medicinska revija
medical review

UDK: 616.24-006.6-07

Tegeltija D. et al ■ MD-Medical Data 2021;13(2) 059-064

Originalni članci / Original articles

NAŠA PRVA ISKUSTVA U EVALUACIJI PD-L1 EKSPRESIJE

OUR FIRST EXPERIENCES WITH THE EVALUATION OF PD-L1 EXPRESSION

Dragana Tegeltija[1,2], Bosiljka Krajnović[2], Vanesa Sekeruš[1,2], Goran Stojanović[2], Bojan Zarić[1,2], Aleksandra Lovrenski[1,2], Dejan Miljković[1], Tijana Vasiljević[1,3], Siniša Maksimović[2],

[1] Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet Novi Sad, Srbija

[2] Institut za plućne bolesti Vojvodine, Sremska Kamenica, Srbija

[3] Institut za onkologiju Vojvodine, Sremska Kamenica, Srbija

Correspondence to:
Dragana Tegeltija
Univerzitet u Novom Sadu
Medicinski fakultet Katedra za patologiju,
Hajduk Veljkova 3,
21 000 Novi Sad
e-mail: dragana.tegeltija@mf.uns.ac.rs

Ključne reči

nemikrocelularni karcinom, imunohistohemija, ligand proteina programirane smrti1

Key words

non-small cell lung cancer, immunohistochemistry, Programmed cell death-ligand 1;

Sažetak

Uvod: Poslednjih godina tretman sa inhibitorima kontrolnih tačaka ograničen je na pacijente u proširenom stadijumu nemikrocelularnog karcinoma (NSCLC) i visoku ekspresiju PD-L1 određenu imunohistohemijski. **Materijal i metode:** Retrospektivno je analizirana 223C3-PD-L1 ekpresija kod 204 pacijenta sa NSCLC. Procenat vijabilnih ćelija tumora koji pokazuje parcijalnu ili kompletnu obojenost ćelijske membrane bilo kog intenziteta je skor tumorske proporcije (TPS). PD-L1 status je podeljen u tri grupe: negativan (TPS < 1), slaba ekspresija (TPS 1-49%) i visoka ekspresija (TPS ≥ 50%). **Rezultati:** 204 pacijenta (123 muškarca i 81 žena), prosečne starosti od 63,76±9,17 godine (od 31 do 86 godina) su bili uključeni u ovu studiju. Najviše pacijenata je bilo u III iIV stadijumu bolesti NSCLC (179; 87,7%) i imali su dobar performans status (199; 97,5%), pozitivnu istoriju pušenja (176; 86,3%) i histologiju adenokarcinoma (119; 58,3%). TPS je bio negativan u 85/204 (41,7%) pacijenata, 65/20 (31,9%) je pokazivao slabu ekspresiju i 54/204 (26,4%) je imao visoku ekspresiju. **Zaključak:** Ocena PD-L1 ekspresije u NSCLC detektovana u ovoj studiji je bila slična publikovanim rezultatima.

UVOD

Karcinom pluća je vodeći uzrok porasta morbiditeta i mortaliteta od malignih bolesti, češće se dijagnostikuje kod muškaraca i pušača sa tendencijom porasta broja obolelih među ženskom populacijom i kod nepušača. Oko 85% karcinoma pluća pripada grupi nesitnoćelijskih karcinoma (*Non-Small Cell Lung Carcinoma* - NSCLC) u kojoj su najzastupljenija tri histološka podtipa: adenokarcinom (ADC), skvamozni karcinom (SQ) i nemikrocelularni karcinom koji nije moguće dalje klasifikovati (*Not Otherwise Classified*- NOS) [(1)].

Kod oko 75% bolesnika sa NSCLC bolest se dijagnostikuje u proširenom stadijumu kada je dijagnostički uzorak ujedno i jedini uzorak na osnovu koga se vrši odabir najsvrsishodnijeg terapijskog modaliteta. Otkriće mutacija receptora epidermalnog faktora rasta („*Epidermal Growth Factor Receptor"*-EGFR) i translokacija anaplastične limfom kinaze („*Anplastic Lymphoma Kinase"*-ALK) omogućilo je personalizovani pristup bolesnicima i primenu inhibitora tirozin kinaze („*Tyrosine Kinase Inhibitors"*-TKI)[(2, 3, 4, 5, 6)].

S obzirom na činjenicu da primena TKI nije doprinela drastičnom produženju ukupnog vremena preživljavanja („*Overall Survival"*-OS) i vremena preživljavanja bez povratka bolesti („*Disease Free Survival*"-DFS) pristupilo se proučavanju imunog sistema i njegove uloge u borbi protiv tumora[(7, 8)].

