

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии  
имени Н.Н. Блохина»  
Министерства здравоохранения российской федерации**

*На правах рукописи*

**ЧУЛКОВА СВЕТЛАНА ВАСИЛЬЕВНА**

**ОСОБЕННОСТИ ЭФФЕКТОРНЫХ ЗВЕНЬЕВ ИММУНОПОЭЗА  
ПРИ ОПУХОЛЯХ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

**Научный консультант:**

Доктор медицинских наук, профессор

**Тупицын Николай Николаевич**

Москва 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|   |     |
|---|-----|
| ВВЕДЕНИЕ.....   | 5   |
| ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....   | 13  |
| 1.1 Интратуморальные иммунные реакции и их роль в развитии опухолей женской репродуктивной системы .....  | 13  |
| 1.2 Современные представления об иммунофенотипе опухолей женской репродуктивной системы .....   | 30  |
| 1.3 Костный мозг. Гемопоз и лимфопоз у онкологических больных.....  | 42  |
| ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....  | 50  |
| 2.1 Характеристика больных раком молочной железы .....  | 50  |
| 2.2 Характеристика больных раком яичников .....   | 53  |
| 2.3 Характеристика больных раком шейки матки .....  | 55  |
| 2.4 Характеристика больных раком тела матки .....   | 58  |
| 2.5 Методы исследования.....  | 60  |
| ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ .....   | 70  |
| 3.1 Взаимосвязь иммунофенотипа рака молочной железы с клиническими и морфологическими показателями.....   | 70  |
| 3.2 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с клиническими и морфологическими показателями.....   | 90  |
| 3.3 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипическим портретом рака молочной железы .....                                       | 104 |
| 3.4 Иммунологические факторы прогноза на основе иммунофенотипа первичной опухоли и интратуморальных иммунных реакций при раке молочной железы ..... | 112 |
| 3.4.1 Взаимосвязь иммунофенотипа клеток рака молочной железы с эффективностью адьювантной химиотерапии.....   | 113 |
| 3.4.2 Взаимосвязь иммунофенотипа клеток рака молочной железы с выживаемостью больных ... ..   | 115 |
| 3.4.3 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций при раке молочной железы с выживаемостью больных .....  | 127 |

|   |     |
|---|-----|
| 3.5 Характеристика и взаимосвязь миелокариоцитов с клинико-морфологическими характеристиками рака молочной железы.....                  | 138 |
| 3.6 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций в костном мозге с клинико-морфологическими характеристиками опухоли .....           | 149 |
| 3.7 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций в костном мозге с показателями миелограмм.....                                      | 164 |
| 3.8 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций в первичном очаге поражения и костном мозге при раке молочной железы .....          | 168 |
| ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ .....  | 171 |
| 4.1 Взаимосвязь иммунофенотипа рака яичников с клиническими и морфологическими показателями.....  | 171 |
| 4.2 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с клиническими и морфологическими показателями.....                                   | 182 |
| 4.2.1 Оценка интратуморальных иммунных реакций методом иммуногистохимии на криостатных срезах .....                                     | 182 |
| 4.2.2 Оценка интратуморальных иммунных реакций методом проточной цитометрии .....   | 190 |
| 4.3 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипическим портретом опухоли.....   | 195 |
| 4.4 Иммунологические факторы прогноза рака яичников на основе иммунофенотипа первичной опухоли и интратуморальных иммунных реакций..... | 210 |
| 4.4.1 Взаимосвязь иммунофенотипа рака яичников с прогрессированием рака яичников .....  | 210 |
| 4.4.2 Взаимосвязь интратуморальных реакций при раке яичников с прогрессированием рака яичников.....                                     | 211 |
| 4.4.3 Взаимосвязь иммунофенотипа клеток рака яичников с выживаемостью больных .....   | 214 |
| 4.4.4 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций при раке яичников с выживаемостью больных .....                                     | 226 |
| 4.5 Характеристика и взаимосвязь миелокариоцитов с клинико-морфологическими характеристиками рака яичников .....                        | 232 |
| 4.6 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций костного мозга с клинико-морфологическими характеристиками рака яичников.....       | 246 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.7 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций костного мозга с показателями миелограмм больных раком яичников.....             | 259 |
| ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ.....   | 265 |
| 5.1 Взаимосвязь иммунофенотипа рака шейки матки с клиническими и морфологическими показателями.....                                  | 265 |
| 5.2 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с клиническими и морфологическими показателями при раке шейки матки.....           | 275 |
| 5.3 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипическим портретом рака шейки матки.....                             | 291 |
| 5.4 Характеристика и взаимосвязь миелокариоцитов с клинико-морфологическими характеристиками рака шейки матки.....                   | 305 |
| 5.5 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций костного мозга с клинико-морфологическими характеристиками рака шейки матки..... | 312 |
| 5.6 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций костного мозга с показателями миелограмм больных раком шейки матки.....          | 321 |
| ГЛАВА 6. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ РАКЕ ТЕЛА МАТКИ.....  | 325 |
| 6.1 Взаимосвязь иммунофенотипа рака тела матки с клиническими и морфологическими показателями.....                                   | 325 |
| 6.2 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с клиническими и морфологическими показателями рака тела матки.....                | 332 |
| 6.3 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипическим портретом рака тела матки.....                              | 345 |
| ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ.....   | 360 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....  | 387 |
| ВЫВОДЫ.....  | 390 |
| ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....   | 392 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....   | 393 |

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы и степень её разработанности

Актуальной проблемой онкологии остаются злокачественные опухоли женской репродуктивной системы. Они во многих странах Европы и в США занимают одно из ведущих мест в структуре общей онкологической заболеваемости и смертности женского населения [1]. У женщин России удельный вес опухолей женской репродуктивной системы составляет 39,1%, включая опухоли молочной железы, при этом 18,2% приходится на долю опухолей половых органов (шейки матки, тела матки, яичников) [2].

Несмотря на внедрение новейших технологий и достигнутые успехи в области диагностики опухолей значительное количество случаев заболевания выявляется на распространенных стадиях опухолевого процесса, и прежде всего это касается рака шейки матки, рака яичников, рака тела матки. Возможности даже современных методов лечения на поздних стадиях ограничены, что находит отражение в стабильно высоких показателях смертности, которые возросли с 2011 по 2021 гг [2]. Смертность в 2021 году на 100000 населения от рака шейки матки составила 4,5%, от рака тела матки – 5,2%, от рака яичников – 5,6%, от рака молочной железы – 15,0%. Следует отметить, что существенная доля среди причин смерти женщин от злокачественных опухолей в репродуктивном возрасте (моложе 30 лет) принадлежит раку шейки матки и яичников (7,0% и 3,6%, соответственно) [3].

Следовательно, результаты лечения опухолей женской репродуктивной системы даже с привлечением современных методов остаются малоудовлетворительными, и существует острая необходимость поиска альтернативных путей, которые могут исправить ситуацию и позволят добиться повышения эффективности лечения. Одним из таких путей на сегодняшний день является индивидуализированная терапия, которая преследует своей целью подбор лекарственного воздействия с учетом молекулярно-биологических особенностей опухоли, а также иммунологической реактивности организма. В настоящее время установлено, что при опухолевом росте нарушаются практически все механизмы иммунного ответа, как врожденного, так и приобретенного [4]. Эти нарушения проявляются в отношении антигенпредставляющих клеток, цитотоксических Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, естественных клеток-киллеров, активированных лимфокинами киллерных клеток, моноцитов, нейтрофилов, незрелых миелоидных клеток, что в совокупности, нарушая строго контролируемый процесс иммуногенеза, дает преимущество в выживании трансформированным клеткам [5, 7]. Поэтому принципиально важными оказываются исследования, направленные на изучение иммунологического гомеостаза при различных видах злокачественных новообразований.

Особое место в исследованиях подобного рода занимает изучение иммунной системы костного мозга, роль которого до недавнего времени недооценивалась.

Костный мозг, являясь центральным органом гемопоэза и иммунопоэза, играет важную роль в канцерогенезе, и, в частности, гематогенном метастазировании опухолей. Он становится пристанищем для выживших в системном кровотоке опухолевых клеток, которые, появляясь в результате клональной селекции, оказываются резистентными к проводимым традиционным лекарственным воздействиям и успешно выживают в новом микроокружении, адаптируясь к его особенностям и приводя к метастазированию спустя годы стойких ремиссий [8, 9, 10]. В этой связи одним из приоритетных направлений в настоящее время стали исследования в отношении иммунореактивности костного мозга при раке. Одно из центральных мест в противоопухолевой защите занимают эффекторныe клетки иммунитета, осуществляющие контроль за ростом опухоли на всех этапах ее развития, включая метастазирование [11, 12, 13, 14]. Результаты исследований относительного содержания этих клеток среди циркулирующих лимфоцитов при опухолях женской репродуктивной системы насчитывается немало. Публикаций, касающихся изучения костного мозга при опухолях негемопоезической природы, практически нет, хотя именно в костном мозге происходит на начальных этапах генерация NK-клеточных и В-линейных эффекторов противоопухолевого иммунитета, а в дальнейшем накопление Т-клеточных эффекторов противоопухолевого иммунитета и клеток памяти. Из экспериментальных данных известно, что костно-мозговые лимфоциты эффективнее подавляют опухолевый рост, чем Т-лимфоциты периферической крови [5]. В клинических исследованиях установлены различия субпопуляционного состава лимфоидных клеток костного мозга при саркомах у детей по сравнению со здоровыми донорами [15]. Отмечено, что характерным при рабдомиосаркоме у детей является повышение уровней активированных Т-цитотоксических клеток (CD3+CD8+HLA-DR+), зрелых  $\gamma\delta$ Т-клеток, снижение количества Т-хелперных клеток (CD4+), экспрессирующих молекулу адгезии CD62L (Leu8). Интересным фактом стало обнаружение гетерогенности экспрессии CD57 и CD28 цитотоксическими Т-лимфоцитами. Авторами выявлена прогностическая значимость отдельных субпопуляций лимфоцитов костного мозга.

Несколько исследований, посвященных изучению субпопуляционного состава клеток-эффекторов в костном мозге при раке молочной железы, свидетельствуют о том, что иммунокомпетентные клетки могут играть важную роль в предотвращении развития микрометастатических очагов. Согласно полученным в этих работах данным, наблюдается изменение пропорции эффекторных клеток не только по сравнению со здоровыми донорами, но и при поражении костного мозга [16, 17, 18, 19]. Так, Feuerer M. и соавт. сообщают о том, что

при обнаружении микрометастазов в костном мозге увеличен уровень содержания субпопуляций CD4+, CD8+, CD56+ клеток.

Интригующим фактом стало обнаружение взаимосвязи костно-мозговых цитотоксических CD4+T-клеток (CD4+Perforin+), эффекторных T-клеток памяти (CD27+Perforin+) с гистологическим видом опухоли, которая выявлена при немелкоклеточном раке легкого [8].

В литературе встречается довольно много работ в отношении лимфоцитарных популяций, инфильтрирующих опухоль. Многочисленные исследования, проведенные при различных видах злокачественных новообразований, в том числе при раке молочной железы и раке яичников, сообщают о высоком уровне корреляции между интенсивностью инфильтрации опухоли лимфоцитами и выживаемостью больных, эффективностью лечения, но при этом много противоречий возникает при оценке предикторной роли различных субпопуляций лимфоцитов [36, 20, 21]. Единой точки зрения на этот счет нет. Предлагается рассматривать степень инфильтрации опухоли иммунокомпетентными клетками не только как прогностический фактор, но и как основание для подбора индивидуализированного лечения.

Таким образом, изучение субпопуляций эффекторных клеток противоопухолевого иммунитета в костном мозге, а также в первичной опухоли наряду с особенностями иммунофенотипа злокачественных клеток опухолей женской репродуктивной системы является принципиально важным и чрезвычайно актуальным, поскольку в перспективе может стать основой для разработки и совершенствования лечебных подходов, направленных на нормализацию и поддержание иммунологической реактивности организма больного.

### **Цель исследования**

Комплексная оценка особенностей интратуморальных иммунных реакций и иммунной системы костного мозга при опухолях женской репродуктивной системы и анализ их клинической значимости.

### **Задачи исследования**

1. Представить характеристику интратуморальных иммунных реакций при опухолях женской репродуктивной системы в зависимости от иммунофенотипического портрета опухоли.
2. Выполнить детальный анализ взаимосвязи клинических и морфологических показателей с иммунофенотипом опухолей женской репродуктивной системы и видами интратуморальных иммунных реакций.

3. Изучить клиническое значение иммунологических параметров при опухолях женской репродуктивной системы на основе иммунофенотипа первичной опухоли и интратуморальных иммунных реакций.

4. Провести сравнительную оценку эффекторных лимфоцитарных популяций в первичном очаге поражения и костном мозге у больных опухолями женской репродуктивной системы.

5. Дать подробную характеристику особенностей морфологически выявляемых клеточных типов костного мозга у больных опухолями женской репродуктивной системы.

6. Определить наиболее значимые эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга и оценить их особенности в зависимости от клинико-морфологических параметров у больных опухолями женской репродуктивной системы.

7. Дать детальную оценку взаимосвязи эффекторных популяций лимфоцитов костного мозга с особенностями миелограмм у больных опухолями женской репродуктивной системы.

### **Научная новизна**

Впервые выполнено комплексное иммуноморфологическое исследование опухолей женской репродуктивной системы.

Исследована взаимосвязь комплекса иммунофенотипических признаков (молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I, HLA-DR, трансферриновых рецепторов 1 (TfR1), молекул интегринов CD29 (VLA –  $\beta$ 1), FAS/APO лиганда CD95, муциноподобного антигена MUC-1, молекул адгезии CD54 и CD56, гликопротеина MRD/Pgp170) с клиническими и морфологическими параметрами опухолей женской репродуктивной системы.

Установлена связь HLA-DR, TfR1, CD95, CD54, CD29 иммунофенотипа опухолей женской репродуктивной системы с видом интратуморальных иммунных реакций.

Охарактеризованы морфологически выявляемые клеточные типы костного мозга больных опухолями женской репродуктивной системы. Впервые установлены корреляции показателей миелограммы с лимфоцитарными популяциями и клинико-морфологическими параметрами у больных опухолями женской репродуктивной системы.

Впервые изучены эффекторные популяции костного мозга (цитотоксические клетки CD45+Perforin+, включая перфорин-содержащие CD4+клетки, TCR- $\gamma\delta$ , эффекторные CD27+клетки памяти, регуляторные Т-клетки CD4+CD25+, CD8+CD25+, CD5+B1-клетки) и установлены их взаимосвязи с клиническими и морфологическими параметрами у больных опухолями женской репродуктивной системы.



## **Теоретическая и практическая значимость**

Проведенный сравнительный анализ эффекторных звеньев иммунопоза у больных опухолями женской репродуктивной системы выявил взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипом опухолей, установлены иммуноморфологические особенности костного мозга. Это дополняет картину представлений о биологии рака, позволяет глубже понять взаимоотношения «опухоль-организм». Новые пути понимания процессов иммунологической реактивности стали основанием для выделения иммунологических маркеров, ассоциированных с выраженностью иммунных реакций опухоли. Кроме того, результаты исследования открывают новые направления поиска для иммунотерапевтического воздействия на опухоли женской репродуктивной системы.

## **Методология и методы исследования**

Работа выполнена в лаборатории иммунологии гемопоэза отдела клинико-лабораторной диагностики НИИ КО ФГБУ «НМИЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с использованием морфологического, иммунофлуоресцентного, проточно-цитометрического методов. Иммуноцитометрический анализ проводился с применением моноклональных антител, напрямую меченых различным флюорохромами. Изучение образцов первичной опухоли и костного мозга выполнено у 428 больных опухолями женской репродуктивной системы (рак шейки матки, рак тела матки, рак яичников, рак молочной железы), которые получали лечение в НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России.

Проведен ретроспективный анализ результатов лечения больных опухолями женской репродуктивной системы в сравнении с полученными данными исследований иммунопоза. Статистический анализ осуществлен на основе стандартных математических программ SPSS, v. 23. Для сравнения непараметрических критериев использовали t-критерий Стьюдента, тест Манна-Уитни, Краскела-Уоллеса. Для сравнения качественных параметров – таблицы сопряженности, критерий Фишера или тест  $\chi^2$  по Пирсону. Для оценки выживаемости применяли метод Kaplan-Meier, регрессионный анализ Кокса.

## **Положения, выносимые на защиту**

Комплексное многопараметровое изучение эффекторных звеньев иммунопоза позволяет выявить сложную структуру иммунологических связей первичного очага с системой иммунопоза. Иммунофенотип (HLA-DR, TfR1) опухолей взаимосвязан со стадией, размером

опухоли, степенью злокачественности. Иммунофенотипические параметры опухоли оказывают влияние на характер интратуморальных реакций и находятся во взаимосвязи с ними.

Интратуморальные Т-клеточные реакции опухолей женской репродуктивной системы являются ведущими и коррелируют с ранними стадиями, тогда как В-клеточные и плазмноклеточные преобладают на поздних стадиях опухолевого процесса. Выраженность и характер инфильтрации в строме и паренхиме опухоли различаются. НК-клеточные реакции в паренхиме опухоли являются доминирующими при раке яичников. При раке шейки матки наблюдается выраженный уровень В-клеточных реакций стромы.

Экспрессия молекул HLA-DR при раке молочной железы, раке шейки матки коррелирует с ранними стадиями.

Экспрессия трансферриновых рецепторов, молекул HLA-DR часто наблюдается при отсутствии экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона клетками рака молочной железы. Экспрессия FAS/APO лиганда CD95 и молекул адгезии CD54 имеют связь со стадией, размером первичной опухоли при раке молочной железы. Экспрессия FAS/APO лиганда CD95 связана с гистологическим видом рака молочной железы.

При раке тела и раке шейки матки мономорфная экспрессия рецепторов трансферрина сопровождается более выраженным уровнем общелейкоцитарных (CD45+) реакций стромы.

Иммуноморфологическое исследование костного мозга позволяет выявить клеточные и иммунологические изменения гемопоэза и лимфопоэза. Показатели гемопоэза и лимфопоэза достоверно связаны с клинико-морфологическими параметрами рака молочной железы, рака яичников.

Увеличение распространенности рака молочной железы, рака яичников сопровождается снижением числа миелоидных предшественников, нарастанием пропорции терминальных форм эритроидного ростка. Увеличение доли CD19+CD5+В-клеток врожденного иммунитета, CD19+CD10+ В-предшественников костного мозга наблюдается при нарастании стадии рака молочной железы.

Миелоидные предшественники находятся в отрицательной корреляции с костномозговыми популяциями Т-клеток CD4+CD25+, CD8+HLA-DR+ при раке молочной железы, популяциями CD3+CD4+, CD4+Granzim+, CD45+Granzim+/Perforin+ при раке яичников. Эритроидные предшественники находятся в отрицательной связи с НК- клетками костного мозга при раке молочной железы.

Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга находятся в отрицательной связи с интратуморальными иммунными реакциями опухолей женской репродуктивной. Содержание В-предшественников (CD19+CD10+) и В1-клеток врожденного иммунитета (CD19+CD5+)

взаимосвязано субпопуляций Т-клеток (CD4+, CD8+) в опухолевой ткани при раке молочной железы.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует паспорту специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия. Направление исследований: пункт 2. 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.).

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Научные положения, сформулированные автором в диссертации, основаны на изучении достаточного объема клинического материала. В работе использованы современные методы исследования, полностью соответствующие поставленным задачам. Выводы аргументированы и вытекают из проведенных автором исследований. Достоверность представленных в диссертации данных подкреплена современными методами статистического анализа. Для оценки отдаленных результатов лечения прослеженность в исследуемых группах составила более 15 лет.

Результаты, полученные в работе, внедрены и используются в повседневной диагностической практике лаборатории клинической иммунологии и инновационных технологий НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ НМИЦ онкологии им Н.Н. Блохина Минздрава России, для персонализации лечебных и диагностических подходов у больных с опухолями женской репродуктивной системы.

Полученные теоретические и практические сведения диссертационной работы включены в семинарские занятия, лекционные темы по персонализации лечебных и диагностических подходов у больных с опухолями женской репродуктивной системы, и таким образом используются в повседневной образовательной деятельности кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Материалы исследования доложены на следующих научных конференциях:

- XIII International International Eurasian Hematology-Oncology Congress, Стамбул, Турция, 5-8 октября 2022 г. Тема доклада: «Immunophenotypic features of breast cancer molecular subtypes».

- 6th Cancer World Congress, Lisbon, Португалия, 28-30 сентября 2022 г. Тема доклада: «B-1 lymphocytes in the antitumor response».

- EACR 2022 Congress - Innovative Cancer Science: Translating Biology to Medicine, Seville, Испания, 20-23 июня 2022 г. Тема доклада: «B1-cells of innate immunity in the bone marrow in breast cancer»

- XII International Eurasian Hematology-Oncology Congress, Стамбул, Турция, 10-13 ноября 2021г. Тема доклада: «B1-cells of innate immunity in the bone marrow in breast cancer patients: identification and their relationship with clinical and morphological parameters».

- ESCCA 2021 Virtual Conference Нидерланды, 22-24 апреля 2021 г. Тема доклада: «B1-cells of innate immunity in the bone marrow in patients with breast cancer».

Апробация состоялась на совместной научной конференции лаборатории иммунологии гемопоэза и лаборатории клинической иммунологии отдела клинико-лабораторной диагностики, онкологического отделения лекарственных методов лечения (химиотерапевтическое) №1, онкологического отделения хирургических методов лечения №8 (онкогинекологии) и хирургического отделения №16, онкологического отделения хирургических методов лечения № 15 (комбинированного лечения опухолей молочной железы) НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ им. Н.Н.Блохина» Минздрава России; лаборатории биоресурсной коллекции клеточных линий и первичных опухолей и лаборатории иммунофармакологии НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ им. Н.Н.Блохина» Минздрава России; кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета ФГАОУ ВО «РНИМУ им Н.И. Пирогова» Минздрава России, кафедры онкологии и паллиативной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, состоявшейся «12» мая 2023 года.

### **Публикации по теме диссертации**

Материалы диссертационного исследования изложены в полном объеме в 15 публикациях, из них 13 в научных журналах, которые внесены в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных результатов исследований, получено 2 свидетельства о государственной регистрации базы данных.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Интратуморальные иммунные реакции и их роль в развитии опухолей женской репродуктивной системы

Фундаментальные исследования в области иммунологии позволили установить многие аспекты морфологических и функциональных особенностей органов иммунной системы организма [22]. Одними из основных органов иммунной защиты являются костный мозг и тимус, в которых происходит генерация, созревание, дифференцировка лимфоцитов и формирование их антигенраспознающих рецепторов. Доказанная роль лимфоцитов в реализации противоопухолевого иммунного ответа, включающая способность распознавания и уничтожения клеток-мишеней, заставила по-новому взглянуть на проблему рака, обнажив целый пласт возможностей от оценки степени выраженности иммунного ответа до прогнозирования лечебного эффекта и создания новых иммуноориентированных подходов.

После ряда открытий, благодаря неуклонному развитию молекулярной биологии, генных технологий, иммунологии, обрело форму представление об антигенных детерминантах главного комплекса гистосовместимости, опухолеассоциированных антигенах и других мембранных структурах, установлена их значимость в развитии неопластических процессов. Значимый вклад в эту область внесли отечественные иммунологи Л.А. Зильбер, Г.И. Абелев, Ю.С. Татаринов. Именно их труды обнаружили доказательства антигенной специфичности опухолей. Л.А. Зильбером впервые были получены данные о специфическом антигене гепатомы мыши, которые он представил мировому научному сообществу на VII Международном противораковом конгрессе в Лондоне в 1958 г. Вскоре удалось исследовать его образование в различных вариантах гепатом, а также в нормальных тканях, и в 1962 г. на VIII Международном противораковом конгрессе в Москве Г.И. Абелев выступил с докладом о первом опухолеассоциированном антигене, который позже получил название «альфа-фетопротеин». Его клинико-диагностическое значение при гепатоцеллюлярном раке человека было доказано при дальнейшем сотрудничестве Г.И. Абелева и Ю.С. Татаринова [23].

Успехи в области иммунологии привели к новым исследованиям и созданию моноклональных антител, стало возможным проводить детальную характеристику клеток опухоли, а также ее иммунного окружения. На сегодня общепризнанным фактом является то, что антигенный ландшафт опухоли и ее местные иммунные реакции служат, вне всяких сомнений, одним из определяющих факторов в ее развитии и распространении в организме [24, 25, 26, 27]. Это одна из причин, по которой интерес к изучению иммунных реакций в опухоли не ослабевает по сей день. Интратуморальная инфильтрация моноклеарными клетками, а

именно лимфоцитами и макрофагами, является, пожалуй, одним из ведущих аспектов, обсуждаемых мировым научным сообществом. Противоопухолевая иммунореактивность складывается из различных клеточных и гуморальных факторов, которые в совокупности могут способствовать противоопухолевой защите, с одной стороны, и сдерживать или вовсе подавлять ее с другой стороны [11, 28]. Интралимфатические иммунные клеточные реакции представлены в основном популяциями эффекторных Т-клеток, а также В-лимфоцитами и натуральными киллерами (NK). Эффекторные иммунные клетки могут определяться как в самой опухоли, так и в ее стромальном компоненте. Интралимфатические (или интраэпителиальные) лимфоциты определяются в зонах сплошного опухолевого роста (опухолевых гнездах), они непосредственно контактируют с опухолевыми клетками [29]. Стромальные лимфоциты располагаются в строме вокруг тяжелой раковой клетки – перитуморально. Такая отдельная идентификация возможна благодаря иммуногистохимическому исследованию на криостатных срезах с применением моноклональных антител, что показано Тупицыным Н.Н. при изучении рака молочной железы [30]. Эти два типа инфильтрации хорошо описаны и задокументированы при опухолях женской репродуктивной системы [30, 31, 32, 33].

Приходится признать, что даже при современном уровне знаний существуют разные мнения относительно диагностической значимости стромальных и интрапаренхиматозных лимфоцитов. Результаты изучения одних исследователей указывают, что лимфоциты, находящиеся в непосредственном контакте с опухолевыми клетками (в паренхиме), могут быть более релевантными, а значит более предпочтительными в диагностическом аспекте. Но есть и другие данные, исходя из которых, поддерживается мнение, что стромальные лимфоциты являются более подходящим и полезным иммунологическим параметром, поскольку лимфоциты паренхимы опухоли представлены в меньшем количестве, неоднородны, а их подсчет не добавляет информации, а также их трудно оценивать при обычном окрашивании гематоксилин/эозином. Эти аргументы довольно логично подчеркивают преимущество в оценке именно стромального компонента опухолей. Несмотря на это, новые данные свидетельствуют, что как паренхиматозный, так и стромальный компоненты опухоли имеют свою значимость, что установлено в ряде исследований при раке яичников, раке шейки и тела матки, раке молочной железы [34, 7, 33, 35, 30]. Таким образом, создается впечатление, что единой концепции по этому вопросу пока окончательно не сформировано и, судя по всему, широко обсуждается проблема не только морфо-структурной оценки инфильтрации, но и возможные методы.

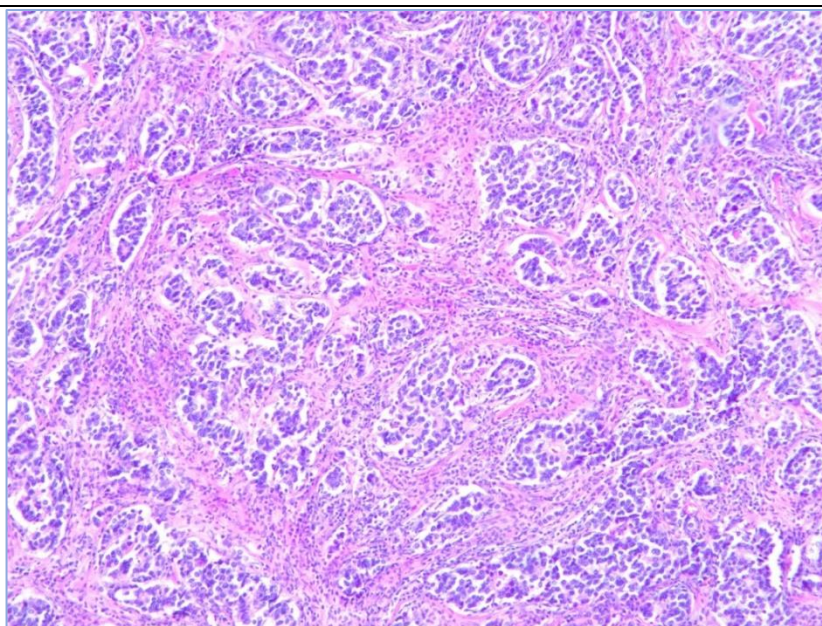
Ведущим методом изучения местных иммунных реакций считается иммуногистохимический. Использование иммуногистохимического метода однозначно позволяет учитывать оба вида интралимфатических иммунных реакций (стромы и паренхимы). Некоторый прогресс и общность мнений в оценке инфильтрации достигнуты в отношении рака

молочной железы. Рабочей группой International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer рекомендуется оценивать в основном иммунные реакции в строме, согласно предложенному методу учета С. Denkert и др. в 2010 г. [36]. А вот иммунные реакции в паренхиме, а также оценка перитуморальной и инфильтрации в инвазивном крае пока еще требуют подтверждения клинической значимости [37]. Надо признать, что многие научные группы придерживались иммуногистохимического метода с подсчетом по С. Denkert, но некоторые исследования выполнялись на окрашенных гематоксилином/эозином препаратах; также наравне с данными методами внедряется в практику проточно-цитометрическая оценка. Обратим внимание, что разработка единой методологии учета интратуморальных реакций еще окончательно не завершена и много вопросов ждут своего решения, включая оценку взаимосвязи с иммунофенотипическим портретом опухолей, прогностическую значимость отдельных субпопуляций эффекторных клеток [38].

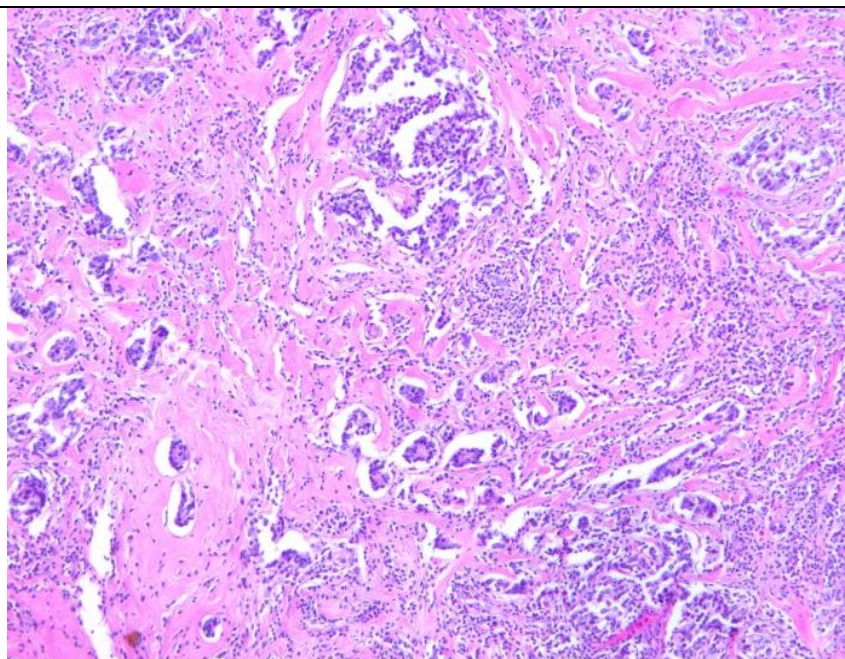
Наибольшее число исследований, посвященных оценке интратуморальных реакций, характеризуют общий уровень инфильтрации опухоли (Рисунок 1). Многими учеными выраженный уровень интратуморальных реакций, определяемый при морфологическом исследовании, рассматривался как признак активного противоопухолевого иммунного ответа. Однако безоговорочно принимать такое утверждение все же невозможно, поскольку нужно учитывать и распространенность опухоли, и ее морфологические особенности, и иммунофенотипический портрет опухолевых клеток, вид лечения и, наконец, тип инфильтрирующей опухоль иммунных клеток. Следует признать, что спонтанная регрессия опухолей наблюдается крайне редко, что еще раз подчеркивает, что значение интратуморальных иммунных реакций неоднозначно. В целом же, большинство исследователей сходятся во мнении, что повышенный уровень интратуморальных иммунных реакций связан с более благоприятным прогнозом [51, 21, 39]. Вместе с тем допущение, что выраженные иммунные реакции в опухоли однозначно благоприятны для исхода болезни, может не совпадать с действительностью. Дискуссия на это счет велась довольно длительно. К примеру, одни исследователи сообщали, что выраженная степень лимфоидной инфильтрации при раке молочной железы ассоциирована с увеличением выживаемости у больных моложе 40 лет, а в некоторых случаях и благоприятным прогнозом при наличии макрофагальной инфильтрации [40, 41]. Другие утверждали, что иммунная инфильтрация опухоли не оказывает существенного влияния на исход болезни, а молодой возраст при отсутствии инфильтрации был связан с высокой выживаемостью [42]. Zang L. et al. сообщили о благоприятном влиянии интратуморальных лимфоцитов (CD3+) на продолжительность общей и безрецидивной выживаемости при раке яичников [51]. Группа ученых под руководством Sato E. не обнаружили

преимуществ в выживаемости при лимфоидной инфильтрации (CD3+), но указали на роль CD8+лимфоцитов как независимого благоприятного фактора прогноза [35].

Похожие результаты, на которые можно сослаться получили Wang Q. и соавт. [43]. Они обратили внимание на влияние CD8+ инфильтрации и ее связь с более высокой выживаемостью больных раком шейки матки. Наличие выраженной пропорции CD8+ Т-лимфоцитов в опухоли было независимым предиктором улучшения общей выживаемости и при раке эндометрия [33].

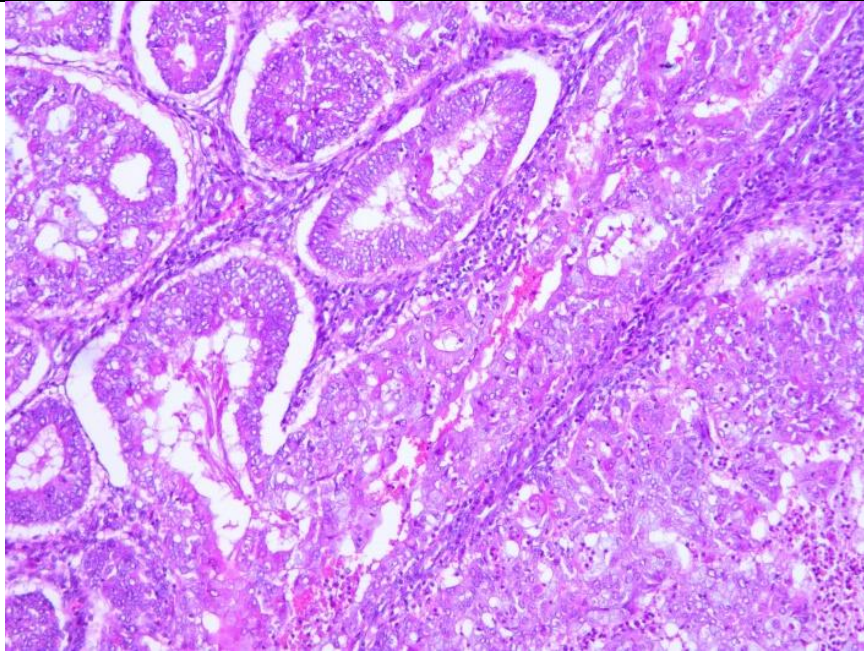


А - Инвазивный протоковый рак молочной железы. В строме опухоли отмечается высокое содержание tumor-инфильтрирующих лимфоцитов.

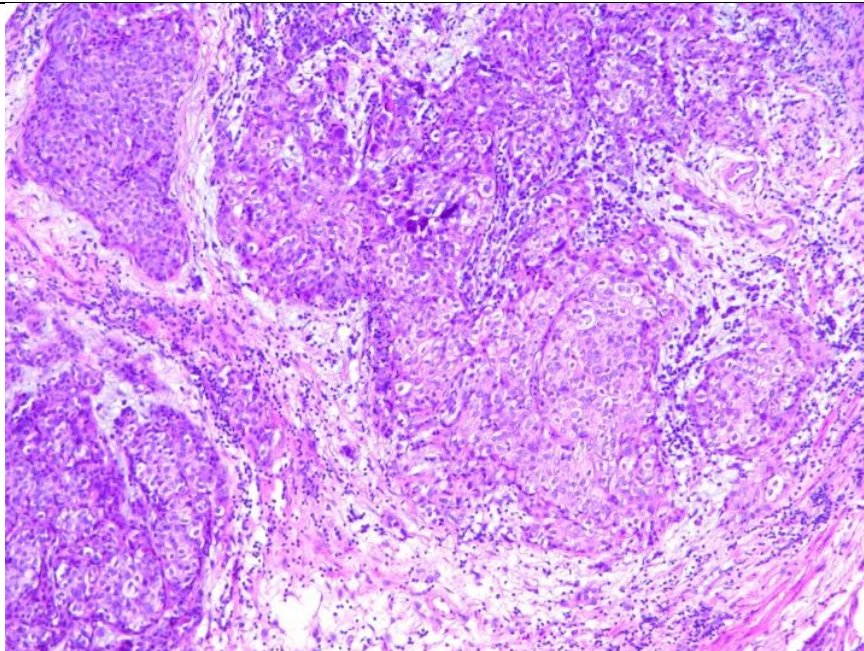


Б - Инвазивный протоковый рак молочной железы. Умеренная диффузная инфильтрация в строме опухоли лимфоцитами





В - Аденокарцинома эндометрия. Слабая диффузная инфильтрация стромальными опухолю-инфильтрирующими лимфоцитами



Г - Серозный high grade рак яичников. Умеренная диффузная инфильтрация стромальными опухолю-инфильтрирующими лимфоцитами

**Рисунок 1** – Выраженность лимфоидной инфильтрации в опухолях. Гематоксилин-эозин, увеличение x100

Дополнительные разногласия внесли результаты исследований, которые изучали интратуморальные иммунные реакции на фоне лекарственной терапии, широко применяющейся при опухолях женской репродуктивной системы. При раке молочной железы выраженная

лимфоидная инфильтрация наблюдалась чаще при достижении лечебного эффекта. Например, в работе А.А. Субботиной на фоне неoadьювантной химиотерапии изучены интратуморальные иммунные реакции иммуногистохимическим методом. Показано, что выраженная инфильтрация опухоли Т-лимфоцитами (CD7+) ассоциируется с эффектом неoadьювантной химиотерапии. [44]. Аналогичные результаты получили зарубежные коллеги [38]. Корреляция интратуморальных иммунных реакций с ответом на неoadьювантную терапию показана и при раке шейки матки в работе Meng Y и соавт [45]. Liang Y., проведя изучение опухоли до и после неoadьювантной терапии, указали, что по их данным, соотношение CD8+/Foxp3+ Т-клеток после лечения ассоциировано с эффективностью лечения и прогнозом [32]. Указанные выше и другие научные работы убедительно доказали, что необходима качественная характеристика интратуморальных реакций опухоли, а вектор влияния лимфоидной инфильтрации есть не что иное, как продукт тонкого взаимодействия между отдельными популяциями иммунных клеток. При этом ведущая роль в интратуморальных иммунных реакциях отводится Т-лимфоцитам, что соответствует современной концепции о доминирующем влиянии Т-клеточных эффектов в системе противоопухолевой защиты.

Эффекторами для осуществления противоопухолевого иммунного ответа являются цитотоксические CD8+ лимфоциты, активация которых достигается путем взаимодействия с опухолеассоциированными антигенами, с последующим формированием коммитированных клонов и специфических эффекторных фенотипов. CD8+ лимфоциты – это гетерогенная популяция иммунокомпетентных клеток, которая обладает набором цитотоксических гранул, гранзимов и перфоринов, продуцирует целый спектр цитокинов, отличается разнообразием фенотипа и цитотоксического потенциала. Именно цитотоксические CD8+ лимфоциты обнаруживаются в зонах сплошного роста опухоли, поскольку для успешного цитотоксического эффекта необходим контакт между опухолевой клеткой и Т-киллером, а при отсутствии такового реализация цитотоксического воздействия в отношении клеток опухоли невозможна. Отражением успешного распознавания эффекторными Т-клетками опухолевой клетки как чужеродной является активация CD8+Т-лимфоцитов в паренхиме опухоли. Свидетельствует об этом изменение мембранного репертуара антигенов: экспрессия HLA-DR, CD25 и др. антигенов. Активированные цитотоксические CD8+Т-клетки пролиферируют и образуют кластеры в зонах сплошного опухолевого роста, что иммуногистохимически легко обнаружить. Характерным признаком активации CD8+Т-клеток паренхимы является “автономность” этого феномена, его независимость от уровня лимфоидной инфильтрации опухоли, количества и качественного состава лимфоцитов паренхиматозного компонента [29].

Выраженным цитотоксическим потенциалом обладают несколько субпопуляций CD8+ клеток: Tc1 и Tc2, отличающиеся высоким содержанием гранзимов и перфоринов, продукцией

IFN- $\gamma$ , фактора некроза опухоли, а также клетки Tc22, которые продуцируют интерлейкин -22. [46]. Как показано в исследованиях, CD8<sup>+</sup> интратуморальные реакции довольно часто представлены в опухолях женской репродуктивной системы, кроме того, имеется преобладание Т-клеточных над В-клеточными реакциями. Наиболее изученными на сегодняшний день являются рак молочной железы, в меньшей степени – рак яичников. В отношении рака шейки матки в доступной литературе нам удалось найти значительно меньше работ, а при раке эндометрия это единичные труды. Исследования представлены преимущественно зарубежными авторами.

По мере накопления данных стало известным, что характер CD8<sup>+</sup>инфильтрации связан с распространенностью опухоли, ее клинико-морфологическими характеристиками, а также прогнозом. Однако правомочно будет указать, что такая взаимосвязь прослеживается ни при всех видах опухолей женской репродуктивной системы. Более того, есть противоречивые результаты, сообщающие о разнонаправленном влиянии CD8<sup>+</sup> клеточных реакций в опухоли.

