

На правах рукописи



Пачуашвили Нано Владимировна

Имуногистохимическая характеристика и прогностическое значение иммунного микроокружения при аденокортикальном раке

3.1.6 Онкология, лучевая терапия

3.3.2. Патологическая анатомия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) и в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

академик РАН, доктор медицинских наук,
профессор

Решетов Игорь Владимирович

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук

Урсова Лилия Сергеевна

Официальные оппоненты:

Черников Роман Анатольевич – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова, хирургическое (эндокринологическое) отделение, заведующий отделением

Асатурова Александра Вячеславовна – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 1-ое патологоанатомическое отделение, заведующая отделением

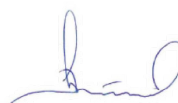
Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «30» мая 2024 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.15 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор



Ветшев Федор Петрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Адренокортикальный рак (АКР) – редкая злокачественная эндокринная опухоль из клеток коры надпочечника с частотой встречаемости 0,7–2 случая на 1 млн населения в год [Каприн А.Д. и др., 2021; Dasiewicz P. et al., 2023]. Из-за трудностей диагностики у большинства пациентов опухоль обнаруживается уже на стадии метастазирования, что ограничивает возможности хирургического вмешательства и предполагает крайне неблагоприятный прогноз [Thampi A. et al., 2020]. При местно-распространенных случаях АКР 5-летняя выживаемость пациентов составляет около 80%, в то время как при распространенном нерезектабельном или метастатическом процессе данный показатель составляет менее 15%. Единственным вариантом полного излечения заболевания является операция, однако она эффективна только у 10% больных [Megerle F. et al., 2019].

Митотан, препарат с аденолитическими свойствами, является основным препаратом для лечения АКР, но он часто плохо переносится, в связи с чем его применение ограничено [Basile V. et al., 2020]. За последние годы стратегия терапии АКР не изменилась, а используемая в настоящее время цитотоксическая химиотерапия включает в себя препараты, которые демонстрируют ограниченную эффективность и высокую токсичность, что свидетельствует о необходимости поиска новых мишеней для таргетной терапии АКР.

Согласно литературным данным, АКР является гетерогенной группой заболеваний с различными патоморфологическими и геномными особенностями, что обуславливает вариабельность клинической картины и прогноза для данных пациентов [Lam A.K.Y. et al., 2021]. На протяжении многих лет с целью выявления новых прогностических маркеров проводилось множество исследований, однако большинство из них включали лишь небольшие ретроспективные выборки пациентов [Ettaieb M. et al., 2020; Lim J.S. et al., 2020]. Таким образом, необходимость определения прогностических параметров для выбора наиболее эффективной и персонализированной тактики ведения пациентов остается одной из главных и нерешенных проблем.

Известно, что состав микроокружения опухоли имеет решающее значение для разработки стратегий иммунотерапевтического лечения рака. Одним из компонентов микроокружения опухоли являются иммунные клетки, наличие которых нередко ассоциируется с лучшим прогнозом для пациентов при многих злокачественных новообразованиях [Denkert, C. et al., 2018; Wozniakova M. et al., 2022]. Различные субпопуляции иммунцитов могут оказывать разнонаправленное действие на опухолевый рост: они могут как стимулировать, так и подавлять прогрессию опухолей в зависимости от спектра вырабатываемых ими цитокинов.

Степень разработанности темы исследования

Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа за последние годы продемонстрировали впечатляющую клиническую эффективность при ряде злокачественных новообразований, в то же время опубликован ряд исследований, которые свидетельствуют о значимой роли PD-L1 в патогенезе прогрессирования АКР и возможностях успешного применения анти-PD1/PD-L1 иммунотерапии при данном заболевании [Fay A.P. et al., 2015; Liu S. et al., 2018]. Однако результаты клинических испытаний также демонстрируют, что экспрессия PD-L1 не всегда является надежным предиктором ответа пациента на иммунотерапию [Deng H. et al., 2022; Noori M. et al., 2023]. Учитывая наличие сравнительно небольшого количества исследований касаясь иммунного микроокружения при АКР [Thorsson V. et al., 2018; Landwehr L.S. et al., 2020; Bogolyubova A.V. et al., 2022], нужно отметить, что в настоящее время детальный анализ состава опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток при АКР, особенно в различных гистологических подтипах, ранее не проводился.

Таким образом, в настоящее время остается нерешенным вопрос поиска соответствующих биомаркеров при АКР для прогнозирования биологического поведения опухоли и определения персонализированной тактики ведения пациентов, которые потенциально могут получать пользу от назначения иммунотерапевтических препаратов, а также от комбинированной терапии для преодоления резистентности.

Цели и задачи

Целью работы является оценка субпопуляционного состава и прогностического значения иммунного микроокружения опухоли в различных гистологических подтипах адренокортикального рака.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать интенсивность и субпопуляционный состав иммунного инфильтрата в адренокортикальном раке с учетом морфологического подтипа опухоли (классический, онкоцитарный, миксоидный, смешанный);
2. Изучить влияние клинических параметров на интенсивность иммунного инфильтрата при адренокортикальном раке (возраст, пол, гормональная активность, размер первичного опухолевого узла и/или метастатических очагов и др.);
3. Изучить влияние интенсивности иммунного инфильтрата на PD-L1-статус опухоли при адренокортикальном раке;
4. Изучить влияние интенсивности иммунного инфильтрата на выживаемость пациентов с адренокортикальным раком с учетом морфологических подтипов опухоли;
5. Оценить влияние PD-L1-статуса опухоли на выживаемость пациентов с адренокортикальным раком;

б. По результатам полученных данных создать математические модели для прогнозирования риска летального исхода и прогрессирования аденокортикального рака на основании иммунного инфильтрата опухоли.

Научная новизна исследования

Впервые охарактеризован состав иммунного микроокружения опухоли в аденокортикальном раке с учетом различных морфологических подтипов опухоли. Установлено, что онкоцитарный гистологический подтип опухоли демонстрирует значимо более выраженную иммунную инфильтрацию, по сравнению с классическим.

Впервые определено влияние гормональной активности опухоли на интенсивность иммунного микроокружения в аденокортикальном раке, а также влияние опухолевых инфильтрирующих CD68+ макрофагов на вероятность метастазирования опухоли. Установлено, что у пациентов с признаками отдаленного метастазирования опухоли отмечается достоверно более низкое содержание CD68+ макрофагов в паренхиме опухоли.

Впервые определено влияние состава и интенсивности иммунного микроокружения опухоли на выживаемость пациентов с аденокортикальным раком. Показано, что повышенная экспрессия маркеров иммунных клеток (CD45, CD3, CD4, CD8) ассоциирована с лучшей как общей, так и безрецидивной выживаемостью.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявление состава и интенсивности иммунной инфильтрации в различных гистологических подтипах аденокортикального рака позволяет онкологам и патоморфологам судить о биологических свойствах опухоли и клиническом течении обсуждаемого заболевания.

Выявленные значимые факторы влияющие на общую и безрецидивную выживаемость могут быть использованы для определения персонализированной тактики ведения пациентов с аденокортикальным раком, а разработанные математические модели могут помочь в определении риска летального исхода и рецидива данного заболевания.

Полученные результаты открывают перспективы для поиска и разработок новых таргетных иммунных препаратов для лечения пациентов с различными гистологическими подтипами аденокортикального рака.

Методология и методы исследования

Работа представляет собой ретроспективное когортное исследование на гистологических образцах операционного материала от 73 пациентов с верифицированным диагнозом АКР. Исследован широкий комплекс характеристик АКР, включая экспрессию 6 иммуногистохимических маркеров (CD45, CD3, CD4, CD8, CD68, PD-L1) и их связь с клинико-морфологическими и прогностическими характеристиками данной опухоли.