Humana monoklonalna antitela (HMA) se vezuju za ligand proteina programirane smrti 1 („*Programmed Cell Death Ligand"*- PD-L1), blokiraju interakciju PD-1 sa PD-L1 i PD-L2 i „blokadom blokade" aktiviraju zakočen imuni sistem. Preduslov za dobar terapijski odgovor primenjene HMAjeste pozitivna imunohistohemijska ekspresija PD-L1 u tumoru[(9, 10, 11, 12, 13)]. Pozitivna ekspresija PD-L1 predstavlja kompletnu ili parcijalnu linearnu obojenost membrane očuvanih ćelija tumora bilo kog intenziteta, izražava se kao procentualni udeo pozitivnih ćelija tumora u odnosu na ukupan broj očuvanih ćelija tumora čiji je minimalni broj određen prema upustvu proizvođača komercijalno dostupnih i od Agencije za hranu i lekove odobrenih antitela [(14)]. Pozitivna ekspresija PD-L1 se beleži u oko 30% slučajeva NSCLC, češće kod muškaraca i pušača. Primena HMA se preporučuje i nakon R0 resekcije „*wild type"* EGFR ADC i ADC bez ALK translokacija, a sa pozitivnom PD-L1 ekspresijom čija „*cut off*" vrednost zavisi od vrste upotrebljenog antitela[(15, 16, 17)].

CILJEVI ISTRAŽIVANJA:

Prikazati demografske karakteristike, pušačke navike, performans status, klinički stadijum bolesti i histološki tip tumora kod bolesnika sa nemikrocelularnim karcinomom pluća.

Izvršiti procenu ekspresije PD-L1 u nemikrocelularnom karcinomu pluća.

Utvrdi da li postoji statistički začajna povezanost ili razlika između ekspresije PD-L1 sa: demografskim karakteristikama, pušačkim navikama, performans statusom i kliničkim stadijumom.

Utvrditi da li postoji statistički značajna povezanost između PD-L1 ekspresije i histološkog tipa tumora.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je bilo retrospektivnog karaktera, sprovedeno je na Institutu za plućne bolesti Vojvodine u Sremskoj Kamenici u periodu od 01.06. 2019. do 1.10.2020.

U istraživanje je bilo uključeno 204 bolesnika kod kojih je u bronhološkom uzorku postavljena dijagnoza karcinoma pluća. Demografske karakteristike (pol i starost), pušačke navike (nepušač/bivši pušač ilipušač), performans status (0 ili 1 ili 2 ili 3), klinički stadijum bolesti (I-IV), histološki tip tumora (adenokarcinom ili skvamozni karcinom ili nemikrocelularni karcinom koji se ne može dalje klasifikovati – NOS) i vrednost PD-L1 ekspresijesu preuzeti iz Zdravstvenog informacionog sistema. Za svakog bolesnika je na osnovu bojenja hematoksilinom i eozinom bio odabran po jedan uzorak sa 100 i više očuvanih ćelija tumora koji je nakon toga bio bojen komercijalnim primarnim antitelom za procenu PD-L1 ekspresije (*Monoclonal Mouse Anti-uman* PD-L1, *Clone* 22C3-*Dako, Glostrup, Denmark*, M3653). Procenu ekspresije PD-L1 su odredila nezavisno dva patologa, a konačni rezultat je postignut koncenzusom. U slučaju neslaganja traženo je mišljenje trećeg patologa. Svi uzorci su na osnovu procenta ekspresije ćelija tumora (*Tumor Proportion Score*– TPS) svrstani u tri grupe. Grupa 1 su bili uzorci u kojima je TPS < 1, Grupa 2 sa uzorcima u kojima je TPS bio 1-49% ili Grupa 3 u kojima je TPS3bio ≥ 50%. Uzorci koji su bili u trećoj grupi su smatrani pozitivnim.

Za analizu podataka korišćene su deskriptivne statističke metode, metode za testiranje statističkih hipoteza i metode za ispitivanje korelacije. Od deskriptivnih statističkih metoda korišćene su mere centralne tendencije (aritmetička sredina), mere varijabiliteta (standardna devijacija) i relativni brojevi (pokazatelji strukture). Od metoda za testiranje statističkih hipoteza korišćene su neparametarske statističke analize (χ^2 test i Fisher's test). Korelacija između parametara je ispitana uz pomoć Cramer's V korelacionog koeficijenta. Hipoteze su testirane na nivou statističke značajnosti (α nivo) od 0,05. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

REZULTATI

Od ukupno 204 bolesnika koji su bili uključeni u istraživanje muškaraca je bilo 123(60,3%), žena 81 (39,7%) prosečne starosti od 63,76 godine (ranga od 31 do 86 godina) (Grafikon 1). Muškarci i žene su sa udelom od 67,2% bili najbrojniji u drugoj starosnoj grupi (51-70 godina) (Tabela 1.). Bolesnici su najčešće imali: pozitivne pušačke navike (176; 86,3%), dobar performans status (199; 97,5%) i bili u III i IV stadijumu bolesti (179; 87,7%).