Повышение уровня интратуморальных CD8<sup>+</sup> реакций наблюдается чаще у пациентов, не имеющих метастазов в регионарные лимфатические узлы, а снижение их количества более характерно для поздних стадий. Так, инфильтрация опухоли CD8<sup>+</sup> клетками достоверно отрицательно коррелировала с величиной первичной опухоли, регионарным метастазированием при раке молочной железы, стадией, что показано в работе Е.В. Артамоновой [47]. Кроме того, автором установлено, что увеличение уровня интратуморальных иммунных реакций ассоциировалось с благоприятным прогнозом. По данным Liu S., и Seo A.N выраженная CD8<sup>+</sup>инфильтрация опухоли у больных раком молочной железы также коррелировала с лучшей выживаемостью и ответом на химиотерапию [48, 49]. Важно отметить, что эти результаты Liu S. были получены в отношении опухолей Her2/neu положительных, не экспрессирующих рецепторы эстрогенов. Другими авторами продемонстрировано улучшение выживаемости при всех подтипах рака молочной железы. В исследовании Mahmoud SM, и соавт., которое включало 1334 больных, установлено, что повышенное количество интратуморальных CD8<sup>+</sup> Т-клеток ассоциировано с улучшением выживаемости [50].

При раке яичников Thaa El-A Hecal не обнаружили связи интратуморальных CD8<sup>+</sup> реакций ни с распространенностью опухоли, ни со степенью дифференцировки, но отметили, что при серозном раке их доля составляла больше. Также не наблюдали связи с клинико-морфологическими параметрами опухоли Zang L. и соавт, проведя иммуногистохимический анализ на криостатных срезах. Они оценили CD3<sup>+</sup> интратуморальные реакции и установили, что инфильтрация была связана с более продолжительной выживаемостью больных, при этом значимая корреляция была с оптимальной циторедуктивной операцией [51]. Группа ученых во главе с Sato E. изучив иммуногистохимическим методом Т-клеточные реакции в удаленной

опухоли, оценили CD3+ инфильтрацию отдельно в стромальном и паренхиматозном компоненте, что не обсуждалось в работе Zang L [35]. Инфильтрация CD3+ Т-клетками паренхимы была установлена в 73 случаях, а в 44 образцов опухолей ее не наблюдалось. Анализ выживаемости в этих группах не выявил корреляции CD3+ интратуморальных реакций с прогнозом, тогда как по данным Zang L. различия в медиане общей выживаемости были разительны (50,0 и 18,0 мес.). Единственной популяцией Т-клеток, достоверно связанной с прогнозом, оказалась CD8+субпопуляция лимфоцитов паренхимы опухоли. Выраженные CD8+ интратуморальные реакции паренхимы ассоциировались с большей продолжительностью жизни (55,0 и 26,0 мес.). Еще несколько работ стали свидетельством связи интрапаренхиматозной инфильтрации CD8+субпопуляцией лимфоцитов при серозном раке яичников с хорошим прогнозом [52, 53, 54]. В работе соотечественников, Зуевой Е.В. продемонстрировано, что выраженная инфильтрация паренхимы опухоли CD8+ цитотоксическими и, в особенности, высокое соотношение CD8+/CD4+ опухоле-пенетрирующих лимфоцитов являются факторами благоприятного прогноза [31].

Публикация Piersma S. показала связь интратуморальных CD8+ реакций с прогрессией рака шейки матки. Метастазирование в регионарные лимфоузлы сопровождалось снижением уровня CD8+ интратуморальных иммунных реакций первичной опухоли. Это установили в своей работе Piersma S. J. и соавт.: низкий уровень лимфогенной диссеминации наблюдался на ранних стадиях [34]. Высказывания de Jong R.A. также стали свидетельством о связи интратуморальных иммунных реакций с клинико-морфологическими параметрами опухоли: более выраженная CD8+ инфильтрация наблюдалась на начальных стадиях рака эндометрия (85,3% при I-II, 72,4% при III-IV). Более того, обнаружено, что опухоли с высоко и умеренной дифференцировкой чаще были инфильтрированы CD8+ клетками. Авторы указывают, что в сравнении с другими гистотипами эндометриальный рак чаще характеризовался выраженными CD8+ клеточными реакциями [33]. Вместе с тем в многофакторном анализе установлено, что выраженная инфильтрация опухоли CD8+ клетками имела независимое прогностическое значение при анализе общей выживаемости, что наблюдали как пределах всей выборки (HR 0.48, 95% C.I. 0.26–0.89,  $p = 0.019$ ), так и для II патогенетического типа рака эндометрия (HR 0.17, 95% C.I. 0.08–0.36,  $p < 0.001$ ).

Как мы указали выше, есть и другие исследования, в которых показана противоположная роль CD8+клеток. Это касается отдельных субпопуляций, которые еще слабо изучены. Однако мы не ставим перед собой задачу как-то расширить рамки обсуждаемой проблемы, но в то же время это вызывает научное любопытство и некоторые сведения кажутся весьма интригующими. Итак, по некоторым данным, кроме цитолитического эффекта CD8+ лимфоциты могут проявлять и иммуносупрессивные свойства: это касалось субпопуляции,

неэкспрессирующей костимуляторную молекулу CD28 [55]. Изучение CD8+CD28- субпопуляции проводилось в первичной опухоли, метастатических лимфатических узлах и периферической крови при разных злокачественных опухолях. Во-первых, это показано в работе Filaci G.: субпопуляция CD8+CD28- лимфоцитов подавляла пролиферативный и цитотоксический потенциал Т-клеток *in vitro*, что наблюдалось как посредством цитокиновых реакций, так и так и цитолитического воздействия [56]. Во-вторых, установлена связь CD8+CD28- лимфоцитов с клинико-морфологическими характеристиками опухоли в работе Karagoz B. Супрессорная активность CD8+CD28- клеток периферической крови больных раком легкого положительно коррелировала со стадией болезни, и отрицательно - с выживаемостью больных [57]. Нельзя не отметить, что и при раке молочной железы уровень периферических CD8+CD28- Т-лимфоцитов являлся независимым фактором прогноза безрецидивной выживаемости, о чем Song G. и соавт. сообщили в журнале *Cancer Immunology, Immunotherapy* в 2013 году [58]. Повышенное содержание CD8+CD28- клеток в периферической крови наблюдалось при I-II стадиях опухоли. В результате оценки эффекта химиотерапии обнаружено, что снижение содержания CD8+CD28- клеток было ассоциировано с выраженным патоморфозом. Иными словами, число CD8+CD28- клеток находилось в обратной корреляции с прогнозом рака молочной железы. В отношении субпопуляции CD8+CD28+ клеток выявлено диаметрально противоположное влияние. Li Y. установили, что у больных раком молочной железы имело место сниженное содержание CD8+CD28+, и чаще отмечалось метастазирование в регионарные лимфоузлы [59].

Нельзя обойти вниманием работу Baker K. и соавт., которые изучили CD8+ интратуморальные иммунные реакции на тканевом микрочипе карцином молочной железы [60]. Их данные вступают в противоречие с данными, полученными другими исследователями. Авторами установлено, что выраженная CD8+ инфильтрация коррелировала с низкой выживаемостью. Эти результаты были характерны для гормонопозитивных опухолей. Противоположная картина наблюдалась в группе опухолей с отсутствием экспрессии рецепторов эстрогенов: CD8+ инфильтрация коррелировала с улучшением выживаемости, и, что интересно, эта закономерность сохранялась для низкодифференцированных опухолях. Это исследование подчеркивает, что в зависимости от фенотипа рака молочной железы степень лимфоидной инфильтрации различается. К примеру, инфильтрация опухоли цитотоксическим CD8+ лимфоцитами наиболее выражена при трижды-негативном подтипе рака молочной железы [61, 62]. Другой группой ученых оценивался уровень цитотоксических реакций CD8+ при раке шейки матки [63]. Изучено 5 типов иммунных клеток, инфильтрирующих паренхиму опухоли: CD8+, активированные НК-клетки, нейтрофилы, активированные тучные клетки, макрофаги). Анализ выживаемости показал, что у пациентов в группе с высоким содержанием

этих клеток была более низкая общая выживаемость (OR = 3,0113; 95% ДИ = 1,8746–4,8373;  $p < 0,0001$ ), что также подтвердил многофакторный анализ. Серьезные затруднения возникают при трактовке в таких случаях, поскольку они являются проблемными для однозначной интерпретации и неясно, какую роль играли CD8+ клеточные реакции, что именно являлось определяющим в прогнозе.

Известно, что выраженный уровень CD8+ интратуморальных иммунных реакций коррелирует с высокой частотой полного патоморфоза после неoadъювантной химиотерапии [64, 65]. Интересно, что Her2/neu позитивный подтип рака молочной железы имеет такой же уровень инфильтрации, как и трижды-негативный подтип, но для него не отмечено преимущества в выживаемости [66]. Наименьший уровень CD8+ интратуморальных реакций отмечается в гормоно-положительных Her2/neu негативных опухолях. Для этих опухолей характерна инфильтрация регуляторными CD4+CD25+Foxp3+ клетками и значительно худший прогноз. Это хорошо объясняет результаты, полученные в исследовании Baker К. и соавт., которые нами рассмотрены выше.

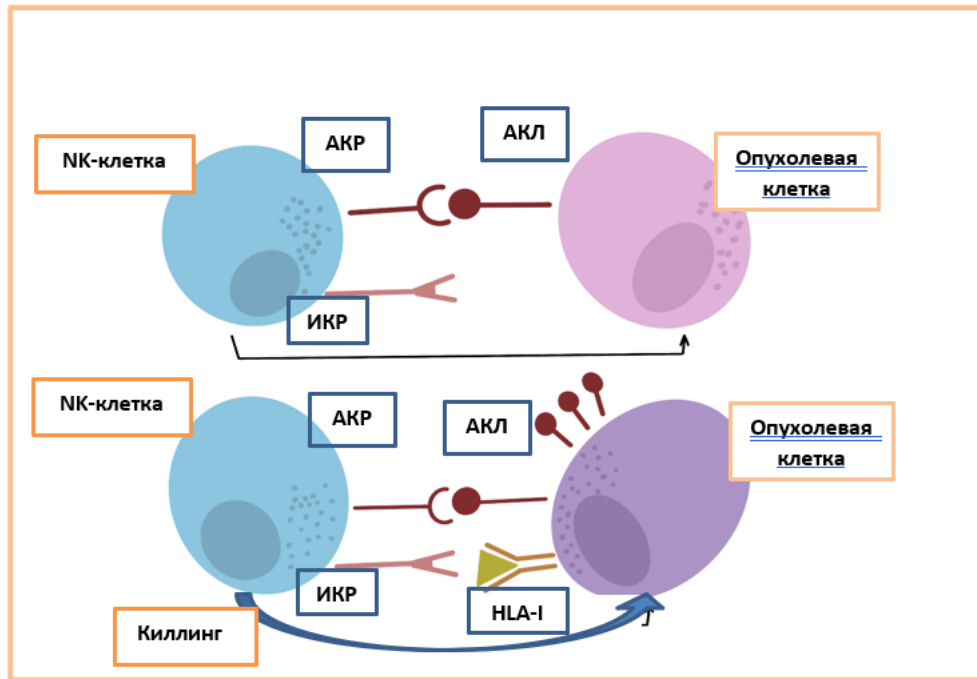
Иммуносупрессивная роль популяции CD4+CD25+Foxp3+ регуляторных Т-клеток при раке известна и хорошо изучена. Популяция регуляторных Т-лимфоцитов представлена Th3, Th1 – клетками, которые продуцируют интерлейкин 10, TGF-бета [67]. Рецептор интерлейкина CD25 также экспрессирован на активированных Т-клетках, он препятствует их активации после связывания с комплексом МНС-антиген. CD4+CD25+Foxp3+ лимфоциты оказывают ингибирующее воздействие на эффекторные иммунные клетки, посредством как цитокиновых сигналов, так и прямого цитолитического эффекта, могут конкурентно связываться с рецептором интерлейкина-2 [68, 69]. Деплеция CD4+ регуляторных клеток с помощью анти-CD25 антител существенно усиливает эффективность противоопухолевого иммунитета при соответствующей вакцинации мышей [70]. Это отменяет иммуносупрессию и индуцирует CD8+ Т-клеточный противоопухолевый иммунитет.

Присутствие в иммунном инфильтрате выраженной доли CD4+CD25+Foxp3+ клеток установлено при многих видах злокачественных опухолей, в том числе и при опухолях женской репродуктивной системы [71, 33, 32, 35]. Содержание Т-регуляторных клеток составляет до 15 % от популяции CD4+Т- лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, что зачастую коррелирует с неблагоприятным прогнозом, тогда как их сниженное содержание является благоприятными признаком [72, 73]. В исследовании Jamiyan Т. при трижды-негативном подтипе рака молочной железы установлено, что интратуморальная инфильтрация CD4+ клетками коррелировала с хорошей безрецидивной выживаемостью, а низкое содержание субпопуляции стромальных Foxp3+ клеток ассоциировано с улучшением общей и безрецидивной выживаемости. [74]

Вместе с тем есть и другие исследования, в которых роль этой популяции рассматривается в комплексе с CD8+ инфильтрацией. West NR. изучили взаимосвязь между регуляторными CD4+CD25+Foxp3+ инфильтрирующими опухоль лимфоцитами и прогнозом при гормоно-негативном раке молочной железы [75]. Наличие выраженной пропорции CD4+CD25+Foxp3+ клеток в опухоли коррелировало с продолжительной безрецидивной выживаемостью (HR = 0,461, p = 0,0002), особенно среди базальноподобных опухолей (HR = 0,280, p = 0,0001). Кроме того, исследователи указывают, на положительную корреляцию этой популяции с CD8+ цитотоксическими Т-клетками, при этом отсутствовало влияние на прогноз в случае слабой выраженности CD8+Т-клеточных интраопухольных реакций. Схожие результаты получены в работе Liu S. и соавт. Выраженное количество CD4+CD25+Foxp3+ клеток было в значительной степени связано с молодым возрастом, отрицательным рецепторным статусом (РЭ), CD8+ цитотоксической Т-клеточной инфильтрацией и Her2/neu позитивным статусом. В этих случаях наблюдались лучшие показатели выживаемости (OR = 0,48, 95% ДИ = 0,23–0,98) [48].

Высокое соотношение CD8+/FoxP3+ является независимым фактором благоприятного прогноза. В работе Sato E. высокое соотношение было благоприятным прогностическим признаком относительно общей выживаемости больных аденокарциномой яичников [35]. Liang Y., проведя изучение опухоли до и после неoadъювантной терапии при раке шейки матки указали, что по их данным, соотношение CD8+/Foxp3+ Т-клеток после лечения ассоциировано с эффективностью лечения и хорошим прогнозом [32]. При раке эндометрия de Jong R.A. также выявили связь соотношения CD8+/Foxp3 клеток с прогнозом: повышенное соотношение CD8+/FoxP3+ было независимо связано с улучшением показателей выживаемости при раке эндометрия I типа (OR 0,44, 95% ДИ 0,23–0,84, p = 0,013) [33].

НК-клетки являются не менее значимыми в противоопухолевом иммунном ответе. они распознают опухолевые антигены вне контекста молекул главного комплекса гистосовместимости. НК-клетки содержат цитотоксические гранулы, распознают липидные и гликолипидные антигены, продуцируют различные цитокины. Активированные интерлейкином-12 они реализуют свой ответ в качестве эффектора 1 типа. Активация НК-клеток определяется балансом активирующих и ингибирующих рецепторов на клеточной поверхности, что зависит от этапа дифференцировки и вида субпопуляций НК-клеток (Рисунок 2) [76]. Основными субпопуляциями НК-клеток являются CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>low/-</sup> и CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>, последняя обладает выраженной противоопухолевой активностью [77].



АКР – активирующие рецепторы, ИКР – ингибирующие рецепторы, АКЛ – активирующие лиганды, HLA I – молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса

**Рисунок 2** – Регуляция иммунных ответов NK-клетками

Следует обратить внимание, что NK-клетки могут демонстрировать не только противоопухолевые свойства, но проявлять себя как эффекторы 2-го типа, продуцируя интерлейкины -4, -13, интерферон-гамма, таким образом оказывая регуляторное воздействие на иммунные клетки. Приобретение NK-клетками иммунорегуляторного фенотипа объясняет низкие цитотоксические функции NK-клеток при раке [77].

В пуле опухолеинфильтрирующих лимфоцитов NK-клетки составляют небольшую долю, поэтому большинство исследователей предполагает, что их роль заключается в поддержании взаимодействий между Т-эффекторами и антигенпредставляющими клетками путем продукции хемокинов, интерлейкинов [78, 79, 80, 81]. Увеличение содержания NK-клеток отмечено при местно-распространенном и при метастатическом раке молочной железы [82, 83, 58]. Однако NK-клеточная цитотоксичность снижается по мере нарастания распространенности опухолевого процесса. Следует подчеркнуть, что даже при их нормальном содержании по мере прогрессии рака способность к цитотоксической активности у NK-клеток снижается [83, 84, 85]. Развитие опухоли неуклонно ведет к нарастанию супрессии активирующих рецепторов и усилению экспрессии ингибиторных рецепторов NK-клеток [85, 86]. На поздних стадиях опухолевого процесса NK-клетки характеризуются сниженной чувствительностью к цитокинам



[87, 88]. При раке молочной железы отмечается более низкий уровень NK-клеточной активности в случаях регионарного метастазирования, а также при более поздних стадиях опухоли [89, 90]. Интересно отметить, что микроокружение опухоли может ингибировать созревание NK-клеток, чтобы избежать опосредованной NK-цитотоксичности, и индуцировать их толерантность [91, 92]. Так, Mammessier E. и соавт. в своей работе указывают, что опухоль-инфильтрирующие NK-клетки не располагаются рядом со здоровыми NK-клетками молочной железы, а локализуются между CD56bright и более незрелыми популяциями NK-клеток, составляя почти 70% от NK-клеток. Эти NK-клетки имеют фенотип, который напоминает наивные клетки. Авторы предполагают, что клетки рака молочной железы в ходе эволюционных изменений приобретают свойство менять механизм рецепторного разнообразия NK-клеток, чтобы избежать противоопухолевого иммунного ответа, переводя таким образом их в анергичное состояние [93].

Оценка прогностической значимости опухоль-инфильтрирующих NK-клеток, также как и цитотоксических CD8+ лимфоцитов, проводилась неоднократно разными группами ученых в попытке уловить их взаимосвязи с течением болезни. Следует подчеркнуть, что отношение к роли NK-клеток до сих пор не столь однозначное. Известно, что подавление цитотоксической активности NK-клеток служит одним из медиаторов ускорения роста рака, что особенно усугубляется в стрессорных условиях [94]. Кроме того, деплеция NK-клеток улучшает формирование Т-клеток памяти [95]. В своем исследовании Zhang S. и соавт. суммировали данные нескольких работ, в том числе по раку молочной железы. Изучение NK-клеток в опухоли преимущественно выполнялось иммуногистохимическим методом на основании экспрессии маркеров CD56, CD57, NKp46 [96]. Высокий уровень инфильтрации NKp46+, CD57+ клетками, коррелировал с улучшением общей и безрецидивной выживаемости. В отношении CD56+ инфильтрации также показано улучшение показателей общей выживаемости, в том числе при раке молочной железы [97, 98]. В исследовании Muntasell A. оценивался уровень инфильтрации NK-клетками при HER2 позитивном молекулярном подтипе: выявлена связь выраженной инфильтрации с полным патоморфологическим ответом на терапию [99]. Но есть и противоположные данные. Так, Park M.H и Vgenopoulou S. не установили взаимосвязи между выживаемостью и выраженностью инфильтрации опухоли NK-клетками [100, 101]. А в работе, представленной Rathore A.S. и соавт. слабый уровень инфильтрации CD56+ NK-клетками коррелировал с хорошим ответом на лечение и лучшей выживаемостью, и обратно был связан со степенью злокачественности опухоли, стадией и состоянием лимфоузлов [102]. При раке шейки матки Mengdi He и соавт. изучали NK - клетки в комплексе с CD8+Т-клетками, нейтрофилами, макрофагами, активированными тучными клетками. Выраженная инфильтрация опухоли этим иммунными клетками коррелировала с низкими показателями выживаемости.

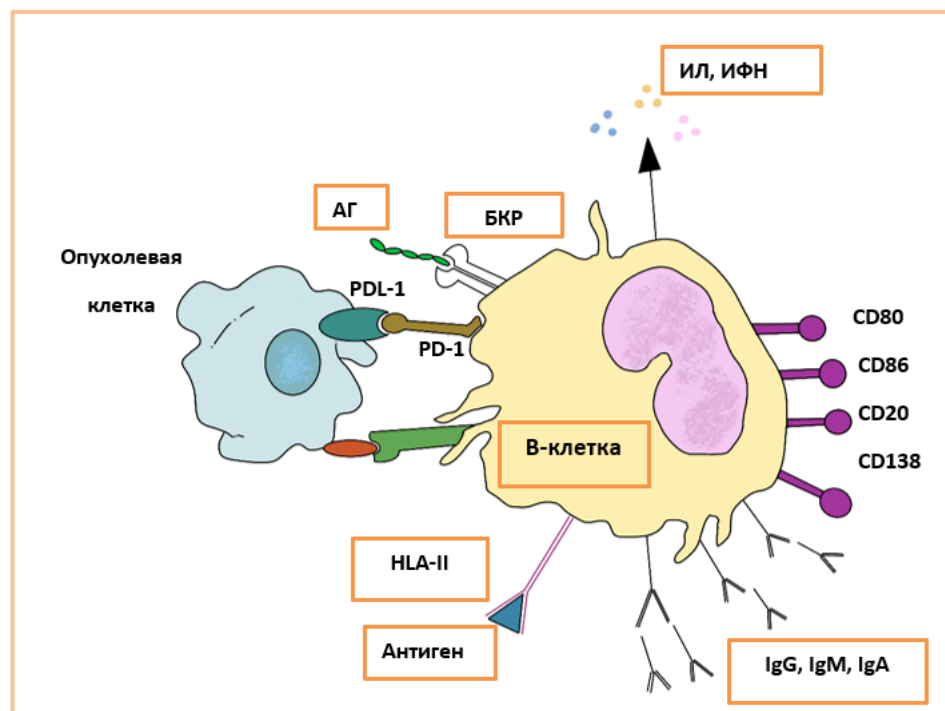
До сих пор ведутся дебаты в отношении роли НК-клеток при раке яичников. Их разные субпопуляции связаны как с прогрессированием, так и с контролем роста опухоли [54]. Большинство исследователей сообщают о слабой инфильтрации НК-клетками первичной опухоли яичника, преобладании клеток, которые подавляют иммунный ответ и поддерживают прогрессию рака [103]. НК-клеточная инфильтрация изучалась в работе Dong HP, которые пришли к выводу, что выраженная пропорция НК-клеток связана с ухудшением показателей выживаемости [104]. Эти результаты указывают на то, что присутствующие в опухолевом инфильтрате НК-клетки могут быть нефункциональны: отличаться сниженной пролиферацией, менее выраженной цитолитической функцией и слабой продукцией воспалительных цитокинов по сравнению с НК-клетками периферической крови того же пациента [105, 106]. Тогда как выраженная сочетанная НК- и CD8+T-клеточная реакция в паренхиме опухоли была ассоциировано с лучшим прогнозом при первичном раке яичников [107].

Информации о роли НК-клеток при раке тела и шейки матки очень скудная. Клетки периферической крови отличаются своим потенциалом у здоровых доноров и больных раком шейки матки. Инфильтрирующие опухоль НК-клетки имеют фенотип CD56brightCD16-. НК-клетки матки представляют собой тканеспецифическую специализированную популяцию клеток, которая составляет большой процент как эндометриальных, так и децидуальных лимфоцитов [108]. Они проявляют слабую цитотоксичность в отношении опухолевых мишеней по сравнению с периферическими НК-клетками [103]. При раке шейки матки изучены НК-клетки, инфильтрирующие паренхиму опухоли, и оценивалось их значение в комплексе с цитотоксическими CD8+ клетками, нейтрофилами, активированными тучными клетками, макрофагами. Анализ выживаемости показал, что у пациентов в группе с высоким содержанием этих клеток была более низкая общая выживаемость (OR = 3,0113; 95% ДИ = 1,8746–4,8373;  $p < 0,0001$ ), что также подтвердил многофакторный анализ [63].

Представленные выше исследования демонстрируют противоречивые данные о роли популяций НК-клеток, что может быть обусловлено разными причинами, в том числе отсутствием информации об отдельных видах субпопуляций инфильтрирующих опухоль, и их пропорции. Поэтому еще требуется накопление данных для четкого понимания роли популяций НК-клеток.

В-клетки (CD20+, CD19+) вносят значительный вклад в реализацию противоопухолевого иммунного ответа, поскольку являются источником защитных врожденных и адаптивных антител. В контексте нормального развития и селекции известны два вида В-лимфоцитов: В1- и В2-клетки, которые имеют определенный мембранный репертуар и функциональный потенциал [109] В1-лимфоциты экспрессируют на своей поверхности антиген CD5, осуществляют тимуснезависимый ответ на патогены, способны к продукции иммуноглобулинов класса М,

которые обеспечивают распознавание опухоле-ассоциированных гликанов и транспортировку в опухолевые клетки липидов, приводя к апоптозу опухолевой клетки [110, 111, 112, 113]. Важно подчеркнуть, что пентамерные IgM, реагируют только с опухолевыми клетками, не затрагивая нормальные ткани, т.е. специфически [12]. Интересно отметить, что костно-мозговые В1-клетки продуцируют значительно большее количество антител класса М [114]. Также В-1 клетки могут продуцировать интерлейкин-10, выполняя регуляторную функцию, эта популяция носит название В10-клетки [115]. В-клетки находятся в тесной кооперации с Т-клетками, влияя на их функции посредством костимуляторных молекул ICOS, CD80 и CD86; для цитотоксических CD8+ Т-клеток в иммунном ответе решающую роль играет костимулирующий сигнал CD40/CD40L (Рисунок 3) [116]. Продуцируя различные хемокины и цитокины В-клетки способствуют привлечению субпопуляций Т-клеток в опухоль.



ИЛ – интерлейкины, ИФН – интерфероны, АГ – антиген, БКР – В-клеточный рецептор, HLA II – молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса, PD1 – рецептор программируемой клеточной гибели, PDL-1 – лиганд рецептора программируемой клеточной гибели

**Рисунок 3** – Регуляция иммунного ответа В-клетками

Инфильтрация опухолевой ткани В-клетками наблюдается нередко, но в основном доля В-клеток в лимфоидном инфильтрате невелика. По данным разных источников, пропорция В-лимфоцитов составляет от 15 до 30% от всех интратуморальных лимфоцитов [117, 118, 119, 120]. Как правило, В-лимфоциты располагаются скоплениями в строме опухоли. При раке

молочной железы В-клеточная инфильтрация чаще умеренная. Miligy I и соавт. сравнили В-клеточные реакции (CD20+, CD19+) в группе протоковой карциномы *in situ* (DCIS) с инвазивным компонентом /микроинвазией и без таковой [118]. DCIS характеризовалась большим количеством CD20+ клеток в сравнении с DCIS с наличием инвазивного компонента, которые располагались как в паренхиме опухоли, так и в строме а также перитуморально. При этом отмечена связь выраженной пропорции пери-, параопухолевой CD20+ инфильтрации с большим размером опухоли ( $p = 0,016$ ), отрицательным гормональным статусом (РЭ /ПП) ( $p = 0,008$ ) и положительными статусом Her2/neu ( $p = 0,010$ ). При DCIS с инвазивным компонентом случаи выраженной CD20+ инфильтрации, независимо от локализации В-клеток или топографического распределения, были достоверно связаны с плохим прогнозом (а также с большим размером опухоли, высокой степенью злокачественности, лимфоваскулярной инвазией, метастазами в лимфатические узлы, РЭ/ПП-отрицательным и Her2/neu+ статусом). Напротив, при DCIS без инвазивного компонента слабая CD20+ инфильтрация коррелировала с более долгим безрецидивным интервалом ( $p = 0,04$ ).

В исследовании Kuroda H. и соавт. изучили В-клеточную инфильтрацию с Т-клеточной инфильтрацией при раке молочной железы. Выраженный уровень стромальных CD20+ -клеточных реакций в сочетании с CD4+, CD8+ коррелировал с хорошим прогнозом. При слабой CD20+ клеточной реакции стромы в сочетании с выраженной долей CD25+ и Foxp3+ клеток прогноз был хуже [119]. Еще несколько работ сообщают о положительной связи В-клеточной инфильтрации с прогнозом рака молочной железы, но есть и исследования, которые таковой связи не установили, либо имела место обратная корреляция [121, 122, 123].

При раке яичников, раке тела и шейки матки опухоли характеризуются более слабым типом В-клеточных реакций [120]. По данным Yang C. при раке яичников (high grade) хороший прогноз был связан с низким уровнем CD20+ инфильтрации: медиана общей выживаемости составила 160,6 месяца при слабой инфильтрации В-клетками по сравнению с 47,3 месяца при выраженной ( $p = 0,0015$ ) [124]. Любопытно, что имела место высокая положительная корреляция инфильтрации В-клетками с экспрессией pSTAT3 ( $R=0,82$ ,  $p < 0,0001$ ). В исследовании Henriksen JR выполнена оценка уровня В-клеток периферической крови при рецидивном раке яичников: низкое содержание В-лимфоцитов имело неблагоприятное прогностическое значение [14].

Плазмочитарные реакции опухоли довольно часто наблюдаются при раке яичников, раке тела и шейки матки. Существует специфичный для плазматических клеток антиген CD138, но наибольшее распространение в визуализации плазмочитарных реакций получили антитела к CD38, поскольку отмечается яркая цитоплазматическая реакция плазмочитов. Значение плазмочиточной инфильтрации опухоли в осуществлении противоопухолевого иммунитета

остается неясной. Тем не менее, инфильтрация плазмочитами наблюдается достаточно часто при иммуногистохимическом изучении рака яичников. В своей работе Kroeger DR и соавт. В-клеточные реакции при раке яичников наблюдали в виде небольших или крупных диффузных скоплений, которые часто были окружены плотными инфильтратами плазматических клеток, составляющими до 90% стромы опухоли [125]. При этом имела место экспрессия IgG, что свидетельствует об антиген-специфических ответах. Авторы отмечают, что уровень плазмклеточных реакций был связан с самыми высокими уровнями В- (CD20+) и Т- (CD8+, CD4+) -клеточных реакций. CD8+ реакции были связаны с прогнозом, но только в ассоциации с плазмочитарной инфильтрацией.

Следует констатировать, что сведения в работах, посвященных изучению В-клеточного звена иммунопоэза еще недостаточны для того, чтобы однозначно судить о роли В-лимфоцитарного компонента опухоли в развитии болезни. Мнения исследователей полярные. Зачастую это обусловлено сравнением В-клеточных реакций в ассоциации с Т-клеточными, а также плазмочитарными реакциями, или же сравнение разных компонентов инфильтрации. Также причиной могут служить изучение отдельных подтипов и гистотипов рака, различные режимы лечения. Сопоставление результатов в таких исследованиях затруднительны.

Резюмируя данный раздел обзора, подчеркнем, что многообразие иммунологических реакций организма на опухоль, по сути, должно рассматриваться как основа для комплексного подхода к иммуногистохимической оценке иммунных реакций при опухолях женской репродуктивной системы. Безусловно, изучение типов интратуморальных иммунных реакций является кропотливым и сложным трудом, требующим согласованного участия онкологов, патоморфологов, иммунологов. Одним из основных достижений такого труда на сегодня является доказанная роль Т-клеточных лимфоидных реакций в противоопухолевой защите. Т-лимфоциты, а точнее их небольшая популяция – активированные цитотоксические Т-клетки, способны к прямому уничтожению клеток рака. Вместе с тем долгое время не существовало единого взгляда на этот вопрос, да и вообще ставилось под сомнение их значение, ведь спонтанных регрессий опухолей практически не наблюдается.

Исследования последних десятилетий ознаменовались важными открытиями, что и другие эффекторные клетки принимают участие в местных иммунных реакциях опухоли. Накапливаются факты о роли отдельных субпопуляций интратуморальных лимфоцитов при опухолях женской репродуктивной системы, что становится важным аспектом прогностической и диагностической базы. Однако следует признать, что пока эти данные разрозненны, зачастую противоречивы и недостаточны для однозначного трактования и их практического использования. Еще не сформировалось окончательного видения в системе оценки иммунных реакций, протекающих в опухоли, что могло бы послужить для широкого использования.

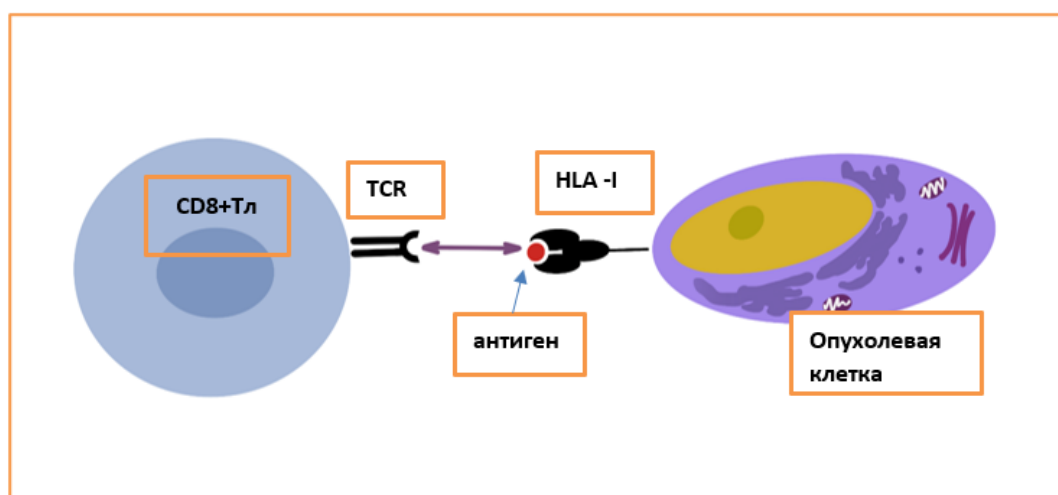
Вместе с тем заложены основные принципы, позволяющие изучать паренхиматозный и стромальный компоненты опухоли, что в значительной степени облегчило понимание и согласованность в исследованиях между разными группами ученых. В целом, результаты изучения иммунокомпетентных клеток, инфильтрирующих опухоль, позволяют со всей определенностью утверждать не только целесообразность, но и полезность углубленного анализа субпопуляций с целью приблизиться к расшифровке этого удивительного феномена динамического взаимодействия опухоли и системы противоопухолевого иммунитета организма. Вне всяких сомнений, отсутствие таковых знаний усложняет или делает невозможным планирование, проведение и контроль эффективности тех или иных видов иммунотерапии у больных с опухолями женской репродуктивной системы.

## **1.2 Современные представления об иммунофенотипе опухолей женской репродуктивной системы**

В последние десятилетия исследования фундаментальных основ биологии злокачественной опухоли продвинулись далеко вперед. Это позволило приоткрыть завесу ее биологических особенностей и обнаружило целый пласт признаков, которые на сегодняшний день предоставляют возможность проводить более точную диагностику рака и выбирать наиболее оптимальный путь лечения. Одним из таких признаков стали иммунологические маркеры, которые широко изучаются и становятся определяющими в выборе лекарственных подходов опухолей женской репродуктивной системы. За более чем полувековую историю сделано немало открытий и стало известно, что маркеры, характеризующие особенности опухолевого роста (рецепторы трансферрина, молекулы адгезии и апоптоза), антигены главного комплекса гистосовместимости, играющие важную роль во взаимодействии опухоли с иммунной системой организма, представляют ценную информацию о закономерностях возникновения и прогрессии рака. На сегодняшний день не вызывает сомнений, что иммунологический фенотип злокачественных клеток во многом определяет направленность и выраженность иммунного реагирования системы противоопухолевой защиты организма.

Главный комплекс гистосовместимости или комплекс человеческих лейкоцитарных антигенов (HLA), представляющий собой весьма полиморфный генный комплекс, который кодирует молекулы клеточной поверхности, целевое предназначение которых заключается в распознавании и представлении собственных и чужеродных белков [126]. HLA содержит более 200 идентифицированных локусов, расположенных близко друг к другу в пределах короткого плеча 6-й хромосомы [127, 128, 129]. На основе своих функций и структуры антигены HLA подразделяются на три класса: класс I, II и III.

Молекулы HLA I класса определяются на поверхности всех ядродержащих клеток организма, за исключением зародышевых и некоторых нейрональных клеток [130]. Молекулы HLA I класса экспонируют на клеточной мембране пептидные фрагменты, происходящие от эндогенно расщепленных собственных или чужеродных белков. Эти пептиды распознаются T-клеточным рецептором цитотоксических T-лимфоцитов (CD8+) [131]. Пептиды собственных (немутированных) белков в норме игнорируются цитотоксическими T-лимфоцитами. Клетки рака aberrантно экспрессируют клеточные белки, из которых образуются опухолеспецифические антигены и опухолеассоциированные антигены. Путем презентации этих антигенов опухолевые клетки распознаются CD8+T-лимфоцитами и могут подвергнуться уничтожению (Рисунок 4). Используя эту систему адаптивного иммунитета, CD8+T-клетки проявляют мощную противоопухолевую активность [132].

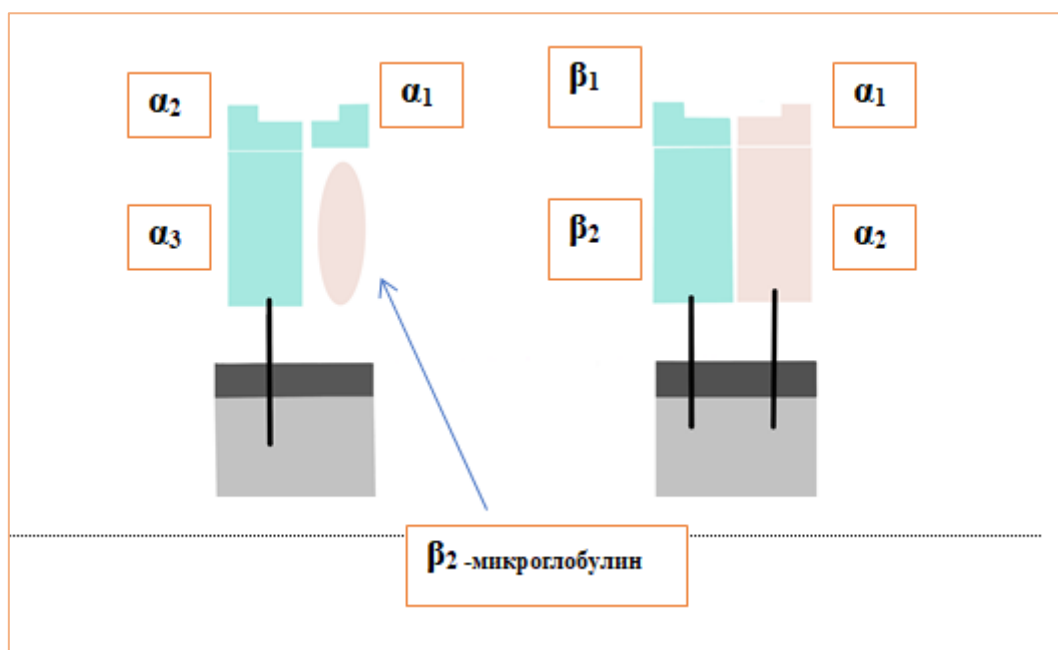


Тл – Т-лимфоциты, TCR – Т-клеточный рецептор, HLA-I – молекулы главного комплекса гистосовместимости I класса

**Рисунок 4** – Молекулы HLA I класса опосредуют иммунный ответ

Молекулы HLA I класса также могут представлять пептиды, генерируемые из экзогенных белков, процесс, известный как перекрестная презентация [130, 133]. Этот процесс необходим для распознавания и уничтожения как опухолевых клеток, так и вирусов. Кроме опосредования реакций адаптивного иммунитета молекулы HLA I класса также принимают участие в реализации врожденных иммунных ответов, поскольку являются лигандами ингибирующих Ig-подобных рецепторов NK-клеток [134]. Так как большинство нормальных ядродержащих клеток экспрессируют молекулы HLA I класса, ингибирующие рецепторы обеспечивают их защиту от атаки NK-клетками. NK-клетки уничтожают только опухолевые клетки, у которых экспрессия молекул HLA снижена [134, 135].

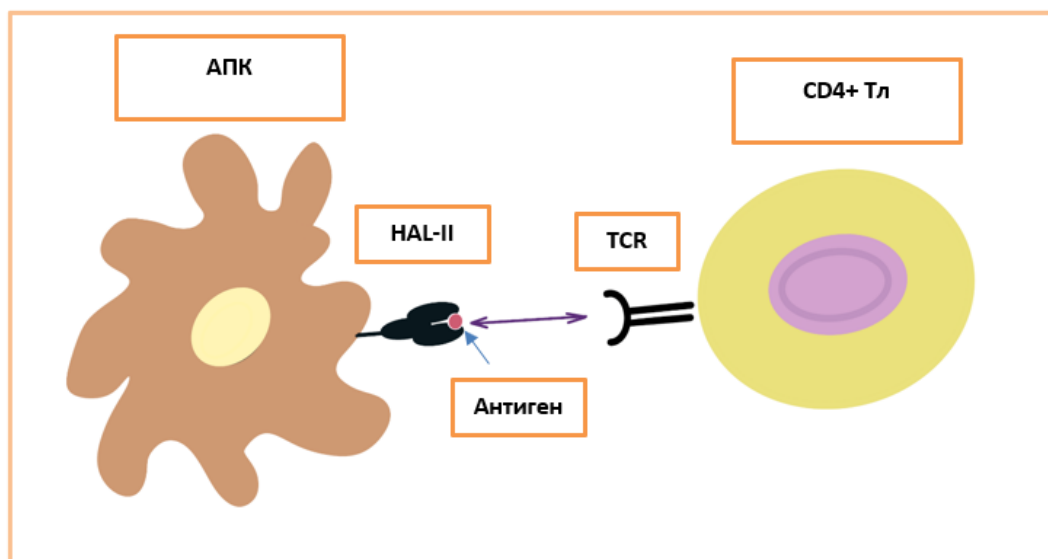
Молекулы HLA II класса кодируются генами в локусах HLA-DP, -DQ и -DR кластера 6-й хромосомы, и состоят из 2 высокополиморфных полипептидов, цепей  $\alpha$  и  $\beta$  (Рисунок 5) [136]. Только  $\beta_2$ -домен  $\beta$ -цепи является неполиморфной областью и предназначается для связывания с корцептором CD4+ Т-клеток [137, 131]. В результате презентации экзогенно полученных пептидов CD4+Т-клеткам молекулы HLA II класса таким образом способствуют переключению наивных Т-клеток в активированные Т-клетки (Рисунок 6). Помимо указанной функции, молекулы HLA класса II способны к регуляции активности В-клеток, макрофагов и Т-клеток [136].