Положения, выносимые на защиту

1. Онкоцитарный гистологический подтип аденокортикального рака характеризуется более выраженной CD45+ иммунной инфильтрацией в паренхиме и строме опухоли, а также CD3+, CD4+ и CD8+ иммунной инфильтрацией в паренхиме опухоли по сравнению с классическим подтипом, что в свою очередь ассоциировано с лучшей общей и безрецидивной выживаемостью пациентов.
2. Низкая экспрессия CD68+ макрофагов в паренхиме опухоли ассоциирована с наличием отдаленных метастазов аденокортикального рака.
3. В PD-L1-позитивных аденокортикальных карциномах отмечается менее выраженная инфильтрация CD68+ макрофагами в паренхиме опухоли в сравнении с PD-L1-негативными образцами, в то же время пациенты с PD-L1-позитивными опухолями демонстрируют более низкую общую и безрецидивную выживаемость.
4. Факторами достоверно влияющими на общую и безрецидивную выживаемость пациентов с аденокортикальным раком являются уровни CD45+, CD3+, CD4+ и CD8+ иммунных клеток в паренхиме опухоли, а также PD-L1 статус опухоли.
5. Разработаны две прогностические математические модели на основании иммуногистохимической оценки иммунного инфильтрата опухоли – модель для прогнозирования риска летального исхода ($p=0,01$, χ^2) и модель для прогнозирования риска развития рецидива аденокортикального рака ($p=0,002$, χ^2).

Степень достоверности и апробация результатов

Теоретические аспекты, методология и выводы, изложенные в данной работе, базируются на основательном и детальном анализе клинических данных, при этом использованы различные современные статистические методы, соответствующие целям исследования. Количество и качество представленных данных обеспечивают их репрезентативность и адекватность для достижения поставленных целей, а также надежность полученных результатов и сделанных на их основе выводов.

Основные результаты исследования представлены в виде докладов на российских и международных конференциях, конгрессах и форумах: “ESMO Targeted Anticancer Therapies Congress (TAT)” (Paris, France, 2023), Международном форуме «Инновационная онкология» посвященный 95-летию со дня рождения Н.Н. Трапезникова (Москва, 2023), VI Международном форуме онкологии и радиотерапии «For Life» (Москва, 2023), конференции «Вычислительная биология и искусственный интеллект для персонализированной медицины – 2023» (Москва, 2023), II Конференции по онкоэндокринологии и аутоиммунным эндокринным заболеваниям (Москва, 2023), Научно-практической конференции «Абрикосовские чтения» (Москва, 2023), Конкурсе молодых ученых в рамках XXVI Российского онкологического

конгресса (Москва, 2022), VIII Петербургском Международном онкологическом форуме «Белые ночи 2022» (Санкт-Петербург, 2022), V Инновационном Петербургском медицинском форуме «Алмазовский медицинский форум» (Санкт-Петербург, 2022), 80-ой Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2022), IV Съезде патологоанатомов республики Беларусь с международным участием «Современная патологическая анатомия: научно-практический опыт, пути совершенствования и инновационные технологии морфологической диагностики, роль в клинической практике, актуальные проблемы и перспективы развития» (Минск, 2022), XVII Международной / XXVI Всероссийской Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2022), Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием «Медицинская весна – 2022» (Москва, 2022), I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Орфанные болезни: прошлое, настоящее, будущее» (Москва, 2022), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной проведению международного года фундаментальных наук в интересах устойчивого развития «Теоретические и практические аспекты современной медицины» (Симферополь, 2022), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицинская весна – 2021» (Москва, 2021), Научно-практической конференции с международным участием «Путь в науку-2021».

Работа стала победителем на конкурсах в рамках конференций и форумов: Международном форуме «Инновационная онкология» посвященный 95-летию со дня рождения Н.Н. Трапезникова (Москва, 2023) – 1 место в постерной сессии; II Конференции по онкоэндокринологии и аутоиммунным эндокринным заболеваниям (Москва, 2023) – 1 место в постерной сессии; 80-ой Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2022) – 2 и 3 место в конкурсе молодых ученых; Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием «Медицинская весна – 2022» (Москва, 2022) – 1 и 2 место в конкурсе молодых ученых; Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Орфанные болезни: прошлое, настоящее, будущее" (Москва, 2022) – 1 место в номинации «Лучший постерный доклад»; Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицинская весна – 2021» (Москва, 2021) – 1 место в конкурсе молодых ученых; Научно-практической конференции с международным участием «Путь в науку-2021» – 1 место в конкурсе молодых ученых.

Апробация диссертационной работы проведена на совместном расширенном межучрежденческом заседании кафедры онкологии, радиотерапии и реконструктивной

хирургии Института клинической медицины, Института клинической морфологии и цифровой патологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и кафедры персонализированной и трансляционной медицины ГНЦ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, протокол №2-2024 от 05.02.2024 г.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследований используются в лечебном процессе Клиники онкологии, реконструктивной хирургии и радиологии Университетской Клинической больницы №1 (Акт №343 от 11.01.2024 г.), а также в учебный процесс Института клинической морфологии и цифровой патологии при изучении дисциплин патологическая анатомия, читаемых ординаторам (аспирантам) по направлению подготовки (специальности) 31.08.07 патологическая анатомия (Акт №345 от 11.01.2024 г.).

Личное участие автора в получении научных результатов

Диссертант непосредственно участвовал во всех этапах исследовательской работы. Автором проанализирован большой объем научной литературы по изучаемой теме. Автор лично выполнил весь экспериментальный фрагмент работы, непосредственно проводил гистологические и иммуногистохимические исследования операционного материала. Автором лично выполнена статистическая обработка и интерпретация полученных данных, сформулированы основные положения, выводы и практические рекомендации, написан текст рукописи и подготовлены основные научные публикации по теме диссертационной работы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует отрасли медицинских наук, паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, согласно пункту 2 направлений исследований (Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.)), а также паспорту научной специальности 3.3.2. Патологическая анатомия, а именно пункту 2 (Научный анализ патологических процессов, лежащих в основе заболевания, прижизненная диагностика и прогнозная оценка болезней на основе исследований биопсийных материалов) и 4 научных исследований (Исследование морфо- и танатогенеза заболеваний, роли различных органных, тканевых систем в становлении основного заболевания (полиорганность патологии) и его исходах).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования опубликовано 28 печатных работ, в том числе 5 научных статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 23 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, двух глав с описанием полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Общий объем диссертации изложен на 161 странице, включает 74 рисунка, 57 таблиц и 1 схему. Список литературы включает 225 источников, в том числе 45 русскоязычных и 180 англоязычных публикаций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использованы образцы операционного материала от 73 пациента с верифицированным диагнозом АКР, которым была выполнена адреналэктомия в период с 2005 по 2022 года в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, а также консультативный материал пациентов из других лечебных учреждений России, который был направлен для исследований в Референс-центра патоморфологических, иммуногистохимических и лучевых методов исследования на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Дизайн исследования включает в себя 5 этапов (Рисунок 1).