Grafikon 1. *Polna distribucija*

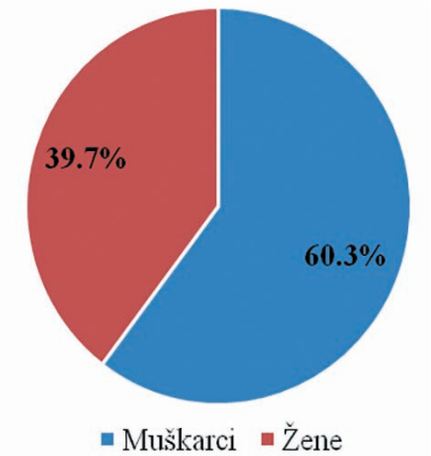
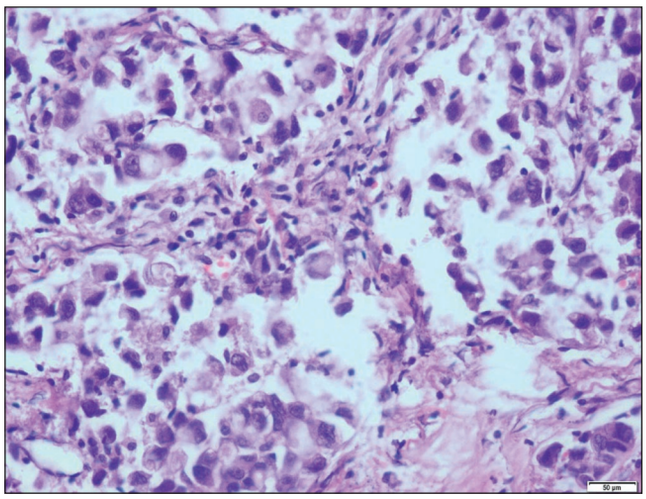


Tabela1. *Polna distribucija premastarosnoj dobi*

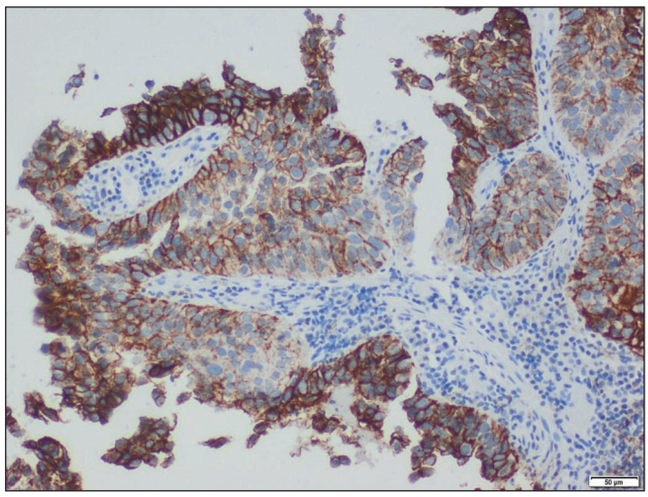
Starosne grupe	Muškarci (%)	Žene (%)	Ukupno (%)
31-50	9 (4,4)	10 (4,9)	19 (9,3)
51-70	88 (43,1)	49 (24,0)	137 (67,2)
71-86	26 (12,7)	22 (10,8)	48 (23,5)
Ukupno (%)	123 (60,3)	81 (39,7)	204 (100,0)

Adenokarcinom (Slika 1) je bio najčešće dijagnostikovan histološki tip (119;58,3%) podjednako kod muškaraca i žena. Nasuprot tome, skvamozni karcinom je bio češći u muškoj populaciji (M:Ž; 58:17).

PD-L1 ekspresija je procenjena u svim adekvatnim bronhološkim uzorcima koji su bili uzeti od bolesnika uključenim u istraživanje. Najveći broj uzoraka se nalazi u grupi TPS1; 85/204 (41,7%) i grupi TPS2; 65/204 (31,9%). Pozitivan nalaz (grupaTPS3) zabeležen je u uzorcima kod 54/204 (26,5%) bolesnika (Slika 2). Distribucija PD-L1 ekspresije prema polu, pušačkim navikama, performans statusu, stadijumu bolesti i histološkom tipu karcinoma pluća je prikazana u Tabeli 2. Pri analizi distribucije PD-L1 prema polu, veći broj pozitivnih nalaza PD-L1 ekspresije je nađen kod 29/204 (14,2%) žena nego kod muškaraca (25/204; 12,3%), međutim ta razlika nije statistički značajna. S obzirom na veći broj muškaraca u ovoj studiji, veći je broj negativnih nalaza PD-L1 ekspresije (PD-L1 - 1% i PD-L1 1-49%) kod muškog pola 98/204 (48,1%) u odnosu na ženski pol 52/204 (25,5%) što ukazuje na slabu povezanost PD-L1 ekspresije sa muškim polom (χ^2 = 6,27; p = 0,045; Cramer's V = 0,175). Pozitivan nalaz PD-L1 ekspresije (PD-L1 ≥ 50%) je prisutan samo u starosnim grupama 51-70 godina i 71-86 godina (54/205; 26,5%). Broj negativnih nalaza PD-L1 ekspresije je znatno veći u odnosu na pozitivan nalaz, pogotovo u starosnoj grupi 51-70 godina. Prisutna je slaba povezanost PD-L1 ekspresije sa starosnom dobi bolesnika (χ^2 = 9,85; p = 0,042; Cramer's V = 0,220). Povezanost između ostalih parametara i PD-L1 ekspresije nije nađena.