**Рисунок 5** – Молекулы HLA I и II и класса

Молекулы HLA II класса обычно экспрессируются профессиональными антигенпрезентирующими клетками, а также эпителием тимуса и активированными Т-клетками [136]. В норме не наблюдается экспрессия молекул HLA II класса эпителиальными клетками других органов. По мнению Garrido F. et al. экспрессия молекул HLA II класса обусловлена развитием воспалительных, гиперпластических, опухолевых процессов, а также аутоиммунных [138]. Например, их экспрессия может появляться на эпителии молочной железы в поздние сроки беременности, а также при лактации. Появление молекул HLA II класса на клетках эпителия установлено как при предраковой патологии, так и при распространенных опухолевых процессах. Так, молекулы HLA II класса обнаруживается при цервикальной интраэпителиальной неоплазии [139]. Считается, что в большинстве предраков молекулы HLA II класса экспрессируются *de novo* [138].





Тл – Т-лимфоциты, АПК – антигенпрезентирующая клетка, TCR – Т-клеточный рецептор, HLA-II – молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса

**Рисунок 6** – Молекулы HLA II класса опосредуют иммунный ответ

При раке, как правило, наблюдается, избирательная потеря гаплотипа HLA, определенных локусов или аллелей и это представляет собой различные механизмы, которые могут вызывать aberrantную экспрессию антигенов HLA класса I. Одной из причин сниженной экспрессии HLA-I на клетках рака является нарушение транспорта этих молекул на  $\alpha$  мембрану, в норме осуществляемого белками TAP-1 и TAP-2. При исследовании 53 образцов раковой ткани и 5 образцов нормальной ткани установлена взаимосвязь экспрессии TAP-1, TAP-2 и HLA-I [140]. Установлено, что aberrации в экспрессии молекул гистосовместимости HLA I и II класса наблюдаются при многих видах рака, приводя к эффективному уклонению опухоли от иммунного ответа [141, 142, 138, 143, 144, 47]. В отношении молекулы HLA-I класса в литературе указывается, что обычно она утрачивается полностью или частично. Так, Артамонова Е.В. в своей работе сообщает, что экспрессия HLA-I класса была обнаружена в половине случаев рака молочной железы (56,2%). При серозном раке яичников экспрессия наблюдалась в 85% случаев, при этом только в 33% мономорфная [145]. При эндометриальной аденокарциноме отсутствие молекул HLA класса I выявлено у 41,3% пациентов, при этом авторы обратили внимание, что избирательная утрата HLA-A или HLA-B/C была установлена в 31,7% и 29,2% образцов, соответственно [143, 146].

Интересны исследования, указывающие на то, что в зависимости от вида рака экспрессия молекул HLA I класса может коррелировать с гистологическим типом опухоли, степенью ее злокачественности [147, 148, 47]. Так, в работе de Jong RA при раке эндометрия экспрессии

HLA класса I чаще наблюдалась в опухолях высокой степени злокачественности по сравнению с опухолями низкой степени злокачественности ( $p = 0,026$ ), кроме того, в случаях с потерей экспрессии HLA-B/C чаще проводилась адьювантная лучевая терапия [143]. Дополнительно указывается на связь экспрессии молекул HLA класса I со стадией, о чем по результатам своей работы сообщают Yakabe K и соавт: HLA-I отрицательный фенотип при III-IV стадии авторы наблюдали чаще [149].

Известно, что клетки рака могут экспрессировать молекулы HLA II класса и частота экспрессии, как правило, варьирует. Как мы указывали выше, в нормальном эпителии данные антигены не экспрессированы. Некоторыми авторами сообщалось о слабой экспрессии молекул HLA II класса клетками рака яичников [150, 151]. Низкая частота молекул HLA-DR обнаруживались также и на клетках рака молочной железы, что отмечено лишь в 25,0% случаев [47, 152, 153]. Другие исследователи заявляют, что клетки рака выражено экспрессируют молекулы HLA II класса, что наблюдалось как при раке яичников, так и при раке шейки матки [154, 155]. В своем исследовании Sanne Samuels и соавт. установили присутствие молекул HLA-DR на опухолевых клетках рака шейки матки в 68,3% случаев. Повышенная экспрессия HLA детерминанты класса II на эпителиальных клетках также обнаруживалась на различных стадиях цервикальной интраэпителиальной неоплазии [139]. Схожие указанным данные получены в исследовании Balakrishnan, C.K [156]. Надо сказать, что в доступной литературе нам встретились единичные работы, в которых изучалась HLA-II экспрессия при раке эндометрия, раке шейки матки.

По литературным данным, имеется связь между экспрессией главного комплекса гистосовместимости и лимфоидной инфильтрацией опухоли [157]. Этот вопрос достаточно широко и давно обсуждается в научном мире. Надо сказать, что проведено немало исследований в этом направлении, и с полной уверенностью можно утверждать, что таковая связь существует и доказывать это на сегодняшний день не требуется. Но почему же тогда исследования не прекращаются? Ответ видится простым и очевидным. Факт существования таковой связи является существенным, но недостаточным, поскольку характер иммунных реакций, протекающих в опухоли, скрывает в себе много разных аспектов ее особенностей развития и взаимодействия с иммунной системой. А это в свете новых представлений о гетерогенной природе опухолей требует дополнительных усилий по изучению и сопоставлению видов интратуморальных иммунных реакций с ее иммунофенотипическими характеристиками. В своем исследовании об этом сообщают Sinn и соавт., в котором выраженная экспрессия молекул HLA-I была ассоциирована с лимфоидной инфильтрацией опухоли [148]. Такая взаимосвязь установлена также в пределах гормон-позитивного HER2 - негативного рака молочной железы. Аналогично De Groot A.F. и соавт. в своей работе указывают, что преимущество лимфоидной

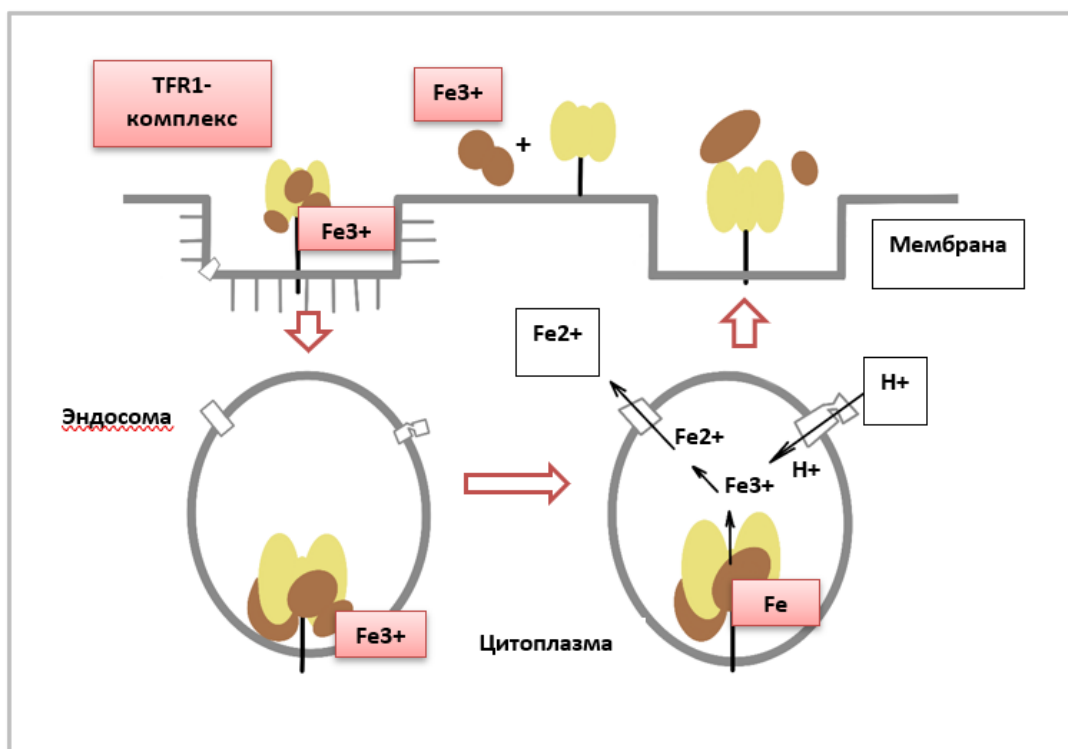
инфильтрации проявляется именно в случаях экспрессии клетками рака молекул HLA-I класса: при неоадьювантной химиотерапии в таких опухолях чаще наблюдался полный патоморфологический ответ [20]. Работы, отражающие взаимосвязь экспрессии молекул HLA с интратуморальными иммунными реакциями представлены и в отечественной литературе Артамоновой Е.В., Субботиной А.А., Буровым Д.А. и др. [47, 152, 153, 158].

В большинстве исследований экспрессия молекул HLA-II связана с лучшим прогнозом, улучшенным ответом на иммунотерапию у людей и повышенным отторжением опухоли в мышинных моделях рака молочной железы, саркомы, рака легких и рака толстой кишки [159]. Однако имеют место исследования, вступающие в противоречие с этими результатами. Например, есть данные, указывающие на отсутствие зависимости показателей выживаемости от экспрессии молекулы HLA-DR или на наличие обратной корреляции. В работе Артамоновой Е.В. не было выявлено корреляции экспрессии молекул HLA-II с прогнозом рака молочной железы [47]. Daltoé RD и соавт. сообщили, что экспрессия HLA-DR была связана с более агрессивным течением рака яичников, что проявлялось низкой чувствительностью к химиотерапии [160]. Rangel LB и соавт. указывают, что при раке яичников экспрессировалась только  $\alpha$  цепь молекул HLA-DR, что отрицательно влияет на функцию данной молекулы, и предполагают, что есть некие нарушения на молекулярном уровне, которые могут представлять собой особенность злокачественных клеток данного вида опухоли [161].

Иными словами, молекулы HLA-II не оказывают влияния на рост опухоли или, в некоторых случаях, ускоряют его. Mortara L. и соавт. в исследовании на мышинной модели рака легкого обнаружили, что клоны отдельных клеток, полученные из популяции, трансдуцированной Class II trans-activator, отличались более агрессивным ростом у мышей, когда экспрессия молекул HLA-II на клеточной поверхности была выраженной [162]. В этой связи существует интригующая, но недостаточно изученная гипотеза. Она состоит в том, что индукция молекул HLA класса I-II может привести к усилению иммуноингибирующих молекул на опухоль-инфильтрирующих лимфоцитах, таких как ген 3 активации лимфоцитов LAG-3, который связывает HLA класса II и отрицательно регулирует клеточную пролиферацию, активацию и гомеостаз Т-клеток [163]. Это явление поддерживает функцию регуляторных Т-клеток, создавая толерантную микросреду для роста опухоли. Murciano-Goroff и соавт. сообщили, что иммунотерапия, направленная на LAG-3, обладала синергизмом с ингибированием PD-1 на моделях мышей. Авторы предположили, что блокада совместной передачи сигналов может способствовать восстановлению благоприятной иммунной микросреды, которая может реагировать на антигенную стимуляцию [164].

Рецептор трансферрина 1 (TfR1), также известный как кластер дифференцировки 71 (CD71), представляет собой трансмембранный гликопротеин II типа и обеспечивает транспорт

железа через клеточную мембрану путем эндоцитоза (Рисунок 7) [165, 166]. Железо необходимо для многих клеточных процессов, в том числе для синтеза ДНК и, соответственно, для клеточной пролиферации. Из-за высокой пролиферативной активности клеток злокачественной опухоли отмечается повышенная экспрессия TfR1 [167, 168, 169, 170, 171]. Установлено, что внутриклеточное железо защищает клетки рака от воздействия естественных киллеров, а тяжелая цепь железодепонирующего белка ферритина ингибирует апоптоз [172, 173]. Также было показано, что TfR1 опосредует передачу сигналов NF- $\kappa$ B в злокачественных клетках посредством взаимодействия с ингибитором комплекса киназы NF- $\kappa$ B, тем самым увеличивая выживаемость раковых клеток [174]. Вместе с тем, установлено усиление экспрессии матричных металлопротеаз и синтеза интерлейкина 6 (IL-6), что способствует инвазии и метастатическому распространению опухоли [170].



**Рисунок 7** – TfR1 опосредует транспорт железа в клетку

Гиперэкспрессия трансферриновых рецепторов выявлена при многих видах солидных опухолей, таких как, рак почки, рак пищевода, холангиокарцинома, рак молочной железы, глиобластома [171, 175, 176, 177, 178, 153]. Вместе с тем, некоторые исследования демонстрируют, что опухолевые клетки, слабо экспрессирующие рецепторы трансферрина или не имеющие их вовсе, также могут обладать преимуществом в развитии. Это показали Ohkuma M. и соавт. в своем исследовании на примере клеточной линии рака желудка: CD71 негативные клетки характеризовались повышенной способностью к миграции и инвазии [179]. Тем не

менее, есть и другие наблюдения, которые указывают, что рецептор трансферрина способствует развитию опухоли и отражает ее агрессивность. Так, экспрессирующие TfR1 клетки обнаружены среди радиорезистентной популяции при некоторых видах злокачественных опухолей (глиома, рак шейки матки) [180, 181]. В ряде работ указывается на связь экспрессии TfR1 с гистопатологическими характеристиками опухолевых клеток. При оценке отдаленных результатов лечения рака молочной железы выявлена ассоциация экспрессии трансферринового рецептора с ухудшением показателей выживаемости [47]. При раке шейки матки Xu X. и соавт. наблюдали, что гиперэкспрессия рецепторов трансферрина была связана с прогрессированием опухоли, статусом лимфатических узлов, а также с ухудшением общей выживаемости [182]. Несмотря на стройность и логичность транслируемых выводов указанных работ, еще накоплено недостаточно данных, чтобы иметь однозначное представление о влиянии экспрессии трансферриновых рецепторов, так как даже опухоли, не экспрессирующие эти рецепторы, отличались выраженным злокачественным потенциалом [183]. Вместе с тем фундаментальные исследования продвинулись далеко вперед, демонстрируя категоричные суждения по этому вопросу, хотя справедливости ради надо отметить, что они подкреплены убедительными результатами как *in vitro*, так и *in vivo*. Большинство аргументов свидетельствуют, что высокая частота экспрессии трансферриновых рецепторов клетками рака могла бы рассматриваться с терапевтической точки зрения [184].

MUC1 – трансмембранный высокомолекулярный гликопротеин первого типа, принимающий участие в формировании слоя полисахаридов непосредственно на поверхности эпителиальных клеток, участвует в межклеточном взаимодействии. MUC1 защищает эпителиальные клетки от повреждений, вызванных свободными радикалами, низким pH, токсинами и другими факторами [185]. При экспрессии в раковых клетках MUC1 характеризуется гипогликозилированием, выраженным в изменении химической структуры и степени полимеризации гликанов. Наблюдается изменение внутриклеточной локализации MUC1. С потерей полярности, характерной для эпителиальных клеток, MUC1 распределяется по всей клеточной поверхности. Изменение полярности также вызывает перераспределение на клеточной поверхности факторов роста (фактор роста ткани (CTGF), тромбоцитарный фактор роста).

MUC1 влияет на транскрипцию регуляторных генов, ассоциированных с опухолевой инвазивностью, метастазированием, ангиогенезом, пролиферацией, устойчивостью к апоптозу, лекарственной устойчивостью и воспалением [186]. Внеклеточная субъединица MUC1-N опосредует подвижность раковых клеток. MUC1-N включает адгезивные повторы, определяющие взаимодействие с молекулой ICAM-1, которая играет ключевую роль в миграции лимфоцитов [187].

Различные структурные варианты MUC1 оказывают влияние на уровень питательных веществ и процесс их обмена в клетках опухоли. Отличительной чертой злокачественной клетки является повышенный метаболизм глюкозы, способствующий ее выживанию и пролиферации в условиях гипоксии [188]. Гипоксией индуцированный фактор HIF-1 $\alpha$  регулирует продукцию гликолитических ферментов, необходимых для пролиферирующих клеток опухоли. MUC1 действует в качестве регулятора экспрессии, стабильности и активности HIF-1 $\alpha$ . MUC1 физически взаимодействует с HIF-1 $\alpha$  в качестве стабилизирующего белка. Такое взаимодействие напрямую регулирует поглощение глюкозы и обмен других веществ [189].

При гипоксии MUC1 индуцирует экспрессию проангиогенных факторов (CTGF, PDGF-B и фактор роста эндотелия сосудов VEGF-A), что способствует формированию в опухоли структур, сходных с капиллярами, и прорастанию новых кровеносных сосудов [190, 191]. Такие наблюдения объясняют клинические выводы, которые подчеркивают связь избыточной экспрессии MUC1 с развитием метастазов и плохим прогнозом при раке поджелудочной железы, желчном пузыре, толстой кишки, молочной железы [192]. По литературным данным, при раке молочной железы MUC-1-позитивный фенотип был взаимосвязан с экспрессией РЭА, что является отражением злокачественной трансформации и связанных с ней процессов анаплазии и дедифференцировки [47]. При этом авторами установлена тенденция к снижению выживаемости больных раком молочной железы после выполнения радикальной операции [47].

MUC1 обнаружен во всех образцах серозной и муцинозной аденокарциномы яичников, и его экспрессия наблюдается довольно часто [193, 194]. Гиперэкспрессия MUC1 ассоциирована с более агрессивным течением рака яичников, резистентностью к лекарственной терапии [195]. По результатам исследования Zhang D. и соавт., частота экспрессии MUC1 при платинорезистентном раке яичников составила 91,89%, что значительно выше, чем в группе контроля (65,45%), при этом MUC1 оказался независимым фактором риска развития химиорезистентности рака яичников [196]. Случаи слабой экспрессии MUC-1 у больных раком яичников отмечены при ранних стадиях заболевания. Слабый уровень экспрессии MUC-1 при этом сочетался с лучшими результатами лечения. Дополнительно этот факт подтверждается в публикации Ноу R.: уровни экспрессии MUC1 коррелировали с клинико-морфологическими параметрами опухоли, а именно с клинической стадией по FIGO ( $p < 0,05$ ). Кроме того, авторами установлено, что выраженная экспрессия MUC1 находилась в прямой корреляции с экспрессией антигена Lewis(y), при этом в эксперименте сверхэкспрессия Lewis(y) антигена приводила к усилению экспрессии MUC1 [194]. Полученные результаты позволили авторам решительно заключить, что Lewis(y) антиген играет важную роль в регуляции экспрессии белка MUC1.

Молекулы адгезии (CD54, CD56, CD29) принадлежат семейству гетеродимерных трансмембранных гликопротеинов. CD29 – общая  $\beta$ -субъединица белкового семейства очень поздних антигенов (VLA) или  $\beta$ 1-интегринов, а N-CAM (CD56) и ICAM-1 (CD54) входят в состав суперсемейства гена иммуноглобулинов. Молекулы адгезии необходимы для межклеточных взаимодействий: лигандо-рецепторные связи обеспечивают прочное сцепление клеток между собой [197]. Экспрессия молекул клеточной адгезии изменяется в результате некоторых генетических неврологических расстройств, повреждений, онкогенной трансформации, что нарушает процессы адгезии и миграции клеток.

Молекулы CD29 участвуют не только в межклеточной адгезии, но и в прикреплении клетки к базальной мембране и компонентам межклеточного матрикса [198]. Экспрессия  $\beta$ 1-субъединицы интегрина в норме наблюдается в ткани покровного эпителия яичников, гранулезных клеток, маточных труб, эндометрия и цервикального канала. В частности, наличие этого маркера установлено в участках прикрепления эпителиальных клеток к базальной мембране и межклеточных соединений. Опухолевые клетки часто утрачивают связи с внеклеточным матриксом и базальной мембраной, что обуславливает их способность к инвазии и метастазированию. Клетки рака могут характеризоваться как сниженной частотой экспрессии CD29, так и повышенной. Например, при раке молочной железы в 75% наблюдений обнаруживается экспрессия молекул  $\beta$ -1 интегрinov CD29 [26]. Взаимодействие между клетками опухоли и ее микроокружением через молекулы клеточной адгезии способствует лекарственной устойчивости, известной как лекарственная устойчивость, опосредованная клеточной адгезией (CAM-DR) [199, 200, 201]. При некоторых видах рака показано, что опухолевые клетки с повышенной экспрессией  $\beta$ -1 субъединицы интегрива резистентны к препаратам платины, анти-Her2-neu и анти-PI3K препаратам [199, 202]. В недавних исследованиях детально рассмотрена связь молекул интегривов с метастазированием рака молочной железы: установлено, что ингибирование передачи сигналов тканевого фактора TF приводит к уменьшению прометастатических программ транскрипции и последующему интегрин- $\beta$ 1 и  $\beta$ 4-зависимому снижению метастазирования опухоли [203, 204].

По данным экспериментальных работ выявлено, что при раке яичников  $\beta$ -1 субъединица интегривов CD29 аналогично участвует в процессах адгезии, инвазии, миграции опухолевых клеток [205]. Хорошо известно, что клетки рака часто коэкспрессируют эпителиальные и мезенхимальные маркеры, что позволяет им осуществлять эпителиально-мезенхимальный переход за счет переключения E/N кадгеривов. Снижение экспрессия E-кадгерива сопровождается снижением уровня экспрессии молекул адгезии эпителиальных клеток (EрCAM), окклюдивов, клаудивов,  $\alpha\beta$ 4-интегрива, которые стабилизируют тесные межклеточные контакты через десмосомы [205]. Реципрокным образом увеличивается уровень  $\beta$ 1- и  $\beta$ 3-

интегринов, виментина, фибронектина, N-кадгерина, и матриксных металлопротеиназ. Таким образом происходит ослабление межклеточных контактов, отщепление клеток от первичной опухоли, переход их в асцит, а затем адгезия клеток рака яичников к местам вторичного метастазирования, таким как сальник и брюшина. Экспрессия молекул CD29 выявляется при раке яичников довольно часто. По данным Sawada K. и соавт. около 40% образцов рака яичников II–IV стадий экспрессировали  $\alpha 5\beta 1$ -интегрины, при этом авторы отметили, что гиперэкспрессия молекул CD29 коррелировала с более низкой медианой выживаемости пациентов [206]. Zhu LC и соавт. в своем исследовании получили схожие результаты: повышенная экспрессия  $\beta 1$ -интегринов ассоциировалась с ухудшением показателей выживаемости больных раком яичников, что сопровождалось развитием химиорезистентности [201]. В работе Dötzer K. и соавт. помимо прогностической роли молекул  $\beta 1$ -интегринов при серозном раке яичников выявлена их корреляция с экспрессией рецепторов эстрогенов и EGFR [202]. Кроме того, оказалось, что опухоли с гиперэкспрессией  $\alpha 2\beta 1$  – интегринов характеризовались отсутствием PD-L1 экспрессии и слабой местной T-клеточной иммунной реакцией, как в строме, так и в паренхиме опухоли [202].

Молекулы N-CAM (CD56) задействованы в биохимических каскадах адгезии клеток, реализация которых происходит параллельно с адгезивными механизмами с участием ионов кальция, взаимодействуя с гетерофильными и гомофильными рецепторами клеток и внеклеточного матрикса. Их экспрессия наблюдается в различных органах и тканях в эмбриогенезе, определяя процессы клеточного деления, дифференцировки, миграции. Экспрессия молекул N-CAM (CD56) при раке яичников превышает частоту экспрессии данного маркера в образцах доброкачественных и пограничных опухолей. Имеются данные о связи данного маркера со стадией рака яичников: указывается, что экспрессия молекул CD56 значительно повышена при распространенных стадиях, при наличии диссеминации по брюшине [200, 207]. Молекулы ICAM-1 (CD54) являются лигандом для LFA-1, Mac-1 и CD43. ICAM-1 экспрессируется на различных типах эндотелиальных клеток, эпителиальных клетках, фибробластах, на некоторых гемопоэтических клетках. Экспрессия молекулы адгезии ICAM-1 при раке молочной железы повышена по сравнению со здоровыми тканями молочной железы, положительно коррелирует с инвазивным потенциалом опухоли, однако в экспериментальной работе Regev O. клетки рака молочной железы с дефицитом ICAM-1 образовывали гораздо более крупные метастатические поражения, чем их контрольные аналоги [209]. Надо отметить, что ICAM-1 могут также действовать как сигнальные молекулы для модуляции локального микроокружения, создания прометастатической среды и запуска ангиогенного и десмопластического ответа посредством сложного взаимного диалога между опухолевыми клетками и клетками колонизированного органа. ICAM-1 опосредует несколько стадий



метастатического каскада, включая адгезию опухолевых клеток к эндотелиальной стенке, активацию эндотелиальными клетками прометастатических сигнальных путей, экстравазацию опухолевых клеток, привлечение популяций иммунных клеток [209].

MDR1/P-гликопротеин 170 (Pgp 170) – продукт гена множественной лекарственной устойчивости (MDR1), он относится к суперсемейству ABC транспортных белков, нормальной функцией которых является удаление из клетки токсинов. Pgp 170 содержит две гомологичные половины, каждая из которых имеет 6 трансмембранных спиралей и нуклеотид-связывающий домен, присутствующий в цитозоле. Белок состоит из большой гибкой полости для связывания лекарственного средства, встроенной в связанный с мембраной домен.

Pgp170 экспрессируется как нормальными клетками, так и опухолевыми, и является одним из первичных защитных механизмов, используемых клетками рака при воздействии цитотоксических агентов, уменьшая их внутриклеточное накопление. Его влияние выявлено на 300 соединений, включая ингибиторы киназ [210]. Экспрессия Pgp170 клетками рака молочной железы достигает 66%, при этом отмечается, что она может иметь важное прогностическое значение. Сообщается, что в Pgp170 позитивных случаях хуже ответ на химиотерапию. По данным мировой литературы, гиперэкспрессия Pgp170 может наблюдаться после химио- и лучевой терапии, а также с увеличением стадии заболевания, при отрицательном рецепторном статусе эстрогенов, менее дифференцированных опухолях, однако в некоторых исследованиях связи экспрессии Pgp170 с клинико-морфологическими параметрами опухоли не обнаружено [211, 212].

Суммируя информацию по данному разделу обзора, можно однозначно заключить, что изучение иммунофенотипического портрета опухолей женской репродуктивной системы привлекает огромное внимание ученых, и интерес к этой проблематике только нарастает, а большое количество указанных работ являются тому подтверждением. Конечно, надо признать, что результаты исследований антигенного ландшафта клеток рака с накоплением данных привносят новые вопросы и открывают ранее неизвестные особенности развития опухоли. Наиболее интригующими из них являются взаимосвязи иммунофенотипов опухоли с местными проявлениями иммунных реакций. К примеру, детальный анализ имеющихся работ показывает, что в рамках одной опухоли единообразный фенотип молекул HLA наблюдается крайне редко, и это подталкивает ученых к определенному представлению об особенностях иммунных реакций в опухоли. Поскольку в значительной степени чаще наблюдается в опухоли гетерогенность экспрессии интересующих молекул, то, по всей вероятности не исключено, что интенсивность этой экспрессии может служить отчетливым проявлением выраженности лимфоидной инфильтрации именно в этой зоне опухоли. Возможно, это предположение объясняет некоторые расхождения роли молекул HLA в прогностическом аспекте, которые транслируются в последнее

время довольно широко и непрерывно обсуждаются мировым научным сообществом. Самое интересное, что работы, которые можно привести в поддержку этого высказывания проводились намного раньше. К примеру, уровни экспрессии различных молекул HLA-II коррелировали с плотностью локальной лимфогистиоцитарной инфильтрации, что показано учеными Гейдельбергского университета в 1989 году [213]. Иначе говоря, в большинстве случаев экспрессия Ii/HLA-D антигенов на раковых клетках была непосредственно взаимосвязана с уровнями близлежащей лимфогистиоцитарной инфильтрации. Таким образом, как мы можем констатировать, изучено достаточно много аспектов, касающихся иммунофенотипа опухолей женской репродуктивной системы, но самым острым на сегодняшний день остается вопрос его взаимосвязи с характером местных иммунных реакций, что требует проведения углубленных комплексных исследований в свете новых молекулярно-биологических знаний об опухолях.

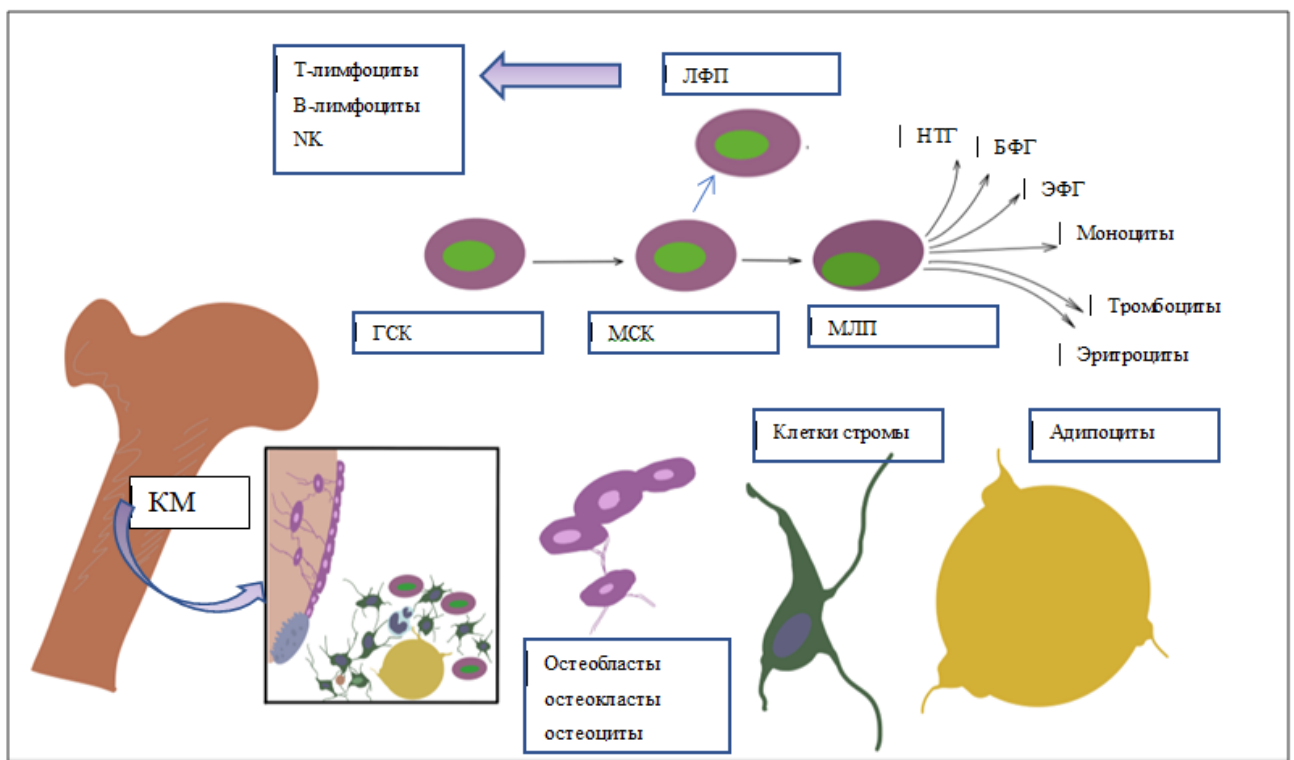
### **1.3 Костный мозг. Гемопоз и лимфопоз у онкологических больных**

Костный мозг является центральным органом гемопоза и иммунопоза, в котором происходит генерация, созревание иммунных клеток, а в дальнейшем и накопление эффекторных клеток и Т-, В- клеток памяти, а также персистенция антителпродуцентов. Вместе с тем он играет важную роль в канцерогенезе, и, в частности, гематогенном метастазировании опухолей, поскольку оказывает влияние на персистирующие в нем опухолевые клетки, что в конечном итоге может быть определяющим в прогнозе заболевания.

Его структура представлена стромальными (фибробласты, эндотелиальные клетки, адипоциты, макрофаги, остеобласты, остеоциты) и паренхиматозными (гемопозитическими) клетками (Рисунок 8). Стромальное микроокружение, а также внеклеточный матрикс, влияют на процессы дифференцировки и пролиферации гемопозитических клеток, оказывая регуляторное влияние на гемопоз [214, 215]. Гемопозитические клетки костного мозга имеют определенное пространственное соотношение с другими компонентами в костном мозге. Ранние миелоидные предшественники обнаруживаются рядом с эндостальной поверхностью, которая представлена остеобластами, остеогенными клетками-предшественниками и остеокластами [216]. Зрелые миелоидные клетки, эритроидные клетки и мегакариоциты обнаруживаются в центральной внутритрабекулярной области в ассоциации с синусоидами костного мозга. Для эритропоза важно присутствие макрофагов, способных обеспечивать передачу железа, продуцировать необходимые для нормальной дифференцировки цитокины, поэтому в костном мозге макрофаги часто встречаются в окружении клеток эритроидного ростка, это, так называемые, эритроидные островки [217, 218]. Для гранулоцитопоза необходимым является взаимодействие предшественников с фибробластами и адипоцитами.

Гемопозез представляет собой непрерывный и сбалансированный процесс обновления гемопоэтических клеток из незрелых плюрипотентных гемопоэтических стволовых клеток, пролиферация и дифференцировка которых приводит поэтапно к образованию коммитированных клеток-предшественники, а затем к последовательной их пролиферации и дифференцировке до зрелых клеток. Регуляция гемопозеза осуществляется посредством гемопоэтических цитокинов, а также интегринов, селектинов, обеспечивающих индукцию и дифференцировку клеток, взаимодействие внеклеточного матрикса с гемопоэтическими клетками [219, 220, 221].

При гранулоцитопозезе из общего предшественника миелопоэза формируются коммитированные клетки-предшественники, пролиферация и созревание которых приводит к образованию пула пролиферирующих гранулоцитов: миелобластов, промиелоцитов и миелоцитов. К созревающим гранулоцитам относятся метамиелоциты, а к зрелыми формам гранулоцитарного роста – палочко-, сегментоядерные гранулоциты.



КМ – костный мозг, ГСК – гемопоэтические стволовые клетки, МСК – мультипотентная стволовая клетка, МЛП – миелоидные предшественники, ЛФП – лимфоидные предшественники, НК – натуральные киллеры, НТГ – нейтрофильные гранулоциты, БФГ – базофильные гранулоциты, ЭФГ – эозинофильные гранулоциты

**Рисунок 8** – Клеточные компоненты костного мозга

Эритропоэз – это процесс дифференцировки гемопоэтических клеток в зрелые эритроциты, регулируемый различными цитокинами, сопровождающийся энуклеацией и реорганизацией мембранных белков и цитоскелета с образованием двояковогнутых эритроцитов [222, 223]. Примитивные предшественники эритроидного ростка претерпевают прогрессивную серию структурных и биохимических изменений, вызываемых эритропоэтином и другими гемопоэтическими цитокинами [219]. Элементы эритроидного ряда включают в себя пронормобласт, базофильный нормобласт, полихроматофильный нормобласт, оксифильный нормобласт, а после энуклеации – ретикулоциты, зрелые эритроциты [223]. Полихроматофильный нормобласт является последней делящейся клеткой эритроидного ростка. В дальнейшем происходит созревание клетки в оксифильный нормобласт.

Лимфоциты составляют 15-20% популяции ядродержащих клеток костного мозга у взрослых и представлены преимущественно Т-лимфоцитами, которые посредством цитокинов оказывают влияние на пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических клеток. Дифференцировка Т-лимфоцитов в основном осуществляется экстрамедулярно. В-лимфоциты проходят многие этапы дифференцировки в костном мозге [224].

Моноциты развиваются в костном мозге из общего гранулоцитарно-макрофагального предшественника, проходя дифференцировку за 5 дней они покидают костный мозг и лишь незначительная часть из них преобразуется в макрофаги. Макрофаги являются гетерогенной популяцией клеток, многочисленные функции которых необходимы в инициации и регуляции иммунного ответа, гемопоэза.

Благодаря быстро расширяющемуся кругу знаний о биологическом разнообразии опухолей, а также растущему потенциалу терапевтических возможностей, исследование костного мозга становится все более необходимым для планирования лечения онкологического больного. Но пока работ, посвященных детальному изучению костного мозга при солидных опухолях, немного. Тем не менее результаты их весьма любопытны. В литературе указывается, что морфологическое изучение костного мозга позволило установить ряд изменений его состава. Так, у больных раком головы и шеи в костном мозге выявлялось преобладание оксифильных форм при нормальном количестве эритрокариоцитов [225]. При этом авторами наблюдалось сниженное содержание полихроматофильных нормобластов. Кроме того, сообщалось об изменении содержания зрелых клеток гранулоцитарного ростка при снижении молодых форм. При этом почти в половине случаев имело место увеличение пропорции лимфоцитов, моноцитов.

При раке молочной железы некоторые особенности описаны Мкртчян В.А., и соавт., которые заключались в изменении пропорции эритроидных предшественников [226]. Уровень базофильных нормобластов оказался сниженным в 80% случаев, и почти у половины больных

зафиксировано сниженное содержание полихроматофильных форм. При этом доля оксифильных нормобластов выглядела увеличенной [226].

В работе Крохиной О.В. и соавт. установлены также особенности кроветворения [227]. Авторы изучали гемопоэз у больных раком молочной железы при метастатическом поражении костного мозга и без такового. Они обнаружили, что метастатическое поражение костного мозга ассоциировано со снижением клеточности и увеличением количества плазмочитов. В своем исследовании авторы также отметили наличие моноцитоза в 35,7% случаев при метастатических изменениях в костном мозге, а в 42,9% случаев и повышение уровня лимфоцитов. Богомолова О.А. и соавт. указывают, что сниженная клеточность костного мозга в большинстве образцов костного мозга коррелировала с диссеминированными опухолевыми клетками в костном мозге [228]. Моноцитоз наблюдался в аспиратах без метастатического поражения.

Гемопоэз при солидных опухолях изучался у больных на фоне лекарственной терапии [229, 230]. В.Е. Гольдберг и соавт. проанализировали токсические эффекты химиотерапии у больных раком молочной железы III–IV стадии. Авторы сообщают, что в условиях лечения цитостатиками значительно увеличивался пул колониеобразующих единиц эритропоэза, а также коммитированных предшественников гранулоцитопоэза. Интенсивное созревание эритроидных и гранулоцитарных предшественников приводило к восстановлению кроветворения даже в условиях сниженной пролиферативной активности данных клеток. Установлено увеличение процента зрелых эритрокариоцитов костного мозга, а также незрелых и зрелых нейтрофильных гранулоцитов.

Изучению лимфопоэза в костном мозге посвящено несколько исследований. Они представлены как отечественными, так и зарубежными авторами. Наиболее ранние работы – это исследования Feuerer M., Solomayer E. F., посвященные раку молочной железы [17, 16]. В них сообщалось, что содержание лимфоцитов в костном мозге больных раком молочной железы по сравнению со здоровыми донорами различается. Результаты E. F. Solomayer свидетельствовали о том, что доля зрелых Т-клеток (CD3+) у больных составила 30,6% , что ниже на 10% чем у здоровых доноров [16]. По данным работы Feuerer M. установлено увеличенное содержание эффекторов противоопухолевого иммунитета CD4+ и CD8+Т-клеток памяти [17]. В публикации, посвященной сравнению лимфоцитарных популяций костного мозга при доброкачественных процессах и раке молочной железы подобного не наблюдалось: количество CD3+ клеток при раке и доброкачественных процессах было примерно одинаково [226].

Интересные результаты описаны в работе Горбуновой Т.Г., которые получены при изучении сарком у детей [15]. Автором выявлена ассоциация популяций костно-мозговых Т-лимфоцитов с процессами гематогенного метастазирования. При рабдомиосаркомах отмечалось

увеличение содержания костно-мозговых Т-клеток по сравнению с нормой при этом обращало внимание на увеличенную долю активированных цитотоксических CD8+HLA-DR+ клеток (28,7% против 8,9%  $p = 0,004$ ) [231]. Кроме того, автором зарегистрировано сниженное число хелперных популяций CD4+лимфоцитов, которое было практически в два раза меньше. При оценке прогностической значимости оказалось, что некоторые субпопуляции костно-мозговых Т-клеток имели влияние на клиническое течение болезни. Схожие закономерности найдены при анализе популяций костного мозга при саркоме Юинга [15]. Общей закономерностью при саркомах были повышенные уровни зрелых CD62L-позитивных Т-лимфоцитов при распространенных стадиях по сравнению с локализованным процессом.

Не менее любопытные данные получены при изучении костно-мозговых популяций лимфоидных клеток Тупицыным Н.Н. при немелкоклеточном раке легкого [8]. В костном мозге у мужчин обнаружено преобладание зрелой популяции CD3+ Т-лимфоцитов, что наблюдалось при плоскоклеточном варианте рака легкого. Интересно, что в тех же группах авторы наблюдали увеличенные пропорции цитотоксических CD8+ лимфоцитов костного мозга. Вместе с тем, в гейте CD3+лимфоцитов такого не наблюдалось [8]. Зрелые В-клетки костного мозга (CD20+CD45++) достоверно преобладали у женщин, а также при аденокарциноме легкого в сравнении с плоскоклеточным раком. Этот факт подвигнул исследователей сделать вывод, что для аденокарциномы, вероятно, более характерно напряжение гуморального иммунитета, тогда как при плоскоклеточном раке больше вовлечено клеточное звено иммунного ответа. Кроме того, дальнейшее изучение минорных субпопуляций Т-клеток обнаружило весьма любопытные факты. Увеличение содержания перфорин-позитивных CD4-лимфоцитов и перфорин-позитивных CD27+ лимфоцитов зафиксировано при аденокарциноме в сравнении с плоскоклеточным раком. Авторы проанализировали показатели миелограмм во взаимосвязи с субпопуляциями костного мозга. Оказалось, что перфорин-содержащие клетки находились во взаимосвязи с показателями гемопоэза: миелоидные и эритроидные предшественники отрицательно коррелировали с перфорин-содержащими популяциями лимфоцитов. Обратная корреляция установлена для перфорин-содержащих лимфоцитов со зрелыми нейтрофилами и лимфоцитами. Авторы полагают, что возможно имеется влияние данных субпопуляций лимфоцитов на ранние этапы дифференцировки как эритроидных, так и миелоидных предшественников.