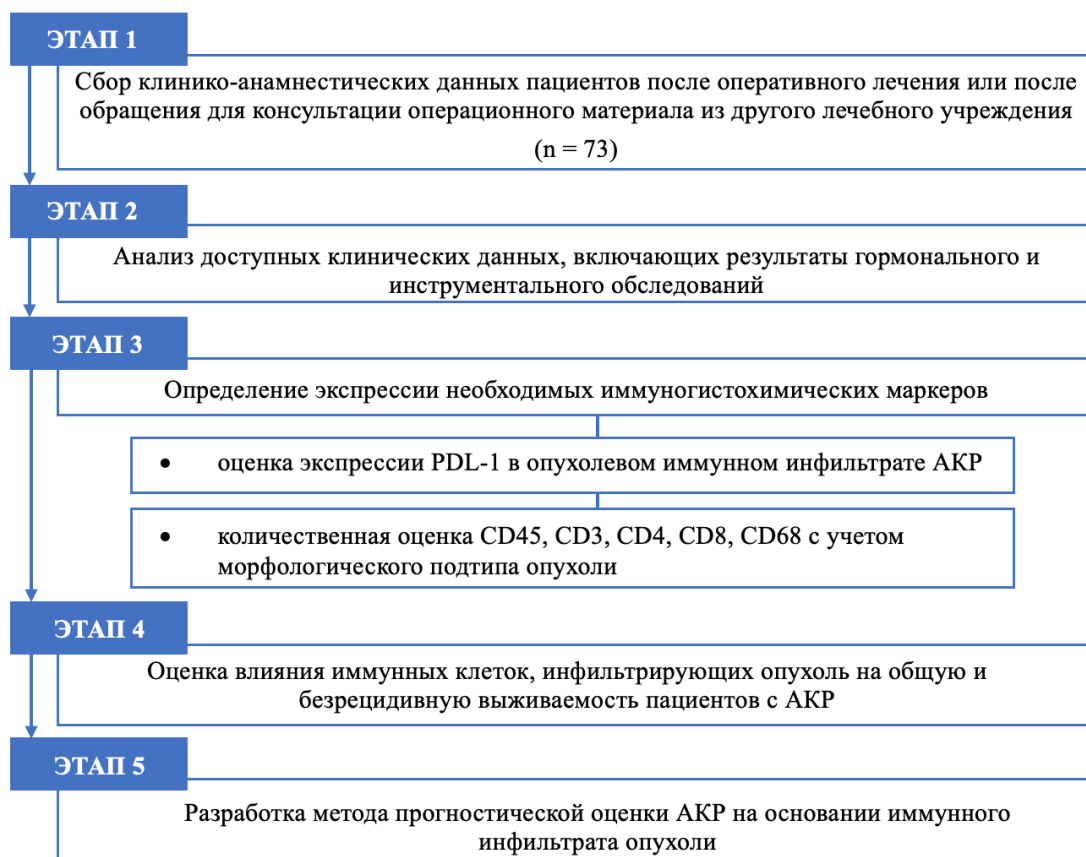


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критерии включения: возраст пациентов на момент лечения – старше 18 лет; морфологически верифицированный диагноз АКР; получение информированного согласия пациента на забор и использование биологического материала в исследовательских целях.

Критерии невключения: возраст пациентов на момент лечения – младше 18 лет.

Критерии исключения: при пересмотре архивных гистологических препаратов диагноз «АКР» исключен.

Морфологические методы. Гистологический материал, полученный в ходе хирургического лечения пациентов непосредственно в «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ, фиксировали в 10% забуференном формалине, обрабатывали в аппарате гистологической проводки фирмы «Leica ASP6025 S» («Leica Biosystems», Германия) и заливали в парафин, а при проведении оперативного лечения в другом стационаре материалы получали в виде готовых парафиновых блоков. Затем изготавливали гистологические препараты, которые окрашивали на аппарате «Leica ST5010 AXL» («Leica Biosystems», Германия) гематоксилином и эозином по стандартной методике.

Все образцы опухолевой ткани верифицировали в соответствии с Международной гистологической классификацией опухолей надпочечника (ВОЗ, 2022).

Иммуногистохимические методы. Постановку иммуногистохимических (ИГХ) реакций осуществляли на срезах толщиной 3 мкм, расположенных на стеклах с полилизинным слоем («Leica Biosystems», Германия). Исследование осуществлялось на полностью автоматизированном иммуногистостейнере «Leica Bond III» («Leica Biosystems», Германия) по стандартным протоколам, рекомендованным фирмой-производителем. ИГХ панель включала в себя антитела к маркерам основных субпопуляций опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток CD45 (EP322Y в разведении 1:200; «Abcam», Великобритания), CD3 (ab699 в разведении 1:50; «Abcam», Великобритания), CD4 (ab133616 в разведении 1:1000; «Abcam», Великобритания), CD8 (ab4055 в разведении 1:1000; «Abcam», Великобритания), CD68 (514H12 в разведении 1:100; «Novocastra», Германия), а также антитела к PD-L1 (SP142, в разведении 1:200; «Ventana», Великобритания). При постановке ИГХ реакций проводился положительный контроль, который выбрался в соответствии со спецификациями от фирмы производителя.

Морфометрические методы. Для морфометрического исследования выполняли сканирование гистологических препаратов с использованием сканеров системы Aperio AT2 производства «Leica Biosystems» (Германия) с объективом 20×/0.75 PlanApo. Для обеспечения объективного подсчета и анализа полученных результатов использовался метод компьютерной морфометрии с помощью программы «Aperio ImageScope» («Leica Microsystems», Германия), а также программы «QuPath» v0.4.3 (University of Edinburgh, Великобритания).

Для подсчета иммунных клеток на цифровых изображениях было построено по 5 равных квадратов площадью 0,05 мм² (общая площадь составляла 0,25 мм²) отдельно в строме и паренхиме опухоли. Для анализа были выбраны наиболее репрезентативные поля зрения, также для различных маркеров была выбрана точная локализация в опухолевой ткани.

Статистические методы анализа полученных данных. Статистический анализ выполнен на языке программирования Python 3.9 с использованием библиотек pandas, numpy, sklearn, scipy и lifelines.

Описательная статистика количественных признаков представлена в виде медиан и первых и третьих квартилей, качественных – в виде абсолютных и относительных частот. Сравнение двух независимых групп по количественному признаку выполнено с помощью критерия Манна-Уитни, сравнение трех и более независимых групп – с помощью критерия Краскелла-Уоллиса с дальнейшим post-hoc анализом. Корреляционный анализ был выполнен с помощью метода Спирмена.

Анализ выживаемости был проведен с помощью анализа Каплана-Майера. Для сравнения выживаемости двух групп был использован логарифмический ранговый тест. Для построения прогностических моделей выживаемости использован регрессионный анализ Кокса. Для количественных признаков при построении прогностических моделей использовано шкалирование MinMax. При выборе лучшей модели ориентировались на результаты классификации тестовой выборки при применении разработанной модели.

Критический уровень статистической значимости был принят равным 0,05. При множественных сравнениях выполнялась поправка уровня статистической значимости с помощью поправки Бонферрони (P0) путем деления 0,05 на количество сравнений. Значения между 0,05 и P0 интерпретировались в качестве статистической тенденции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика изучаемой популяции. АКР был диагностирован у 73 пациентов, 51 (69,9%) из которых были женского пола, 22 (30,1%) – мужского. Средний возраст пациентов (n=73), включенных в исследование, составил $46,8 \pm 1,7$ лет. Медиана возраста пациентов женского пола (n=51) составила 53 года, мужского пола (n=22) – 36 лет. Среди изученного гистологического материала классический морфологический подтип АКР был диагностирован в 52,1% случаев (n=38), онкоцитарный – в 24,7% случаев (n=18), миксоидный – в 12,3% (n=9). В 11% случаев (n=8) был установлен смешанный подтип опухоли, 6 случаев из которого были представлены классическим и онкоцитарными подтипами и 2 случая – классическим и миксоидным.

Для 62 пациентов были доступны клинические данные, содержащие результаты гормонального исследования. В 25 случаях (40,3%) были диагностированы гормональные нарушения. Согласно данным функциональной активности опухоли, у 20 пациентов (32,3%) отмечался гиперкортицизм, у 3 пациентов (4,8%) – гиперкортицизм сочетался с гиперандрогенией, в 1 случае (1,6%) наблюдалась гиперандрогения, в 1 случае (1,6%) – гиперальдостеронизм. По результатам патологоанатомического исследования было выполнено стадирование опухоли по системе ENSAT. В 45,2% случаях (n=33) была установлена II стадия, в 32,9% случаях (n=24) – III, в 13,7% случаях (n=10) – I и в 8,2% случаях (n=6) – IV стадия.

Иммуногистохимическая характеристика иммунного микроокружения в различных морфологических подтипах АКР. В паренхиме (n=71) и строме (n=67) исследованных опухолей было обнаружено относительно низкое среднее количество CD45+ иммунных клеток (142 и 187 клеток/мм² соответственно). Медиана значений в паренхиме составила 66 клеток/мм² (27-176), в строме 132 клеток/мм² (Q₁-Q₃:57-253).

Количество CD45+ иммунных клеток в паренхиме (n=36) и строме (n=33) опухоли классического гистологического подтипа АКР составило 44 (Q₁-Q₃: 16-90) и 68 клеток/мм² (Q₁-Q₃: 49-165) соответственно. В то же время, при подсчете количества CD45+ клеток в онкоцитарном подтипе значения в паренхиме (n=18) опухоли были значительно выше и составили 310 клеток/мм² (Q₁-Q₃: 156-414), в строме (n=17) опухоли – 312 клеток/мм² (Q₁-Q₃: 203-389) (Рисунок 2). В группах с миксоидным и смешанным подтипами АКР CD45+ инфильтрация также была сравнительно ниже. В миксоидном подтипе медиана экспрессии CD45 в паренхиме (n=9) и строме (n=9) составила 32 клеток/мм² (Q₁-Q₃: 28-127) и 121 клеток/мм² (Q₁-Q₃: 50-225) соответственно. В группе со смешанными опухолями медиана в паренхиме (n=8) опухоли составила 72 клетки/мм² (Q₁-Q₃:31-124), в строме (n=8) – 116 клеток/мм² (Q₁-Q₃: 78-181). При сравнительном анализе CD45+ инфильтрации в зависимости от гистологического подтипа опухоли были установлены значимые различия как в паренхиме (p<0,001), так и в строме (p<0,001) опухоли, что было обусловлено разницей между группами с классическим и онкоцитарным подтипами (p<0,001 в паренхиме и строме).