Slika 1. *Adenokarcinom pluća (H&E; 400X)*



Slika 2. *Pozitivna ekspresija PD-L1 (TPS ≥50%, 200X)*

Tabela 2*. Distribucija PD-L1 ekspresije prema demografskim karakteristikama, pušačkim navikama, performans statusu, kliničkom stadijumu bolesti i histološkom tipu*

Karakteristike	**n (%)**	**PD-L1 < 1%**	**PD-L1 1-49%**	**PD-L1 ≥ 50%**	**χ^2,Fisher's test /p**
Pol					
Muško	123 (60,3)	54 (26,5)	44 (21,6)	25 (12,3)	6,28 / 0,045
Žensko	81 (39,7)	31 (15,2)	21 (10,3)	29 (14,2)	
Starost (godine)					
31-50	19 (9,3)	9 (4,4)	10 (4,9)	0 (0,0)	9,85 / 0,042
51-70	137 (67,2)	53 (26,0)	42 (20,6)	42 (20,6)	
71-86	48 (23,5)	23 (11,3)	13 (6,4)	12 (5,9)	
Pušačke navike					
Nepušači	28 (13,7)	17 (8,3)	7 (3,4)	4 (2,0)	5,32 / 0,260
Bivši	49 (24,0)	20 (9,8)	15 (7,4)	14 (6,99)	
Sadašnji	127 (62,3)	48 (23,5)	43 (21,1)	36 (17,6)	
Performans status					
0	9 (4,4)	6 (2,9)	0 (0,0)	3 (1,5)	8,94 / 0,078
1	190 (93,1)	76 (37,3)	65 (31,9)	49 (24,0)	
2	4 (2,0)	2 (1,0)	0 (0,0)	2 (1,0)	
3	1 (0,5)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Stadijum bolesti					
IA	7 (3,4)	3 (1,5)	3 (1,5)	1 (0,5)	12,99 / 0,489
IB	5 (2,5)	2 (1,0)	1 (0,5)	2 (1,0)	
IIA	4 (2,0)	2(1,0)	2 (1,0)	0 (0,0)	
IIB	9 (4,4)	1 (0,5)	1 (0,5)	6 (2,9)	
IIIA	28 (13,7)	9 (4,4)	9 (4,4)	8 (3,9)	
IIIB	34 (16,7)	12 (5,9)	12 (5,9)	27 (13,2)	
IV	113 (55,4)	35 (17,2)	35 (17,2)	2 (1,0)	
IVB	4 (2,0)	2 (1,0)	2 (1,0)	54 (26,5)	
Histološki tip					
ADC	119 (58,3)	51 (25,0)	37 (18,1)	31 (15,2)	0,85 / 0,959
SQ	75 (36,8)	31 (15,2)	24 (11,8)	20 (9,8)	
NOS	10 (4,9)	3 (1,5)	4 (2,0)	3 (1,5)	
Ukupno	204 (100,0)	85 (41,7)	65 (31,9)	54 (26,5)	

DISKUSIJA

Iako od karcinoma pluća oboleva sve veći broj žena ovo oboljenje je još uvek zastupljenije među muškom populacijom [18, 19]. Takav stav potvrđuju rezultati naše studije u kojoj je broj muškaraca bio za 1,5 puta veći u odnosu na broj žena, ali ta razlika nije bila od statističkog značaja. Od karcinoma pluća mogu da obole osobe svih uzrasta, ali je najzastupljeniji u sedmoj i osmoj deceniji života[20, 21] što su potvrdili i rezultati našeg istraživanja. Naime, najmlađi bolesnik koji je bio uključen u naše istraživanjeimao je 31 godinu života, a najstariji 86 godina. Prosečna starost svih ispitanika u našem istraživanju iznosila je 63,76 godine i bila je neznatno veća kod muškaraca (64,28 vs 62,96). Najfrekventnija je bila druga grupa starosti (51-70 godina) sa udelom od: 88/204 (43,1%) u muškoj populaciji i 49/204 (24,0%) kod žena.