В работе Мкртчян В.А. и соавт. выполнен интересный анализ зрелых популяций Т-лимфоцитов костного мозга при раке молочной железы [232]. Авторами изучены субпопуляции Т-клеток в зависимости от рецепторного статуса опухоли, пролиферативного индекса Ki-67 клеток рака молочной железы: уровень содержания CD3+лимфоцитов костного мозга не отличался при разных показателях индекса пролиферативной активности опухолевых клеток.

Но при этом авторы обратили внимание, что доля зрелых Т-клеток CD3+лимфоцитов, экспрессирующих CD16, была достоверно увеличена у больных с низкой пролиферативной активностью опухолевых клеток [232]. Также наблюдалась отрицательная корреляция между популяцией TCR $\gamma/\delta$ -лимфоцитов КМ и индексом созревания эритроидных клеток.

Далее авторы провели анализ субпопуляций В-лимфоцитов, в ходе которого обнаружили, что доля В1 (CD5+)-клеток оказалась преобладающей при раке молочной железы по сравнению с доброкачественными процессами. При этом содержание костно-мозговых В1-лимфоцитов коррелировало с патоморфологическими характеристиками опухоли. Так, люминальный В подтип рака молочной железы, экспрессирующий Her2/neu, характеризовался более высоким процентом содержания В1-лимфоцитов в сравнении с Her2/neu – негативным подтипом. Не менее интересно, что увеличенная доля В1-лимфоцитов отмечена при регионарном метастазировании [232]. Имела место выраженная корреляционная связь между В1-лимфоцитами и моноцитами. При доброкачественных процессах молочной железы наблюдалась взаимосвязь между В1(CD5+) -клетками и TCR $\gamma/\delta$ - клетками. Последующий этап анализа был связан с гемопоэзом, в ходе которого авторами продемонстрированы связи морфологических признаков с показателями гранулоцитопоза: нарастание стадии сопровождалось снижением содержания предшественников гранулоцитарного ростка.

Григорьева Т. А. и соавт. в своей работе изучили взаимосвязи между популяциями лимфоцитов костного мозга и гистологическим видом рака молочной железы [233]. Установлены корреляции гистологического типа рака молочной железы с популяцией В- клеток костного мозга больных. При инфильтративно-протоковом раке содержание CD10+В-лимфоцитов было более, чем в два раза больше в сравнении с инфильтративно-дольковым раком (16,3% и 6,98 %).

Несколько исследований оценивали роль NK-клеток костного мозга и получены доказательства их взаимосвязи с клиническими и морфологическими характеристиками опухолей, освещены некоторые особенности субпопуляционного состава. Так, наше внимание привлекли результаты работы, в которой демонстрируется, что в костном мозге при раке молочной железы увеличено количество CD56+ клеток, а также CD16+ NK- клеток, экспрессирующих маркер ранней активации CD69, а также антиген CD45RO, указывающие на их пролиферативную активность [17]. Е. F. Solomayer и соавт. изучили содержание NK-клеток у больных раком молочной железы после оперативного лечения и адъювантной химио-гормонотерапии на основании экспрессии антигенов CD56, CD45R0, CD3. Результаты этого анализа свидетельствуют об увеличении доли неактивированных NK-клеток [16]. В работе отечественных авторов, получены данные о взаимосвязи популяция NK- клеток с биологическими характеристиками рака молочной железы [226]. Так, выраженная доля костно-

мозговых CD56+CD3-, CD16+CD3-клеток коррелировала с низкой пролиферативной активностью (Ki67 < 20%) клеток рака молочной железы. Согласно вышеуказанным данным, можно утверждать, что даже те немногие работы, что нам удалось привести в пример, являются свидетельством важной роли костно-мозговых NK-клеток в регуляции противоопухолевого ответа иммунной системы.

Следует отметить, что установленные в ряде работ изменения показателей гемопоэза и лимфопоэза при различных злокачественных опухолях свидетельствуют о вовлеченности костного мозга в процесс гематогенной диссеминации опухолей [19, 234, 235, 236, 227, 237]. Работ на этот счет накоплено достаточно, чтобы однозначно утверждать о влиянии иммунных процессов в костном мозге на течение заболевания. Установлены изменения показателей кроветворения, а также пропорции лимфоидных популяций. Одной из центральных работ в отечественной литературе является исследование Крохиной О.В. и соавт., в которой выявлены особенности гранулоцито-, эритропоэза при раке молочной железы, наличие моно- и лимфоцитоза, нарастание доли плазмочитов при поражении костного мозга, что сопровождается снижением его клеточности [227]. В работе Solomayer E. F. и соавт. сообщается об изменении пропорции эффекторных клеток иммунитета (CD3-CD16+, CD3+) в костном мозге [16].

Резюмируя результаты исследований по данному разделу обзора, мы можем констатировать следующие факты. Во-первых, однозначно имеется влияние опухоли на процессы кроветворения и иммуногенеза в костном мозге. И это проявляется как в виде активации отдельных ростков кроветворения и изменения их клеточной пропорции, что легко просматривается на морфологическом уровне, так и в накоплении иммуносупрессивных лимфоидных популяций в костном мозге. Последнее требует иммунологической диагностики, тщательного анализа взаимодействий лимфоидных популяций как уровне костного мозга, так и на уровне первичной опухоли.

Во-вторых, роль костно-мозговых лимфоидных популяций явно недооценивается и дальнейшие исследования необходимы. Как мы видим, на сегодняшний день изучению вопросов гемопоэза и лимфопоэза при опухолях женской репродуктивной системы незаслуженно уделяется мало внимания. И в этом большое упущение, хотя бы потому, что костно-мозговые лимфоциты эффективнее подавляют опухолевый рост, чем лимфоциты периферической крови, что показано было в экспериментальной работе Дейчман Г.И. [5]. За последнее время накоплено достаточно данных, которые меняют взгляд на концепцию взаимодействия опухоли и иммунной системы и подталкивают к изменению диагностических алгоритмов и базовых терапевтических подходов, и этот прогресс невозможен без тщательного изучения эффекторных звеньев иммунопоэза в костном мозге.



Таким образом, подводя итог обзору литературы, мы можем заключить, что изучение субпопуляций эффекторных клеток противоопухолевого иммунитета в костном мозге, а также в первичной опухоли наряду с особенностями иммунофенотипа злокачественных клеток опухолей женской репродуктивной системы является принципиально важным и чрезвычайно актуальным, поскольку в перспективе может стать основой для разработки и совершенствования лечебных подходов, направленных на нормализацию и поддержание иммунологической реактивности организма больного.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Характеристика больных раком молочной железы

Материалом для исследования явились образцы первичной опухоли, костного мозга больных раком молочной железы. В исследование включены 200 больных раком молочной железы, которые прошли обследование и получили лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с 2002г. по 2016г. Критерии включения: первично-операбельный рак молочной железы; отсутствие лекарственного лечения в анамнезе; стадии I–IIIС.

Диагноз рак молочной железы установлен по результатам комплексного стандартного обследования, включающего маммографию, ультразвуковое исследование молочных желез и зон регионарного метастазирования (лимфатических узлов аксиллярной и парастернальной групп, над- и подключичной областей), рентгенографию органов грудной клетки, ультразвуковое исследование органов брюшной полости и малого таза, сцинтиграфию костей скелета, КТ/МРТ (по показаниям), морфологическое и иммуногистохимическое исследования биопсийного материала.

Возраст больных варьировал от 27 до 79 лет. Средний возраст составил 54,1 года.

Распределение больных в соответствии с клинической стадией было следующим: у 38 (19%) больных была диагностирована I стадия, у 54 (27%) – отмечена IIА стадия, у 63 (31,5%) больных выявлена IIВ стадия, IIIА – у 18 (9,0%) больных, IIIВ – в 19 (9,5%) случаях, и в 8 случаях (4,0%) – IIIС стадия (Таблица 1).

**Таблица 1** – Распределение больных раком молочной железы по стадиям заболевания

| Клиническая стадия | N   | (%)   |
|--------------------|-----|-------|
| I                  | 38  | 19,0  |
| IIА                | 54  | 27,0  |
| IIВ                | 63  | 31,5  |
| IIIА               | 18  | 9,0   |
| IIIВ               | 19  | 9,5   |
| IIIС               | 8   | 4,0   |
| Итого              | 200 | 100,0 |

Показатели степени распространенности опухолевого процесса согласно международной классификации TNM представлены в таблице 2. Преимущественно размеры первичной опухоли соответствовали стадии T2, что отмечено в 117 (58,5%) случаев. T1 стадия выявлена у 59 (29,5%) больных, T3 и T4 – в 5 (2,5%) и 19 (9,5%) случаев, соответственно. Метастатическое поражение лимфатических узлов установлено в 125 случаях, из которых преобладающим было N1, что составило 45,0% (n = 90).

**Таблица 2** – Распределение больных раком молочной железы в соответствии с международной классификацией TNM

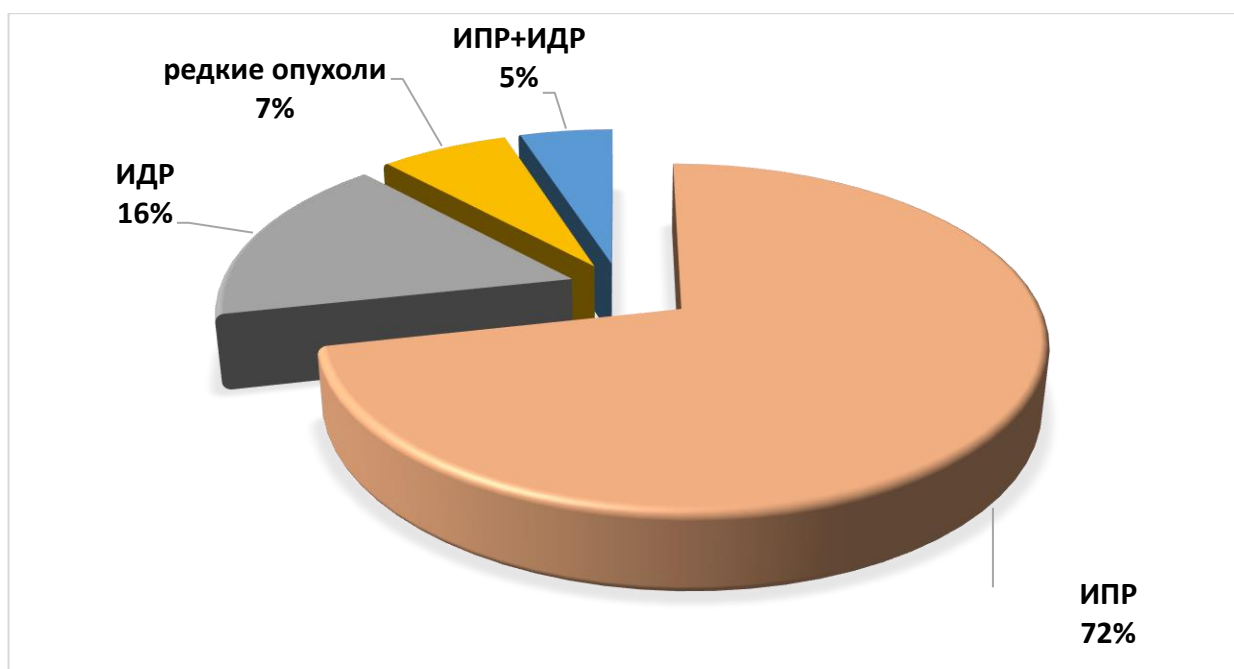
| <b>Индекс T</b> | <b>n</b> | <b>(%)</b> |
|-----------------|----------|------------|
| T1              | 59       | 29,5       |
| T2              | 117      | 58,5       |
| T3              | 5        | 2,5        |
| T4              | 19       | 9,5        |
| <b>Индекс N</b> |          |            |
| N0              | 75       | 37,5       |
| N1              | 90       | 45,0       |
| N2              | 24       | 12,0       |
| N3              | 11       | 5,5        |
| Итого           | 200      | 100,0      |

Распределение больных раком молочной железы в соответствии с гистологической классификацией ВОЗ было следующим. В большинстве случаев выявлен инвазивный протоковый рак (n = 143, 71,5%). Инвазивный дольковый рак установлен у 33 (16,5%) больных. Сочетание инвазивного долькового и протокового рака установлены в 10 (5,0%) наблюдениях. В остальных случаях диагностированы другие виды рака: медулярный рак, тубулярный, слизистый (Рисунок 9).

Степень злокачественности опухоли установлена в 171 случае. У большинства больных рак молочной железы соответствовал G2, что составило 77,8% (n = 133). Степень G1 установлена в 7 (4,1%) случаях, G3 – в 18,1% (n = 31) наблюдений.

По данным оценки рецепторного статуса опухоли установлено, что рецепторы эстрогенов опухолевыми клетками экспрессировались в 55,0 % (n = 110) случаев, рецепторы прогестерона в 50,0% (n = 101) наблюдений. Молекулярно-биологический подтип рака молочной железы выделяли на основании экспрессии опухолью рецепторов эстрогенов и

прогестерона. Таким образом, люминальный рак молочной железы был установлен в 61,5% (n = 123) случаев, нелюминальный подтип в 38,0% (n = 77). Также учитывалось деление на суррогатные подтипы в зависимости от экспрессии опухолью только рецепторов эстрогенов: люминальный рак молочной железы при этом составил 55,0% (n = 110) случаев, нелюминальный подтип – 45,0% (n = 90).



ИПР – инфильтративно-протоковый рак, ИДР – инфильтративно – дольковый рак

**Рисунок 9** – Гистологические типы рака молочной железы

У 119 больных разделение по молекулярным подтипам проводилось на основании оценки экспрессии Her2-neu, Ki67, рецепторов эстрогенов и прогестерона: люминальный А – 26,9 (n = 32) %, люминальный В подтип Her2/neu «-» – 27,0% (n = 41), Her2/neu «+» – 8,4% (n = 10), Erb2+ – 11,8% (n = 14), трижды негативный – 18,5% (n = 22).

Всем пациенткам в соответствии со степенью распространенностью опухолевого процесса проведено хирургическое лечение. Объем хирургического вмешательства включал мастэктомию или резекцию молочной железы с соответствующей лимфодиссекцией. Мастэктомия выполнялась у 50,0% (n = 100) больных, а в остальных случаях проведена резекция молочной железы.

Химиотерапию в неoadъювантном режиме получили 15,5% (n = 31) больных, в адъювантном режиме – 84,5% (n = 169) пациенток. Схемы химиотерапии, применявшиеся в лечении больных раком молочной железы были следующие: АС, АС + таксаны, АС +

Трастузумаб, АС + Трастузумаб + Паклитаксел, Паклитаксел + Трастузумаб, Таксотер + Циклофосфан, САФ, СМФ, СМФ VP.

Гормонотерапия проводилась 122 больным: в 15,5% случаев – ингибиторами ароматазы, в 46,0% – тамоксифеном. Лучевое лечение в послеоперационном периоде получили 43% (n = 77) больных.

## 2.2 Характеристика больных раком яичников

Материалом для исследования явились образцы первичной опухоли, костного мозга больных раком яичников. В исследование включены 122 больные раком яичников, которые прошли обследование и получили лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с 2006 по 2009 гг., с 2018 по 2021 гг.

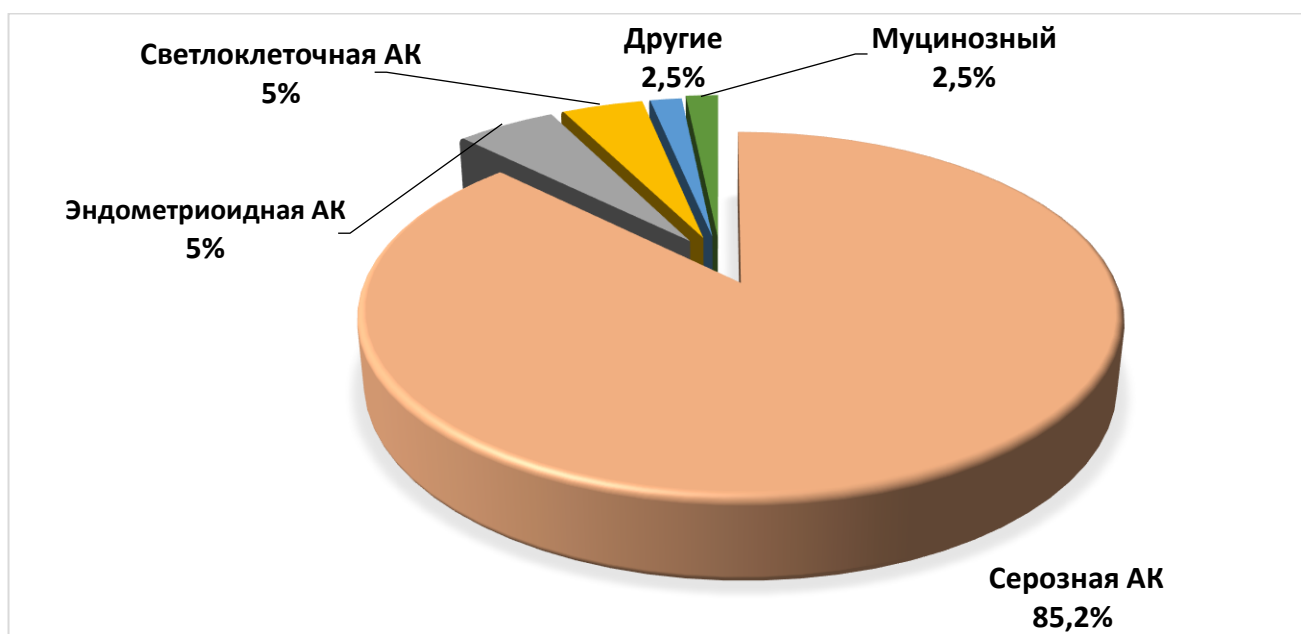
Диагноз рак яичников установлен по результатам комплексного стандартного обследования, включающего ультразвуковое исследование органов брюшной полости и малого таза, компьютерную томографию или магнитно-резонансную томографию органов малого таза и органов брюшной полости, рентгенографию органов грудной клетки, сцинтиграфию костей скелета, маммографию, гастроскопию, морфологическое и иммуногистохимическое исследования опухоли, определение уровня онкомаркера СА125.

Возраст больных варьировал от 29 до 81 года. Средний возраст составил 53,8 лет. Распределение больных в соответствии с клинической стадией было следующим (Таблица 3). У 18 (14,8%) больных была диагностирована I стадия рака яичников, у 7 (5,7%) больных выявлена II стадия, в 76 случаях (62,3%) – III стадия. У 22 (17,2%) пациентов установлена IV стадия, при этом в 17 случаях наблюдался плеврит, в трех случаях отмечены метастазы в печень, в двух случаях наблюдались метастазы в надключичных лимфоузлах, в одном случае – метастазы в легкие.

**Таблица 3** – Распределение больных раком яичников по стадиям заболевания

| Клиническая стадия | n   | (%)   |
|--------------------|-----|-------|
| I                  | 18  | 14,8  |
| II                 | 7   | 5,7   |
| III                | 75  | 61,4  |
| IV                 | 22  | 18,0  |
| Итого              | 122 | 100,0 |

Распределение больных раком яичников в соответствии с гистологической классификацией ВОЗ было следующим. В большинстве случаев выявлена серозная аденокарцинома:  $n = 104$  (85,2%). В остальных случаях у 17 (14,7%) наблюдались редкие виды рака (муцинозный, эндометриоидный, светлоклеточный) (Рисунок 10). При гистологическом исследовании отмечены следующие особенности макроскопической характеристики опухоли. По характеру строения опухоль в большинстве случаев носила кистозно-солидный характер, что отмечено в 85 случаях (69,7%). В 32 случаях (26,2%) опухоль имело солидное строение. У 3 больных рак яичников был железистого строения. Асцит наблюдался в 59,8% ( $n = 73$ ) случаев.



**Рисунок 10** – Гистологические типы рака яичников. АК – аденокарцинома

Степень злокачественности рака яичников определялась в 93 случаях. У большинства больных рак яичников соответствовал high grade степени злокачественности, что составило 87,0% ( $n = 81$ ). Степень low grade установлена в 12 (13,0%) случаях.

Исходный уровень СА-125 варьировал от 16,0 до 125500 МЕ/мл, в среднем составив  $2560,6 \pm 1225,6$  МЕ/мл.

Первичный рак яичников установлен в 77,8% ( $n = 95$ ): I стадия – 15 (15,7%), II стадия – 5 (5,2%), III стадия – 57 (60,0%), IV стадия – 18 (18,9%), асцит – 59 (62,1%), плеврит – 12 (12,6%). Серозная аденокарцинома наблюдалась у 81 больной (85,2%): high grade – 68 (83,9%), low grade – 11 (13,5%).

Рецидивный рак яичников установлен в 22,2% ( $n = 27$ ): I стадия – 3 (11,2%), II стадия – 2 (7,4%), III стадия – 18 (66,6%), IV стадия – 4 (14,8%), асцит – 14 (51,8%), плеврит – 3 (11,1%).

Серозная аденокарцинома отмечена в 23 случаях (85,1%): high grade – 13 (56,5%), low grade – 1 (4,3%).

Хирургическое вмешательство выполнено 115 больным. Полную циторедуктивную операцию выполнили 19 больным (16,0%), оптимальную циторедуктивную операцию – у 37 (31,4%) больных, субоптимальную циторедуктивную операцию – у 59 (52,6%) больных. Объем операции был следующий. Расширенная экстирпация матки с придатками и резекцией большого сальника проведена 85 (69,6%) больным. В 7 случаях (5,7%) выполнена только экстирпация матки с придатками, у 8 (6,5%) больных – двусторонняя овариоэктомия с удалением большого сальника, в 3 (2,4%) случаях – только аднексэктомия, в 11 случаях (9,0%) выполнено комбинированное вмешательство (включало операцию Гартмана или резекцию тонкой кишки). При первичном раке яичников полную циторедуктивную операцию выполнена 2 больным (2,0%), оптимальная циторедуктивная операция – у 23 (24,2%) больных, субоптимальная циторедуктивная операция – у 47 (49,4%) больных. При рецидивном раке яичников оптимальную циторедуктивную операцию удалось выполнить у 14 (51,8%) больных, субоптимальную циторедуктивную операцию – у 12 больных. Химиотерапию в адьювантном режиме получили 65,4% (n = 70) больных, неоадьювантное + адьювантное лечение – 19,6% (n = 21) пациенток. В 16 случаях проводилась лечебная полихимиотерапия. Большинству больных лечение проводилось по схеме Паклитаксел + Карбоплатин, что составило 46,7% (n = 57). Только Карбоплатин использовался в 20 случаях (16,3%). В двух случаях пациенткам проводилось лечение по схеме Паклитаксел + Карбоплатин + Бевацизумаб. У двух больных использовали комбинацию Иринотекана с препаратами платины. В остальных случаях применялись платиносодержащие схемы без таксанов.

### **2.3 Характеристика больных раком шейки матки**

Материалом для исследования явились образцы первичной опухоли, костного мозга больных раком шейки матки. В исследование включена 61 больная раком шейки матки, которые прошли обследование и получили лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с 2016 по 2022 гг.

Диагноз рак шейки матки установлен по результатам комплексного стандартного обследования, включающего ультразвуковое исследование органов брюшной полости и малого таза, компьютерную томографию или магнитно-резонансную томографию органов малого таза и органов брюшной полости, рентгенографию органов грудной клетки, сцинтиграфию костей скелета, маммографию, морфологическое и иммуногистохимическое исследования опухоли. Возраст больных варьировал от 28 до 74 лет. Средний возраст составил 46,4 лет.

Распределение больных в соответствии с классификацией по FIGO было следующим: у 26 (43,3%) больных была диагностирована IA1 - IB1 стадия рака шейки матки, у 15 (25,0%) больных выявлена опухоль IB2 - IIA стадия, в 19 случаях (31,7%) опухоль соответствовала IIB - IV стадии (Таблица 4).

**Таблица 4** – Распределение больных раком шейки матки по стадиям заболевания

| <b>Клиническая стадия</b> | <b>n</b> | <b>(%)</b> |
|---------------------------|----------|------------|
| IA1 - IB1                 | 27       | 44,3       |
| IB2 - IIA                 | 15       | 25,0       |
| IIB - IV                  | 19       | 31,7       |
| Итого                     | 61       | 100,0      |

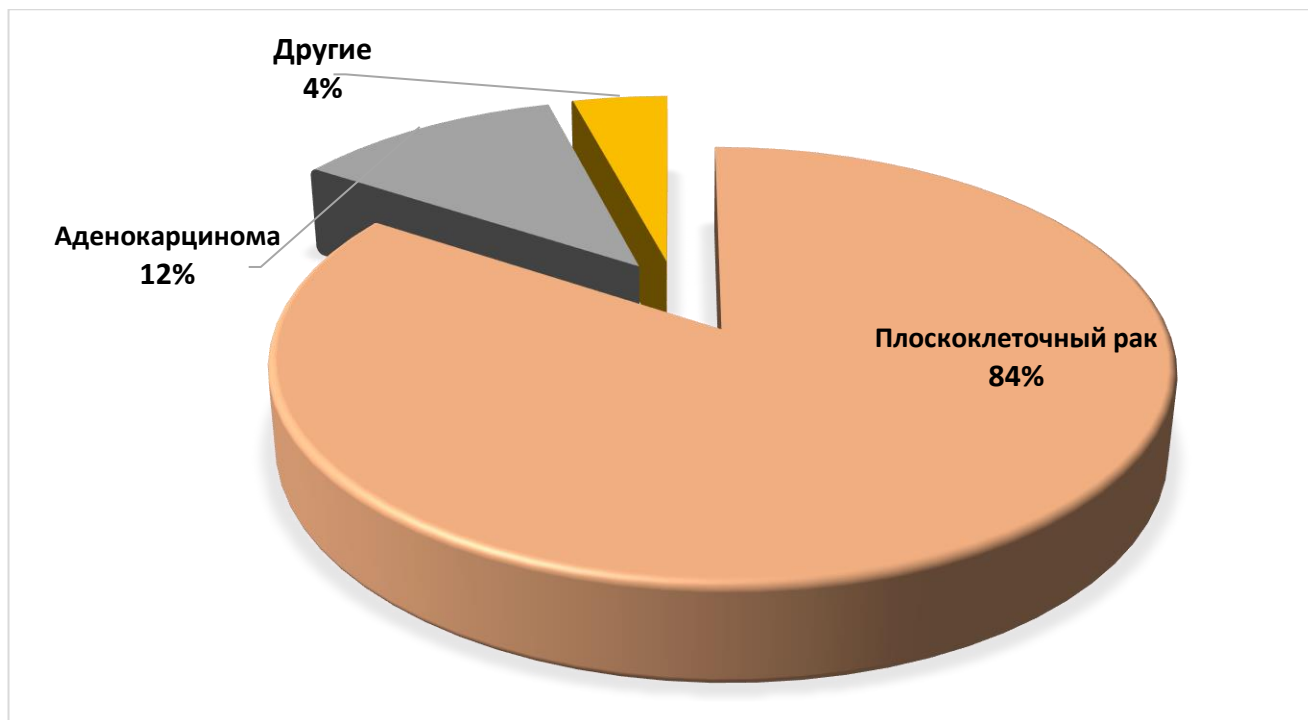
Степень распространенности опухолевого процесса согласно международной классификации TNM представлена в таблице 5. Размеры первичной опухоли рака шейки матки в большинстве случаев соответствовали стадии T1, что отмечено в 42 (69,3%) случаев. Стадия T2 была выявлена у 15 (25,0%) больных, а в 4 (6,7%) наблюдениях размер опухоли соответствовал T3 стадии. Метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов установлено в 12 случаях (20,0%). В шести случаях информация о состоянии лимфатических узлов отсутствовала.

**Таблица 5** – Распределение больных раком шейки матки в соответствии с международной классификацией TNM

| <b>Индекс T</b> | <b>n</b> | <b>(%)</b> |
|-----------------|----------|------------|
| T1              | 42       | 69,3       |
| T2              | 15       | 25,0       |
| T3              | 4        | 6,7        |
| <b>Индекс N</b> |          |            |
| N0              | 43       | 71,7       |
| N1              | 12       | 20,0       |
| Nx              | 6        | 9,3        |
| <b>Индекс M</b> |          |            |
| M0              | 61       | 100,0      |



Распределение больных раком шейки матки в соответствии с гистологической классификацией ВОЗ было следующим. В большинстве случаев у больных выявлен плоскоклеточный рак:  $n = 50$ , 83,3%. В остальных 7 (11,5%) случаях наблюдались аденокарцинома и другие виды рака (3,0%) (Рисунок 11).



**Рисунок 11** – Гистологические типы рака шейки матки

Степень злокачественности рака шейки матки определялась в 52 случаях. У большинства больных рак шейки матки соответствовал умеренной степени дифференцировки (G2), что составило 48,1% ( $n = 25$ ). Высокая степень дифференцировки опухоли (G1) установлена в 38,5% ( $n = 20$ ) случаях, а низкодифференцированные опухоли (G3) отмечены в 13,5% ( $n = 31$ ) наблюдений.

Глубина инвазии опухоли более 5 мм установлена в 86,7% ( $n = 52$ ) случаях, менее 5 мм – у 13,3% ( $n = 8$ ) больных, в одном случае – нет данных.

Хирургическое вмешательство выполнено 44 больным. Объем хирургического вмешательства в большинстве случаев соответствовал экстирпации матки с придатками и лимфаденоэктомии, что составило 67,2% больных. В одном случае выполнена трахелэктомия с лимфаденоэктомией. У 7% ( $n = 4$ ) больных проводилась экстирпация матки с придатками и транспозиция яичников.

Из всех больных 16 подверглись химиолучевому лечению, из них в 3 случаях на первом этапе выполнена операция. В 4 случаях больные предпочли лечение по месту жительства, в этой связи точные данные об объеме вмешательства в архиве отсутствуют.

## 2.4 Характеристика больных раком тела матки

Материалом для исследования явились образцы первичной опухоли больных раком тела матки. В исследование включены 45 больных раком тела матки, которые прошли обследование и получили лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в 2008, а также с 2021 по 2022 гг. Диагноз рак тела матки установлен по результатам комплексного стандартного обследования, включающего ультразвуковое исследование органов брюшной полости и малого таза, компьютерную томографию или магнитно-резонансную томографию органов малого таза и органов брюшной полости, рентгенографию органов грудной клетки, сцинтиграфию костей скелета, маммографию, морфологическое и иммуногистохимическое исследования опухоли.

Возраст больных варьировал от 40 до 83 лет. Средний возраст составил 57,5 лет. Распределение больных раком тела матки в соответствии с классификацией по FIGO было следующим: у 33 (73,3%) больных была диагностирована опухоль IA-IB стадии, у 2 (4,4%) больных выявлен рак тела матки II стадии, в 7 случаях опухоль соответствовала III стадии, и в 2 наблюдениях – IV стадии (Таблица 6).

**Таблица 6** – Распределение больных раком тела матки по стадиям заболевания

| Клиническая стадия | n  | (%)   |
|--------------------|----|-------|
| IA                 | 19 | 42,2  |
| IB                 | 14 | 31,1  |
| II                 | 2  | 4,4   |
| IIIA               | 2  | 4,4   |
| IIIB               | 2  | 4,4   |
| IIIC               | 3  | 6,7   |
| IV                 | 2  | 4,4   |
| Итого              | 45 | 100,0 |

Показатели степени распространенности опухолевого процесса согласно международной классификации TNM представлены в таблице 7. Размеры первичной опухоли преимущественно

соответствовали стадии T1, что отмечено в 36 (81,8%) случаев. T2 стадия выявлена у 2 (4,5%) больных, T3 стадия обнаружена в 6 (13,6%) наблюдениях. Метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов установлено в 12 случаях (20,0%). Отдаленных метастазов не наблюдалось.

**Таблица 7** – Распределение больных раком тела матки в соответствии с международной классификацией TNM

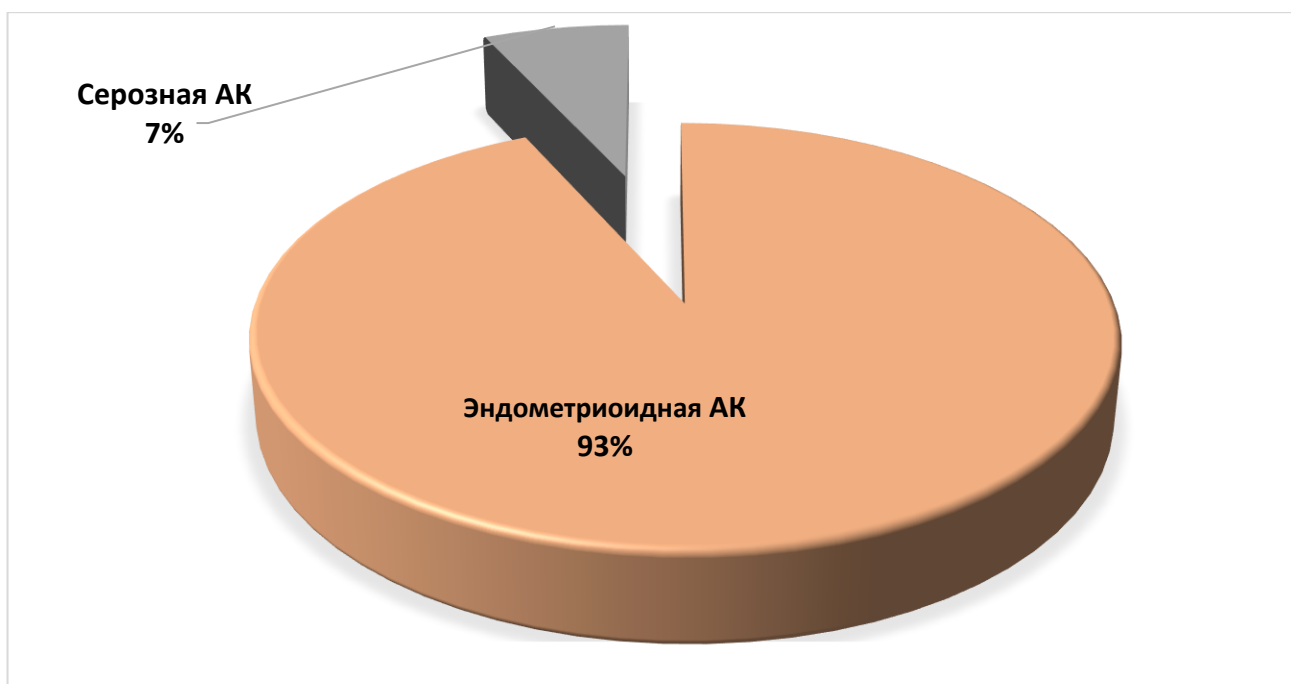
| <b>Индекс T</b> | <b>n</b> | <b>(%)</b> |
|-----------------|----------|------------|
| T1              | 36       | 81,8       |
| T2              | 2        | 4,5        |
| T3              | 6        | 13,6       |
| <b>Индекс N</b> |          |            |
| N0              | 38       | 84,4       |
| N1              | 6        | 13,3       |
| Nx              | 1        | 2,3        |
| <b>Индекс M</b> |          |            |
| M0              | 45       | 100,0      |

Распределение больных раком тела матки в соответствии с гистологической классификацией ВОЗ было следующим: в большинстве случаев выявлена эндометриоидная аденокарцинома: n = 41, 93,2%. В остальных случаях у 3 (6,8%) наблюдалась серозная аденокарцинома тела матки (Рисунок 12).

Степень злокачественности рака тела матки определялась в 42 случаях. У большинства больных рак тела матки соответствовал умеренной степени дифференцировки (G2), что составило 39,5% (n = 17). Высокодифференцированная аденокарцинома (G1) установлена в 34,9% (n = 15) случаях, низкодифференцированные опухоли (G3) наблюдались у 20,9% (n = 9) больных.

Инвазия опухолью < ½ миометрия установлена в 46,5% (n = 20) случаев, инвазия > ½ миометрия отмечена в 46,5% (n = 20), не отмечено инвазии в миометрий в 7% наблюдений.

Хирургическое вмешательство выполнено 44 больным. В подавляющем большинстве случаев пациенткам выполнялась расширенная экстирпация матки с придатками с лимфаденоэктомией, что составило 63,6% наблюдений.



**Рисунок 12** – Гистологические типы рака тела матки (АК – аденокарцинома)

Операция в сочетании с химиолучевой терапией проведена 20,5% больным ( $n = 9$ ), операция в сочетании с лучевой терапией – 15,9% ( $n = 7$ ). В одном случае сведения отсутствовали.

## 2.5 Методы исследования

### 2.5.1 Морфологическое исследование костного мозга

Костный мозг получали при поступлении больных в стационар путем стерильной пункции. Манипуляцию проводили до начала лечения больных. Все пациенты подписывали информированное согласие на проведение данной процедуры. Морфологическое исследование костного мозга выполнено в лаборатории иммунологии гемопоза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

После доставки костного мозга в лабораторию для цитологического исследования подсчитывалась клеточность костного мозга (анализатор Micros-60 Horiba, USA). На предметных стеклах приготавливали по 6 мазков костного мозга, которые затем фиксировали в готовом красителе Май-Грюнвальда. Следующим этапом выполнялось окрашивание мазков по методу Романовского в течение 30 мин при комнатной температуре. Для окрашивания использовали раствор из 1 мл готовой жидкой краски + 5,8-6,0 мл основного буферного раствора + 47 мл дистиллированной воды. После окрашивания препараты высушивались и

подвергались микроскопии двумя независимыми экспертами врачами морфологами (микроскоп ZEISS, AXIOSKOP, Германия). Врачи морфологи при микроскопии проводили подсчет клеточных элементов каждого ростка костного мозга, выполняли расчет индексов миелограммы (индекса созревания эритрокариоцитов, индекса созревания нейтрофилов, соотношение лейкоцитов и эритроцитов). Полученные данные были сопоставлены с общепринятой в настоящее время гематологической нормой. В исследование включались миелограммы, в которых было исключено разбавление периферической кровью.

### **2.5.2 Иммунофенотипирование лимфоидных популяций костного мозга**

Иммунофенотипирование лимфоидных популяций костного мозга выполнено в лаборатории иммунологии гемопоэза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ методом многопараметровой проточной цитометрии. Костный мозг для иммунологического исследования собирался в пробирки, импрегнированные ЭДТА. При поступлении материала в лабораторию костный мозг переносился в центрифужные пробирки, общий объем доводился буферным раствором (PbS) до 10 мл. Образец центрифугировали в течение 3 мин, со скоростью вращения 500 g (1500 об/мин), затем надосадочная жидкость удалялась. Осадок ресуспендировали (Vorteks V-1). Для устранения примеси эритроцитов использовали раствор лизира. Лизирующий раствор вносили в пробирку с костным мозгом и инкубировали в течение 8-10 минут при комнатной температуре в темноте. Затем клеточную суспензию отмывали буферным раствором, центрифугировали 3 мин, со скоростью вращения 500 g (1500 об/мин). После удаления супернатанта осадок ресуспендировали. При необходимости процедуру лизирования эритроцитов повторяли. Готовую клеточную суспензию переносили в пробирки, в которые добавляли по 2-5 мкл меченых моноклональных антител в соответствии с панелью антител. В пробирках, предназначенных для изучения перфорин/гранзим содержащих популяций клеток, проводили процедуру пермеабиллизации. Инкубация с антителами проводилась в течение 30 минут. Затем вносили раствор PbS, центрифугировали, надосадочную жидкость удаляли. Ресуспендировали полученный осадок, добавляли буферный раствор.

Сбор клеток выполняли на проточном цитометре FACSCanto II, программное обеспечение BD FACSDiva с функцией автоматического расчета значений компенсации используемых флуорохромов по одноцветным компенсационным контролям. Для каждой пробы собирали не менее 200.000 событий. Изучены CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+, CD56+ лимфоциты и их субпопуляции.

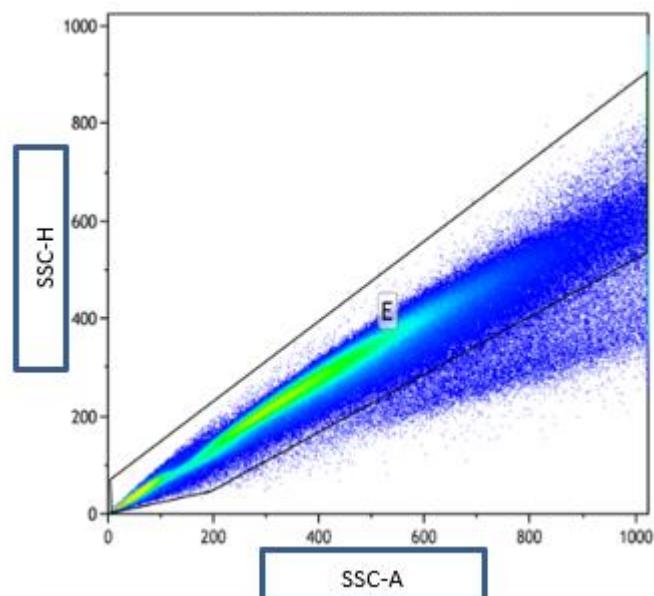
Лимфоциты гейтировали в координатах FSC/SSC в соответствии с размером и зернистостью. Данные вычисляли на основе дот-блотов в виде процентов клеток, положительно

окрашенных для целевых маркеров в изучаемой популяции. Оценка экспрессии целевых маркеров выполнялась с помощью программы Kaluza Analysis v2.1 (Beckman Coulter, USA). Субпопуляционный состав костного мозга изучался в гейте зрелых лимфоцитов, на основании выраженной экспрессии CD45 в сочетании с низкими характеристиками бокового светорассеяния (SSC). В таблице 8 приведен список антител, использованных в работе.