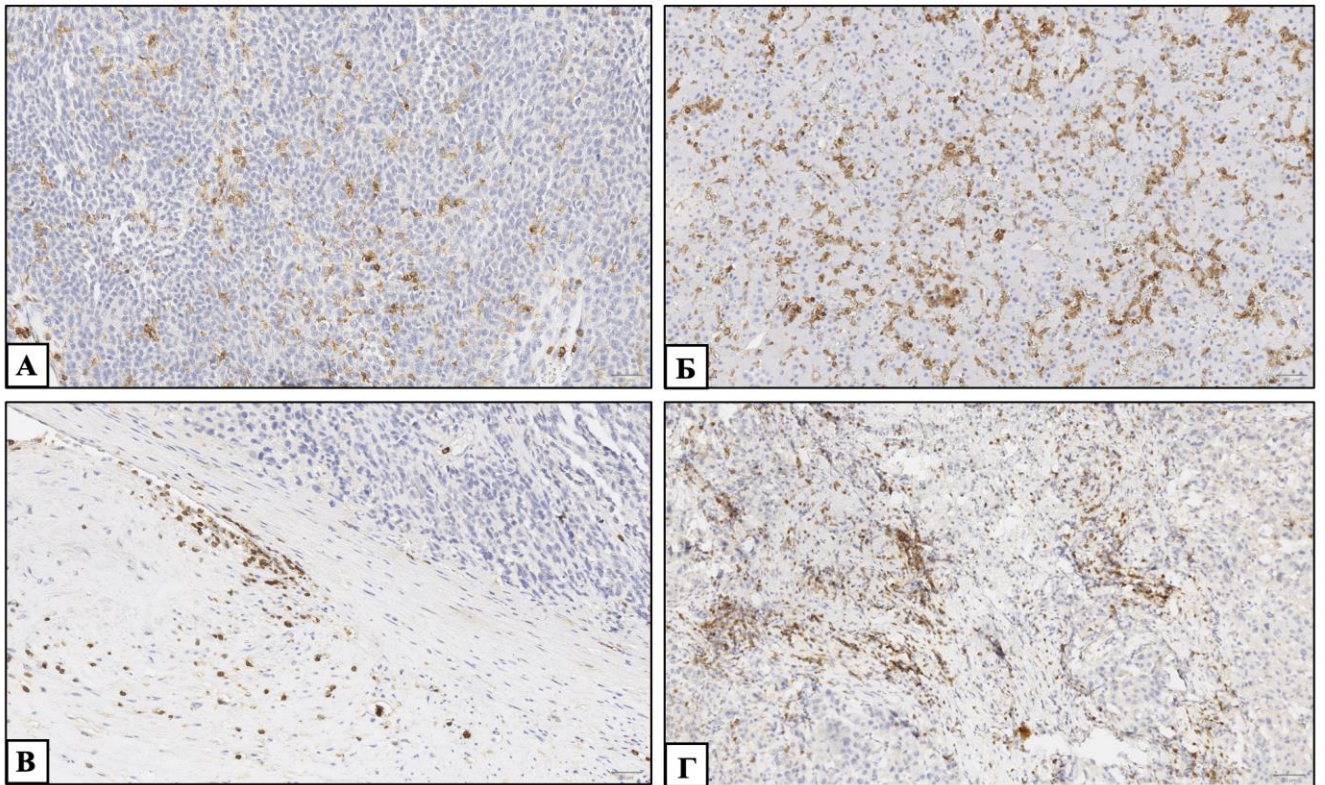


Рисунок 2 – ИГХ реакция с антителами к CD45. А – Классический подтип АКР. Паренхима опухоли. x100. Б – Онкоцитарный подтип АКР. Паренхима опухоли. x100. В – Классический подтип АКР. Строма опухоли. x100. Г – Онкоцитарный подтип АКР. Строма опухоли. x100

В группе пациентов со смешанной гормональной активностью по сравнению с группой пациентов с гиперкортицизмом отмечается более выраженная CD45+ иммунная инфильтрация в паренхиме ($p=0,010$) и строме опухоли ($p=0,013$). В группе со смешанной гормональной активностью также наблюдался более высокий уровень CD45+ клеток в строме по сравнению с группой с отсутствием гормональной активности ($p=0,043$).

Среднее количество CD3+ иммунных клеток в паренхиме ($n=73$) и строме ($n=65$) в исследуемых образцах АКР составило 52 и 94 клетки/мм² соответственно. В паренхиме ($n=38$) опухоли классического подтипа АКР медиана составила 17 клеток/мм² (Q₁-Q₃: 9-38), в строме ($n=32$) опухоли – 45 клеток/мм² (Q₁-Q₃: 20-99). Значения медиан количества клеток в образцах опухоли и группы онкоцитарного подтипа было значительно выше, в паренхиме ($n=18$) – 63 клетки/мм² (Q₁-Q₃: 33-162), в строме ($n=16$) – 121 клетка/мм² (Q₁-Q₃: 42-196). При анализе экспрессии данного маркера в различных гистологических подтипах АКР статистически значимые различия были отмечены только в паренхиме опухоли ($p<0,001$), данные различия также обусловлены более выраженной CD3+ иммунной инфильтрацией онкоцитарного подтипа АКР по сравнению с классическим ($p<0,001$).

Среднее количество CD4+ иммунных клеток в паренхиме ($n=71$) и строме ($n=67$) исследуемых образцов опухоли составило 7 и 18 клеток/мм² соответственно. При анализе экспрессии CD4+ клеток в различных гистологических подтипах АКР были выявлены

значимые различия только в паренхиме опухоли ($p=0,002$), которые были обусловлены более выраженной инфильтрацией в онкоцитарном подтипе АКР по сравнению с классическим ($p<0,001$). В то же время было установлено, что в группе пациентов со смешанной гормональной активностью по сравнению с группой пациентов с гиперкортицизмом на уровне статистической тенденции отмечается более выраженная CD4+ иммунная инфильтрация как в паренхиме ($p=0,049$), так и в строме опухоли ($p=0,028$).

Среднее количество CD8+ иммунных клеток в паренхиме ($n=72$) и строме ($n=67$) исследуемых образцов АКР составило 34 и 53 клетки/мм² соответственно. При анализе экспрессии CD8 в различных гистологических подтипах АКР статистически значимые различия были отмечены только в паренхиме опухоли ($p=0,004$), данные различия также обусловлены более выраженной CD8+ иммунной инфильтрацией в паренхиме онкоцитарного гистологического подтипа АКР в сравнении с классическим ($p=0,003$).

Среднее количество CD68+ иммунных клеток в паренхиме и строме опухоли составило 109 и 114 клеток/мм² соответственно. Однако несмотря на некоторые колебания в значениях медианы экспрессии данного маркера между разными гистологическими подтипами, статистически значимых различий ни в паренхиме ($p=0,205$), ни и в строме ($p=0,157$) опухоли установлено не было. Тем не менее при анализе опухолей по наличию отдаленных метастазов выявлено, что в образцах, полученных от пациентов с отсутствием признаков метастазирования АКР, наблюдается достоверно более высокий уровень CD68+ иммунной инфильтрации в паренхиме опухоли ($p=0,009$).

Выполнен анализ экспрессии PD-L1 в АКР. Позитивный PD-L1-статус был выявлен в 6,8% (5 из 73) случаях АКР, негативный PD-L1-статус – в 93,2% (68 из 73) наблюдений. По результатам исследования было установлено, что в образцах опухоли с положительной экспрессией PD-L1 отмечалась значительно менее выраженная CD68+ иммунная инфильтрация в паренхиме опухоли (16 vs 72 клетки/мм² соответственно; $p=0,008$).