Zbog lošeg stila života i socioepidemioloških prilika broj bivših (n=49) i aktivnih (n=127) pušača u našem istraživanju je veći od broja nepušača (n=28) što je u suprotnosti sa podacima drugih autora[20, 21, 22]. Međutim, početkom XXI veka pre svega zbog promena u duvanskoj industriji, propagiranje loših stilova života putem elektronskih i drugih medija, loših efekata kampanja o zabrani pušenja i nesprovođenja zakonskih odredbi o zabrani pušenja sve je više mlađih nepušača žena obolelih od adenokarcinoma pluća[21, 23, 24]. U našem istraživanju svega 28 od 204 bolesnika (13,7%) nije pušilo, od toga žena je bilo 11.

Rezultati ovog istraživanja su pokazali da je najviše bolesnika bilo u III i IV kliničkom stadijumu bolesti što je u saglasnosti sa rezultatima drugiih autora[25, 26]. Identična distribucija stadijuma bolesti u našem istraživanju je najverovatnije posledica istovetnih kriterijuma prilikom uključivanja bolesnika u istraživanje, ali i indirektni pokazatelji loše zdravstvene prosvećenost i manjkavosti zdravstvenog sistema usled nerazvijenog skrining programa u rizičnoj populaciji. Smatramo da će u budućnosti zbog primene inovativne terapije karcinom pluća biti hronično oboljenje koje će, zahvaljujući skriningu karcinoma pluća, biti dijagnostikovano u nižem stadijumu bolesti.

U ranom registracionom periodu (1977.-1981.), skvamozni karcinom je bio zastupljeniji (32%) u odnosu na adenokarcinom (<30%). Poslednjih decenija je došlo do promene ovog odnosa čemu je doprinela primena imunohistohemijskih metoda bojenja koje su omogućile precizniju diferencijaciju između pojedinih histoloških tipova karcinoma pluća[27, 28]. U naše istraživanje su bili uključeni bolesnici čiji je performans status bio: 0 (n=9), 1 (n=190), 2 (n=4) i 3 (n=3). Jedan od kriterijuma za uključivanje bolesnika u istraživanje o proceni ekspresije PD-L1 jeste performans status. Randomizacija bolesnika na osnovu performans statusa pruža mogućnost upoređivanja efikasnosti i sigurnosti imunoterapeutika kao i predviđanje odgovora na imunološku terapiju[26]. U našem istraživanju adenokarcinom je sa udelom od 58,3% bio zastupljeniji u odnosu na SQ (36,8%) i NSCLC-NOS (4,9%).

Brojni faktori kao što su: sitnogranulirana citoplazma, nespecifično pozadinsko bojenje, artefakti nastali prilikom sečenja, nekroza tumora ili loša fiksacija u preanalitičkoj fazi obrade, otežavaju procenu ekspresije PD-L1. Pozitivna ekspresija PD-L1 predstavljena je kao membransko bojenje ćelija tumora i imunog sistema (limfociti i makrofagi). Uzorci koji se koriste za imunohistohemijsko bojenje PD-L1 mogu da budu: biopsijski patohistološki (bronhološki ili hirurški) i citološki aspiracioni uzorci koji su pripremljeni kao ćelijski blok. Broj očuvanih ćelija koji je potreban za procenu ekspresije PD-L1 zavisi od upotrebljenog antitela tako da je za antitelo: SP142 – 50,28-8- 100 i 22C3 -100. Bojenje PD-L1 ekspresije vrši se na dve platforme, Dako i Ventana [14]. Granična vrednost u proceni PD-L1 ekspresije, zavisi od upotrebljenog antitela, za 28-8 ukoliko je pozitivno ≥ 1% očuvanih ćelija tumora iza antitela 22C3 ≥ 50%. Rezultati studija su pokazali da: postoji visok stepen slaganja i interopserverska reproducibilnost za 28-8, 22C3 i SP263; je stepen slaganja veći kod ćelija tumora nego kod imunih ćelija; je stepen slaganja veći ukoliko je „*cut off*“ ≥ 50% u odnosu kada je „*cut off*“ ≥ 1% [29]. Polje nekroze i imune ćelije nisu uključeni u procenu ekspresije PD-L1 [14, 30, 31]. Mi smo u našem istraživanju vršili, bojenje sa antitelom 22C3 na Dakovoj platformi. U analizi smo koristili samo bronhološke patohistološke uzorke, 22C3, platformu Dako, pozitivnu kontrolu tkiva placente i tonzile. Uzorke čija je PD-L1 ekspresija bila prisutna u ≥ 50 ćelija tumora smo smatrali pozitivnim, a bolesnici sa tim rezultatom su primali imunoterapiju.