**Таблица 8** – Моноклональные антитела для иммунофенотипирования лимфоцитов костного мозга

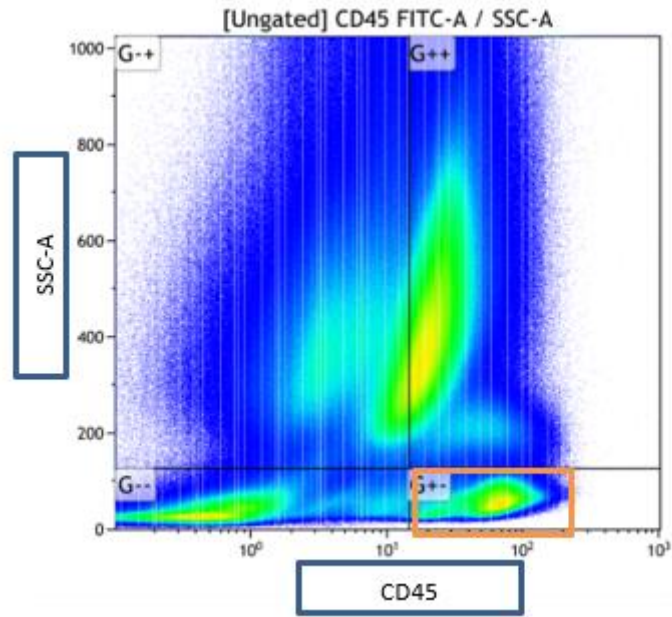
| №  | Антитело         | Флуоресцентная метка | Производитель         |
|----|------------------|----------------------|-----------------------|
| 1  | CD45             | V500-A,V450,         | Becton Dickinson, США |
| 2  | CD3              | APC,                 | Becton Dickinson, США |
| 3  | CD4              | V450                 | Becton Dickinson, США |
| 4  | CD8              | APC -H7              | Becton Dickinson, США |
| 5  | CD5              | FITC                 | Becton Dickinson, США |
| 6  | CD2              | FITC                 | Becton Dickinson, США |
| 7  | CD7              | APC, FITC, PE        | Becton Dickinson, США |
| 8  | CD19             | FITC, PE             | Becton Dickinson, США |
| 9  | CD20             | APC -H7              | Becton Dickinson, США |
| 10 | CD16             | FITC, PE             | Becton Dickinson, США |
| 11 | CD56             | PerCP                | Becton Dickinson, США |
| 12 | CD25             | V450                 | Becton Dickinson, США |
| 13 | CD27             | APC, FITC, PE        | Becton Dickinson, США |
| 14 | CD28             | APC, FITC, PE        | Becton Dickinson, США |
| 15 | TCR гамма\дельта | FITC                 | Becton Dickinson, США |
| 16 | CD10             | FITC                 | Becton Dickinson, США |
| 17 | CD38             | PerCP                | Becton Dickinson, США |
| 18 | CD45RO           | V450                 | Becton Dickinson, США |
| 19 | CD45RA           | APC                  | Becton Dickinson, США |
| 20 | HLA-DR           | FITC, PE             | Becton Dickinson, США |
| 21 | Perforin         | FITC                 | Becton Dickinson, США |
| 22 | Granzim          | PE                   | Becton Dickinson, США |

Пример анализа лимфоцитарных субпопуляций костного мозга приведен на рисунках 13,14,15,16. В данном случае показан анализ CD45+CD8+CD45RO+ популяций лимфоцитов. Первым этапом выполнялось гейтирование по SSC: выделяются синглеты (Рисунок 13). Вторым этапом проводилось гейтирование по CD45: выделяется популяция клеток, экспрессирующая пан-лейкоцитарный маркер CD45/SSC<sup>low</sup> (Рисунок 14). Далее в пределах гейта CD45+ анализировались целевые маркеры (Рисунки 15 и 16).



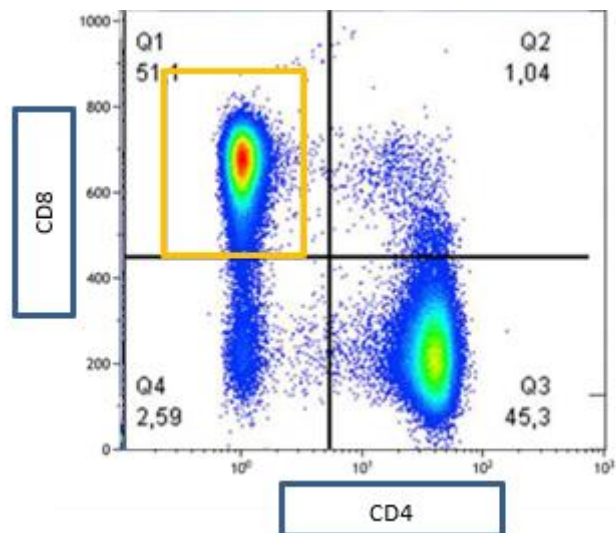
Выставлен параметр бокового светорассеяния лазерного луча, который регистрирует гранулярность клетки.

**Рисунок 13** – Выделение синглетов



По оси абсцисс отмечена экспрессия CD45, а по оси ординат – выставлен параметр бокового светорассеяния лазерного луча. Гейт CD45+ выделен желтым контуром.

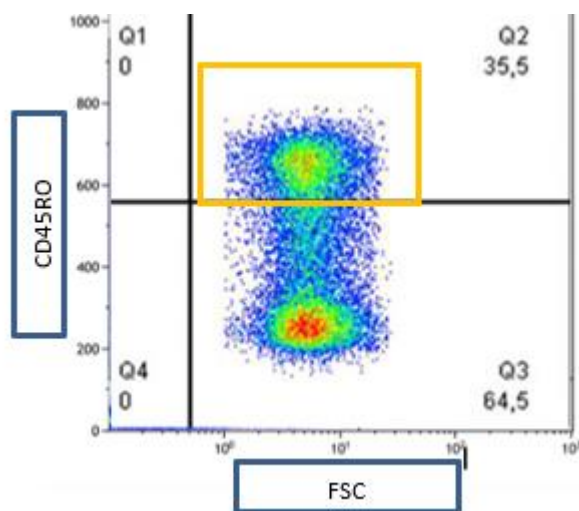
**Рисунок 14** – Общее количество CD45+ клеток в образце костного мозга



По оси абсцисс отмечена экспрессия CD4, по оси ординат экспрессия CD8. Гейт CD8+ выделен желтым контуром. Популяция CD8+ лимфоцитов составляет 51,1%.

**Рисунок 15** – Популяция CD8+ клеток в образце костного мозга





По оси абсцисс выставлен параметр FSC, по оси ординат экспрессия CD45RO. Популяция CD45RO+ клеток выделена желтым контуром, ее число в гейте CD8+ составляет 35,5%.

**Рисунок 16** – Популяция CD45+CD8+CD45RO+ клеток в образце костного мозга

### 2.5.3 Иммунофенотипирование первичной опухоли

Иммунофенотипирование первичной опухоли больных выполнено в лаборатории иммунологии гемопоэза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Применялся метод иммунофлуоресценции на криостатных срезах. Больные подписывали информированное согласие на выполнение данного исследования.

Образцы опухоли в случае проведения неoadъювантного лечения рака молочной железы получены путем сог-биопсии до начала лечения. В остальных случаях для изучения иммунофенотипа опухоли использован операционный материал.

При раке шейки матки подвергнут изучению операционный материал, а при планировании химио-лучевой терапии до начала лечения осуществлялась биопсия опухоли с обязательным гистологическим исследованием.

При раке яичников, раке тела матки изучен операционный материал.

Из каждого образца опухоли приготавливали срезы на криостатирующем микротоме Leica CM-3050S. Толщина срезов составляла 4-6 мкм, которые размещали на предметном стекле и фиксировали ацетоном в течение 10 мин при температуре 4°C. После фиксации срезы отмывали в среде 199 (pH 7,2-7,4), на них наносили немеченные моноклональные антитела. Инкубация продолжалась 30 минут при комнатной температуре во влажной камере. После отмывания наносились ФИТЦ-меченные F(ab)2 – фрагменты антивидовых антител IgG1, инкубация продолжалась 30 минут. По окончании инкубации препараты отмывали, наносили 50% раствор

глицерина, закрывали покровными стеклами. Учет реакции проводили на люминисцентном микроскопе ZEISS (AXIOSKOP; Германия).

Изучена экспрессия опухолевыми клетками панцитокератина (KL-1), молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I, HLA-DR, трансферринового рецептора 1 (TfR1), молекул интегринов CD29 (VLA –  $\beta$ 1), FAS/APO лиганда CD95, муциноподобного антигена MUC-1, молекул адгезии CD54 и CD56, гликопротеина MRD/Pgp170.

Положительными считали клетки, имеющие мембранное свечение разной степени интенсивности (от слабой до выраженной), а также клетки с цитоплазматическим свечением. Оценка реакции на опухолевых клетках проводилась полуколичественным методом, предложенным Hammerling. Ниже представлены типы реакции.

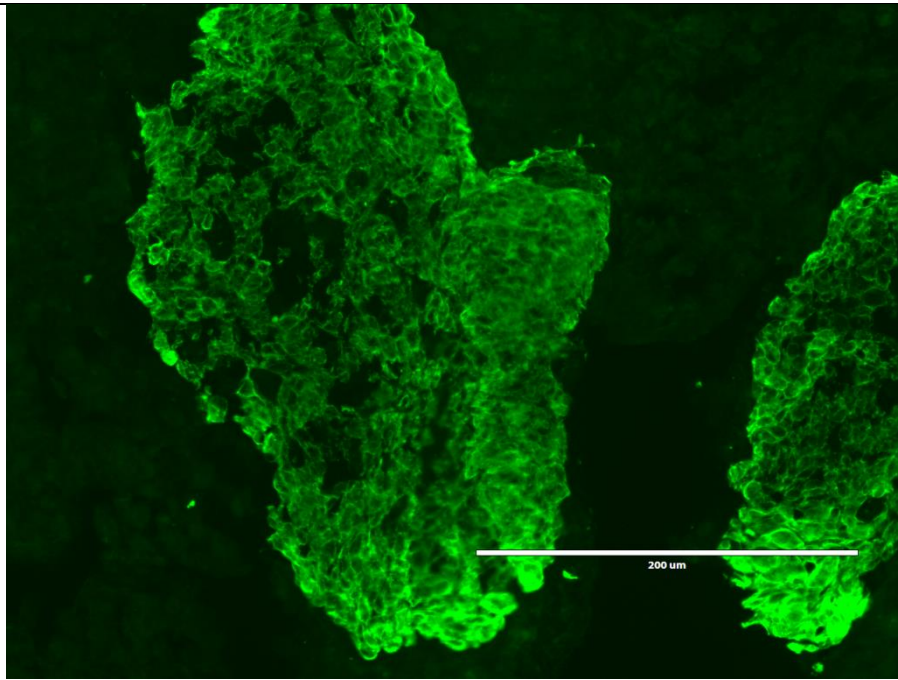
1. Отрицательная реакция – менее 10% антигенположительных клеток;
2. Мозаичная реакция – антиген экспрессируется частью опухолевых клеток (10-80%);
3. Мономорфная реакция – экспрессия анализируемого антигена наблюдается более чем 80% опухолевых клеток.

При изучении местных иммунных реакций в опухоли оценивали общелейкоцитарную инфильтрацию (CD45), плазмоцитарную инфильтрацию (CD38), Т-клеточную (CD3, CD4, CD8, CD25) и В-клеточную (CD20) инфильтрации, а также гистиоцитарную (D11).

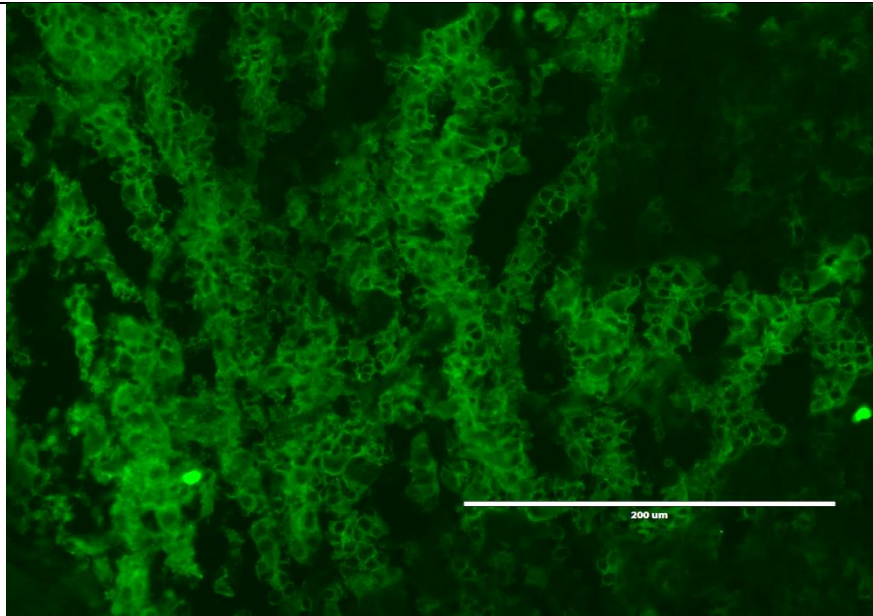
Выделяли три типа реакции:

1. практически полное отсутствие лимфоидной инфильтрации, слабая инфильтрация (антигенположительные клетки в срезе не определяются или определяется небольшое их количество в препарате, единичные клетки);
2. умеренная инфильтрация (умеренное количество антигенположительных клеток в срезе, расположенных разрозненно или отдельными группами);
3. выраженная инфильтрация (скопления антигенпозитивных клеток в срезе в виде очагов/зон, могут встречаться крупные группы и инфильтраты из этих клеток).

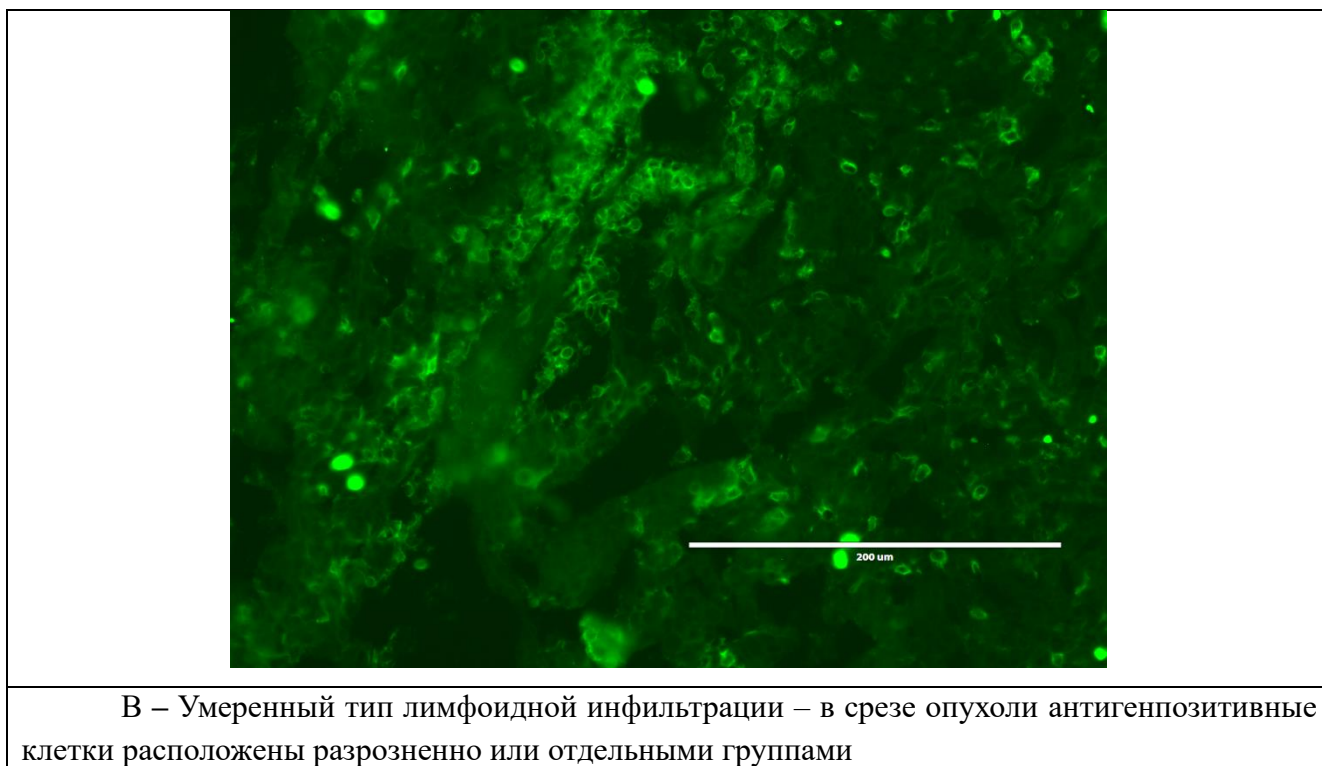
Пример инфильтрации опухоли лимфоидными клетками представлен на рисунке 17.



А – Окрашивание среза опухоли антителом KL-1 (панцитокератин) – все клетки опухоли KL-1 – позитивные



Б – Выраженный тип лимфоидной инфильтрации – в срезе опухоли наблюдаются крупные группы антигенпозитивных клеток



**Рисунок 17** – Инфильтрация опухоли лимфоидными клетками

Моноклональные антитела, которые применялись для окрашивания срезов образцов опухолей женской репродуктивной системы представлены в таблице 9.

**Таблица 9** – Антитела для иммунофенотипирования лимфоцитов и опухолевых клеток

| № | Антитело | Clone   | Производитель                 |
|---|----------|---------|-------------------------------|
| 1 | KL-1     | -       | Immunotech, Marseille, France |
| 2 | HLA-I    | LN3     | Becton Dickinson, США         |
| 3 | HLA-DR   | W6/32   | Becton Dickinson, США         |
| 4 | CD71     | OX-26   | Becton Dickinson, США         |
| 5 | CD95     | EOS9.1  | Becton Dickinson, США         |
| 6 | CD54     | 3E2     | Becton Dickinson, США         |
| 7 | MUC-1    | HMPV    | Becton Dickinson, США         |
| 8 | CD29     | HUTS-21 | Becton Dickinson, США         |
| 9 | Pgp170   | 0.N.505 | Becton Dickinson, США         |

|    |                                    |          |                       |
|----|------------------------------------|----------|-----------------------|
| 10 | D11                                | -        | Becton Dickinson, США |
| 11 | CD45                               | HI30     | Becton Dickinson, США |
| 12 | CD38                               | HIT2     | Becton Dickinson, США |
| 13 | CD3                                | UCHT1    | Becton Dickinson, США |
| 14 | CD4                                | 4B12     | Becton Dickinson, США |
| 15 | CD8                                | HIT8a    | Becton Dickinson, США |
| 16 | CD20                               | 2H7      | Becton Dickinson, США |
| 17 | F(ab2)-фрагменты,<br>меченные FITC | M1-14D12 | Becton Dickinson, США |

## 2.6 Статистическая обработка

Для статистической обработки данных использовался пакет программ SPSS, версия 26. С применением теста Колмогорова-Смирнова проверялась гипотеза о принадлежности выборок к нормальным совокупностям. Для нормально распределенных величин достоверность различий между количественными показателями оценивали по критерию Стьюдента (при сравнении двух выборок) или дисперсионный анализ (при сравнении большего числа выборок). Также использована оценка с помощью непараметрических тестов: Манна-Уитни (две выборки) или Краскела-Уоллеса (больше двух выборок).

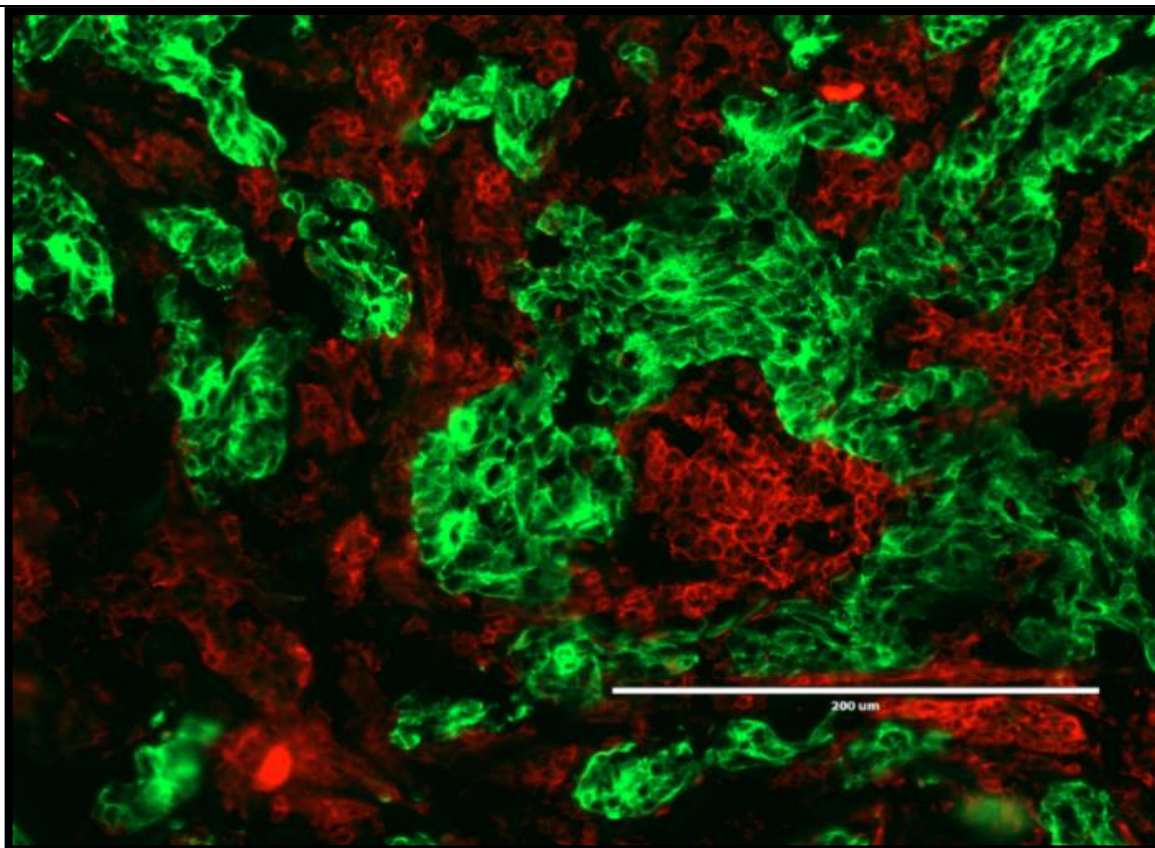
Сравнения качественных параметров выполняли по таблицам сопряженности признаков, применяли точный критерий Фишера или тест  $\chi^2$  по Пирсону. Для количественной оценки степени взаимосвязи параметров между двумя случайными величинами, в зависимости от их типа и нормальности распределения использовались коэффициенты корреляции по Пирсону или Спирмену. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$  (точность  $> 95\%$ ), а также учитывали маргинальную значимость  $0,05 \leq p \leq 0,1$ .

Анализ выживаемости проводили по Каплан-Майеру. Для оценки достоверности различий в выживаемости пользовались тестами Лог-Ранк, Бреслоу, Тарон-Уоре. По результатам однофакторного анализа Кокса проводили многофакторный регрессионный анализ Кокса (методом пошагового исключения).

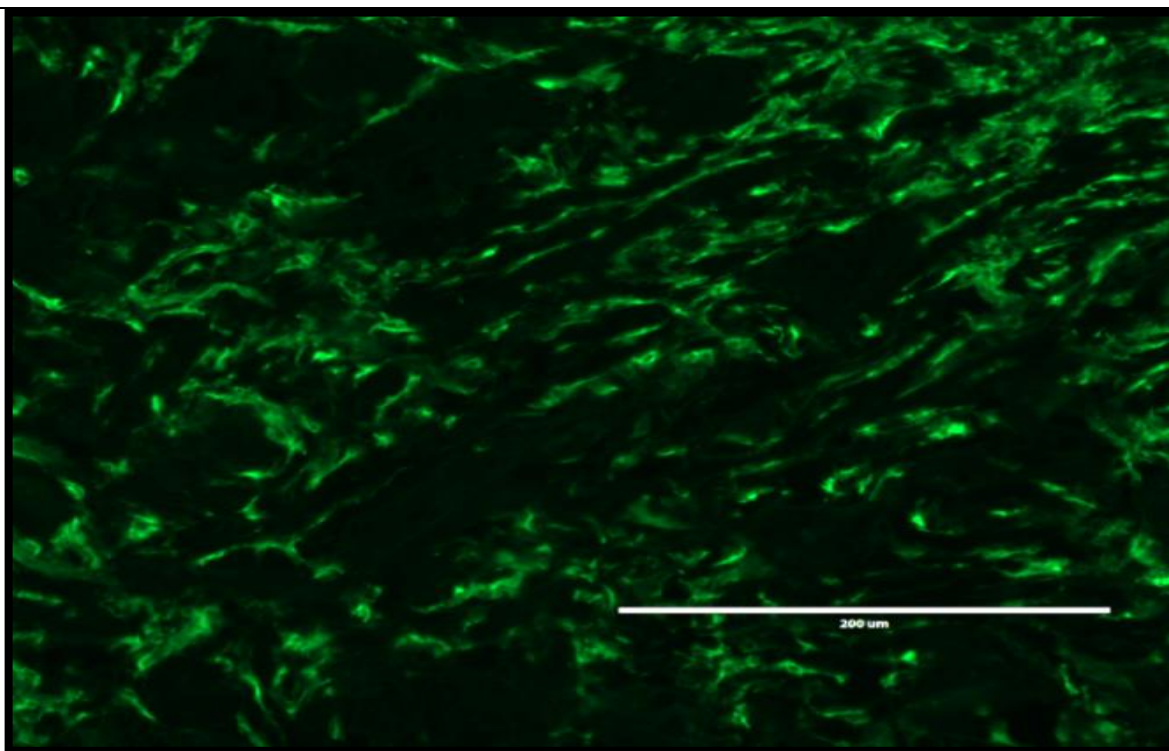
### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

#### 3.1 Взаимосвязь иммунофенотипа рака молочной железы с клиническими и морфологическими показателями

Первым этапом работы стало изучение связи иммунофенотипа опухоли с клиническими и морфологическими характеристиками, молекулярно-биологическими подтипами рака молочной железы. Рассмотрим результаты анализа по каждому антигену, экспрессия которого была изучена нами на опухолевых клетках при раке молочной железы. Пример экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости HLA клетками рака молочной железы представлен на рисунке 18.



А – Мономорфная реакция – более 80% опухолевых клеток экспрессируют антиген, зеленый цвет



Б – Мозаичная реакция – 10-80% опухолевых клеток экспрессируют антиген, зеленый цвет

**Рисунок 18** – Типы экспрессии молекул HLA клетками рака молочной железы - зеленый цвет (увеличение x 400)

При изучении экспрессии антигенных детерминант HLA-I класса установлено, что в 46,4% (n = 70) образцов была отрицательная реакция, то есть наблюдалось менее 10% антигенположительных клеток. Всего изучен 151 образец. Мономорфная экспрессия анализируемого маркера выявлена в 38,4% (n = 58) случаев, мозаичный тип реакции отмечен в 15,2% (n = 23).

В отношении молекулы HLA-DR наблюдалась несколько иная картина. Антигены более чем в половине изученных образцов отсутствовали, что соответствовало 74,0% (n = 111). Экспрессия HLA-DR антигена более чем 80% опухолевых клеток отмечена в 10% (n = 15) наблюдений. Мозаичная экспрессия данного антигена опухолевыми клетками установлена в 16,7% (n = 24) образцов.

Как видим, частота экспрессии молекул HLA I и II класса различалась. HLA I класса сохраняются почти в половине случаев 53,6%, тогда как наличие молекул HLA II класса отмечалось суммарно в 26,0% образцов. Большинство анализируемых случаев характеризовались утратой экспрессии HLA II класса.

При анализе взаимосвязи экспрессии обеих HLA-детерминант отмечено следующее (Таблица 10). Мономорфная экспрессия обеих детерминант отмечена в 23,2% случаев.

Значительно чаще в 89,9% образцов наблюдалось отсутствие экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости I и II класса. HLA-I негативные опухоли в небольшом проценте случаев (10,1%) мозаично экспрессировали молекулы HLA-II класса. Мозаичная экспрессия антигена HLA-I зачастую сопровождалась отсутствием экспрессии молекул HLA II класса. Среди опухолей с мономорфной экспрессией HLA I класса 51,8% из них характеризовались отсутствием молекул HLA II класса. Иными словами взаимосвязь экспрессии молекул HLA I класса и HLA-DR заключается в том, что при отсутствии молекул HLA I класса экспрессии HLA-DR преимущественно не наблюдается.

Далее проанализированы взаимосвязи экспрессии молекул HLA I класса с клинической стадией рака молочной железы. Достоверных различий в экспрессии молекул HLA I класса в зависимости от стадии опухоли не выявлено. Также не наблюдалось связи с размером первичной опухоли (T), с количеством метастатических лимфоузлов (N). Аналогично отсутствовала связь с гистологическим типом рака молочной железы

**Таблица 10** – Взаимосвязь экспрессии молекул HLA-I с HLA-DR

| Тип реакции |               |      | HLA-DR, p = 0,0001 |           |             | Всего  |
|-------------|---------------|------|--------------------|-----------|-------------|--------|
|             |               |      | отрицательная      | мозаичная | мономорфная |        |
| HLA-I       | отрицательная | Абс. | 62                 | 7         | 0           | 69     |
|             |               | %    | 89,9%              | 10,1%     | 0,0%        | 100,0% |
|             | мозаичная     | Абс. | 18                 | 3         | 2           | 23     |
|             |               | %    | 78,3%              | 13,0%     | 8,7%        | 100,0% |
|             | мономорфная   | Абс. | 29                 | 14        | 13          | 56     |
|             |               | %    | 51,8%              | 25,0%     | 23,2%       | 100,0% |

Анализ экспрессии молекулы HLA-II класса позволил выявить ряд достоверных взаимосвязей с несколькими морфологическими и клиническими факторами рака молочной железы. В таблице 11 представлены данные сравнения экспрессии антигена HLA-DR в зависимости от стадии. Как видим, при увеличении стадии возрастает количество опухолей с отсутствием экспрессии анализируемой детерминанты: при I - IIВ – IIIС, соответственно, 63,2% - 75,0% - 100,0% p = 0,001.

При более детальной оценке можно наблюдать, что процент мономорфно экспрессирующих молекулу HLA-DR опухолей снижался, наблюдалась мозаичная экспрессия, более того, при IIIВ стадии не отмечено опухолей с экспрессией данного антигена (Таблица 12, Рисунок 19). Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи антигена HLA-DR с прогрессией (нарастанием стадии) рака молочной железы. На рисунке отчетливо видно отсутствие антиген позитивных образцов опухоли при распространенных стадиях.

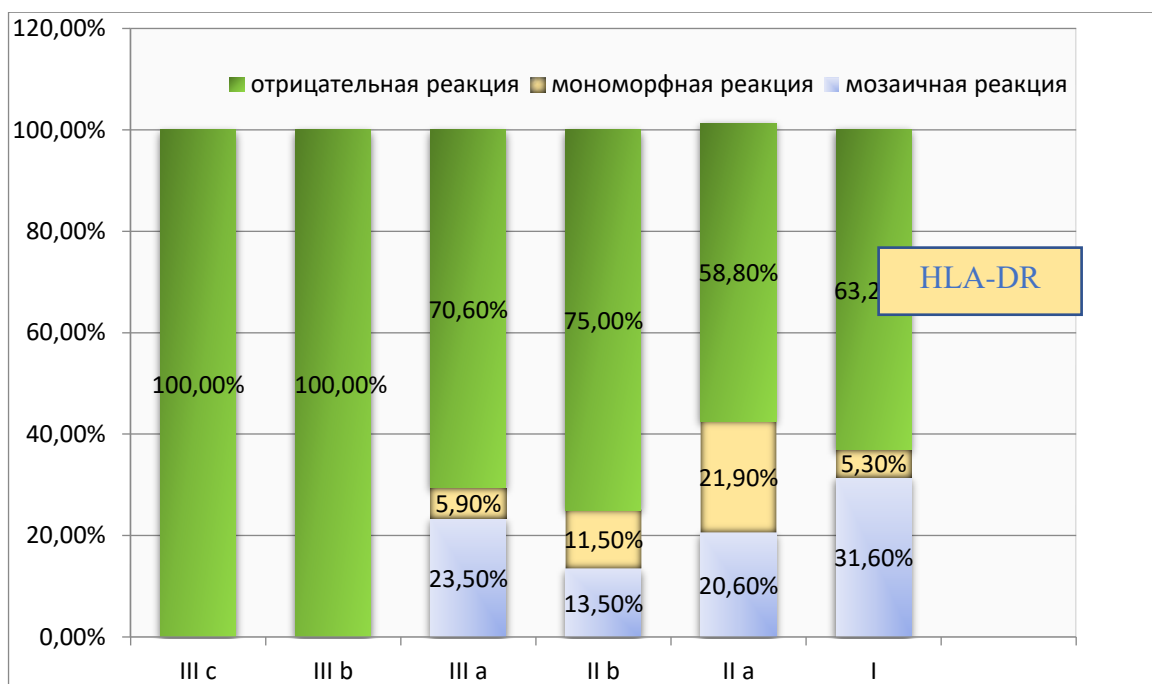


**Таблица 11** – Взаимосвязь HLA-DR- антигена со стадией рака молочной железы

| Стадия |      | Иммунофенотип |            | Итого  |
|--------|------|---------------|------------|--------|
|        |      | HLA-DR «-»    | HLA-DR «+» |        |
| I      | Абс. | 12            | 7          | 19     |
|        | %    | 63,2%         | 36,8%      | 100,0% |
| IIA    | Абс. | 20            | 14         | 34     |
|        | %    | 58,8%         | 41,2%      | 100,0% |
| IIB    | Абс. | 39            | 13         | 52     |
|        | %    | 75,0%         | 25,0%      | 100,0% |
| IIIA   | Абс. | 12            | 5          | 17     |
|        | %    | 70,6%         | 29,4%      | 100,0% |
| IIIB   | Абс. | 19            | 0          | 19     |
|        | %    | 100,0%        | 0,0%       | 100,0% |
| IIIC   | Абс. | 8             | 0          | 8      |
|        | %    | 100,0%        | 0,0%       | 100,0% |
| Итого  | Абс. | 110           | 39         | 149    |
|        | %    | 73,8%         | 26,2%      | 100,0% |

**Таблица 12** – Взаимосвязь HLA-DR- фенотипа со стадией рака молочной железы

| Стадия |      | Иммунофенотип |              |            | Итого   |
|--------|------|---------------|--------------|------------|---------|
|        |      | HLA-DR «-»    | HLA-DR «+/-» | HLA-DR «+» |         |
| I      | Абс. | 12            | 6            | 1          | 19      |
|        | %    | 63,20%        | 31,60%       | 5,30%      | 100,00% |
| IIA    | Абс. | 20            | 7            | 7          | 34      |
|        | %    | 58,80%        | 20,60%       | 21,90%     | 100,00% |
| IIB    | Абс. | 39            | 7            | 6          | 52      |
|        | %    | 75,00%        | 13,50%       | 11,50%     | 100,00% |
| IIIA   | Абс. | 12            | 4            | 1          | 17      |
|        | %    | 70,60%        | 23,50%       | 5,90%      | 100,00% |
| IIIB   | Абс. | 19            | 0            | 0          | 19      |
|        | %    | 100,00%       | 0,00%        | 0,00%      | 100,00% |
| IIIC   | Абс. | 8             | 0            | 0          | 8       |
|        | %    | 100,00%       | 0,00%        | 0,00%      | 100,00% |
| Итого  | Абс. | 111           | 24           | 15         | 150     |
|        | %    | 74,00%        | 16,00%       | 10,00%     | 100,00% |
|        |      | $p = 0,005$   |              |            |         |



**Рисунок 19** – Экспрессия HLA-DR в зависимости от стадии рака молочной железы

Схожие данные получены при сопоставлении выраженности экспрессии антигена HLA-DR с размером первичной опухоли (Таблица 13). Как можно видеть из таблицы, антиген HLA-DR экспрессировался в половине случаев исключительно при небольших размерах опухолевого узла (Т1), а при нарастании размеров его экспрессия встречалась реже. Признаки достоверно связаны. Дополнительный корреляционный анализ по Спирмену установил обратную связь средней силы:  $-0,246$ ,  $p = 0,002$ ,  $n = 150$ .

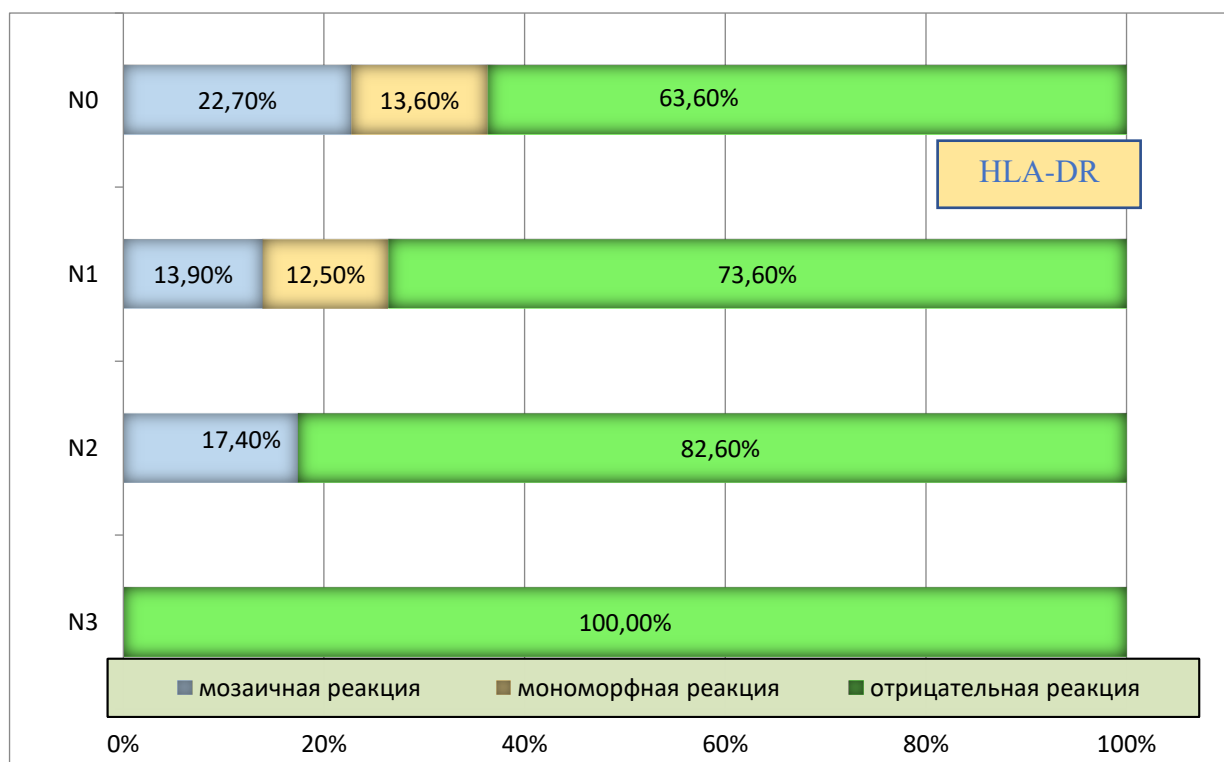
**Таблица 13** – Взаимосвязь HLA-DR- антигена с размером опухоли (индекс Т)

| Индекс Т |      | HLA-DR «-» | HLA-DR «+» | Итого   |
|----------|------|------------|------------|---------|
| Т1       | Абс. | 18         | 13         | 31      |
|          | %    | 58,10%     | 41,90%     | 100,00% |
| Т2       | Абс. | 70         | 25         | 95      |
|          | %    | 73,70%     | 26,30%     | 100,00% |
| Т3       | Абс. | 4          | 1          | 5       |
|          | %    | 80,00%     | 20,00%     | 100,00% |
| Т4       | Абс. | 19         | 0          | 19      |
|          | %    | 100,00%    | 0,00%      | 100,00% |
| Итого    | Абс. | 111        | 39         | 150     |
|          | %    | 74,00%     | 26,00%     | 100,00% |

$p = 0,002$ ,  $\chi^2 = 12,646$

Как мы видим, уже на ранних этапах развития упрощается антигенная структура опухоли, что позволяет ей уклоняться от иммунного воздействия, оставаясь нераспознанной, и подстраивать окружающую среду таким образом, чтобы продолжить свое развитие. Эти результаты описаны в мировой литературе и находят подтверждение в исследованиях, посвященных изучению опухолевого микроокружения.

На рисунке 20 представлены результаты оценки взаимосвязи между экспрессией HLA-DR детерминанты клетками рака молочной железы и статусом лимфоузлов. Прослеживается отчетливая статистически значимая ( $p = 0,026$ ) связь с количеством метастатических лимфатических узлов. Частота мономорфной экспрессии антигенных детерминат HLA-DR при отсутствии метастазов в лимфатических узлах достигает 13,6% (6/44), тогда как при увеличении количества метастатически пораженных лимфоузлов снижается, уступая место мозаичной экспрессии. При статусе N1 отмечается экспрессия в 12,5% (9/72) мономорфная, в 13,9% (10/72) случаев – мозаичная (Таблица 14). Обратим внимание, что при N2 – 82,6% (19/23) опухолей вовсе не экспрессируют антиген HLA-DR, в 17,4% (4/23) он представлен мозаично. И наконец, мы видим, что при статусе N3 количество антиген-негативных опухолей составляет 100,0% (11/11): экспрессия HLA-DR детерминанты клетками рака молочной железы отсутствует.