Прогностическое значение иммунного микроокружения при аденокортикальном раке. На данном этапе был проведен анализ выживаемости исследуемой выборки пациентов ($n=73$). Медиана времени наблюдения за пациентами составила 34 мес. (от 4 до 205 мес).

При анализе 5-летней выживаемости было установлено, что пациенты с онкоцитарным подтипом АКР имели максимальное значение общей выживаемости (ОВ) равное 100%, которое сохранялось на данном уровне в течение всего периода наблюдения, а именно 17,5 лет. У больных с классическим подтипом 5-летняя ОВ была значительно ниже и составляла 45,3%, у больных с миксоидным подтипом – 75,0%, а со смешанным подтипом – 84,6%. При оценке влияния гистологического подтипа на ОВ пациентов с АКР отмечалось значимое различие ($p=0,008$), что было обусловлено различиями между классическими и онкоцитарными

подтипами ($p=0,003$), а также между миксоидным и смешанным подтипами АКР ($p<0,001$) (Рисунок 3А).

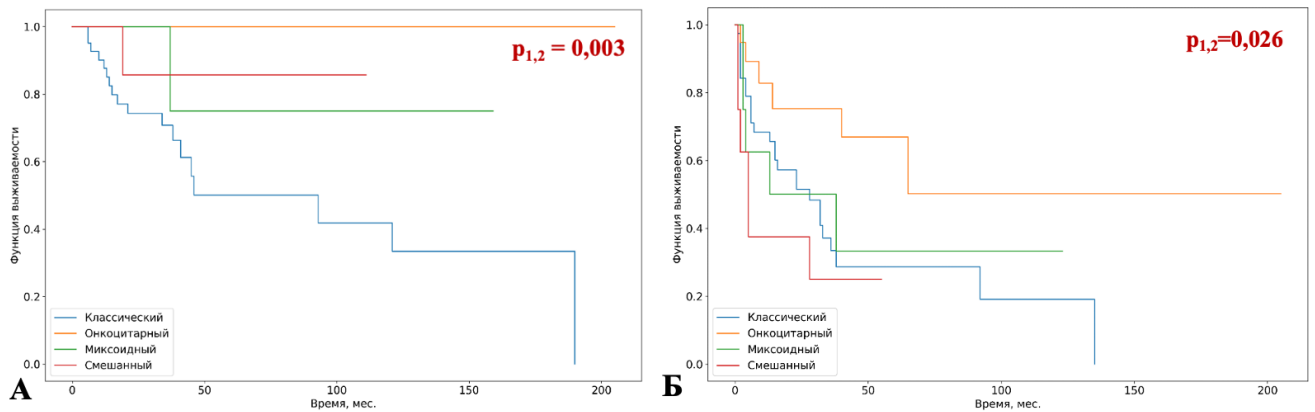


Рисунок 3 – Кривые Каплана-Майера характеризующие: А – ОБ в зависимости от гистологического подтипа АКР; Б – БРВ в зависимости от гистологического подтипа АКР

Анализ 5-летней ОБ пациентов с различным количеством CD45+ иммунных клеток в паренхиме опухоли показал, что у пациентов с количеством иммуноцитов выше медианы (66 клеток/ мм^2) 5-летняя ОБ составила $87,0\%$, в то время как у пациентов с меньшим количеством клеток – $46,0\%$ ($p=0,005$) (Рисунок 4А). Пациенты с числом CD45+ клеток в строме опухоли выше медианы (132 клетки/ мм^2) имели выживаемость $81,7\%$, а пациенты с количеством CD45+ иммунных клеток ниже медианы – $56,6\%$ ($p=0,145$).

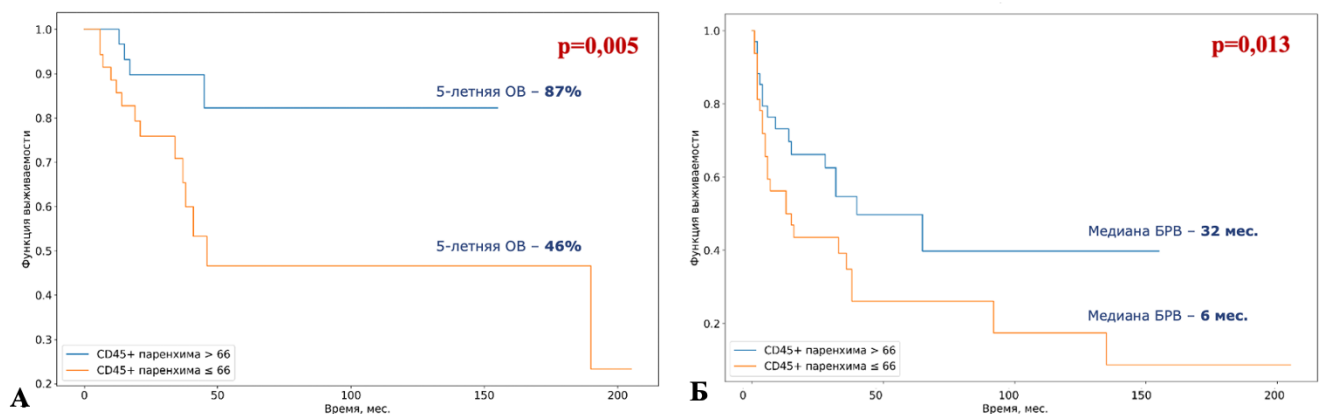


Рисунок 4 – Кривые Каплана-Майера характеризующие: А – ОБ в зависимости от уровня CD45+ иммунных клеток в паренхиме опухоли; Б – БРВ в зависимости от уровня CD45+ иммунных клеток в паренхиме опухоли

Аналогичные результаты отмечались при анализе ОБ пациентов в зависимости от экспрессии других иммунных маркеров, значимые различия были выявлены лишь в паренхиме опухоли. 5-летняя ОБ больных в группе с количеством CD3+ иммунными клетками в паренхиме опухоли выше медианы (26 клеток/ мм^2) составила $85,4\%$, у пациентов с CD3+ иммунными клетками ниже медианы – $49,6\%$ ($p=0,013$). В случае с CD4+ иммунными клетками

в паренхиме опухоли, пациенты с количеством клеток выше медианы (2 клетки/мм²) имели выживаемость 70,1%, а пациенты с количеством CD4⁺ клеток ниже медианы – 62,3% (p=0,033). Общая 5-летняя выживаемость больных в группе с CD8⁺ иммунными клетками в паренхиме опухоли выше медианы (9 клеток/мм²) составила 82,1%, выживаемость пациентов с количеством CD8⁺ иммунных клеток ниже медианы – 54,8%, в данных группах также отмечались статистически значимые различия (p=0,015). И наконец, пациенты с CD68⁺ клетками в паренхиме опухоли выше медианы демонстрировали 5-летнюю ОВ 78,8%, в то время как у тех, у кого инфильтрация была ниже, она составляла 53,2%, тем не менее не смотря на некоторые различия, статистической значимости отмечено не было (p=0,068).

Оценка влияния статуса PD-L1 опухоли на выживаемость показала, что ОВ пациентов с экспрессией PD-L1 статистически значимо ниже, чем у пациентов с PD-L1-негативными опухолями (p<0,001).

Дополнительно был проведен однофакторный анализ выживаемости в регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса, в ходе которого было установлено, что факторами достоверно влияющими на продолжительность ОВ пациентов с АКР являются: уровень CD45⁺ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,2; 95% CI: 0,05-0,69; p=0,011) – при увеличении значения CD45⁺ иммунных клеток в паренхиме опухоли на 1,0 отмечается снижение риска летального исхода в 5 раз; уровень CD3⁺ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,5; 95% CI: 0,34-0,9; p=0,05) – увеличение значения CD3⁺ иммунных клеток в паренхиме опухоли на 1,0 соответствовало снижению риска летального исхода в 2 раза; уровень CD4⁺ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,8; 95% CI: 0,68-0,97; p=0,049) – увеличение значения CD4⁺ иммунных клеток в паренхиме опухоли на 1,0 соответствовало снижению риска летального исхода в 1,25 раза; уровень CD8⁺ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,3; 95% CI: 0,09-0,89; p=0,023) – при увеличении значения CD8⁺ иммунных клеток в паренхиме опухоли на 1,0 отмечается снижение риска летального исхода примерно в 3,33 раз; а также PD-L1 статус опухоли (HR=6,9; 95% CI: 1,8-26,6; p=0,005) – экспрессия PD-L1 в 6,9 раз повышала риск летального исхода у пациентов с АКР.