S obzirom načinjenicu da na tačnost i reproducibilnost rezultata PD-L1 ekspresije utiču obučenost i utreniranosti patologa, faktori preanalitičke faze pripreme i obrade uzoraka, način sakupljanja uzoraka, kalupljenje uzoraka u parafinski blok, fiksacija, prekomerna potrošnja na nepotrebno veliki broj histoloških rezova u dijagnostičke svrhe, permanentna edukacija osoblja koje učestvuje u svakom od opisanih koraka je neophodna [32]. U skladu sa postojećom epidemiološkom situacijom virtuelni sastanci, treninzi i radionice su bili omogućeni najvećem broju zaposlenih u našoj službi sa tendencijom razmene iskustava i saznanja među svim kolegama koji uključeni u imunoterapiju.

Pozitivan nalaz PD-L 1 ekspresije se beleži kod oko trećine bolesnika sa uznapredovalim NSCLC. Taj stav potvrđuju rezultati *Takede* sa saradnicima koji su u grupi od 411 ispitanika uz primenu 22C3 zabeležili visok stepen PD-L1 ekspresije kod 119 (29%) bolesnika. Dobijena procentualna vrednost je gotovo identična rezultatima našeg istraživanja (29% vs 26,5%) [33].

Za razliku od drugih autora kod kojih su analizirani parafinski blokovi stari do 4 godine mi smo analizu vršili na parafinskim blokovima koji su bili stari nekoliko meseci.

Imajući u vidu da se poklapanje rezultata ekspresije PD-L1 između bronholoških biopsijskih uzoraka, citoloških uzoraka i hirurških uzoraka beleži u oko 70% slučajeva i da se postiže dobar terapijski odgovor kod oko 10% bolesnika sa NSCLC i negativnom ekspresijom PD-L1 najverovatnije se radi o lažno negativnim nalazima koji su posledica: male veličine uzorka, heterogenosti tumora i nestandardizovane preanalitičke faze [34, 35].

Miazawe i saradnici su zabeležili veću pozitivnost: u muškoj populacji (p = 0,001), kod pušača (p = 0,027), u proširenom stadijumu bolesti ≥IIIA (p = 0,018), kod pozitivne venske invazije (p = 0.,001), pozitivne limfatičke invazije (p = 0,011). U studiji istih autora starosna dob (≥65 ili<65), klinički stadijum (c-IIIA-IIIB ili c-IA-IIB), patološ-

ki nodalni status (pN1-3 ili pN0), pleuralna invazija (p1-3 ilip0) i status EGFR mutacija nisu udruženi sa PD-L1 ekspresijom[25]. Rezultati našeg istraživanja se delimično poklapaju sa rezultatima ovih autora, ne postoji udruženost PD-L1 ekspresije sa pušenjem (0,260), performans statusom (0,078), stadijumom (0,489), histološkim tipom (0,959), ali je utvrđena slaba pozitivna korelacijaizmeđu pola i starosti sa PD-L1 ekspresijom.

Najviše slučajeva sa vrednostima TPS ≥1% je bilo u grupi ADC (68/204; 33,3%), najređe u grupi NSCLC-NOS (7/204; 3,43%). Rezultati našeg istraživanja su u suprotnosti sa rezultatima *Miyazawa* i saradnika u čijoj studiji je vrednost TPS ≥1% bila u četiri od devet slučajeva SQ(44%) iu dva od tri slučaja krupnoćelijskog karcinoma (67%)[25].

ZAKLJUČCI

Nemikrocelularni karcinom pluća se češće javlja kod: muškaraca, pušača, bolesnika sa dobrim performans statusom, ali u proširenom stadijumu bolesti.

Adenokarcinom je najčešći histološki tip (119/204; 58,3%).

Pozitivna PD-L1 ekspresije (TPS3 ≥50%) je bila zastupljena kod 54 (26,5%) bolesnika.

Ne postoji statistički značajna povezanost PD-L1 ekspresije sa: pušačkim navikama, performans statusom, stadijumom bolesti i histološkim tipom karcinoma pluća.

Postoji slaba povezanost PD-L1 ekspresije sa polom i starosnom dobi bolesnika obolelih od nemikrocelularnog karcinoma pluća.