**Рисунок 20** – Экспрессии HLA-DR детерминанты в зависимости от статуса лимфоузлов

**Таблица 14** – Взаимосвязь HLA-DR- антигена со статусом N

| Индекс N |      | HLA-DR «-» | HLA-DR «+/-» | HLA-DR «+» | Итого  |
|----------|------|------------|--------------|------------|--------|
| 0        | Абс. | 28         | 10           | 6          | 44     |
|          | %    | 63,6%      | 22,7%        | 13,6%      | 100,0% |
| 1        | Абс. | 53         | 10           | 9          | 72     |
|          | %    | 73,6%      | 13,9%        | 12,5%      | 100,0% |
| 2        | Абс. | 19         | 4            | 0          | 23     |
|          | %    | 82,6%      | 17,4%        | 0,0%       | 100,0% |
| 3        | Абс. | 11         | 0            | 0          | 11     |
|          | %    | 100,0%     | 0,0%         | 0,0%       | 100,0% |
| Итого    | Абс. | 111        | 24           | 15         | 150    |
|          | %    | 74,0%      | 16,0%        | 10,0%      | 100,0% |
| p = 0,02 |      |            |              |            |        |

Взаимосвязи экспрессии HLA-DR с гистологическим типом рака молочной железы, впрочем, также как и со степенью ее дифференцировки, не отмечено. Описано, что экспрессия данного антигена наблюдается при высокодифференцированных опухолях. В нашей выборке доля таких опухолей была небольшой.

Анализ HLA-DR антигена в зависимости от экспрессии рецепторов стероидных гормонов выявил достоверную связь между признаками (Таблица 15). Отсутствие экспрессии рецепторов эстрогенов в 82,4% (n = 57) сочеталось с отсутствием молекул HLA - II класса. Опухоли с положительным статусом РЭ не экспрессировали HLA-DR-антиген в 66,7% (n = 54), p = 0,028.

**Таблица 15** – Взаимосвязь HLA-DR- антигена с экспрессией рецепторов эстрогенов

| Статус рецепторов |      | HLA-DR – негатив. | HLA-DR - позитив. | Итого   |
|-------------------|------|-------------------|-------------------|---------|
| РЭ «-»            | Абс. | 56                | 12                | 68      |
|                   | %    | 82,40%            | 17,60%            | 100,00% |
| РЭ «+»            | Абс. | 54                | 27                | 81      |
|                   | %    | 66,70%            | 33,30%            | 100,00% |
| Итого             | Абс. | 110               | 39                | 149     |
|                   | %    | 73,80%            | 26,20%            | 100,00% |
| p = 0,028         |      |                   |                   |         |

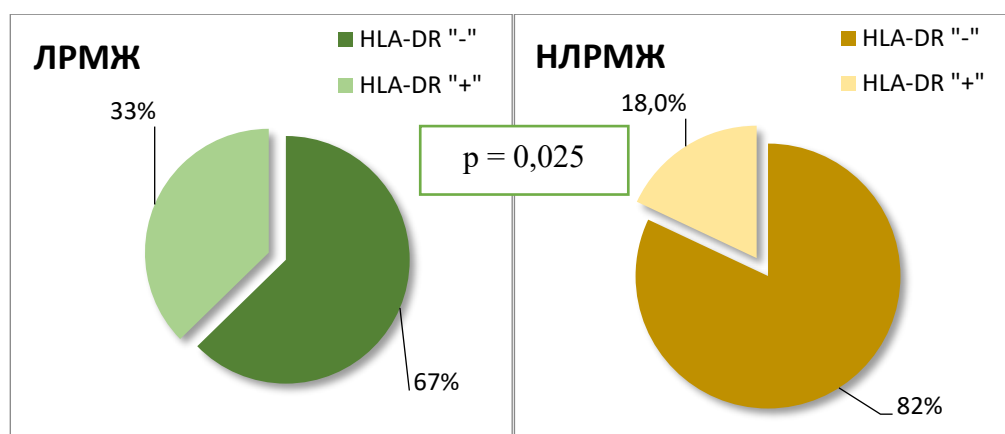
Следующим этапом изучена экспрессия молекул HLA-I и II класса при двух подтипах рака молочной железы: люминальном и нелюминальном. Для анализа в пределах всей выборки разделение на молекулярно-биологические подтипы рака молочной железы нами выполнено на

основании экспрессии рецепторов к стероидным гормонам, поскольку части больных исследований Her2, Ki67 не выполнялось (2002 - 2005 гг). Опухоли, экспрессирующие рецепторы эстрогена, классифицировались как люминальный рак молочной железы. При отсутствии экспрессии таковых, соответственно, опухоли относились к нелюминальному подтипу. Данные анализа приведены в таблице 16. При люминальном и нелюминальном подтипах рака молочной железы частота экспрессия HLA-I была сопоставима.

В отношении молекулы HLA-DR получены несколько иные данные. При люминальном подтипе данный антиген экспрессировался несколько чаще, чем при нелюминальном: мозаичный тип реакции отмечен в 22,2% и в 11,1% случаев – мономорфный тип, различия на уровне тенденции. Распределение HLA-DR антиген-негативных и антиген-позитивных опухолей в зависимости от молекулярного подтипа представлено на рисунке 21. При люминальном подтипе HLA-DR экспрессировался в 33,3% случаев, тогда как при нелюминальном – в 18,0% наблюдений,  $p = 0,05$ . Вероятно, такое различие могло бы быть обусловлено преобладанием при нелюминальном подтипе менее дифференцированных опухолей поскольку при дифференцированных аденокарциномах экспрессия HLA-DR более выражена.

**Таблица 16** – Типы экспрессии опухолевыми клетками молекул HLA-I, HLA-DR в зависимости подтипа рака молочной железы

| Молекулярный подтип  |     | HLA-I экспрессия |           |             |        |
|--|-----|------------------|-----------|-------------|--------|
|  |     | Отсутствует      | Мозаичная | Мономорфная | Итого  |
| ЛРМЖ   | Абс | 39               | 15        | 30          | 84     |
|  | %   | 46,4%            | 17,9%     | 35,7%       | 100,0% |
| НЛРМЖ  | Абс | 30               | 8         | 28          | 66     |
|  | %   | 45,5%            | 12,1%     | 42,4%       | 100,0% |
| HLA-DR , $p = 0,05$  |     |                  |           |             |        |
| ЛРМЖ   | Абс | 54               | 18        | 9           | 81     |
|  | %   | 66,7%            | 22,2%     | 11,1%       | 100,0% |
| НЛРМЖ  | Абс | 56               | 6         | 6           | 68     |
|  | %   | 82,4%            | 8,8%      | 8,8%        | 100,0% |
| ЛРМЖ – люминальный рак молочной железы, НЛРМЖ – нелюминальный рак молочной |     |                  |           |             |        |



ЛРМЖ – люминальный рак молочной железы, НЛРМЖ – нелюминальный рак молочной железы

**Рисунок 21** – Частота экспрессии молекулы HLA-DR при люминальном и нелюминальном раке молочной железы

Аналогичным образом выполнен анализ с учетом экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона. При данном разделении на молекулярные подтипы мы не обнаружили различий в экспрессии молекул HLA I и II класса между люминальным и нелюминальными подтипами.

Мы выполнили дополнительно корреляционный анализ по Спирмену для оценки характера связи экспрессии HLA-DR с клинико-морфологическими признаками опухоли. Результаты представлены в таблице 17. Имеется обратная корреляция средней силы между экспрессией антигена и размером опухоли, статусом лимфоузлов, стадией, молекулярным подтипом.

**Таблица 17** – Корреляционные связи молекулы HLA-DR

| Антиген |   | Показатель                  |         |         |         |        |
|---------|---|-----------------------------|---------|---------|---------|--------|
|         |   | Молекулярный подтип (по РЭ) | Стадия  | T       | N       | РП     |
| HLA-DR  | R | -0,165                      | -,213** | -,246** | -,217** | -0,027 |
|         | p | 0,045                       | 0,009   | 0,002   | 0,008   | 0,744  |
|         | n | 149                         | 149     | 149     | 149     | 149    |

У 68 больных разделение по молекулярным подтипам проводилось на основании оценки экспрессии Her2-neu, Ki67, рецепторов эстрогенов и прогестерона: люминальный A – 28%, люминальный B подтип Her2- и Her2+ – 42,6% и 8,8%, Erb2+ – 5,8% трижды негативный – 14,7%. Оценка экспрессии молекул HLA I и II класса в пределах данных подтипов не выявила достоверных различий.

Таким образом, на данном этапе работы установлено, что частота экспрессии молекул HLA I и II класса различалась. Выявлены корреляции молекул главного комплекса гистосовместимости II типа с клинико-морфологическими признаками рака молочной железы: со стадией, с размером первичной опухоли, N статусом, экспрессией РЭ, молекулярным подтипом опухоли (по РЭ). Обратим внимание, что доля мономорфно экспрессирующих молекулу HLA-DR опухолей уменьшалась с увеличением стадии опухолей, кроме того, метастазы в лимфатические узлы чаще сопровождалась HLA-DR негативным фенотипом. Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи антигена HLA-DR с прогрессией рака молочной железы. При люминальном подтипе рака молочной железы (по РЭ) антиген HLA-DR экспрессировался чаще, чем при нелюминальном подтипе.

Перейдем к результатам исследования экспрессии трансферриновых рецепторов. В результате анализа экспрессии трансферриновых рецепторов клетками рака молочной железы установлено, что большинство образцов характеризовались экспрессией TfR1, что составило 72,3% (n = 107). При этом важно обратить внимание, что более половины опухолей, а это 58,1% (n = 86), характеризовались мономорфной экспрессией трансферриновых рецепторов. Мозаичный тип реакции выявлялся нечасто и отмечен нами в 14,2% (n = 21) образцов. В 27,7% (n = 41) наблюдений экспрессии TfR1 отсутствовала.

Мы проанализировали есть ли связь между TfR1 фенотипом опухоли и HLA фенотипом. (Таблица 18).

**Таблица 18** – Экспрессии трансферринового рецептора клетками рака молочной железы и ее взаимосвязь с экспрессией молекул HLA-I

| Экспрессия TfR1,<br>вид реакции |   | Вид реакции      |           |             | Итого  |
|---------------------------------|---|------------------|-----------|-------------|--------|
|                                 |   | Отрицательная    | Мозаичная | Мономорфная |        |
|                                 |   | Экспрессия HLA-I |           |             |        |
| Отрицательная                   | n | 25               | 4         | 11          | 40     |
|                                 | % | 62,5%            | 10,0%     | 27,5%       | 100,0% |
| Мозаичная                       | n | 7                | 7         | 7           | 21     |
|                                 | % | 33,3%            | 33,3%     | 33,3%       | 100,0% |
| Мономорфная                     | n | 36               | 12        | 38          | 86     |
|                                 | % | 41,9%            | 14,0%     | 44,2%       | 100,0% |
| p = 0,04, $\chi^2 = 10,711$     |   |                  |           |             |        |

Интересно, что имела место достоверная связь между экспрессией TfR1 и экспрессией молекул HLA I класса Мономорфный TfR1 фенотип в 44,2% случаев сочетался с мономорфным

HLA-I фенотипом, а мозаичная экспрессия в равном проценте случаев сочеталась с мозаичным и мономорфным HLA-I фенотипом.

Изучение выраженности экспрессии TfR1 от возраста, стадии, размера первичной опухоли, статуса лимфатических лимфоузлов не выявило достоверных различий. При этом следует отметить, что при размере первичной опухоли, соответствующем Т3-4 мономорфная экспрессия TfR1 наблюдалась несколько чаще, что отмечено в 75,0% (n = 18) образцов, тогда как при небольших размерах опухоли в 54,4% (n = 18). Данные представлены в таблице 19.

**Таблица 19** – Результаты анализа взаимосвязей экспрессии трансферринового рецептора с размером первичной опухоли

| Индекс Т  |      | Экспрессия TfR1 , вид реакции |           |             | Итого   |
|-----------|------|-------------------------------|-----------|-------------|---------|
|           |      | Отрицательная                 | Мозаичная | Мономорфная |         |
| Т1- 2     | Абс. | 39                            | 18        | 68          | 125     |
|           | %    | 31,20%                        | 14,40%    | 54,40%      | 100,00% |
| Т 3-4     | Абс. | 3                             | 3         | 18          | 24      |
|           | %    | 12,50%                        | 12,50%    | 75,00%      | 100,00% |
| Итого     | Абс. | 42                            | 21        | 86          | 149     |
|           | %    | 28,20%                        | 14,10%    | 57,70%      | 100,00% |
| p = 0,107 |      |                               |           |             |         |

Аналогично отмечалось нарастание пропорции клеток, мономорфно-экспрессирующих TfR1, при увеличении стадии опухолевого процесса. При III стадии доля TfR1 клеток с мономорфной экспрессией была несколько больше: 70,5% против 57,9% при I стадии. Однако признаки достоверно не связаны.

Изучение взаимосвязи экспрессии TfR1 с гистологическим видом опухоли не выявило различий. И при дольковом, и при протоковом раке, а также редких гистологических формах опухолевые клетки почти одинаково часто экспрессировали данный антиген. Наблюдалась в большей степени мономорфная реакция. Не отмечено связи степени дифференцировки клеток рака молочной железы с выраженностью экспрессии TfR1.

Изучена экспрессия TfR1 при двух подтипах рака молочной железы: люминальном и нелюминальном. При разделении на молекулярно-биологические подтипы рака молочной железы на основании экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона получены следующие данные (Таблица 20). При люминальном подтипе частота экспрессии изучаемого антигена достоверно выше, чем при нелюминальном. Выраженность экспрессии антигена TfR1 при каждом из подтипов варьировала. Оказалось, что клетки люминального рака молочной железы экспрессируют рецепторы трансферрина преимущественно мономорфно, что отмечено в 65,6%



(n = 63) случаев. Мозаичный тип реакции антигена TfR1 отмечен в 10,4% образцов. При нелюминальном раке мономорфная экспрессия TfR1 выявлена в 44,2% (n = 23) случаев, а мозаично экспрессировался данный антиген в 21,2% (n = 11) наблюдений. Как мы видим, при люминальном подтипе экспрессия рецепторов трансферрина наблюдается чаще,  $p = 0,035$ . Дополнительно выполнен корреляционный анализ по Спирмену. Установлена отрицательная корреляция TfR1 с молекулярным подтипом:  $R = -0.187$ ,  $n = 148$ ,  $p = 0,023$ .

**Таблица 20** – Экспрессия трансферринового рецептора при люминальном и нелюминальном подтипах рака молочной железы

| Молекулярный подтип |     | Экспрессия TfR1, вид реакции |           |             | Всего  |
|---------------------|-----|------------------------------|-----------|-------------|--------|
|                     |     | Отсутствует                  | Мозаичная | Мономорфная |        |
| ЛРМЖ                | Абс | 23                           | 10        | 63          | 96     |
|                     | %   | 24,0%                        | 10,4%     | 65,6%       | 100,0% |
| НЛРМЖ               | Абс | 18                           | 11        | 23          | 52     |
|                     | %   | 34,6%                        | 21,2%     | 44,2%       | 100,0% |
| Всего               | Абс | 41                           | 21        | 86          | 148    |
|                     | %   | 27,7%                        | 14,2%     | 58,1%       | 100,0% |
| $p = 0,035$         |     |                              |           |             |        |

У 68 больных разделение по молекулярным подтипам проводилось на основании оценки экспрессии Her2-neu, Ki-67, рецепторов эстрогенов и прогестерона: люминальный А – 28%, люминальный В подтип Her2- и Her2+ – 42,6% и 8,8%, Erb2+ – 5,8% трижды негативный – 14,7%. Оценка экспрессии TfR1 не выявила между ними достоверных различий.

Таким образом, на данном этапе работы установлено, что частота экспрессии трансферриновых рецепторов не связана достоверно со степенью распространенности опухолевого процесса, однако, отметим, что при увеличении размеров опухоли имелось увеличение доли мономорфно экспрессирующих TfR1 клеток опухоли. TfR1 достоверно чаще наблюдался при люминальном подтипе рака молочной железы по сравнению с нелюминальным подтипом (по РЭ и РП). Тип реакции преимущественно мономорфный.

Результаты анализа экспрессии FAS/APO лиганда CD95, молекул адгезии CD54 и молекул  $\beta$ -1 интегринов CD29 клетками рака молочной железы представлены в таблице 21. Установлено, что большинство образцов характеризовались отрицательным типом реакции по антигену CD95, что составило 73,2% (n = 60). Мономорфная экспрессия FAS/APO лиганда CD95 наблюдалась в 15,9% (n = 13) образцов, реже встречалась мозаичная (11%, n = 9).

Молекулы CD54 экспрессировались клетками рака молочной железы в половине случаев, и при этом преимущественно мономорфно (27,85%, n = 22). Экспрессия молекул  $\beta$ -1 интегринов CD29 отмечена большинством клеток опухоли. Мы обратили внимание, что практически половина опухолей демонстрировали мономорфный тип реакции: 51,6%, (n = 16). Несколько реже наблюдался мозаичный тип экспрессии молекул  $\beta$ -1 интегринов CD29 клетками рака молочной железы, что составило 38,7% (n = 12) случаев.

**Таблица 21** – Результаты анализа экспрессии молекул CD95, CD54, CD29 клетками рака молочной железы

| Иммунофенотип |      | Вид реакции   |           |             |         |
|---------------|------|---------------|-----------|-------------|---------|
|               |      | отрицательная | мозаичная | мономорфная | Итого   |
| CD95          | Абс. | 60            | 9         | 13          | 82      |
|               | %    | 73,20%        | 11,00%    | 15,90%      | 100,00% |
| CD54          | Абс. | 43            | 15        | 22          | 80      |
|               | %    | 53,80%        | 18,80%    | 27,50%      | 100,00% |
| CD29          | Абс. | 3             | 12        | 16          | 31      |
|               | %    | 9,70%         | 38,7      | 51,60%      | 100%    |

При анализе взаимосвязи экспрессии молекул апоптоза CD95 и молекул адгезии CD54 со стадией опухоли обращало внимание, что доля опухолей с мономорфной экспрессией молекул CD95 уменьшается при нарастании стадии ПА - ПШВ: 25% – 16,3% – 10% – 10,1%, ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ) (Таблица 22). Аналогичная картина наблюдалась в отношении экспрессии молекул адгезии CD54: 50% – 31,7% – 30% – 0% ( $p = 0,001$ ).

Вместе с тем, надо отметить, что при IV стадии рака молочной железы имел место высокий процент экспрессии исследуемого маркера CD54, сопоставимый со II-й стадией, также как и для молекул CD95.

**Таблица 22** – Взаимосвязь экспрессии молекул CD95, CD54 со стадией опухоли

| Стадия |      | Иммунофенотип клеток опухоли |            |          | Итого   |
|--------|------|------------------------------|------------|----------|---------|
|        |      | CD95 «-»                     | CD95 «+/-» | CD95 «+» |         |
| ПА     | Абс. | 2                            | 1          | 1        | 4       |
|        | %    | 50,00%                       | 25,00%     | 25,00%   | 100,00% |

|           |      |           |             |          |         |
|-----------|------|-----------|-------------|----------|---------|
| IIВ       | Абс. | 35        | 1           | 7        | 43      |
|           | %    | 81,40%    | 2,30%       | 16,30%   | 100,00% |
| IIIА      | Абс. | 8         | 1           | 1        | 10      |
|           | %    | 80,00%    | 10,00%      | 10,00%   | 100,00% |
| IIIВ      | Абс. | 9         | 6           | 2        | 17      |
|           | %    | 52,90%    | 37%         | 10,10%   | 100,00% |
| IIIС      | Абс. | 5         | 0           | 2        | 7       |
|           | %    | 71,40%    | 0,00%       | 28,60%   | 100,00% |
| p = 0,050 |      |           |             |          |         |
|           |      | CD54 «->» | CD54 «+/->» | CD54 «+» | Итого   |
| IIА       | Абс. | 1         | 1           | 2        | 4       |
|           | %    | 25,00%    | 25,00%      | 50,00%   | 100,00% |
| IIВ       | Абс. | 24        | 4           | 13       | 41      |
|           | %    | 58,50%    | 9,80%       | 31,70%   | 100,00% |
| IIIА      | Абс. | 6         | 1           | 3        | 10      |
|           | %    | 60,00%    | 10,00%      | 30,00%   | 100,00% |
| IIIВ      | Абс. | 8         | 9           | 0        | 17      |
|           | %    | 47,10%    | 52,90%      | 0,00%    | 100,00% |
| IIIС      | Абс. | 3         | 0           | 4        | 7       |
|           | %    | 42,90%    | 0,00%       | 57,10%   | 100,00% |
| p = 0,001 |      |           |             |          |         |

Отмечено, что при увеличении размера первичной опухоли возрастает частота мозаичной экспрессии молекул апоптоза, тогда как при T1-2 опухоли преимущественно не экспрессируют этот антиген или отмечается мономорфный тип реакции (Таблица 23). Установлена слабая положительная корреляция по Спирмену:  $R = 0,223$ ,  $p = 0,04$ ,  $n = 82$ . CD54 мономорфно экспрессировался опухолями небольших размеров: 33,9% (T1-2) против 9,5% (T3-4). При этом надо отметить, что мозаичный тип реакции чаще встречался при T3-4. Взаимосвязь носила достоверный характер,  $p = 0,002$ .

**Таблица 23** – Взаимосвязь CD95, CD54 с размером опухоли (индекс Т)

| Индекс Т                        |      | CD95 «->» | CD95 «+/->» | CD95 «+» | Итого   |
|---------------------------------|------|-----------|-------------|----------|---------|
| T1-2                            | Абс. | 49        | 2           | 10       | 61      |
|                                 | %    | 80,30%    | 3,30%       | 16,40%   | 100,00% |
| T3-4                            | Абс. | 11        | 7           | 3        | 21      |
|                                 | %    | 52,40%    | 33,30%      | 14,30%   | 100,00% |
| $p = 0,002$ , $\chi^2 = 14,568$ |      |           |             |          |         |

Продолжение таблицы 23

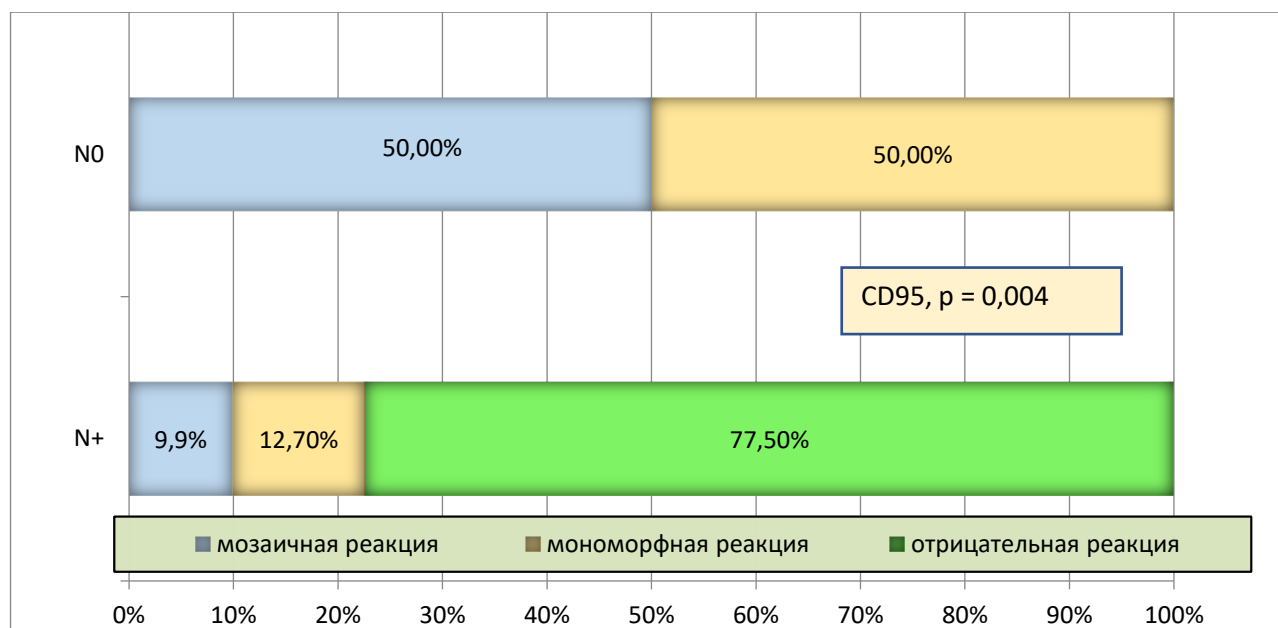
|                              |      | CD54 «-» | CD54 «+/-» | CD54 «+» | Итого   |
|------------------------------|------|----------|------------|----------|---------|
| T1-2                         | Абс. | 34       | 5          | 20       | 59      |
|                              | %    | 57,60%   | 8,50%      | 33,90%   | 100,00% |
| T3-4                         | Абс. | 9        | 10         | 2        | 21      |
|                              | %    | 42,90%   | 47,60%     | 9,50%    | 100,00% |
| $p = 0,000, \chi^2 = 16,631$ |      |          |            |          |         |

Экспрессия CD95 достоверно коррелировала с менее частым выявлением метастазов в регионарных лимфатических узлах (Таблица 24). Доля случаев с интактными лимфоузлами (N0) была значительно выше при наличии молекул апоптоза на опухолевых клетках. Напротив, по мере утраты рецепторов апоптоза частота выявления метастазов в лимфатических узлах возрастала. CD95+ клетки с мономорфной экспрессией составили 50% – 13% – 11%, соответственно, при N0 – N1 – N2. Взаимосвязь между признаками достоверна,  $p = 0,023$ .

Таблица 24 – Экспрессия молекул CD95 в зависимости от N статуса

| Индекс N    |      | CD95 «-» | CD95 «+/-» | CD95 «+» | Итого   |
|-------------|------|----------|------------|----------|---------|
| 0           | Абс. | 0        | 2          | 2        | 4       |
|             | %    | 0,00%    | 50,00%     | 50,00%   | 100,00% |
| 1           | Абс. | 42       | 5          | 7        | 54      |
|             | %    | 77,80%   | 9,30%      | 13,00%   | 100,00% |
| 2           | Абс. | 13       | 2          | 2        | 17      |
|             | %    | 76,50%   | 11,80%     | 11,80%   | 100,00% |
| Итого       | Абс. | 55       | 9          | 11       | 75      |
|             | %    | 73,30%   | 12,00%     | 14,60%   | 100,00% |
| $p = 0,023$ |      |          |            |          |         |

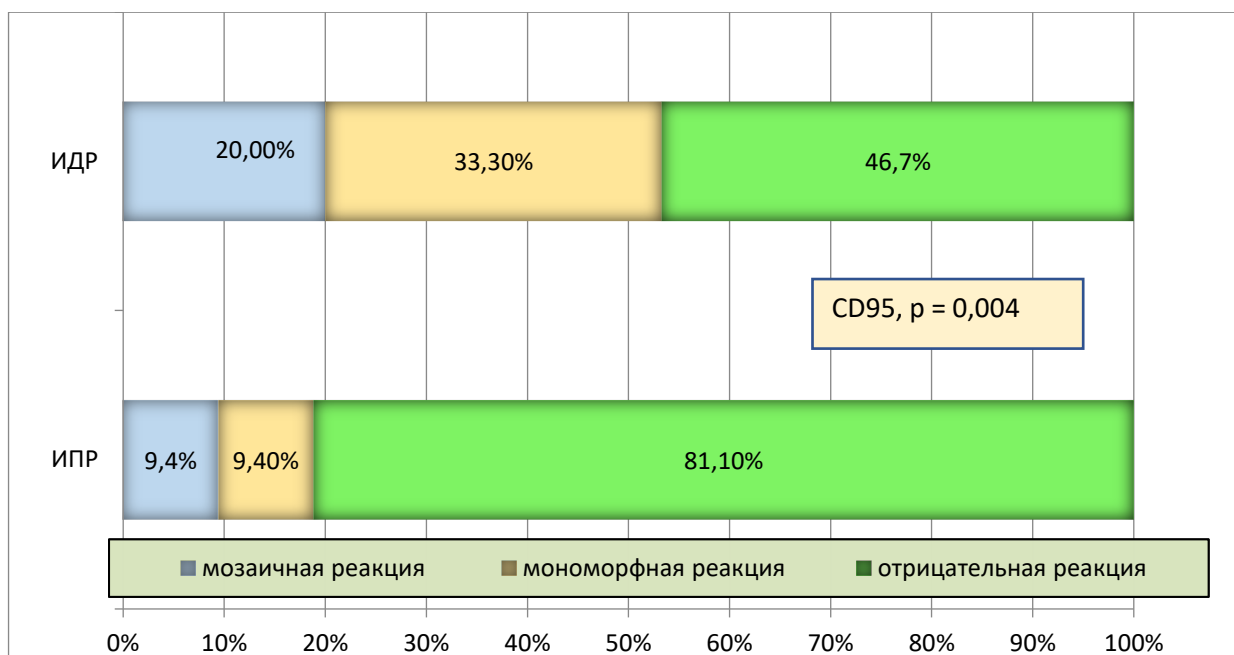
В целом частота выявления метастазов в регионарных лимфатических узлах была существенно выше при утрате молекул CD95 клетками рака молочной железы (Рисунок 22). При N+ в 77,5% образцов реакция носила отрицательный характер, в 12,7% – мономорфный и в 9,9% мозаичный, тогда как при N0 наблюдался мономорфный и мозаичный тип реакции, что установлено в равном числе случаев. Как видим, пропорция CD95 негативных опухолей обладает выраженным метастатическим потенциалом, что определяет клиническое течение рака. Установлена обратная умеренная корреляция по Спирмену высокой значимости:  $R = -0,357, p = 0,001, n = 82$ .



**Рисунок 22** – Взаимосвязь регионарного метастазирования с экспрессией FAS/APO лиганда CD95 клетками опухоли

Дальнейший анализ касался оценки связи гистологического типа опухоли, степени ее злокачественности с экспрессией CD95, CD54, CD29. Выявлено, что достоверную связь с иммунофенотипом опухоли имел ее гистологический тип. Эти данные получены в отношении молекул апоптоза. Полное отсутствие антигена установлено 81,1% (n = 43) опухолей протоковой аденокарциномы. Мозаично экспрессирующие CD95 опухоли наблюдались достаточно редко – в 9% (n = 5) случаев, в прочем также как и опухоли с мономорфным типом реакции (9%, n = 5). При дольковой аденокарциноме более половины опухолей представляли рецепторы апоптоза на клетках, что составило 53,3%, из них почти 34% (n = 5) были опухоли с мономорфной экспрессией CD95, 20,0% (n = 3) – с мозаичной. Различия достоверны, p = 0,004. Данные представлены на рисунке 23.

Частота различных типов реакции маркеров CD54 и CD29 существенно не менялась в зависимости от гистологического строения опухоли. Вместе с тем отметим, что несколько чаще при дольковом раке молочной железы наблюдалась мозаичная реакция к CD29, тогда как при протоковом раке – мономорфная. Как мы видим, при данном гистологическом типе экспрессия молекул  $\beta$ -1 интегринов CD29 клетками рака молочной железы более выражена, что составило 60,9% (n = 14) против 28,6% (n = 2), однако выборка невелика и достоверности не достигнуто (p = 0,068).



**Рисунок 23** – Взаимосвязь гистологического типа рака молочной железы с экспрессией FAS/APO лиганда CD95

Дополнительно выполненный анализ взаимосвязи FAS/APO лиганда CD95 с экспрессией молекул адгезии CD54 клетками рака молочной железы позволил обнаружить, что CD95 негативные клетки опухоли почти в 60% случаев полностью, а в 17% частично, не экспрессируют молекулы адгезии CD54. Мономорфный тип реакции нами наблюдался в 24,5% образцов (Таблица 25). Тогда как при мономорфной экспрессии молекул апоптоза (FAS/APO лиганда) частота CD54 мономорфных случаев экспрессии возрастает до 45,5%, различия достоверны, p = 0,023.

**Таблица 25** – Взаимосвязь экспрессии CD95 и CD54 на клетках рака молочной железы

| CD95      |      | CD54 «-» | CD54 «+/-» | CD54 «+» | Итого   |
|-----------|------|----------|------------|----------|---------|
| «-»       | Абс. | 31       | 9          | 13       | 53      |
|           | %    | 58,50%   | 17,00%     | 24,50%   | 100,00% |
| «+/-»     | Абс. | 4        | 5          | 0        | 9       |
|           | %    | 44,40%   | 55,60%     | 0,00%    | 100,00% |
| «+»       | Абс. | 5        | 1          | 5        | 11      |
|           | %    | 45,50%   | 9,10%      | 45,50%   | 100,00% |
| Итого     | Абс. | 40       | 15         | 18       | 73      |
|           | %    | 54,80%   | 20,50%     | 24,70%   | 100,00% |
| p = 0,023 |      |          |            |          |         |

Наличие в популяции CD95 негативных клеток CD54 позитивной популяции, вероятно, отражает более дифференцированный пул клеток, если учесть, что анализируемой когорте преобладали G2 опухоли.

Следующим этапом изучена экспрессия CD95, CD54, CD29 при двух подтипах рака молочной железы: люминальном и нелюминальном. При разделении на молекулярно-биологические подтипы рака молочной железы на основании экспрессии рецепторов эстрогенов получены достоверные различия только в отношении молекулы интегринов (Таблица 26). При нелюминальном подтипе рака CD29 были экспрессированы достоверно чаще, чем при люминальном подтипе: мономорфно в 55,0% и мозаично в 45,0% случаев ( $p = 0,031$ ). Полного отсутствия экспрессии молекул CD29 клетками опухоли при нелюминальном подтипе не наблюдалось.

**Таблица 26** – Экспрессия CD29 при люминальном и нелюминальном подтипах рака молочной железы

| Молекулярный подтип |     | Экспрессия CD29, вид реакции |           |             | Всего  |
|---------------------|-----|------------------------------|-----------|-------------|--------|
|                     |     | Отсутствует                  | Мозаичная | Мономорфная |        |
| ЛРМЖ                | Абс | 3                            | 3         | 5           | 11     |
|                     | %   | 27,3%                        | 27,3%     | 45,5%       | 100,0% |
| НЛРМЖ               | Абс | 0                            | 9         | 11          | 20     |
|                     | %   | 0,0%                         | 45,0%     | 55,0%       | 100,0% |
| Всего               | Абс | 3                            | 12        | 16          | 31     |
|                     | %   | 9,7%                         | 38,7%     | 51,6%       | 100,0% |
| $p = 0,031$         |     |                              |           |             |        |

Таким образом, в результате анализа экспрессии молекул апоптоза и молекул адгезии клетками рака молочной железы установлены достоверные связи молекул апоптоза CD95 и молекул адгезии CD54 со стадией, размером первичной опухоли. Следует отметить, что CD95 негативные опухоли достоверно чаще представлены протоковым раком и характеризуются высокой частотой регионарного метастазирования. При этом обращало внимание, что протоковый рак преимущественно отличается мономорфной экспрессией молекул интегринов CD29, но малое число случаев не позволяет точно судить об этом. Установлена достоверная взаимосвязь молекул апоптоза и молекул адгезии CD54: CD95 негативные опухоли полностью или частично утрачивают CD54 в большинстве случаев. С молекулярным подтипом опухоли (по РЭ) достоверно связана экспрессия молекул интегринов CD29.

Результаты анализа экспрессии муцинового белка MUC1 и Р-гликопротеина клетками рака молочной железы представлены в таблице 27. Установлено, что большинство образцов не экспрессировали Pgp170, что составило 62,7 (n = 32). Мономорфная экспрессия отмечена в 27,5% (n = 14), реже встречалась мозаичная (9,8%, n = 5). Напротив, MUC1 экспрессировался клетками опухоли в большинстве случаев, преимущественно мономорфно 74,4%, n = 61, а в 20,7% - мозаично.

**Таблица 27** – Экспрессии муцинового белка MUC1 и Р-гликопротеина клетками рака молочной железы

| Оценка экспрессии антигена | Абс. | %     |
|----------------------------|------|-------|
| <b>Pgp170</b>              |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 32   | 62,7  |
| Мозаичная реакция «-/+»    | 5    | 9,8   |
| Мономорфная реакция «+»    | 14   | 27,5  |
| Всего                      | 51   | 100,0 |
| <b>MUC1</b>                |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 4    | 4,9   |
| Мозаичная реакция «-/+»    | 17   | 20,7  |
| Мономорфная реакция «+»    | 61   | 74,4  |
| Всего                      | 82   | 100,0 |

В ходе анализа не выявлено статистически значимых взаимосвязей частоты экспрессии Pgp 170, в прочем также как и муцинового белка, с клинико-морфологическими особенностями опухолевых клеток у больных раком молочной железы по большинству показателей. Обращало внимание наличие некоторой ассоциации с размером первичной опухоли ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ), что представлено в таблице 28. Мономорфно экспрессирующие Pgp170 и MUC-1 опухоли наблюдались чаще при Т3-4.

**Таблица 28** – Взаимосвязь MUC-1, Pgp170 с размером опухоли (индекс Т)

| Индекс Т |      | MUC-1 «-» | MUC-1 «+/-» | MUC-1 «+» | Итого   |
|----------|------|-----------|-------------|-----------|---------|
| Т1-2     | Абс. | 3         | 16          | 42        | 61      |
|          | %    | 4,90%     | 26,20%      | 68,90%    | 100,00% |
| Т3-4     | Абс. | 1         | 1           | 19        | 21      |



|      |      |            |              |            |         |
|------|------|------------|--------------|------------|---------|
|      | %    | 4,80%      | 4,80%        | 90,50%     | 100,00% |
|      |      | p = 0,063  |              |            |         |
|      |      | Pgp170 «-» | Pgp170 «+/-» | Pgp170 «+» | Итого   |
| T1-2 | Абс. | 22         | 4            | 6          | 32      |
|      | %    | 68,80%     | 12,50%       | 18,80%     | 100,00% |
| T3-4 | Абс. | 5          | 0            | 6          | 11      |
|      | %    | 45,50%     | 0,00%        | 54,50%     | 100,00% |
|      |      | p = 0,067  |              |            |         |

Анализ экспрессии MUC-1 при различных гистотипах рака молочной железы показал, что высокая частота мономорфной экспрессии была присуща дольковому подтипу: установлена положительная корреляция средней силы  $R = 0,268$ ,  $p = 0,022$ ,  $n = 73$  (Таблица 29).

**Таблица 29** – Взаимосвязь MUC-1, Pgp170 с гистологическим типом опухоли

| Индекс Т |      | MUC-1 «-»  | MUC-1 «+/-»  | MUC-1 «+»  | Итого   |
|----------|------|------------|--------------|------------|---------|
| ИПР      | Абс. | 3          | 15           | 37         | 55      |
|          | %    | 5,50%      | 27,30%       | 67,30%     | 100,00% |
| ИДР      | Абс. | 0          | 1            | 17         | 18      |
|          | %    | 0,00%      | 5,60%        | 94,40%     | 100,00% |
|          |      | p = 0,033  |              |            |         |
|          |      | Pgp170 «-» | Pgp170 «+/-» | Pgp170 «+» | Итого   |
| ИПР      | Абс. | 22         | 4            | 6          | 32      |
|          | %    | 68,80%     | 12,50%       | 18,80%     | 100,00% |
| ИДР      | Абс. | 5          | 0            | 6          | 11      |
|          | %    | 45,50%     | 0,00%        | 54,50%     | 100,00% |

ИПР – инфильтративно-протоковый рак молочной железы, ИДР – инфильтративно-дольковый рак молочной железы

Также важным является связь экспрессии Pgp 170 с морфологическим вариантом опухоли (положительная корреляция средней силы  $R = 0,297$ ,  $p = 0,034$ ,  $n = 51$ ), что может косвенно свидетельствовать о сильном отрицательном прогностическом влиянии экспрессии гена множественной лекарственной резистентности при раке молочной железы T2N1-3M0 стадии. Экспрессия Pgp 170 коррелировала с экспрессией молекул адгезии CD54 (положительная связь умеренной силы,  $R = 0,342$ ,  $p = 0,014$ ,  $n = 51$ ). По всей видимости, такая корреляция может быть объяснена следующим образом. Высокодифференцированные опухоли

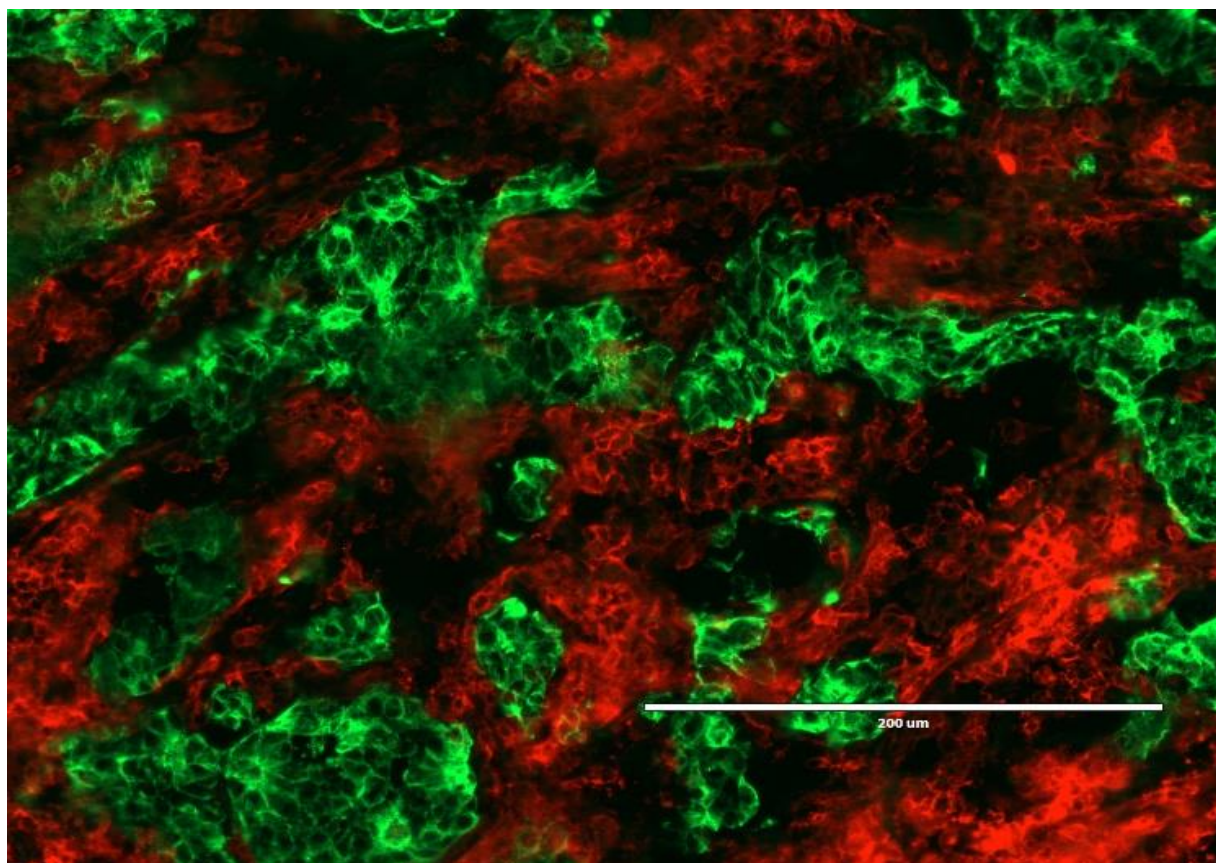
чаще экспрессируют молекулы адгезии, и в то же время являются менее чувствительными к лекарственной терапии, в отличие от низкодифференцированных.