Медиана безрецидивной выживаемости (БРВ) пациентов с классическим подтипами АКР составила 15 (4; 33) мес., пациентов с онкоцитарным подтипом – 27 (7; 53) мес., с миксоидным – 13 (3; 38) мес., со смешанным – 16,5 (3; 35,5) мес. 5-летняя БРВ была максимальной у пациентов с онкоцитарным подтипом АКР и составляла 62,0%, в случаях с классическим подтипом – 26,9%, при миксоидном и смешанном – 29,6% и 37,5%, соответственно. Зависимость риска развития рецидива от гистологического подтипа АКР была статистически значимой (p=0,03), данные различия обусловлены лучшей БРВ пациентов с онкоцитарным

подтипом АКР в сравнении с пациентами с классическим подтипом опухоли ($p=0,026$) (Рисунок 3Б).

Однолетняя БРВ пациентов при количестве CD45+ иммунных клеток в паренхиме опухоли выше медианы (66 клеток/мм²) составила 67,0%, при количестве ниже медианы – 38,4% ($p=0,013$) (Рисунок 4Б). Однолетняя БРВ пациентов при количестве CD45+ иммунных клеток в строме опухоли выше медианы (132 клеток/мм²) составила 67,3%, при количестве ниже медианы – 42,2% ($p=0,1$).

При анализе зависимости БРВ от экспрессии других иммунных маркеров значимые различия также были отмечены лишь в паренхиме опухоли. Исследование одногодичной БРВ пациентов показало, что при наличии количества CD3+ иммунных клеток в паренхиме опухоли, превышающей медианное значение (26 клеток/мм²), выживаемость составляет 63,4%, в то время как для пациентов с количеством клеток ниже медианного уровня, данный показатель составил 42,6% ($p=0,031$). Однолетняя БРВ пациентов в группе больных с CD4+ иммунными клетками в паренхиме опухоли выше медианного уровня (2 клетки/мм²) составила 60,2%, в группе пациентов, имеющих количество CD4+ иммунных клеток ниже медианы – 46,2% ($p=0,002$). Однолетняя БРВ пациентов при количестве CD8+ иммунных клеток в паренхиме опухоли выше медианы (9 клеток/мм²) составила 64,3%, при количестве иммуноцитов ниже медианы – 43,9% ($p=0,031$). Значимых различий БРВ пациентов в зависимости от количества CD68+ клеток ни в паренхиме ($p=0,847$) ни в строме опухоли ($p=0,59$) отмечено не было.

При оценке влияния статуса PD-L1 опухоли на БРВ было установлено, что пациенты с экспрессией PD-L1 демонстрируют статистически значимо более низкую БРВ, чем пациенты с PD-L1-негативными опухолями ($p<0,001$).

При проведении однофакторного анализа выживаемости было установлено, что факторами достоверно влияющими на продолжительность БРВ пациентов с АКР являются: уровень CD45+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,5; 95% CI: 0,3-0,9; $p=0,018$) – увеличение значения CD45+ иммунных клеток в паренхиме опухоли снижает риска развития рецидива в 2 раза; уровень CD3+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,6; 95% CI: 0,3-0,9; $p=0,049$) – увеличение значения CD3+ иммунных клеток в паренхиме опухоли снижает риска развития рецидива примерно в 1,7 раз; уровень CD4+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,8; 95% CI: 0,7-0,9; $p=0,031$) – увеличение значения CD4+ иммунных клеток в паренхиме опухоли снижает риска развития рецидива в 1,25 раз; уровень CD8+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,5; 95% CI: 0,3-0,9; $p=0,037$) – увеличение значения CD8+ иммунных клеток в паренхиме опухоли снижает риска развития рецидива в 2 раза; а также PD-L1 статус опухоли (HR=2,8; 95% CI: 1,54-4,57; $p=0,005$) – экспрессия PD-L1 в 2,8 раз повышает риск развития рецидива у пациентов с АКР.

Прогностические модели для оценки рецидива и выживаемости пациентов с аденокортикальным раком. Для разработки прогностической модели, описывающей изменения ОВ был использован многофакторный регрессионный анализ методом пошагового исключения по Вальду. В результате отбора предикторов была получена следующая математическая модель (1):

$$h_i(t) = h_0(t) * \exp(-25,5*X_1 + 18,6*X_2 - 13,3*X_3 - 23,6*X_4 + 17,1*X_5) \quad (1)$$

где $h_i(t)$ – риск летального исхода от АКР у i -го пациента (в %), $h_0(t)$ – базовый риск летального исхода от АКР в течение срока наблюдения t (в %), X_1 – количество CD45+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (клеток/мм²), X_2 – количество CD45+ иммунных клеток в строме опухоли (клеток/мм²), X_3 – количество CD8+ иммунных клеток в строме опухоли (клеток/мм²), X_4 – количество CD68+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (клеток/мм²), X_5 – количество CD68+ иммунных клеток в строме опухоли (клеток/мм²).

Полученная регрессионная модель была статистически значимой ($p=0,01$, χ^2).

Операционные характеристики тестовой выборки: диагностическая чувствительность (ДЧ) = 75%; диагностическая специфичность (ДС) = 78%; прогностическая ценность положительного результата (ПЦПР) = 60%; прогностическая ценность отрицательного результата (ПЦОР) = 88%.

Также с помощью многофакторного регрессионного анализа методом пошагового исключения по Вальду была разработана математическая модель для прогнозирования риска рецидива АКР (2):

$$h_i(t) = h_0(t) * \exp(-4,4*X_1 + 4,1*X_2 - 1,1*X_3 - 1,7*X_4 + 0,3*X_5 + 1,8*X_6) \quad (2)$$

где $h_i(t)$ – риск рецидива АКР у i -го пациента (в %), $h_0(t)$ – базовый риск рецидива АКР в течение срока наблюдения t (в %), X_1 – количество CD45+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (клеток/мм²), X_2 – количество CD45+ иммунных клеток в строме опухоли (клеток/мм²), X_3 – количество CD3+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (клеток/мм²), X_4 – количество CD4+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (клеток/мм²), X_5 – количество CD4+ иммунных клеток в строме опухоли (клеток/мм²), X_6 – количество CD8+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (клеток/мм²).

Полученная регрессионная модель также была статистически значимой ($p = 0,002$, χ^2).

Операционные характеристики тестовой выборки: ДЧ = 55%; ДС = 88%; ПЦПР = 86%; ПЦОР = 58%.

На основании проведенного исследования и полученных результатов, разработан индивидуальный прогностический алгоритм риска летального исхода и развития рецидива АКР (Схема 1).

ВЫВОДЫ

1. Адренокортикальный рак характеризуется низкой иммунной инфильтрацией как в паренхиме, так и в строме опухоли – среднее количество CD45+ иммунных клеток в паренхиме опухоли составляет 142 клетки/мм², в строме опухоли – 187 клеток/мм². Онкоцитарный гистологический подтип в сравнении с классическим подтипом адренокортикального рака характеризуется значимо более выраженной CD45+ иммунной инфильтрацией в паренхиме (310 vs 44 клетки/мм² соответственно; $p < 0,001$) и в строме (312 vs 68 клеток/мм² соответственно; $p < 0,001$) опухоли, CD3+ иммунной инфильтрацией в паренхиме опухоли (63 vs 17 клеток/мм² соответственно; $p < 0,001$), CD4+ иммунной инфильтрацией в паренхиме опухоли (9 vs 2 клетки/мм² соответственно; $p < 0,001$), а также CD8+ иммунной инфильтрацией в паренхиме опухоли (28 vs 6 клеток/мм² соответственно; $p = 0,003$).