Abstract

Background: In recent years, treatment with immune checkpoint inhibitors is limited to patients with advanced stage non-small cell lung cancer (NSCLC) and high tumor expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) assessed by immunohistochemistry. **Material and Methods:**We retrospectively evaluated 22C3-PD-L1 expressions of 204 patients with NSCLC. The percentage of viable tumor cells showing partial or complete membrane staining at any intensity was tumor proportion score (TPS). PD-L1 status was separated in three categories, namely negative (TPS < 1), low expression (TPS 1-49%), and high expression (TPS ≥ 50%). **Results:** 204 patientes (123 men and 81 women), with an average age of 63,76±9,17 years (from 31 to 86 years) were included in this study. The most of the patients were in III/IV stage NSCLC (179; 87,7%) and had good performance status (199; 97,5%), positive smoking history (176; 86,3%) and adenocarcinoma histology (119; 58,3%). TPS was a negative in 85/204 (41,7%) patients, at 65/204 (31,9%) showed low expression and 54/204 (26,5%) had high expression. **Conclusion:** The rate of PD-L1 expression of NSCLC detected in this study was similar to the published results.

LITERATURA

1. Liu X, Wang P, Zhang C, Ma Z. Epidermal growth factor receptor (EGFR): A rising star in the era of precision medicine of lung cancer. Oncotarget. 2017;8(30):50209-20.

2. Lemjabbar-Alaoui H, Hassan OU, Yang YW, Buchanan P. Lung cancer: biology and treatment options. Biochim Biophys Acta. 2015;1856(2):189-210.

3. Varela G, Thomas PA. Surgical management of advanced non-small cell lung cancer. J Thorac Dis. 2014;6 Suppl 2:S217-23.

4. Reck M, Heigener DF, Mok T, Soria JC, Rabe KF. Management of non-small cell lung cancer: recent developments. Lancet. 2013;382(9893):709-19.

5. Abernethy AP, Arunachalam A, Burke T, McKay C, Cao X, Sorg R, et al. Real-world first-line treatment and overall survival in non-small lung cancer without known EGFR mutations or ALK rearrangements in US community oncology setting. PLoS One. 2017;12(6):e0178420.

6. Reck M, Rabe KF. Precision diagnosis and treatment in advanced non-small cell lung cancer. N Engl J Med. 2017;377(9):849-61.

7. Juretić A, Bašić Koretić M. Tumor immunotherapy in cilinical setting based on the blockade of molecular interactions of the negative feedback mechanism. Liječ Vijesn. 2017;139:168-72.

8. Brundage MD, Davies D, Mackillop WJ. Prognostic factors in non-small cell lung cancer: a decade of progress. Chest. 2002;122(3):1037-57.

9. Jung CY, Antonia SJ. Tumor immunology and immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer. Tuberc Resp Dis. 2018;81(1):29-41.

10. Roach C, Zhang N, Corigliano E, Jansson M, Toland G, Ponto G, et al. Development of a companion diagnostic PD-L1 immunohistochemistry assay for pembrolizumab therapy in non- small-cell lung cancer. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2016;24(6):392-7.

11. He J, Hu Y, Hu M, Li B. Development of PD-1/PD-L1 pathway in tumor immune microenvironment and treatment for non-small cell lung cancer. Sci Rep. 2018;5:13110.

12. Kerr KM, Tsao MS, Nicholson AG, Yatabe Y, Wistuba II, Hirsch FR. Programmed death-ligand 1 immunohistochemistry in lung cancer: in what state is this art. J Thorac Oncol. 2015;10(7):985-9.

13. Ancevski-Hunter K, Socinski MA, Villaruz LC. PD-L1 testing in guiding patient selection for PD-1/PD-L1 inhibitor therapy in lung cancer. Mol diag ther. 2018;22(1):1-10.

14. Tsao MS, Kerr MK, Dacic S, Yatabe Y, Hirsch RF. IASLC atlas of PD-L1 immunohistochemistry testing in lung cancer. 1st ed. North Fort Myers: Editorial RX Press; 2017.

15. Driver BR, Miller RA, Miller T, Deavers M, Gorman B, Mody D, et al. Programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in either tumor cells or tumor-infiltrating immune cells correlates with solid and high-grade lung adenocarcinomas. Arch Pathol Lab Med. 2017;141(11):1529-32.

16. Wu S, Shi X, Sun J, Liu Y, Luo Y, Liang Z, et al. The significance of programmed cell death ligand 1 expression in resected lung adenocarcinoma. Oncotarget. 2017;8(10):16421-9.

17. Del C Monroig-Bosque P, Driver B, Morales-Rosado JA, Deavers M, Tacha D, Bernicker E, et al. Correlation between programmed death receptor-1 expression in tumor-infiltrating lymphocytes and programmed death ligand-1 expression in non–small cell lung carcinoma. Arch Pathol Lab Med. In press. DOI: 10.5858/arpa.2017-0516-OA.

18. El-Basmy A. Profile of lung cancer in Kuwait. Asian Pac J Cancer Prev. 2013;14(10):6181-4.

19. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin. 2010 Sep-Oct;60(5):277-300.