Таким образом, на данном этапе работы по большинству признаков не выявлено значимых взаимосвязей между частотой экспрессии Pgp170, муцинового белка и клинико-морфологическими особенностями клеток рака молочной железы. Исключение составили корреляции этих антигенов с морфологическим типом опухоли. Высокая частота MUC-1 мономорфной экспрессии была более характерна для долькового рака. Pgp170 «-» опухоли чаще наблюдались при протоковом раке, при этом экспрессия Pgp170 коррелировала с экспрессией молекул адгезии CD 54.

### **3.2 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с клиническими и морфологическими показателями**

Первым этапом выполнена оценка выраженности общей лейкоцитарной инфильтрации на основании количества CD45+ лимфоцитов в опухолевых срезах (n = 146). Лимфоидная инфильтрация опухоли по группе в целом выявлена в 65,8% (n = 100) случаев, при этом в 35,5% (n = 54) образцов отмечена выраженная степень инфильтрации, а в 30,5% (n = 46) наблюдений – умеренная. Пример выраженной интратуморальной иммунной реакции (CD45+) представлен на рисунке 24.

T-клеточные интратуморальные реакции составили следующую картину (n = 101): CD3+ клетки инфильтрировали опухоль выражено в 33,7% (n = 34) случаев, тогда как 13,9% (n = 14) образцов демонстрировали умеренную степень инфильтрации. В остальных случаях (52,5%, (n = 53) в опухоли обнаруживались единичные CD3+клетки. Пропорция цитотоксических CD8+ клеток в опухоли оказалась незначительной, лишь в 21,4% (n = 15) и 5,7% (n = 4) наблюдений отмечено умеренное и выраженное их количество, соответственно (всего изучено: n = 70). В 71,4% наблюдений реакция была слабой. Немного более выраженной была CD4-интратуморальная реакция, что отмечено в 38,6% (n = 27) случаях (всего изучено: n = 70). CD20+ клетки либо отсутствовали, либо незначительно инфильтрировали опухоль (всего изучено: n = 100): 21,0 % - умеренная инфильтрация, 79,0% - слабая инфильтрация. В 40,8% (n = 49) образцов наблюдалась слабая и в 10,8% (n = 13) – умеренная плазмоцитарная (CD38+) инфильтрация. Таким образом, можно заключить, что в осуществлении противоопухолевого иммунного ответа ведущую роль играют T-клеточные реакции.



Экспрессия панэпителиального антигена KL-1 клетками рака молочной железы – зеленый цвет, экспрессия панлейкоцитарного антигена CD45 мононуклеарными клетками – красный цвет.

**Рисунок 24** – Инфильтрация опухоли CD45+ клетками, выраженная степень, увеличение x400

Анализ связи лимфоидной инфильтрации и клинико-морфологических параметров опухоли позволили выявить ряд достоверных закономерностей. При этом сразу отметим, что в отношении CD25 Т-клеточных интратуморальных реакций не отмечено связи ни с одним из параметров. Итак, в целом по мере нарастания стадии заболевания интенсивность общего уровня местных иммунных реакций по CD45 уменьшалась и, соответственно, увеличивалась их доля на ранних стадиях,  $p = 0,013$  (Таблица 30).

**Таблица 30** – Инфильтрация CD45+ клетками при раке молочной железы в зависимости от стадии

| Стадия |   | CD45- реакция |                      | Всего |
|--------|---|---------------|----------------------|-------|
|        |   | Нет/слабая    | Умеренная/выраженная |       |
| I      | n | 4             | 15                   | 19    |
|        | % | 5,4%          | 19,7%                | 12,7% |
| IIa    | n | 17            | 18                   | 35    |

|                              |   |        |        |        |
|------------------------------|---|--------|--------|--------|
|                              | % | 23,0%  | 23,7%  | 23,3%  |
| IIб                          | n | 32     | 21     | 53     |
|                              | % | 43,2%  | 27,6%  | 35,3%  |
| IIIа                         | n | 5      | 12     | 17     |
|                              | % | 6,8%   | 15,8%  | 11,3%  |
| IIIб                         | n | 10     | 8      | 18     |
|                              | % | 13,5%  | 10,5%  | 12,0%  |
| IIIс                         | n | 6      | 2      | 8      |
|                              | % | 8,1%   | 2,6%   | 5,3%   |
| Всего                        | n | 74     | 76     | 150    |
|                              | % | 100,0% | 100,0% | 100,0% |
| $p = 0,013, \chi^2 = 13,760$ |   |        |        |        |

Мы не наблюдали статистически значимой связи выраженности CD3+ инфильтрации со стадией. Однако при сравнении I, IIа и IIб стадий был установлен следующий факт. Уровень выраженных и умеренных Т-клеточных интратуморальных реакций при нарастании распространенности опухоли составил: при I – 31,6% и 26,3%, при IIб – 15,2% и 0,0% соответственно,  $p = 0,023$  (Таблица 31). При этом при увеличении стадии процент слабой реакции увеличился практически вдвое, составив 80,0% против 42,1%, соответственно, при IIб и I стадиях. Мы видим преобладание Т-клеточных интратуморальных реакций преимущественно при ранней стадии опухоли. Схожие результаты анализа получены при изучении CD4- клеточных реакций, но различия не достигли достоверности,  $p = 0,068$ . При оценке CD8- инфильтрации наблюдали уменьшение ее частоты при увеличении стадии с 30,0% при I стадии до 0% при IIб стадии,  $p = 0,031$  (Таблица 32).

**Таблица 31** – Инфильтрация CD3+клетками при раке молочной железы в зависимости от стадии

| Стадия                      |   | CD3- реакция |           |            | Всего  |
|-----------------------------|---|--------------|-----------|------------|--------|
|                             |   | слабая       | умеренная | выраженная |        |
| I                           | n | 8            | 5         | 6          | 19     |
|                             | % | 42,1%        | 26,3%     | 31,6%      | 100,0% |
| IIа                         | n | 16           | 5         | 12         | 33     |
|                             | % | 48,5%        | 15,2%     | 36,4%      | 100,0% |
| IIб                         | n | 16           | 0         | 4          | 20     |
|                             | % | 80,0%        | 0,0%      | 20,0%      | 100,0% |
| Всего                       | n | 40           | 40        | 10         | 22     |
|                             | % | 55,6%        | 55,6%     | 13,9%      | 30,6%  |
| $p = 0,023, \chi^2 = 9,095$ |   |              |           |            |        |

**Таблица 32** – Инфильтрация CD8+клетками при раке молочной железы в зависимости от стадии

| Стадия                      |   | CD8- реакция |                      |        |
|-----------------------------|---|--------------|----------------------|--------|
|                             |   | Нет/слабая   | Умеренная/выраженная | Всего  |
| I                           | n | 14           | 6                    | 20     |
|                             | % | 70,0%        | 30,0%                | 100,0% |
| IIa                         | n | 20           | 10                   | 30     |
|                             | % | 66,7%        | 33,3%                | 100,0% |
| IIб                         | n | 10           | 0                    | 10     |
|                             | % | 100,0%       | 0,0%                 | 100,0% |
| Всего                       | n | 44           | 16                   | 60     |
|                             | % | 73,3%        | 26,7%                | 100,0% |
| $p = 0,031, \chi^2 = 4,432$ |   |              |                      |        |

Оценка В-клеточных интрауморальных реакций позволила установить следующую закономерность. Частота умеренных и слабых реакций при нарастании распространенности опухоли составила: при I – 84,2% и 15,8%, при IIIб – 47,4% и 52,6%, соответственно,  $p = 0,017$  (Таблица 33). Преимущественно различия по уровню В-инфильтрации существовали между начальной и распространенной стадиями, тогда различий между I и II были несущественны. Схожие результаты получены в отношении CD38+ инфильтрации. Данные представлены в таблице 34.

**Таблица 33** – Инфильтрация CD20+клетками при раке молочной железы в зависимости от стадии

| Стадия |   | CD20- реакция |           | Всего   |
|--------|---|---------------|-----------|---------|
|        |   | Нет/слабая    | Умеренная |         |
| I      | n | 16            | 3         | 19      |
|        | % | 84,20%        | 15,80%    | 100,00% |
| IIa    | n | 29            | 3         | 32      |
|        | % | 90,60%        | 9,40%     | 100,00% |
| IIб    | n | 16            | 4         | 20      |
|        | % | 80,00%        | 20,00%    | 100,00% |
| IIIa   | n | 8             | 1         | 9       |
|        | % | 88,90%        | 11,10%    | 100,00% |
| IIIб   | n | 9             | 10        | 19      |
|        | % | 47,40%        | 52,60%    | 100,00% |
| IIIc   | n | 1             | 0         | 1       |
|        | % | 100,00%       | 0,00%     | 100,00% |

|                              |   |        |        |         |
|------------------------------|---|--------|--------|---------|
| Всего                        | n | 79     | 21     | 100     |
|                              | % | 79,00% | 21,00% | 100,00% |
| $p = 0,017, \chi^2 = 15,185$ |   |        |        |         |

**Таблица 34** – Инфильтрация CD38+клетками при раке молочной железы в зависимости от стадии

| Стадия                       |   | CD38- реакция |        |           | Всего  |
|------------------------------|---|---------------|--------|-----------|--------|
|                              |   | нет           | слабая | умеренная |        |
| I                            | n | 14            | 4      | 1         | 19     |
|                              | % | 73,7%         | 21,1%  | 5,3%      | 100,0% |
| IIa                          | n | 23            | 8      | 1         | 32     |
|                              | % | 71,9%         | 25,0%  | 3,1%      | 100,0% |
| IIб                          | n | 10            | 26     | 7         | 43     |
|                              | % | 23,3%         | 60,5%  | 16,3%     | 100,0% |
| IIIa                         | n | 6             | 6      | 3         | 15     |
|                              | % | 40,0%         | 40,0%  | 20,0%     | 100,0% |
| IIIб                         | n | 2             | 0      | 0         | 2      |
|                              | % | 100,0%        | 0,0%   | 0,0%      | 100,0% |
| IIIс                         | n | 3             | 4      | 1         | 8      |
|                              | % | 37,5%         | 50,0%  | 12,5%     | 100,0% |
| Всего                        | n | 58            | 48     | 13        | 119    |
|                              | % | 48,7%         | 40,3%  | 10,9%     | 100,0% |
| $p = 0,001, \chi^2 = 26,955$ |   |               |        |           |        |

Таким образом, по мере нарастания стадии интенсивность уровня интратуморальных иммунных реакций в первичной опухоли (CD45+, CD3+, CD8+) уменьшалась. Различия в уровне CD20- и CD38- клеточных реакций касались I и III стадий, которые были более выражены при последней.

Установлено, что размеры первичной опухоли (Т категория) были взаимосвязаны со степенью лимфоидной инфильтрации (CD45+),  $p = 0,033$ . С увеличением размеров первичной опухоли уровень лейкоцитарной инфильтрации снижался (Таблица 35).

CD4-, а также CD8 позитивные образцы наблюдались достоверно чаще при размерах опухоли, соответствующих Т1. CD4+ опухоли при Т1 составили 54,3% против 18,8% при Т2. Аналогично для CD8 позитивных образцов: 38,9% и 13,3%,  $p = 0,004$ . Данные представлены в таблице 36.

**Таблица 35 – CD45+ инфильтрация в зависимости от размера первичной опухоли (Т)**

| Т категория               |   | CD45 - реакция |                      | Всего   |
|---------------------------|---|----------------|----------------------|---------|
|                           |   | Нет/слабая     | Умеренная/выраженная |         |
| Т1                        | n | 9              | 21                   | 30      |
|                           | % | 30,00%         | 70,00%               | 100,00% |
| Т2                        | n | 55             | 38                   | 93      |
|                           | % | 59,10%         | 40,90%               | 100,00% |
| Т3                        | n | 2              | 3                    | 5       |
|                           | % | 40,00%         | 60,00%               | 100,00% |
| Т4                        | n | 11             | 7                    | 18      |
|                           | % | 61,10%         | 38,90%               | 100,00% |
| Всего                     | n | 77             | 69                   | 146     |
|                           | % | 52,70%         | 47,30%               | 100,00% |
| p=0,033, $\chi^2 = 8,584$ |   |                |                      |         |

**Таблица 36 – CD4+, CD8+ инфильтрация в зависимости от размера первичной опухоли (Т)**

| Т категория    |   | CD4, p = 0,031 |       |        |
|----------------|---|----------------|-------|--------|
|                |   | «-»            | «+»   | Всего  |
| Т1             | n | 16             | 19    | 35     |
|                | % | 45,7%          | 54,3% | 100,0% |
| Т2             | n | 26             | 6     | 32     |
|                | % | 81,3%          | 18,8% | 100,0% |
| Т3             | n | 2              | 0     | 2      |
|                | % | 100,0%         | 0,0%  | 100,0% |
| CD8, p = 0,004 |   |                |       |        |
| Т1             | n | 22             | 14    | 36     |
|                | % | 61,1%          | 38,9% | 100,0% |
| Т2             | n | 26             | 4     | 30     |
|                | % | 86,7%          | 13,3% | 100,0% |
| Т3             | n | 2              | 0     | 2      |
|                | % | 100,0%         | 0,0%  | 100,0% |

Взаимосвязь В-клеточных интрагуморальных реакций с величиной первичной опухоли представлена в таблице 37. Как видно из таблицы, при увеличении Т индекса умеренная инфильтрация опухоли В-клетками нарастала: 10,3 – 14,3% - 25,0% - 55,6%, p = 0,003. Достоверных различий в отношении связи CD38 с размером первичной опухоли нами не установлено.

**Таблица 37** – CD20+ инфильтрация в зависимости от размера первичной опухоли (Т)

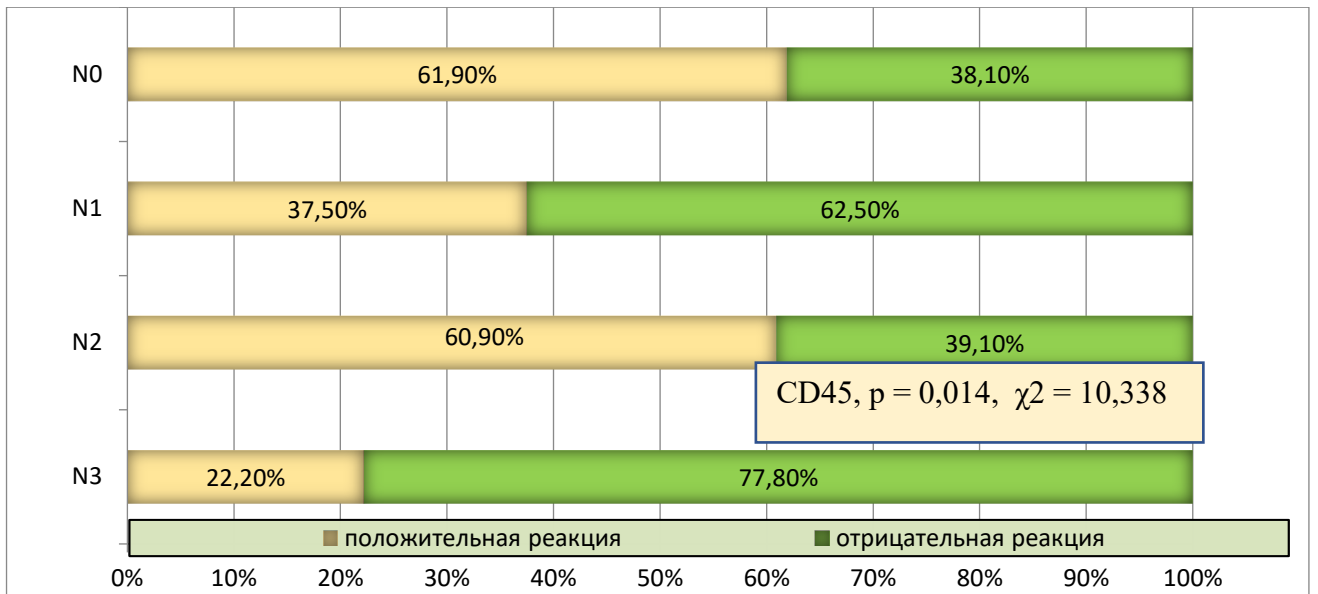
| Стадия                       |   | CD20 - реакция |           | Всего  |
|------------------------------|---|----------------|-----------|--------|
|                              |   | Нет/слабая     | Умеренная |        |
| T1                           | n | 26             | 3         | 29     |
|                              | % | 89,7%          | 10,3%     | 100,0% |
| T2                           | n | 42             | 7         | 49     |
|                              | % | 85,7%          | 14,3%     | 100,0% |
| T3                           | n | 3              | 1         | 4      |
|                              | % | 75,0%          | 25,0%     | 100,0% |
| T4                           | n | 8              | 10        | 18     |
|                              | % | 44,4%          | 55,6%     | 100,0% |
| Всего                        | n | 79             | 21        | 100    |
|                              | % | 79,0%          | 21,0%     | 100,0% |
| $p = 0,003, \chi^2 = 16,310$ |   |                |           |        |

При оценке частоты поражения лимфатических узлов выявлена их взаимосвязь с интратуморальной иммунной реакцией. Частота обнаружения метастазов в регионарные лимфоузлы увеличивалась со снижением выраженности местных интратуморальных реакций (Таблица 38). При укрупненном анализе связь с CD45+ инфильтрацией достоверная. Данные представлены на рисунке 25. Как видим, частота CD45+ инфильтрации оказалась ниже при наличии регионарного метастазирования по сравнению с его отсутствием, составив 61,9% (n = 26) при N0, 37,5% (n = 27) при N1, 22,2% (n = 2) при N3.

**Таблица 38** – CD45+ инфильтрация в зависимости от статуса N

| Статус N  |   | CD45+ инфильтрация |           |            | Всего   |
|-----------|---|--------------------|-----------|------------|---------|
|           |   | Слабая             | Умеренная | Выраженная |         |
| N 0       | n | 15                 | 15        | 14         | 44      |
|           | % | 34,10%             | 34,10%    | 31,80%     | 100,00% |
| N 1       | n | 28                 | 19        | 27         | 74      |
|           | % | 37,80%             | 25,70%    | 36,50%     | 100,00% |
| N 2       | n | 3                  | 9         | 11         | 23      |
|           | % | 13,00%             | 39,10%    | 47,80%     | 100,00% |
| N 3       | n | 6                  | 3         | 2          | 11      |
|           | % | 54,50%             | 27,30%    | 18,20%     | 100,00% |
| Всего     | n | 52                 | 46        | 54         | 152     |
|           | % | 34,20%             | 30,30%    | 35,50%     | 100,00% |
| $p > 0,5$ |   |                    |           |            |         |



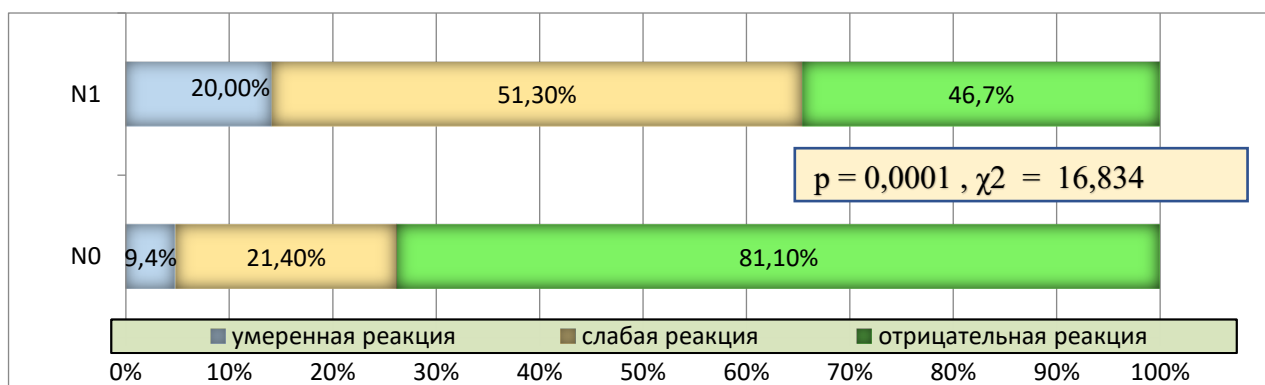


**Рисунок 25** – Взаимосвязь CD45+реакций со статусом N

Частота поражения лимфатических узлов достоверно была связана с уровнем CD38+ плазмочитарных интратуморальных реакций, что представлено в таблице 39. При увеличении стадии N частота слабых и умеренных реакций возрастала, тогда как при N0 статусе CD38+ клетки в большинстве случаев отсутствовали в опухоли: 21,4% при N0, 56,6% при N1, 42,2% при N2. При укрупненном анализе частота CD38+ инфильтрации при статусе N0 встречалась достоверно реже, напротив, при N+ возрастал уровень слабой и умеренной степени CD38+ инфильтрации (Рисунок 26).

**Таблица 39** – CD38+ инфильтрация в зависимости от индекса N

| Статус N |   | CD38+ инфильтрация           |        |           | Всего   |
|----------|---|------------------------------|--------|-----------|---------|
|          |   | Нет                          | Слабая | Умеренная |         |
| N 0      | n | 31                           | 9      | 2         | 42      |
|          | % | 73,80%                       | 21,40% | 4,80%     | 100,00% |
| N 1      | n | 16                           | 30     | 7         | 53      |
|          | % | 30,20%                       | 56,60% | 13,20%    | 100,00% |
| N 2      | n | 5                            | 6      | 3         | 14      |
|          | % | 35,70%                       | 42,90% | 21,40%    | 100,00% |
| N 3      | n | 6                            | 4      | 1         | 11      |
|          | % | 54,50%                       | 36,40% | 9,10%     | 100,00% |
| Всего    | n | 58                           | 49     | 13        | 120     |
|          | % | 48,30%                       | 40,80% | 10,80%    | 100,00% |
|          |   | p = 0,002, $\chi^2 = 20,155$ |        |           |         |



**Рисунок 26** – Взаимосвязь CD38+ реакций со статусом N

Итак, уровень местных интратуморальных иммунных реакций (CD45+, CD4+, CD8+) достоверно отрицательно коррелировал с величиной первичной опухоли. Частота метастазов в регионарные лимфоузлы увеличивалась со снижением CD45+ инфильтрации. Уровень CD38+ плазмочитарных реакций нарастал при увеличении индекса N.

Установлено, что при инфильтративно-протоковом раке молочной железы лимфоидная инфильтрация более выражена, чем при дольковом раке. Умеренный и выраженный уровень интратуморальных реакций отмечался достаточно часто при протоковом раке, составив 52,4%, тогда как при дольковом всего 24,0% (Таблица 40). При других формах рака общий уровень CD45+ инфильтрации встречался в 50% случаев). При сравнении протокового и долькового рака:  $p = 0,020$ ,  $\chi^2 = 6,531$ .

**Таблица 40** – CD45+, CD4+ инфильтрация в зависимости от гистологического вида рака молочной железы

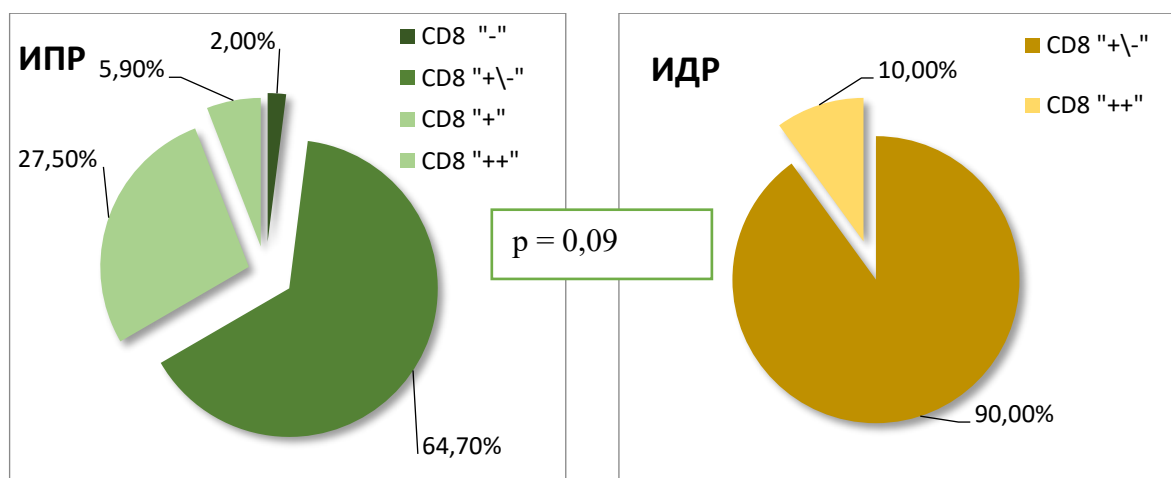
| Гистологический вид |   | CD45 -реакция, $p = 0,032$ , $\chi^2 = 6,579$ |        |         |
|---------------------|---|---|--------|---------|
|                     |   | «-»   | «+»    | Всего   |
| Другие              | n | 8   | 8      | 16      |
|                     | % | 50,00%  | 50,00% | 100,00% |
| ИДР                 | n | 19  | 6      | 25      |
|                     | % | 76,00%  | 24,00% | 100,00% |
| ИПР                 | n | 50  | 55     | 105     |
|                     | % | 47,60%  | 52,40% | 100,00% |
|                     |   | CD4 – реакция, $p = 0,076$                    |        |         |
| ИДР                 | n | 32  | 24     | 56      |
|                     | % | 57,10%  | 42,90% | 100,00% |
| ИПР                 | n | 7   | 1      | 8       |
|                     | % | 87,50%  | 12,50% | 100,00% |

ИПР – инфильтративно-протоковый рак молочной железы, ИДР – инфильтративно-дольковый рак молочной железы

Мы не обнаружили достоверных различий в уровне CD3+, CD4+, CD8+ интратуморальных реакций в зависимости от гистологического вида рака молочной железы. Однако считаем важным отметить следующие факты, при которых отмечена маргинальная значимость ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

Скопления CD3+ клеток в опухоли отмечены суммарно в 50,0% образцов при протоковом раке, тогда как при дольковом раке Т-клеточные реакции встречались практически в два раза реже, что составило 28,6% ( $p = 0,098$ ). Обратим внимание, что при дольковом раке Т-клеточные интратуморальные реакции в основном были слабо выражены, что составило 71,4%, умеренного типа реакции не наблюдалось вовсе.

Цитотоксические CD8+ клетки преобладали при протоковой карциноме в сравнении с дольковым раком. В то время CD4+ клеточные реакции чаще наблюдались при дольковом раке: умеренные и выраженные CD4+ реакции наблюдались суммарно в 42,9% (24/56) случаев долькового рака и в 12,5% (1/8) образцов протокового рака молочной железы, различия близки к достоверным,  $p = 0,076$ . Характер CD8- интратуморальных Т-клеточных реакций представлен на рисунке 27. Доля CD8+ инфильтрации опухоли различной степени выраженности при протоковой карциноме составляла суммарно больший процент, чем при дольковой карциноме,  $p = 0,09$ .



ИПР – инфильтративно-протоковый рак молочной железы, ИДР – инфильтративно-дольковый рак молочной железы

**Рисунок 27** – Инфильтрация опухоли CD8+ клетками при инфильтративно-протоковом и инфильтративно-дольковом раке молочной железы

Таким образом, уровень местных интратуморальных иммунных реакций по CD45+ оказался достоверно более выражен при протоковом раке молочной железы. Взаимосвязи гистологического типа с уровнем Т-, В- клеточных реакций не выявлено. Зависимости от

степени злокачественности опухоли ни по одному из анализируемых параметров также не наблюдалось.

На следующем этапе проанализирована лимфоидная инфильтрация опухоли при молекулярно-биологических подтипах рака молочной железы. Как мы упоминали выше, подразделение на подтипы проводилось на основании экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона. Интересные данные получены при анализе в зависимости от экспрессии рецепторов эстрогенов. Мы обнаружили достоверные различия в уровне CD45+, CD3+, CD20+, CD38+ интратуморальных реакций (Таблица 41). При нелюминальном подтипе выраженная реакция CD45+ наблюдалась чаще, чем при люминальном подтипе (48,5% против 25,3%,  $p = 0,010$ ). Аналогичные данные получены в отношении CD3+ Т-клеточных реакций,  $p = 0,026$ . Также при нелюминальном подтипе чаще чем при люминальном наблюдались В-клеточные интратуморальные реакции, что составило, соответственно, 41,2% и 10,6%.

**Таблица 41** – Уровень интратуморальных иммунных реакций при люминальном и нелюминальном подтипе рака молочной железы (по РЭ)

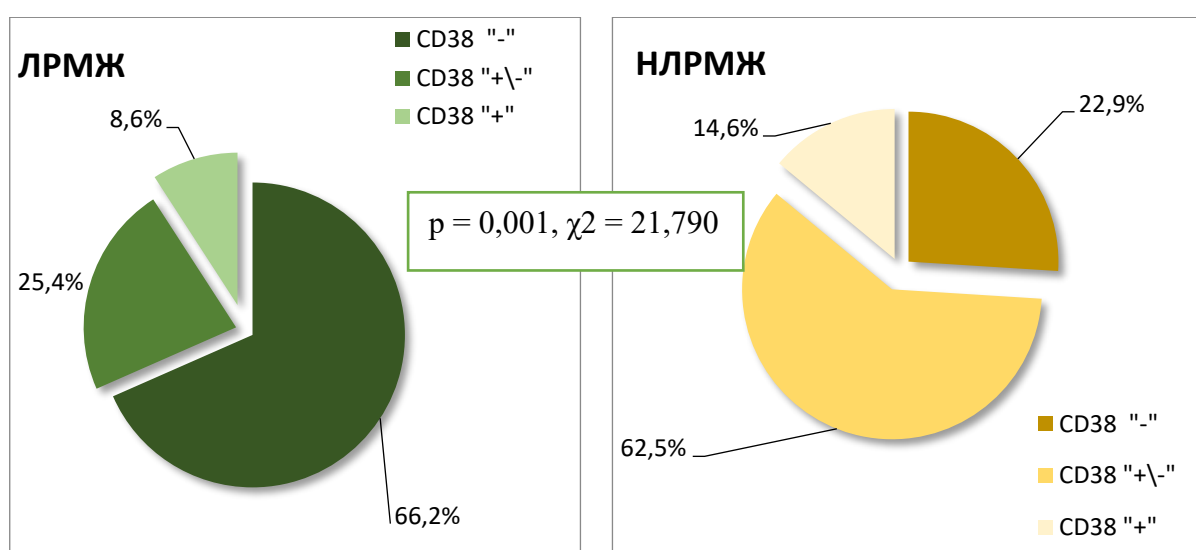
| CD45, $p = 0,010$ , $\chi^2 = 9,107$  |   |        |           |            |         |
|---------------------------------------|---|--------|-----------|------------|---------|
| Подтип рака молочной железы           |   | Слабая | Умеренная | Выраженная | Всего   |
| ЛРМЖ                                  | n | 34     | 28        | 21         | 83      |
|                                       | % | 41,00% | 33,70%    | 25,30%     | 100,00% |
| НЛРМЖ                                 | n | 17     | 18        | 33         | 68      |
| НЛРМЖ                                 | n | 15     | 2         | 17         | 34      |
|                                       | % | 44,10% | 5,90%     | 50,00%     | 100,00% |
| CD20, $p = 0,001$ , $\chi^2 = 12,641$ |   |        |           |            |         |
| ЛРМЖ                                  | n | 59     | 7         | -          | 66      |
|                                       | % | 89,40% | 10,60%    | -          | 100,00% |
| НЛРМЖ                                 | n | 20     | 14        | -          | 34      |
|                                       | % | 58,80% | 41,20%    | -          | 100,00% |

ЛРМЖ – люминальный подтип рака молочной железы, НЛРМЖ – нелюминальный подтип рака молочной железы

Изучая плазмочитарную инфильтрацию (CD38+) опухоли, мы установили, что ее характер существенно различался в зависимости от подтипа рака молочной железы (Рисунок 28). Рисунок хорошо иллюстрирует, что при нелюминальном подтипе рака молочной железы плазмочитарная инфильтрация была более значительной, что наблюдалось в виде мозаичного типа реакции в 62,5% (30/48) случаев, тогда как при люминальном подтипе рака только в 25,4% (18/71). Отсутствие CD38+ клеточной реакции при люминальном раке выявлено в три раза чаще

(66,2% против 22,9%). Признаки были достоверно взаимосвязаны,  $p = 0,000$ . Это дополнительно свидетельствует, о наличии корреляции рецептор-негативного статуса с инфильтрацией опухоли плазматическими клетками (CD38+). Эти данные новые и представляют значительный интерес с точки зрения преобладающего типа реакций противоопухолевого иммунного ответа.

По литературным данным, выраженная инфильтрация опухоли лимфоцитами наблюдается при трижды негативном подтипе рака молочной железы. Принимая во внимание указанные данные, следует полагать, что в нашей выборке нелюминального подтипа рака молочной железы, весьма вероятно, присутствовала значительная доля трижды негативного рака.



ЛРМЖ – люминальный подтип рака молочной железы, НЛРМЖ – нелюминальный подтип рака молочной железы

**Рисунок 28** – Инфильтрация опухоли CD38+ клетками при люминальном и нелюминальном подтипах рака молочной железы (по РЭ)

Разделение на биологические подтипы рака молочной железы на основании экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона позволило обнаружить достоверные взаимосвязи в уровнях CD38+ интратуморальных реакций (Таблица 42).

**Таблица 42** – Уровень интратуморальных иммунных реакций при люминальном и нелюминальном подтипе рака молочной железы (по РЭ, РП)

| Подтипы |   | CD38, $p = 0,003, \chi^2 = 11,174$ |           |            |         |
|---------|---|------------------------------------|-----------|------------|---------|
|         |   | слабая                             | умеренная | выраженная | Всего   |
| ЛРМЖ    | n | 47                                 | 27        | 6          | 80      |
|         | % | 58,80%                             | 33,80%    | 7,50%      | 100,00% |

|       |   |        |        |        |         |
|-------|---|--------|--------|--------|---------|
| ЛРМЖ  | n | 47     | 27     | 6      | 80      |
|       | % | 58,80% | 33,80% | 7,50%  | 100,00% |
| НЛРМЖ | n | 11     | 22     | 7      | 40      |
|       | % | 27,50% | 55,00% | 17,50% | 100,00% |

ЛРМЖ – люминальный подтип рака молочной железы, НЛРМЖ – нелюминальный подтип рака молочной железы

Как видно из таблицы, при нелюминальном подтипе выраженная и умеренная реакция CD38 наблюдалась чаще, чем при люминальном подтипе (17,5% против 7,5% и 55,0% против 33,8%,  $p = 0,003$ ).

У 70 больных мы располагали данными о молекулярных подтипах на основании оценки экспрессии Her2-neu, Ki67, рецепторов эстрогенов и прогестерона (Таблица 43). Связи интратуморальных иммунных реакций в пределах данных подтипов не обнаружено. Однако стоит отметить, что CD45- инфильтрация чаще наблюдалась при трижды негативном, а также при Erb2+ подтипе, в сравнении с люминальными подтипами,  $p = 0,104$ .

**Таблица 43** – Уровень CD45+ интратуморальных иммунных реакций при люминальном и нелюминальном подтипе рака молочной железы

| Подтип                 |   | CD45+ инфильтрация |           |            | Всего   |
|------------------------|---|--------------------|-----------|------------|---------|
|                        |   | Слабая             | Умеренная | Выраженная |         |
| ЛРМЖ А                 | n | 8                  | 8         | 3          | 19      |
|                        | % | 42,10%             | 42,10%    | 15,80%     | 100,00% |
| ЛРМЖ В<br>Her2/neu «-» | n | 14                 | 5         | 11         | 30      |
|                        | % | 46,70%             | 16,70%    | 36,70%     | 100,00% |
| ЛРМЖ В<br>Her2/neu «+» | n | 4                  | 3         | 0          | 7       |
|                        | % | 57,10%             | 42,90%    | 0,00%      | 100,00% |
| Erb2+                  | n | 1                  | 1         | 2          | 4       |
|                        | % | 25,00%             | 25,00%    | 50,00%     | 100,00% |
| ТНРМЖ                  | n | 2                  | 3         | 5          | 10      |
|                        | % | 20,00%             | 30,00%    | 50,00%     | 100,00% |
| $p = 0,104$ .          |   |                    |           |            |         |

ЛРМЖ – люминальный подтип рака молочной железы, ТНРМЖ – трижды негативный подтип рака молочной железы

Таким образом, суммируя результаты по данному разделу работы, мы можем констатировать, что интенсивность общего уровня местных иммунных реакций связана с молекулярным подтипом рака молочной железы. Достоверные различия получены при разделении на подтипы по РЭ, равно как и по РП/РЭ. Нелюминальный подтип рак молочной

железы характеризовался более выраженным уровнем CD45+, Т-клеточных CD3+реакций, кроме того, более высокой частотой умеренных В-клеточных CD20+, а также плазмоцитарных CD38+ реакций в сравнении в люминальном подтипом рака молочной железы.

Дополнительно мы выполнили корреляционный анализ по Спирмену, результаты которого представлены в таблице 44. Как видим, Т-клеточные реакции отрицательно коррелировали со стадией, размером первичной опухоли. Достоверные отрицательные корреляции слабой силы отмечены для CD3+, CD4+ интратуморальной инфильтрации с размером опухоли. Значимость связи со стадией была маргинальной. Также со стадией коррелировала общелейкоцитарная инфильтрация.

Положительные умеренные корреляции мы наблюдали для В-клеточных интратуморальных реакций, которые были высокозначимы. Это касалось связи распространенности опухоли и ее размера с инфильтрацией CD20+ клетками. Аналогично положительная корреляция выявлена для плазматических CD38+ реакций со стадией и размерами первичной опухоли, высокозначимая, средней силы. Также CD38+ реакция была связана со статусом N: корреляция умеренная высокой значимости.

**Таблица 44** – Корреляционные связи интратуморальных иммунных реакций с клинико-морфологическими характеристиками опухоли

| Показатели |   | CD45  | CD3    | CD8   | CD4    | CD20   | CD38   |
|------------|---|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| Стадия     | R | ,060  | -,217* | -,069 | -,200* | ,261*  | ,316** |
|            | p | ,464  | ,071   | ,569  | ,096   | ,009   | ,001   |
|            | n | 151   | 70     | 70    | 70     | 100    | 119    |
| Т          | R | ,165* | -,280* | -,156 | -,304* | ,378** | ,210*  |
|            | p | ,042  | ,019   | ,196  | ,011   | ,000   | ,021   |
|            | n | 152   | 70     | 70    | 70     | 100    | 120    |
| N          | R | ,028  | -,059  | ,092  | -,011  | ,140   | ,363** |
|            | p | ,735  | ,628   | ,451  | ,928   | ,164   | ,000   |
|            | n | 152   | 70     | 70    | 70     | 100    | 120    |
| Гист.тип   | R | -,168 | -,194  | -,094 | -,206  | -,001  | -,029  |
|            | p | ,050  | ,128   | ,459  | ,103   | ,994   | ,771   |
|            | n | 136   | 63     | 64    | 64     | 93     | 106    |
| Мол.тип    | R | ,235* | ,142   | ,129  | ,133   | ,356** | ,392** |
|            | p | ,004  | ,157   | ,288  | ,272   | ,001   | ,000   |
|            | n | 151   | 101    | 70    | 70     | 100    | 119    |

R – коэффициент корреляции, p – уровень значимости, n – количество наблюдений, \* -  $p \leq 0,05$ , или  $p < 0,1$ , \*\* -  $p \leq 0,01$

Также мы видим слабую связь между общелейкоцитарной инфильтрацией и гистотипом опухоли, но низкой значимости. В отношении молекулярного подтипа (по РЭ) высокозначимая

корреляция установлена с В-клеточными и плазматическими CD38+ интратуморальными реакциями (Таблица 45).

Также следует отметить, что интратуморальные популяции коррелировали между собой. В частности, важной корреляцией являлась связь В-клеточных и плазматических реакций с Т-клеточными, и особенно с CD8- инфильтрацией, связь с которой CD20+ клеток была высокой значимости и средней силы.

