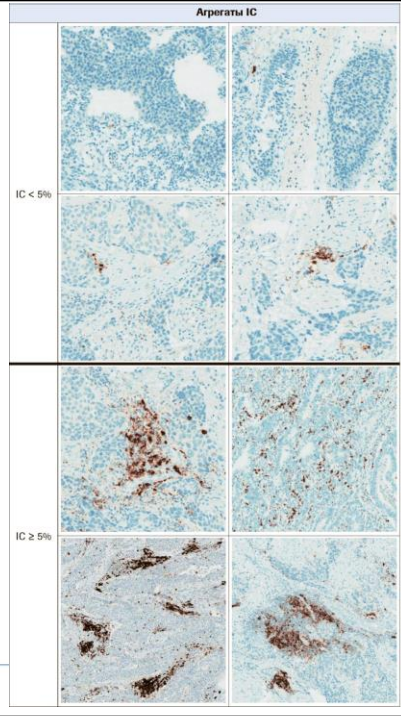
все изображения с 1x увеличением.

# Оценка IC-агрегатов

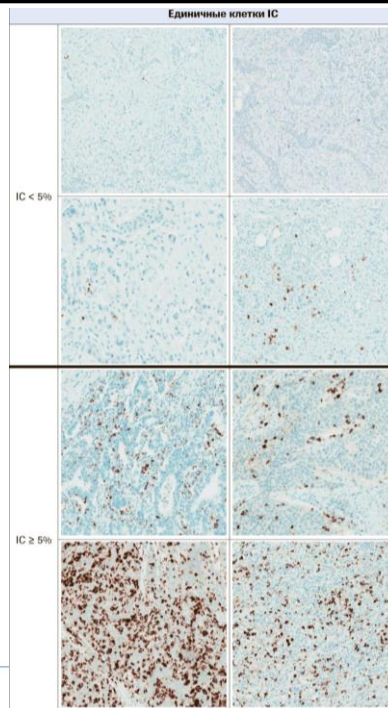
- Просмотреть гравированное стекло с препаратом, окрашенным гематоксилином и эозином, на наличие опухоли, некроза, оценить его адекватность (по меньшей мере 50 независимых опухлевых клеток с ассоциированной стромой) и площади области опухоли.
- Просмотреть гравированное стекло с окрашиванием PD-L1 с 10- или 20-кратным увеличением и подтвердить общую картину окрашивания, как окрашивание IC, IC вне того и другого.
- Визуально оценить соотношение IC максимально близко, используя 2- или 4-кратное увеличение.
- Обладать системой координат и оценить долю площади области опухоли, занятой скоплениями IC, с использованием 2- или 4-кратного увеличения. Оценка IC для этого случая составляет  $\geq 5\%$ . Референсные изображения в разделе «Референсные изображения» должны использоваться для помощи при проведении оценки.



# IC-агрегаты – эталонные изображения



## IC эталонные изображения – одиночно расположенные клетки



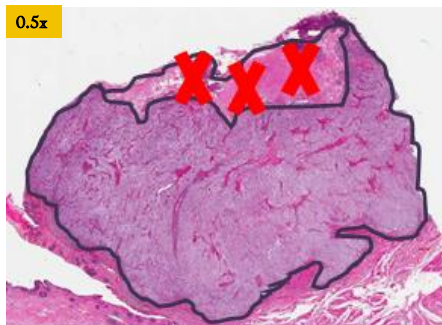
Все изображение даны в 10x увеличении



21

## Проблемы и «подводные камни»

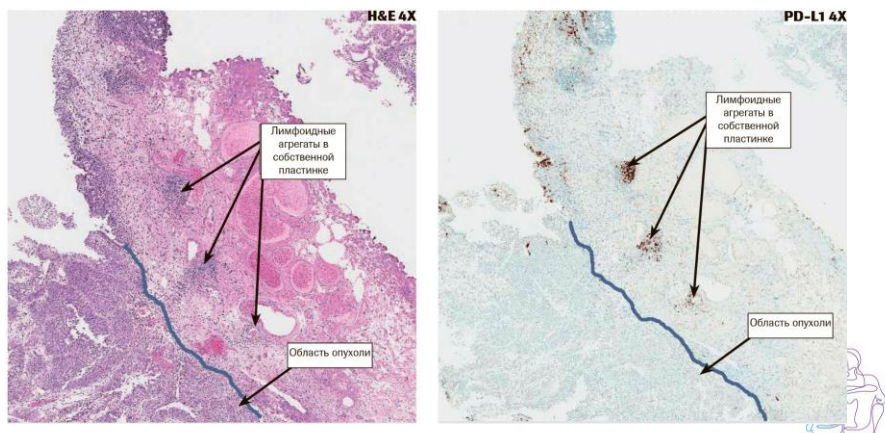
Исключить зону некроза из площади опухоли