20. Yoshizawa A, Sumiyoshi S, Sonobe M, Kobayashi M, Fujimoto M, Kawakami F, et al. Validation of the IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification for prognosis and association with EGFR and KRAS gene mutations: analysis of 440 Japanese patients. J Thorac Oncol. 2013 Jan;8(1):52-61.

21. Beau-Faller M, Degeorges A, Rolland E, Mounawar M, Antoine M, Poulot V, et al. Cross-validation study for epidermal growth factor receptor and KRAS mutation detection in 74 blinded non-small cell lung carcinoma samples: a total of 5550 exons sequenced by 15 molecular French laboratories (evaluation of the EGFR mutation status for the administration of EGFR-TKIs in non-small cell lung carcinoma [ERMETIC] project—part 1). J Thorac Oncol. 2011 Jun;6(6):1006-15.

22. Russell PA, Barnett SA, Walkiewicz M, Wainer Z, Conron M, Wright GM, et al. Correlation of mutation status and survival with predominant histologic subtype according to the new IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification in stage III (N2) patients. J Thorac Oncol. 2013 Apr;8(4):461-8.

23. Sun PL, Seol H, Lee HJ, Yoo SB, Kim H, Xu X, et al. High incidence of EGFR mutations in Korean men smokers with no intratumoral heterogeneity of lung adenocarcinomas: correlation with histologic subtypes, EGFR/TTF-1 expressions, and clinical features. J Thorac Oncol. 2012 Feb;7(2):323-30.

24. Zhu P, Pan Q, Wang M. Efficacy of bronchoscopic biopsy for the detection of epidermal growth factor receptor mutations and anaplastic lymphoma kinase gene rearrangement in lung adenocarcinoma. Thorac Cancer. 2015 Nov;6(6):709-14.

25. Miyazawa, T., Marushima, H., Saji, H., Kojima, K., Hoshikawa, M., Takagi, M., & Nakamura, H. (2019). PD-L1 Expression in Non-Small-Cell Lung Cancer Including Various Adenocarcinoma Subtypes. Annals of thoracic and cardiovascular surgery : official journal of the Association of Thoracic and Cardiovascular Surgeons of Asia, 25(1), 1–9. https://doi.org/10.5761/atcs.oa.18-00163

26. Lin SY, Yang CY, Liao BC, Ho CC, Liao WY, Chen KY, Tsai TH, Hsu CL, Hsu WH, Su KY, Chang YL, Lee JH, Lin CC, Shih JY, Yang JC, Yu CJ. Tumor PD-L1 Expression and Clinical Outcomes in Advanced-stage Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Nivolumab or Pembrolizumab: Real-World Data in Taiwan. J Cancer. 2018 Apr 19;9(10):1813-1820. doi: 10.7150/jca.24985. PMID: 29805708; PMCID: PMC5968770.

27. Trevis W, Brambilla E, Burke A, Marx A, Nicholson A. WHO Classification of tumours of the lung, pleura, thumus and heart. Lyon: IARC; 2015.

28. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Garshell J, Miller D, Altekruse SF, Kosary CL, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA, editors. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2012. Bethesda: National Cancer Institute. Available from: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012/ , based on November 2014 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2015.

29. Yu H, Boyle AT, Zhou C, Rimm LD, Hirsch RF. PD-L1 expression in lung cancer. J Thorac Oncol. 2017; 12(1): 157–9.

30. Kato Y, Kashima J, Watanabe K, Yomota M, Zenke Y, Okuma Y, et al. Association between clinicopathological features and programmed death ligand expression in non-small cell lung cancer. Anticancer Res. 2018;38(2):1077-83.

31. Heymann JJ, Bulman WA, Swinarski D, Pagan CA, Crapanzano JP, Haghighi M, et al. PD-L1 expression in non-small cell lung carcinoma: comparison among cytology, small biopsy, and surgical resection specimens. Cancer Cytopathol. 2017;125(12):896-907.

32. Thunnissen E, Allen TC, Adam J, Aisner LD, Beasley BM, Borczuk CA, et al. Immunohistochemistry of pulmonary biomarkers: a perspective from members of the Pulmonary Pathology Society. Arch Pathol Lab Med. 2018;142:408-19.

33. Takeda M, Kasai T, Naito M, Tamiya A, Taniguchi Y, Saijo N, Naoki Y, Okishio K, Shimizu S, Kojima K, Nagoya A, Sakamoto T, Utsumi T, Yoon HE, Matsumura A, Atagi S. Programmed Death-ligand 1 Expression With Clone 22C3 in Non-small Cell Lung Cancer: A Single Institution Experience. Clin Med Insights Oncol. 2019 Jan 9;13:1179554918821314. doi: 10.1177/1179554918821314. PMID: 30670923; PMCID: PMC6329032.

■ The paper was received / Rad primljen: 18.05.2021.
Accepted / Rad prihvaćen: 20.05.2021.