2. Опухоли пациентов со смешанной гормональной активностью по сравнению с опухолями пациентов с гиперкортицизмом характеризуются более выраженной CD45+ иммунной инфильтрацией как в паренхиме (427 vs 38 клеток/мм² соответственно; $p = 0,01$), так и в строме опухоли (529 vs 80 клеток/мм² соответственно; $p = 0,013$). Также в образцах опухолевой ткани от пациентов со смешанной гормональной активностью по сравнению с группой с отсутствием гормональной активности отмечается более высокий уровень CD45+ иммуноцитов в строме опухоли (529 vs 121 клеток/мм² соответственно; $p = 0,043$), CD4+ иммуноцитов в паренхиме (9 vs 2 клетки/мм² соответственно; $p = 0,049$) и строме опухоли (67 vs 8 клеток/мм² соответственно; $p = 0,028$). У пациентов с адренокортикальным раком без признаков отдаленного метастазирования опухоли (M0) наблюдается более высокий уровень CD68+ иммунной инфильтрации в паренхиме опухоли по сравнению с пациентами с выявленными признаками метастазирования (72 vs 16 клеток/мм² соответственно; $p = 0,009$).

3. В PD-L1-позитивных адренокортикальных карциномах отмечается менее выраженная CD68+ иммунная инфильтрация в паренхиме опухоли в сравнении с PD-L1-негативными образцами (3 vs 72 клетки/мм² соответственно; $p = 0,008$), в то же время пациенты с PD-L1-позитивными опухолями демонстрируют более низкую общую ($p < 0,001$) и безрецидивную выживаемость ($p < 0,001$).

4. Факторами достоверно влияющими на общую выживаемость пациентов с адренокортикальным раком являются: морфологический подтип АКР ($p = 0,008$), уровень CD45+

иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,2; 95% CI: 0,05-0,69; p=0,011), уровень CD3+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,5; 95% CI: 0,34-0,9; p=0,05), уровень CD4+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,8; 95% CI: 0,68-0,97; p=0,049), уровень CD8+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,3; 95% CI: 0,09-0,89; p=0,023), а также PD-L1 статус опухоли (HR=6,9; 95% CI: 1,8-26,6; p=0,005).

5. Факторами достоверно влияющими на безрецидивную выживаемость пациентов с аденокортикальным раком являются: морфологический подтип АКР (p=0,03), уровень CD45+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,5; 95% CI: 0,3-0,9; p=0,018), уровень CD3+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,6; 95% CI: 0,3-0,9; p=0,049), уровень CD4+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,8; 95% CI: 0,7-0,9; p=0,031), уровень CD8+ иммунных клеток в паренхиме опухоли (HR=0,5; 95% CI: 0,3-0,9; p=0,037), а также PD-L1 статус опухоли (HR=2,8; 95% CI: 1,54-4,57; p=0,005).

6. Разработанные математические модели, основанные на иммуногистохимической оценке иммунного инфильтрата опухоли позволяют производить прогнозирование риска летального исхода (p=0,01, χ^2) и риска развития рецидива (p=0,002, χ^2) у пациентов с аденокортикальным раком.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для прогнозирования клинического течения аденокортикального рака в дополнение к морфологическому исследованию рекомендуется проведение иммуногистохимического исследования с антителами к CD45, CD3, CD4 и CD8.

2. Иммуногистохимическая оценка экспрессии CD68 в паренхиме опухоли может косвенно указывать на вероятность метастазирования аденокортикального рака.

3. Всем пациентам с аденокортикальным раком необходимо проводить иммуногистохимическое исследование с маркером к PD-L1, поскольку экспрессия данного маркера является значимым независимым неблагоприятным фактором летального исхода и рецидива данного заболевания.

4. При выборе тактики ведения пациентов с аденокортикальным раком для оценки риска летального исхода и рецидива обсуждаемого заболевания рекомендуется применение разработанных математических моделей (Схема 1).

Индивидуальный прогностический алгоритм риска летального исхода и развития рецидива аденокортикального рака на основании иммунного инфильтрата опухоли

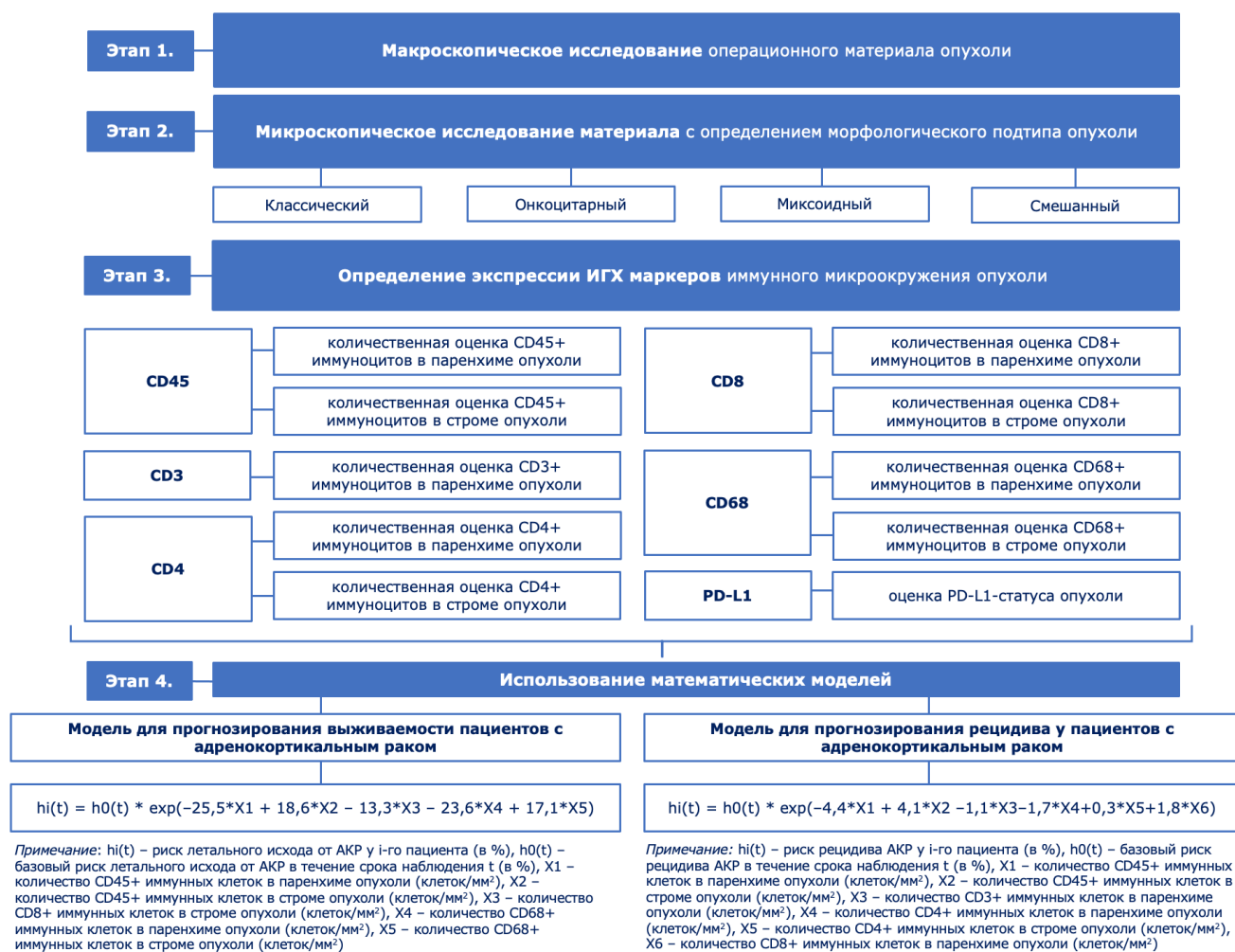


Схема 1 – Индивидуальный прогностический алгоритм риска летального исхода и развития рецидива аденокортикального рака на основании иммунного инфильтрата опухоли

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Прогностические маркеры различных морфологических вариантов аденокортикального рака / Порубаева Э.Э., Пачуашвили Н.В., Л.С. Селиванова // Материалы X научно-практической конференции с международным участием «Путь в науку». – Сборник тезисов. – 2021. – С.21.

2. Иммуногистохимическая характеристика и прогностическое значение субпопуляций опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов, макрофагов и PD-L1 статус в различных морфологических вариантах аденокортикального рака / Пачуашвили Н.В., Порубаева Э.Э., Л.С. Селиванова // Материалы X научно-практической конференции с международным участием «Путь в науку». – Сборник тезисов. – 2021. – С.32.

3. Прогностическое значение субпопуляций опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов, макрофагов и PD-L1 статус в различных вариантах аденокортикального рака / **Пачуашвили Н.В.**, Порубаева Э.Э. // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицинская весна – 2021» – Сборник тезисов. – 2021. – С.359-361.