22

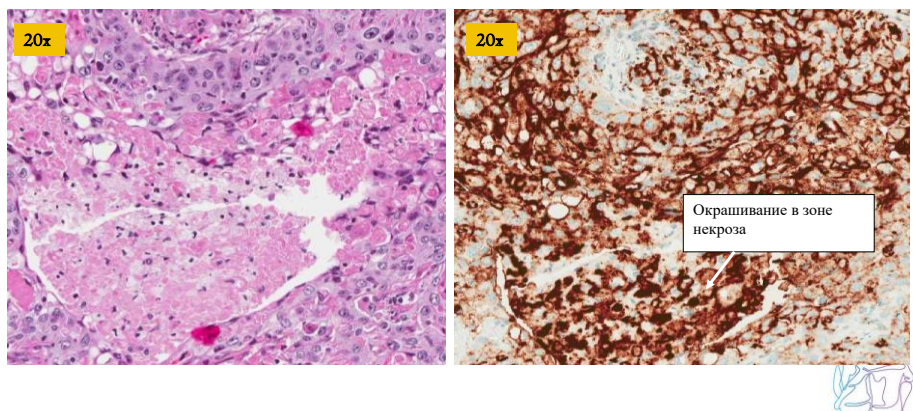
## Проблемы и «подводные камни»

Исключить окрашивание в лимфоидных агрегатах в собственной пластинке слизистой оболочки



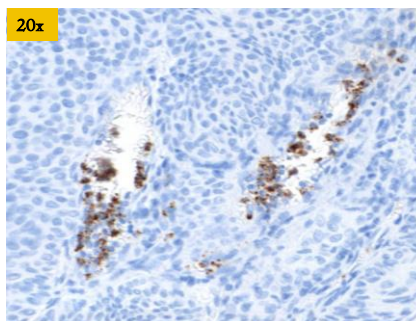
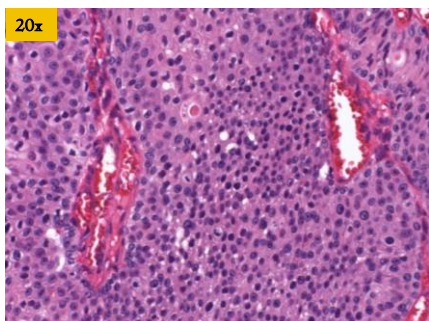
## Проблемы и «подводные камни»

Не обращайте внимания на окрашивание в зонах некроза



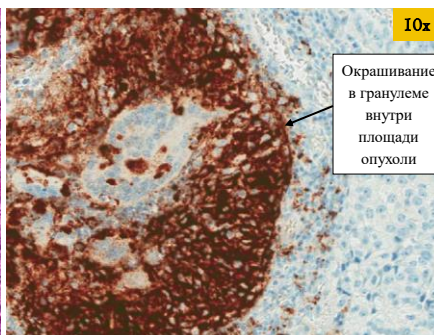
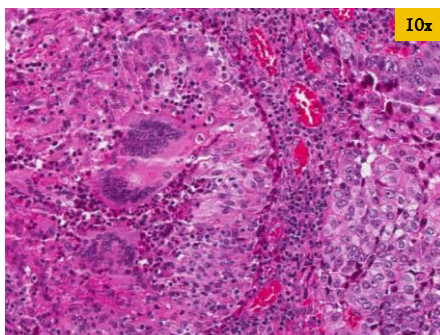
## Проблемы и «подводные камни»

Исключить внутрисосудистые ИС из оценки



## Проблемы и «подводные камни»

Дифференцировать окрашивание в грануле от ТС и включать его в подсчет, если оно присутствует в площади опухоли

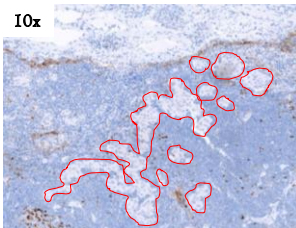
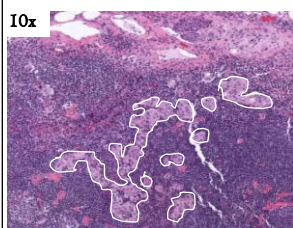
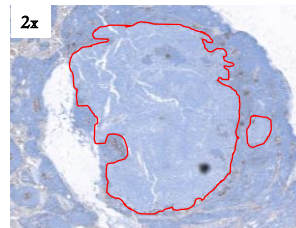
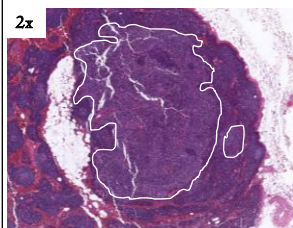


Окрашивание  
в грануле  
внутри  
площади  
опухоли



## Метастазы в лимфатические узлы

- Первичные и метастатические образцы
- Метастазы различных локализаций
- Образцы декальцинированной кости недопустимы
- Заслуживают особого упоминания из-за нативного окрашивания IC
- Метод подсчета такой же, как при первичной опухоли
- Только окрашивание IC, смежное с TC, включается в подсчет



27

## IC окрашивание: резюме

### Иммунные клетки (IC)

Тип клеток, демонстрирующих окрашивание	Лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки и гранулоциты
Тип клеток, включенных в подсчет	Лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки и гранулоциты
Паттерны	Агрегаты в строме, одиночно расположенные клетки, рассеянные между опухолевыми клетками с пунктирным, линейным или периферическим окрашиванием
«Знаменатель» для подсчета	Площадь опухоли



28