4. Поиск новых мишеней для терапии аденокортикального рака / **Пачуашвили Н.В.**, Порубаева Э.Э., Селиванова Л.С. // Материалы XVII Международной (XXVI Всероссийская) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых. Сборник тезисов. – 2022. – С.134.

5. Мультифакторная оценка прогностических особенностей аденокортикального рака / Порубаева Э.Э., **Пачуашвили Н.В.**, Урсова Л.С. // Материалы XVII Международной (XXVI Всероссийская) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых. Сборник тезисов. – 2022. – С. 137.

6. Прогностическое значение клинических, иммуногистохимических, морфологических маркеров аденокортикального рака / Порубаева Э.Э., **Пачуашвили Н.В.**, Урсова Л.С. // Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Орфанные заболевания: прошлое, настоящее, будущее» – 2022. – С.60-63.

7. Поиск новых мишеней для терапии аденокортикального рака / **Пачуашвили Н.В.**, Порубаева Э.Э. // Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Орфанные заболевания: прошлое, настоящее, будущее» – 2022. – С.47-50.

8. Иммунное микроокружение опухоли как перспектива таргетной терапии аденокортикального рака / **Пачуашвили Н.В.** // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной проведению международного года фундаментальных наук в интересах устойчивого развития «Теоретические и практические аспекты современной медицины» – 2022. – С. 288-289.

9. Interplay between Immune Cell Infiltration and Tumor Histological Subtype: A Case of Adrenocortical Cancer / Bogolyubova A.V., **Pachuashvili N.V.**, Tkachuk A.V., Mokrysheva N.G., Urusova L.S. // **Cancers**. – 2022. - Vol. 14. - № 21. - P. 5303. [Scopus]

10. Мультифакторная оценка прогностических особенностей аденокортикального рака / Э.Э. Порубаева, **Н.В. Пачуашвили**, Л.С. Урсова // **Архив патологии**. – 2022. – Т. 84. № 5. – С. 20-27. [Scopus]

11. Прогностическое значение клинико-патологических маркеров аденокортикального рака / Э.Э. Порубаева, **Н.В. Пачуашвили**, А.В. Ткачук, Л.С. Урсова // Вопросы онкологии. – 2022. – Т. 68. – № S3. – С. 120.

12. Поиск новых мишеней для терапии аденокортикального рака / **Пачуашвили Н.В.**, Порубаева Э.Э., Урусова Л.С. // Вопросы онкологии. – 2022. – Т. 68. – № S3. – С. 159-160.
13. Иммуногистохимическая характеристика и прогностическое значение иммунного микроокружения при аденокортикальном раке / **Пачуашвили Н.В.**, Порубаева Э.Э., Урусова Л.С. // Злокачественные опухоли. – 2022. – Т. 12 – №3s2-1 – С. 227-228.
14. Иммунное микроокружение опухоли как перспектива таргетной терапии аденокортикального рака / **Пачуашвили Н.В.**, Порубаева Э.Э., Урусова Л.С. // Трансляционная медицина. Материалы V Инновационного Петербургского медицинского форума «Алмазовский медицинский форум» – 2022. – С. 276-277.
15. Прогностическое значение клинико-патологических маркеров аденокортикального рака / Порубаева Э.Э., **Пачуашвили Н.В.**, Урусова Л.С. // Трансляционная медицина. Материалы V Инновационного Петербургского медицинского форума «Алмазовский медицинский форум» – 2022. – С. 285-286.
16. Поиски новых мишеней для терапии аденокортикального рака / **Пачуашвили Н.В.**, Боголюбова-Кузнецова А.В., Урусова Л.С., Порубаева Э.Э., Ткачук А.В. // Материалы IV Съезда патологоанатомов республики Беларусь с международным участием «Современная патологическая анатомия: научно-практический опыт, пути совершенствования и инновационные технологии морфологической диагностики, роль в клинической практике, актуальные проблемы и перспективы развития». – Сборник тезисов. – 2022 – С.258-262.
17. Мультифакторная оценка прогностических особенностей аденокортикального рака / Порубаева Э.Э., **Пачуашвили Н.В.**, Урусова Л.С., Ткачук А.В. // Материалы IV Съезда патологоанатомов республики Беларусь с международным участием «Современная патологическая анатомия: научно-практический опыт, пути совершенствования и инновационные технологии морфологической диагностики, роль в клинической практике, актуальные проблемы и перспективы развития». – Сборник тезисов. – 2022. – С.280-283.
18. Прогностическое значение клинико-патологических маркеров аденокортикального рака / Порубаева Э.Э., **Пачуашвили Н.В.** // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицинская весна – 2022» – Сборник тезисов. – 2022. – С.692-696.
19. Взаимодействие между инфильтрацией иммунных клеток и гистологическим подтипом опухоли: перспективы таргетной терапии аденокортикального рака / **Пачуашвили Н.В.**, Порубаева Э.Э. // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицинская весна – 2022» – Сборник тезисов. – 2022. – С.684-687.

20. The new histological system for the diagnosis of adrenocortical cancer / L. Urusova, E. Porubayeva, **N. Pachuashvili**, A. Elfimova, D. Beltsevich, N. Mokrysheva // **Frontiers in Endocrinology**. – 2023. – Vol. 14. [Scopus]

21. Метастатическое поражение надпочечников. Опыт НМИЦ Эндокринологии / **Н.В. Пачуашвили**, А.А. Рослякова, Э.Э. Порубаева, Д.Г. Бельцевич, А.Н. Гадзыра, Н.А. Дрогалов, А.А. Лазарева, Л.С. Урусова // **Проблемы Эндокринологии**. – 2023. – Т. 69 – №4. – С.11-20. [Scopus]

22. Адrenокортикальный рак: поздняя диагностика заболевания на примере клинического случая / Старостина Е.А., Молашенко Н.В., Левшина А.Р., **Пачуашвили Н.В.**, Шевэ А., Исаева М.П., Гетажеев К.В., Бельцевич Д.Г., Платонова Н.М., Трошина Е.А. // **Терапевтический архив**. - 2023. - Т. 95. - №12. - С. 1179-1184. [Scopus]

23. Prognostic impact of the tumor immune microenvironment in adrenocortical cancer / **N. Pachuashvili**, L. Urusova // Abstract Book of the ESMO Targeted Anticancer Therapies Congress (TAT). – 2023. – Vol. 8 – № 1S2 – P. 6.

24. Новая система стратификации риска адrenокортикального рака / **Пачуашвили Н.В.**, Порубаева Э.Э., Урусова Л.С. // Материалы международного форума «Инновационная онкология» – 2023. – С. 63-64.

25. Иммуногистохимическая характеристика и прогностическое значение иммунного микроокружения при адrenокортикальном раке / **Пачуашвили Н.В.**, Порубаева Э.Э., Урусова Л.С. // Материалы VI Международного форума онкологии и радиотерапии «For Life – 2023» – 2023. – С. 153-154.

26. Новая гистологическая система стратификации риска адrenокортикальных опухолей / Порубаева Э.Э., **Пачуашвили Н.В.**, Елфимова А.Р., Урусова Л.С. // Материалы VI Международного форума онкологии и радиотерапии «For Life – 2023» – 2023. – С. 155-155.

27. Иммунное микроокружение как прогностический фактор при адrenокортикальном раке / **Пачуашвили Н.В.**, Урусова Л.С. // Материалы научно-практической конференции «Абрикосовские чтения» – 2023. – С. 92-93.

28. Новая система стратификации риска адrenокортикального рака / **Н.В. Пачуашвили**, Э.Э. Порубаева, Л.С. Урусова // Материалы конференции «Вычислительная биология и искусственный интеллект» – 2023. – С. 83-84.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АКР – адренкортикальный рак

БРВ – безрецидивная выживаемость

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДС - диагностическая специфичность

ДЧ - диагностическая чувствительность

ИГХ – иммуногистохимическое (исследование)

ОВ – общая выживаемость

ПЦОР - прогностическая ценность отрицательного результата

ПЦПР - прогностическая ценность положительного результата

CD – кластер дифференцировки (англ. cluster of differentiation)

CI – доверительный интервал (англ. confidence interval)

HR – отношение рисков (англ. hazard ratio)

PD-L1 – лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1 (англ. Programmed (cell) Death Ligand 1)