**Таблица 45 – Корреляционные связи интратуморальных иммунных реакций**

| Показатели |   | CD45  | CD3    | CD20   | CD8    |
|------------|---|-------|--------|--------|--------|
| CD38       | R | ,230* | ,483** | ,459** | ,459** |
|            | p | ,012  | ,000   | ,000   | ,000   |
|            | n | 118   | 69     | 69     | 69     |
| CD20       | R | ,236* | ,373** | 1,000  | ,270*  |
|            | p | ,019  | ,002   | .      | ,025   |
|            | n | 99    | 69     | 100    | 69     |

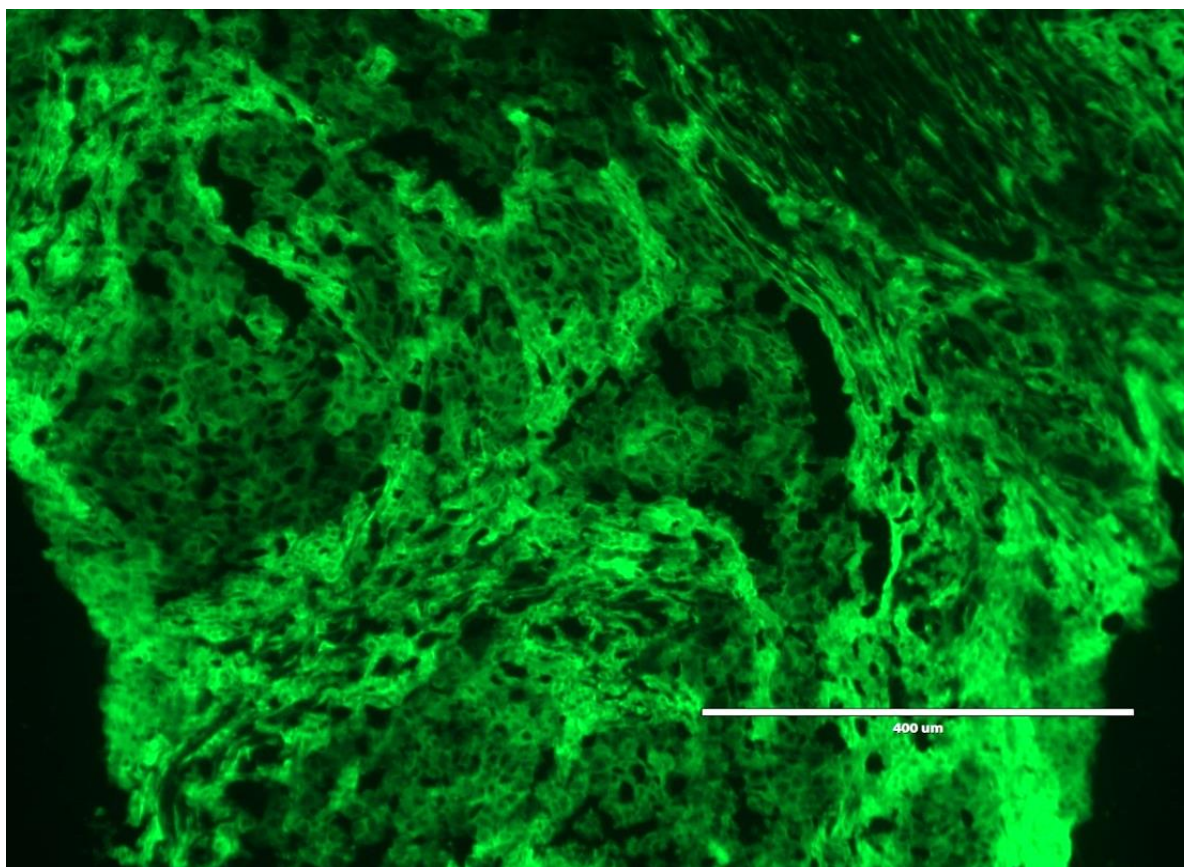
R – коэффициент корреляции, p – уровень значимости, n – количество наблюдений, \* -  $p \leq 0,05$ , или  $p < 0,1$ , \*\* -  $p \leq 0,01$

Суммируя, можно отметить, что достоверные корреляции интратуморальных иммунных реакций с клиническими и морфологическими показателями в основном касались стадии, размера первичной опухоли, статуса регионарных лимфатических узлов, подтипа опухоли.

### **3.3 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипическим портретом рака молочной железы**

Как было указано выше экспрессия опухолевыми клетками рака молочной железы на своей поверхности спектра антигенов (молекулы главного комплекса гистосовместимости HLA-I и II класса, трансферриновые рецепторы, молекулы апоптоза, молекулы адгезии, муциновые белки и Р-гликопротеины) варьировала в диапазоне разной степени выраженности, а в ряде случаев эти антигены отсутствовали. Пример экспрессии опухолевыми клетками молекул HLA представлен на рисунке 29. Интратуморальные иммунные реакции были представлены общелейкоцитарной, Т-, В- клеточной инфильтрацией, а также плазмоцитарной. Рассмотрим выраженность местных иммунных реакций в зависимости от иммунофенотипа клеток рака молочной железы.





**Рисунок 29** – Пример экспрессии опухолевыми клетками молекул HLA – зеленый цвет (увеличение  $\times 400$ )

Первым этапом мы оценили взаимосвязи местных иммунных реакций с экспрессией опухолевыми клетками молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I и II класса. Установлена ассоциация экспрессии молекул HLA-I с выраженностью общелейкоцитарной инфильтрации. При сравнении групп с HLA-I-мономорфным, мозаичным и негативным фенотипом можно отметить, что частота общелейкоцитарной инфильтрации убывала по мере утраты опухолью экспрессии молекул HLA-I: 46,6% (27/58) – 39,1% (9/23) – 26,1% (18/69). Выраженный характер инфильтрации CD45+ клетками отмечен в 50,0% антиген-позитивных опухолей с мономорфной экспрессией молекул HLA-I, умеренный тип инфильтрации наблюдался в 43,2% образцов, а слабый тип инфильтрации CD45+ отмечен в 23,1% случаев (Таблица 46). Как мы можем видеть, в HLA-I негативных опухолях выраженная степень инфильтрации имела место в меньшем количестве наблюдений и составила 33,3%. Признаки достоверно взаимосвязаны,  $p = 0,033$ . При укрупненном анализе (разделение на HLA-I позитивные и негативные опухоли) обнаружено, что при уменьшении инфильтрации HLA-I позитивные образцы встречались почти в два раза реже (66,7% – 56,8% – 38,5%,  $p = 0,012$ ).

Плазмоцитарная инфильтрация (CD38+) опухоли также была достоверно взаимосвязана с экспрессией антигенов главного комплекса гистосовместимости I класса. При уменьшении

уровня выраженности CD38+ интрамуральных реакций процент HLA-I позитивных опухолей с мономорфной экспрессией снижался (76,9% – 22,4% – 31,6%). При слабой CD38+ реакции опухоли мозаично экспрессировали HLA-I класса в 21,1% случаев против 7,7% при выраженной, а также все чаще наблюдались опухоли с отсутствием экспрессии молекул HLA-I класса – 47,4% против 15,4%.

**Таблица 46 – Взаимосвязь CD45-, CD38- инфильтрации с экспрессией HLA-I**

| Маркер/Тип реакции                 |   | Иммунофенотип |              |            | Итого   |
|------------------------------------|---|---------------|--------------|------------|---------|
|                                    |   | HLA- I «-»    | HLA- I «+/-» | HLA- I «+» |         |
| CD45, p = 0,033, $\chi^2 = 10,128$ |   |               |              |            |         |
| Слабая                             | n | 32            | 8            | 12         | 52      |
|                                    | % | 61,50%        | 15,40%       | 23,10%     | 100,00% |
| умеренная                          | n | 19            | 6            | 19         | 44      |
|                                    | % | 43,20%        | 13,60%       | 43,20%     | 100,00% |
| выраженная                         | n | 18            | 9            | 27         | 54      |
|                                    | % | 33,30%        | 16,70%       | 50,00%     | 100,00% |
| CD38, p = 0,003, $\chi^2 = 16,575$ |   |               |              |            |         |
| Слабая                             | n | 27            | 12           | 18         | 57      |
|                                    | % | 47,40%        | 21,10%       | 31,60%     | 100,00% |
| умеренная                          | n | 32            | 6            | 11         | 49      |
|                                    | % | 65,30%        | 12,20%       | 22,40%     | 100,00% |
| выраженная                         | n | 2             | 1            | 10         | 13      |
|                                    | % | 15,40%        | 7,70%        | 76,90%     | 100,00% |

При сравнении групп с HLA-DR-мономорфным, мозаичным и негативным фенотипом оказалось, что частота CD45- инфильтрации убывала по мере утраты опухолью молекул HLA-DR: 73,3 (11/15) – 20,8% (5/24) – 33,3% (37/111). Выраженная CD45+ инфильтрация отмечена в 20,8% антиген-позитивных опухолей с мономорфной экспрессией, тогда как при слабой реакции мономорфная экспрессия HLA-DR составила 3,9% (Таблица 47). Вместе с тем при всех видах реакции процент HLA-DR негативных опухолей был довольно высок. В целом, при сравнении CD45 негативных и позитивных опухолей суммарный процент мономорфной и мозаичной экспрессии HLA-DR был выше при наличии инфильтрации CD45: 17,6% и 14,7% против 3,9% и 17,1% (p = 0,023).

**Таблица 47 –** Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с экспрессией HLA-DR

| Маркер/Тип реакции                | Имунофенотип |               |            | Итого  |         |
|-----------------------------------|--------------|---------------|------------|--------|---------|
|                                   | HLA- DR «-»  | HLA- DR «+/-» | HLA-DR «+» |        |         |
| CD45, p= 0,018, $\chi^2 = 12,197$ |              |               |            |        |         |
| Слабая                            | n            | 38            | 11         | 2      | 51      |
|                                   | %            | 74,50%        | 21,60%     | 3,90%  | 100,00% |
| умеренная                         | n            | 36            | 8          | 2      | 46      |
|                                   | %            | 78,30%        | 17,40%     | 4,30%  | 100,00% |
| выраженная                        | n            | 37            | 5          | 11     | 53      |
|                                   | %            | 69,80%        | 9,40%      | 20,80% | 100,00% |
| CD38, p= 0,007, $\chi^2 = 13,429$ |              |               |            |        |         |
| Слабая                            | n            | 36            | 18         | 3      | 57      |
|                                   | %            | 63,20%        | 31,60%     | 5,30%  | 100,00% |
| умеренная                         | n            | 40            | 3          | 6      | 49      |
|                                   | %            | 81,60%        | 6,10%      | 12,20% | 100,00% |
| выраженная                        | n            | 10            | 1          | 2      | 13      |
|                                   | %            | 76,90%        | 7,70%      | 15,40% | 100,00% |
| CD3, p= 0,063, $\chi^2 = 8,394$   |              |               |            |        |         |
| Слабая                            | n            | 36            | 13         | 2      | 51      |
|                                   | %            | 70,60%        | 25,50%     | 3,90%  | 100,00% |
| умеренная                         | n            | 9             | 2          | 3      | 14      |
|                                   | %            | 64,30%        | 14,30%     | 21,40% | 100,00% |
| выраженная                        | n            | 25            | 3          | 6      | 34      |
|                                   | %            | 73,50%        | 8,80%      | 17,60% | 100,00% |
| CD8, p= 0,008, $\chi^2 = 21,525$  |              |               |            |        |         |
| Слабая                            | n            | 33            | 14         | 2      | 49      |
|                                   | %            | 67,30%        | 28,60%     | 4,10%  | 100,00% |
| умеренная                         | n            | 11            | 2          | 2      | 15      |
|                                   | %            | 73,30%        | 13,30%     | 13,30% | 100,00% |
| выраженная                        | n            | 1             | 0          | 3      | 4       |
|                                   | %            | 25,00%        | 0,00%      | 75,00% | 100,00% |
| CD4, p= 0,044, $\chi^2 = 5,990$   |              |               |            |        |         |
| Отрицательная                     | n            | 26            | 13         | 2      | 41      |
|                                   | %            | 63,40%        | 31,70%     | 4,90%  | 100,00% |
| Положительная                     | n            | 19            | 3          | 5      | 27      |
|                                   | %            | 70,40%        | 11,10%     | 18,50% | 100,00% |

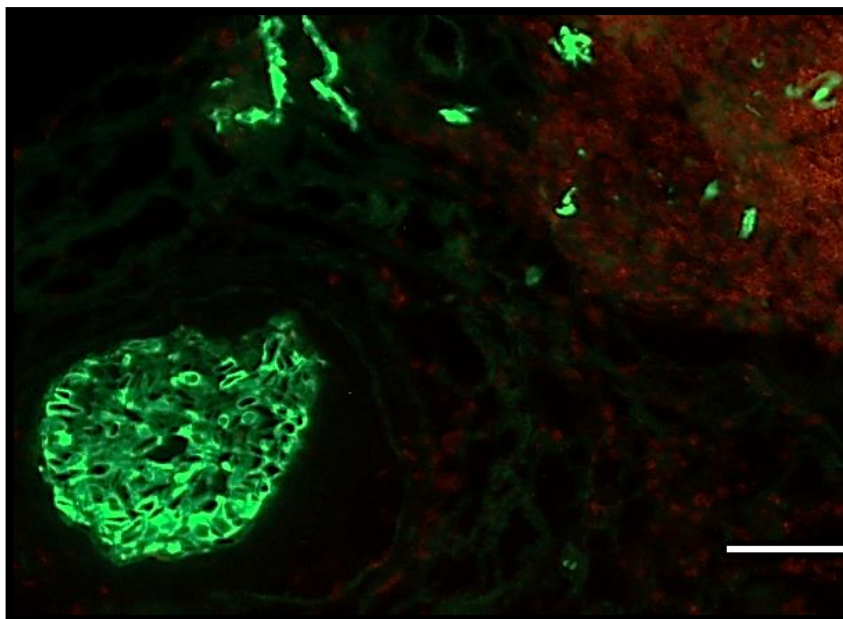
Экспрессия антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса высокодостоверно положительно коррелировала с увеличением напряженности местного иммунного ответа со стороны CD8+ клеток (p=0,008). Частота выраженной инфильтрации CD8+ лимфоцитами уменьшалась пропорционально отсутствию экспрессии молекул HLA-II класса:

75,0% при мономорфном HLA-II фенотипе; 25,0% при HLA-II отрицательном фенотипе. Напротив, слабая реакция преобладала в HLA-II негативных опухолях (67,3%) по сравнению с мономорфной (4,1%) и мозаичной (28,6%).

Выраженность инфильтрации опухоли CD4+ Т-клетками не была связана с экспрессией антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса, однако при сравнении двух групп опухолей CD4- негативной и CD4 позитивной мы обратили внимание, что процент мономорфной экспрессии молекул HLA-II выше среди CD4- позитивных опухолей: 18,5% против 4,9%,  $p = 0,044$ .

При оценке в целом Т-клеточной интратуморальной реакции мы не обнаружили достоверной ассоциации и только, сопоставив опухоли со слабой и умеренной/выраженной реакцией, мы выявили различия. При слабой интратуморальной Т-клеточной реакции доля мозаично- и мономорфно экспрессирующих HLA-II опухолей составила 32,5% и 5,0% против 10,7 и 17,9% , соответственно,  $p = 0,039$ .

Характер взаимосвязи CD38+ клеточных интратуморальных реакций с экспрессией антигенов HLA-II класса был схожим с указанным выше при экспрессии HLA-I класса. При уменьшении уровня CD38- интратуморальных реакций процент HLA-II – позитивных опухолей с мономорфной экспрессией снижался (75,0% - 13,3% - 4,1%). Мы видим, что начинали преобладать опухоли с мозаичным типом экспрессии при слабой CD38- реакции: 28,6% случаев против 0% при выраженной. Признаки высокодостоверно связаны,  $p = 0,008$ . Пример CD38+ реакции представлен на рисунке 30.



**Рисунок 30** – Инфильтрация опухоли CD38+ клетками – красный цвет (увеличение x400)

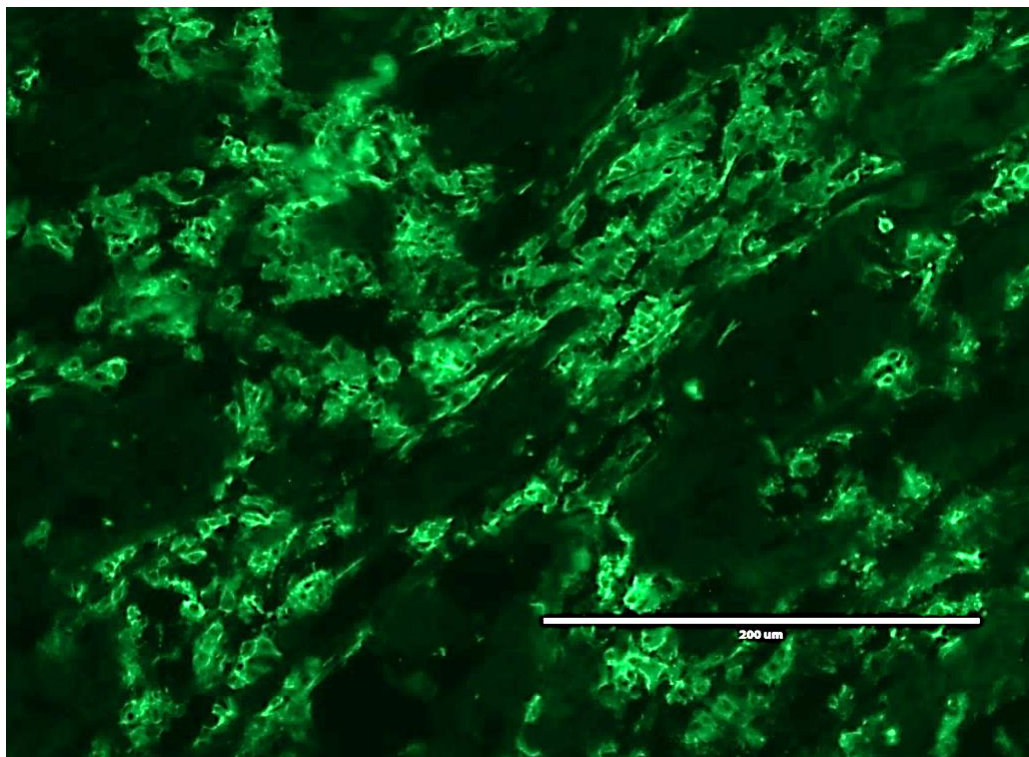
Резюмируя, можно заключить, что выраженность интратуморальных иммунных реакций взаимосвязана с HLA- иммунофенотипом. А именно, наблюдалось снижение уровня инфильтрации при утрате молекул HLA-I и II класса. При выраженной и слабой инфильтрации фенотипы с мозаичной реакцией встречались чаще, чем с мономорфной. Ассоциация молекул HLA- II класса отмечена с Т-клеточной реакцией, в частности с CD8- инфильтрацией, выраженная степень которой при мономорфной экспрессии молекул HLA- II класса преобладала. Выраженная инфильтрация CD4+ клетками встречалась в HLA-I-положительной группе в 4 раза чаще. Увеличение плазмочитарной инфильтрации аналогично наблюдали в HLA-II позитивных опухолях. Не отмечено связи с B (CD20)- клеточными реакциями.

Оценка степени выраженности интратуморальных иммунных реакций в зависимости от статуса экспрессии опухолевыми клетками трансферриновых рецепторов (негативный, мозаичный, мономорфный) не выявила достоверных закономерностей. Однако при объединении групп в позитивные и негативные по экспрессии TfR1 выявлены следующие факты (Таблица 48). TfR1- позитивные опухоли демонстрировали более выраженные CD3-реакции: доля умеренных составила 6,9%, выраженных 37,5%, тогда как при TfR1-негативных - несколько чаще встречались умеренные и слабые (30,8% и 42,3%). Признаки достоверно связаны,  $p = 0,016$ . Вместе с тем в ходе данного анализа значимых связей с другими субпопуляциями Т- клеток не обнаружено, наблюдалась лишь положительная корреляция Спирмена с CD8+ R = -0,226,  $p = 0,063$ ,  $n = 68$ ). Отметим, что при TfR1- позитивном фенотипе, наблюдалась плазмочитарная инфильтрация выраженной степени (14,8%), которая была выявлена только в одном случае при TfR1- негативном фенотипе, но различия недостоверны,  $p = 0,089$ . Пример CD71+ реакций представлен на рисунке 31.

**Таблица 48** – Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с экспрессией TfR1

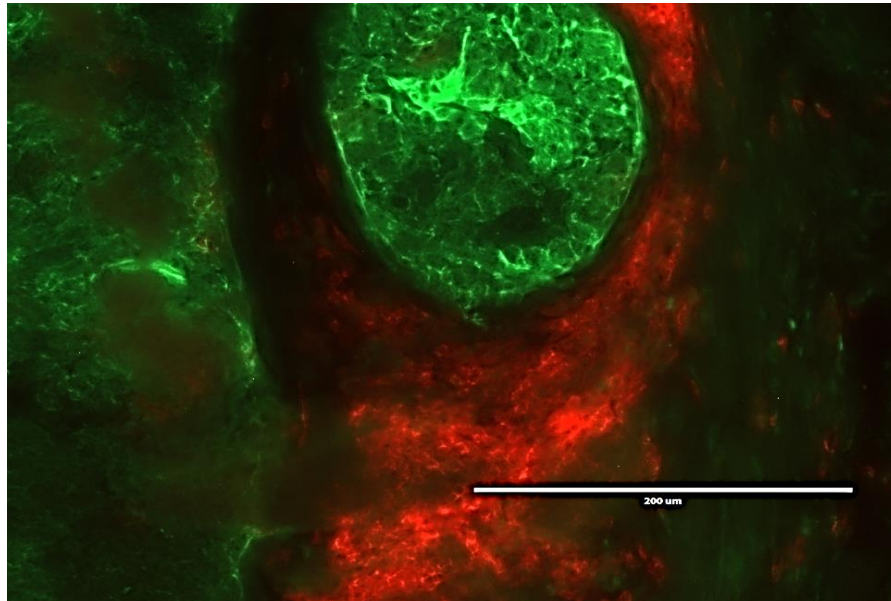
| Фенотип TfR1 |   | CD3, $p = 0,016$ , $\chi^2 = 9,934$  |           |            | Всего  |
|--------------|---|--------------------------------------|-----------|------------|--------|
|              |   | Слабая                               | Умеренная | Выраженная |        |
| Негативный   | n | 11                                   | 8         | 7          | 26     |
|              | % | 42,3%                                | 30,8%     | 26,9%      | 100,0% |
| Позитивный   | n | 40                                   | 5         | 27         | 72     |
|              | % | 55,6%                                | 6,9%      | 37,5%      | 100,0% |
| Всего        | n | 51                                   | 13        | 34         | 98     |
|              | % | 52,0%                                | 13,3%     | 34,7%      | 100,0% |
| Фенотип CD54 |   | CD45, $p = 0,009$ , $\chi^2 = 9,869$ |           |            |        |
|              |   | Слабая                               | Умеренная | Выраженная |        |
| Негативный   | n | 17                                   | 10        | 16         | 43     |
|              | % | 39,5%                                | 23,3%     | 37,2%      | 100,0% |

|              |   |                                      |                      |       |        |
|--------------|---|--------------------------------------|----------------------|-------|--------|
| Мозаичный    | n | 0                                    | 8                    | 7     | 15     |
|              | % | 0,0%                                 | 53,3%                | 46,7% | 100,0% |
| Мономорфный  | n | 6                                    | 6                    | 10    | 22     |
|              | % | 27,3%                                | 27,3%                | 45,5% | 100,0% |
| Фенотип CD29 |   | CD45, $p = 0,030$ , $\chi^2 = 5,931$ |                      |       |        |
|              |   | Слабая                               | Умеренная/выраженная |       |        |
| Негативный   | n | 3                                    | 0                    |       | 3      |
|              | % | 100,0%                               | 0,0%                 |       | 100,0% |
| Мозаичный    | n | 4                                    | 8                    |       | 12     |
|              | % | 33,3%                                | 66,7%                |       | 100,0% |
| Мономорфный  | n | 11                                   | 5                    |       | 16     |
|              | % | 68,8%                                | 31,3%                |       | 100,0% |
| Фенотип CD29 |   | CD3, $p = 0,002$ , $\chi^2 = 10,562$ |                      |       |        |
|              |   | Слабая                               | Выраженная           |       |        |
| Негативный   | n | 3                                    | 0                    |       | 3      |
|              | % | 100,0%                               | 0,0%                 |       | 100,0% |
| Мозаичный    | n | 2                                    | 10                   |       | 12     |
|              | % | 16,7%                                | 83,3%                |       | 100,0% |
| Мономорфный  | n | 11                                   | 5                    |       | 16     |
|              | % | 68,8%                                | 31,3%                |       | 100,0% |



**Рисунок 31** – Экспрессия опухолевыми клетками молекул TfR1 – зеленый цвет (увеличение  $\times 400$ )

Пример CD3+ реакций представлен на рисунке 32.



**Рисунок 32** – Инфильтрация опухоли CD3<sup>+</sup> клетками – красный цвет (увеличение x400)

Дальнейший анализ иммунофенотипа клеток рака молочной железы выявил связи экспрессии молекул адгезии CD54 с выраженностью общелейкоцитарной реакции. При мономорфном типе экспрессии CD54 доля опухолей с выраженной и умеренной CD45<sup>+</sup> инфильтрацией отмечена несколько чаще и составила 27,3 и 45,5% по сравнению с опухолями, на которых отсутствовала экспрессия молекул адгезии (23,3% и 37,2%),  $p = 0,009$ ,  $n = 80$ .

Аналогичным образом наблюдали связь фенотипа CD29 с общелейкоцитарной реакцией. При отсутствии экспрессии молекул интегринов CD29 на клетках рака молочной железы CD45<sup>+</sup> инфильтрации практически не наблюдалось. При мономорфном и мозаичном фенотипе частота CD45 реакций (умеренных/выраженных) составила, соответственно, 31,3% и 67,1%. CD3-клеточная инфильтрация была аналогична и при мозаичной экспрессии преобладал выраженный тип реакций. В 31 случае был проанализирован фенотип в зависимости от CD25 инфильтрации. Преобладание CD25- реакций отмечено при мозаичном типе CD29 экспрессии, что составило 58,3%, и 25,0% при мономорфном,  $p = 0,049$ .

Взаимосвязи с другими иммунофенотипическими маркерами рака молочной железы, молекулами апоптоза CD95, муциновым белком MUC1, Р-гликопротеином (Pgp170) нами не выявлено.

Необходимо отметить, что при изучении корреляционных связей между интратуморальными иммунными реакциями в опухоли выявлены следующие наблюдения (Таблица 49). Имелась положительная корреляция CD20<sup>+</sup> клеток уровнем Т-клеточных реакций ( $R = 0,285$ ,  $p = 0,004$ ,  $n = 100$ ), с частности с содержанием CD4<sup>+</sup> лимфоцитов ( $R = 0,401$ ,  $p = 0,001$ ,  $n = 69$ ), а также с уровнем CD8<sup>+</sup> клеток ( $R = 0,304$ ,  $p = 0,011$ ,  $n = 69$ ).

**Таблица 49** – Корреляционные взаимосвязи лимфоцитарных популяций опухоли

| Показатель |   | CD45   | CD8    | CD3    | CD4_   | CD20   | CD38   |
|------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CD45       | R | 1      | ,608** | ,741** | ,777** | ,411** | ,388** |
|            | p | .      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
|            | n | 151    | 69     | 70     | 69     | 100    | 119    |
| CD3        | R | ,741** | ,740** | ,899** | ,924** | ,373** | ,483** |
|            | p | 0      | 0      | 0      | 0      | 0,002  | 0      |
|            | n | 70     | 69     | 70     | 69     | 69     | 69     |
| CD8        | R | ,608** | 1      | ,740** | ,675** | ,304*  | ,451** |
|            | p | 0      | .      | 0      | 0      | 0,011  | 0      |
|            | n | 69     | 70     | 69     | 70     | 69     | 69     |
| CD4        | R | ,777** | ,675** | ,924** | 1      | ,401** | ,544** |
|            | p | 0      | 0      | 0      | .      | 0,001  | 0      |
|            | n | 69     | 70     | 69     | 70     | 69     | 69     |
| CD20       | R | ,411** | ,304*  | ,373** | ,401** | 1      | ,459** |
|            | p | 0      | 0,011  | 0,002  | 0,001  | .      | 0      |
|            | n | 100    | 69     | 69     | 69     | 100    | 69     |

R – коэффициент корреляции, p – уровень значимости, n – количество наблюдений, \*-  $p \leq 0,05$ , или  $p < 0,1$ , \*\* -  $p \leq 0,01$

Таким образом, Tfr1- позитивные опухоли более характеризовались выраженным T-клеточным типом реакции, а также наблюдалась плазмочитарная инфильтрация выраженной степени. Фенотип CD29<sup>++/+</sup>-, CD54<sup>++</sup> имели связь с общелейкоцитарной реакцией, которая встречалась чаще при данных фенотипах. Кроме того, отмечены взаимосвязи между интратуморальными иммунными реакциями в опухоли: прямая корреляция CD20<sup>+</sup>инфильтрации с уровнями CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T-клеточных реакций.

### **3.4 Иммунологические факторы прогноза на основе иммунофенотипа первичной опухоли и интратуморальных иммунных реакций при раке молочной железы**

Как было указано выше, экспрессия опухолевыми клетками на своей поверхности спектра антигенов (молекулы главного комплекса гистосовместимости HLA-I и II класса, трансферриновые рецепторы, молекулы апоптоза, молекулы адгезии, муциновые белки и Р-гликопротеины) варьировала в диапазоне разной степени выраженности, а в ряде случаев эти антигены отсутствовали. Интратуморальные иммунные реакции были представлены общелейкоцитарной, T-, B-клеточной инфильтрацией, а также плазмочитарной.

Одной из задач данного исследования является оценка прогностической роли иммунофенотипа опухоли и интратуморальных иммунных реакций. Рассмотрим клиническую



значимость выраженности местных иммунных реакций и иммунофенотипа клеток рака молочной железы.

В целом, изученный иммунофенотип клеток рака молочной железы характеризуется целым рядом прогностически неблагоприятных признаков, низкий уровень экспрессии молекул HLA I и II классов, молекулы апоптоза CD 95, довольно высоким уровнем экспрессии молекул CD54 и CD71, а также невыраженным типом интратуморальных иммунных реакций. Корреляции между экспрессией молекул апоптоза, трансферриновых рецепторов, общелейкоцитарной инфильтрацией и молекулами адгезии CD54, вероятно свидетельствует о выраженном злокачественном потенциале клеток опухоли.

### 3.4.1 Взаимосвязь иммунофенотипа клеток рака молочной железы с эффективностью адьювантной химиотерапии

В ходе проведенного анализа выявлено, что имеется некоторая связь между экспрессией молекулы Pgp170 и риском прогрессирования рака молочной железы T2N1-3M0. В подгруппе Pgp-положительных больных прогрессирование заболевания отмечено почти вдвое чаще по сравнению с негативной группой. Так, из всей группы больных с положительной экспрессией Pgp170 прогрессирование рака молочной железы отмечено у 37% (7/19), в то время как в Pgp170 негативной группе прогрессирование наблюдалось только в 22% (7/32) случаев,  $p = 0,0026$  (Таблица 50). Отметим, что прогрессирование наблюдалось после окончания лечения по схеме CAF в первые 45 месяцев.

**Таблица 50** – Взаимосвязь частоты прогрессирования рака молочной железы с Pgp170 фенотипом опухоли

| Статус           | Pgp170 фенотип              |            | Итого     |
|------------------|-----------------------------|------------|-----------|
|                  | Негативный                  | Позитивный |           |
| Ремиссия         | 78 % (25)                   | 63% (12)   | 37 (100%) |
| Прогрессирование | 22% (7)                     | 37% (7)    | 14 (100%) |
| Итого            | 32 (100%)                   | 19 (100%)  | 51(100%)  |
|                  | $p = 0,0026, \chi^2 = 9,03$ |            |           |

Полученные данные стали предпосылкой для детального анализа частоты экспрессии Р-гликопротеина в пределах каждой группы (Таблица 51). Установлено, что при прогрессировании доля Pgp170 позитивного фенотипа опухолей со 2 степенью злокачественности больше, чем при отсутствии прогрессирования: 56% против 39%. Аналогично для 3 степени злокачественности:

40% Pgp170 позитивных опухолей наблюдается при прогрессировании против 0% при ремиссии. Однако, интерпретация данных затруднительна ввиду небольшого числа наблюдений.

**Таблица 51** – Взаимосвязь степени злокачественности рака молочной железы с экспрессией Pgp170

| Степень злокачественности | Pgp170 фенотип                             |    |            |    | Итого     |
|---------------------------|--|----|------------|----|-----------|
|                           | Негативный                                 |    | Позитивный |    |           |
|                           | %  | N  | %          | n  | % (n)     |
|                           | Прогрессирование, $p = 0,57$               |    |            |    |           |
| 2 степень                 | 44%  | 4  | 56%        | 5  | 100% (9)  |
| 3 степень                 | 60%  | 3  | 40%        | 2  | 100% (5)  |
|                           | Ремиссия, $p = 0,00004$ , $\chi^2 = 17,05$ |    |            |    |           |
| 2 степень                 | 61%  | 19 | 39%        | 12 | 100% (31) |
| 3 степень                 | 100%                                       | 6  | 0%         | 0  | 100% (6)  |

На следующем этапе исследования был проведен анализ связи частоты экспрессии Р-гликопротеина с адьювантной полихимиотерапией (Таблица 52). Как видно из таблицы, мономорфный Pgp170 фенотип опухоли наблюдался преимущественно у больных, получивших в адьювантном режиме антрациклин-содержащие схемы. В группе CMF опухолей с мономорфным Pgp170 фенотипом не отмечено, все случаи оказались Pgp170-негативными.

**Таблица 52** – Pgp170 фенотип и вид химиотерапии

| Схема ХТ/кол-во курсов | Pgp170 фенотип               |    |           |   |             |    | Итого     |
|------------------------|------------------------------|----|-----------|---|-------------|----|-----------|
|                        | Негативный                   |    | Мозаичный |   | Мономорфный |    |           |
|                        | %                            | n  | %         | n | %           | n  |           |
| CMF/6                  | 100%                         | 6  | 0%        | 0 | 0%          | 0  | 6 (100%)  |
| CAF/4                  | 58%                          | 7  | 17%       | 2 | 25%         | 3  | 12 (100%) |
| CAF/6                  | 54%                          | 15 | 11%       | 3 | 35%         | 10 | 28 (100%) |
| Не проводилась         | 100%                         | 5  | 0%        | 0 | 0%          | 0  | 5 (100%)  |
|                        | $p = 0,05$ , $\chi^2 = 0,27$ |    |           |   |             |    |           |

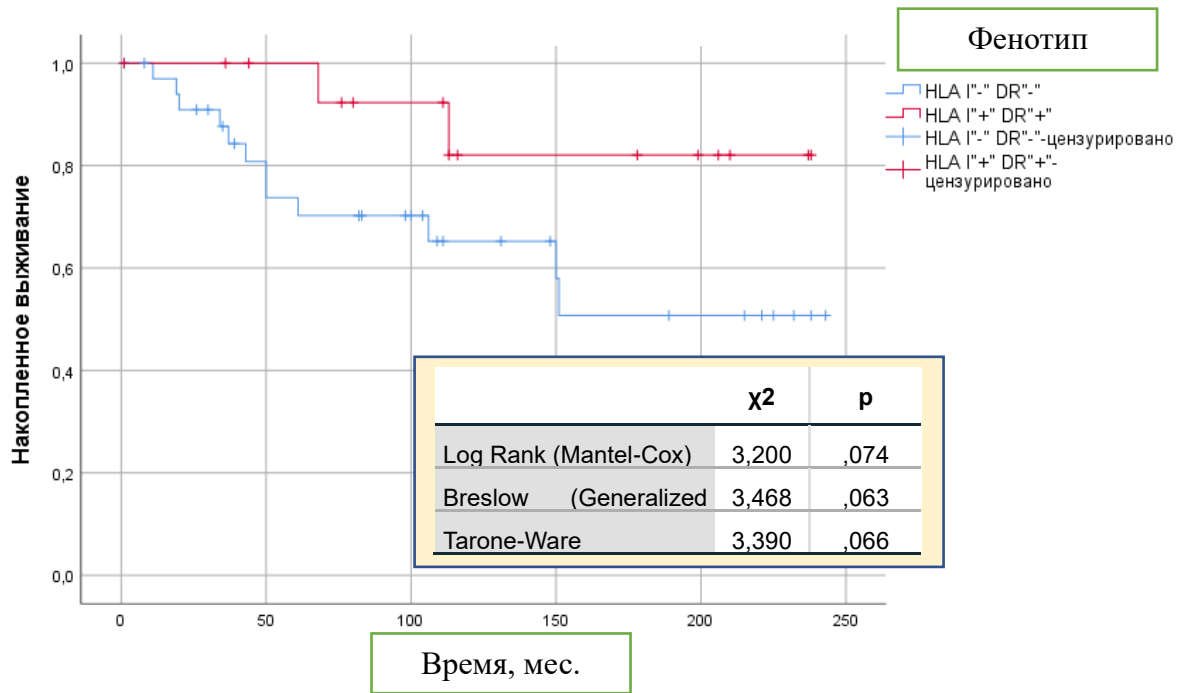
Мы сравнили частоту прогрессирования в зависимости от Pgp170 фенотипа опухоли у больных, которым, соответственно, были выполнены 4 и 6 курсов CAF химиотерапии. Частота прогрессирования достоверно не зависела от статуса Pgp170.

### 3.4.2 Взаимосвязь иммунофенотипа клеток рака молочной железы с выживаемостью больных

Для того, чтобы выяснить, какие иммунофенотипические параметры опухоли реализуют свое влияние, является ли она самостоятельными факторами или воздействие опосредуется через исходную степень распространенности опухолевого процесса (например, через увеличение частоты регионарного метастазирования, как это было показано для ряда антигенов), мы проанализировали общую выживаемость и выживаемость без прогрессирования больных раком молочной железы после лечения путем однофакторного регрессионного анализа Кокса и по Каплан-Мейеру. Анализ общей выживаемости (ОВ) в зависимости от типа экспрессии HLA-I класса проведен для 151 пациентки. Показатели 5-летней ОВ существенно не различались и составили по группам HLA-I-, HLA-I+/- и HLA-I+, соответственно,  $73,3 \pm 7,9\%$ ,  $73,4 \pm 9,3\%$  и  $82,3 \pm 5,0\%$ . Также не различались и показатели 10-летней ОВ в зависимости от экспрессии опухолью молекул HLA- I.

Анализ общей выживаемости в зависимости от типа экспрессии HLA-II класса проведен для 150 пациенток. Показатели 5-летней ОВ существенно не различались. Установлено, что показатели 10-летней ОВ в группе с мономорфной экспрессией HLA-DR были лучше, чем в группах с мозаичной и отрицательной реакцией, однако достоверности не достигнуто. HLA-DR-, HLA- DR+/- и HLA-DR+, соответственно,  $77,3 \pm 4,3\%$ ,  $90,2 \pm 6,6\%$  и  $92,3 \pm 7,4\%$ .

Следующим шагом стал анализ иммунофенотипов опухоли, в зависимости от наличия или отсутствия экспрессии обеих молекул главного комплекса гистосовместимости: сравнение выживаемости в зависимости от HLA- фенотипов. Выявлено, что больные с опухолевыми иммунофенотипами с экспрессией обеих молекул HLA-I+/HLA-DR+ имели лучше показатели ОВ, чем в случае их отсутствия, однако различия не достигли достоверности (Рисунок 33). 5-, 10-летняя ОВ составила:  $92,3 \pm 7,4\%$ ,  $82,1 \pm 11,7\%$  и  $70,2 \pm 8,4\%$ ,  $65,2 \pm 9,2\%$ , соответственно, при HLA-I+ /HLA-DR+ (n = 16) и HLA-I-/HLA-DR- (n = 35) фенотипах.

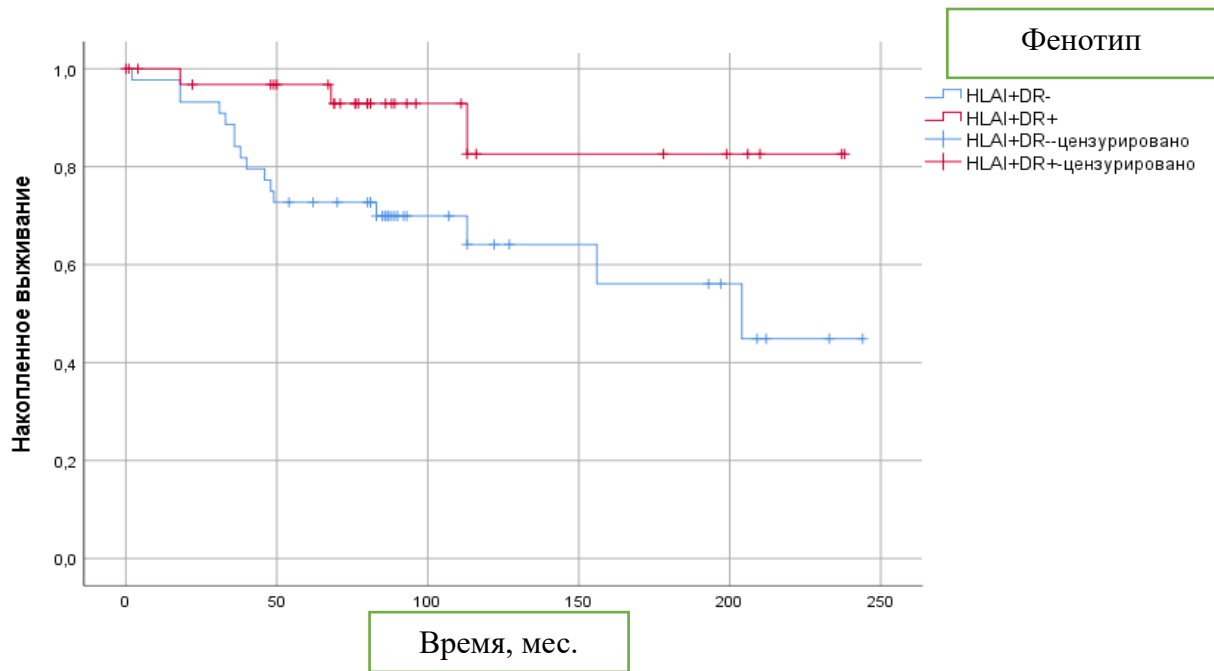


**Рисунок 33** – Общая выживаемость больных раком молочной железы в зависимости от HLA- иммунофенотипа опухоли

При дальнейшем анализе установлено, что иммунофенотип с частичной экспрессией HLA- антигенов ассоциирован с ухудшением показателей ОБ. А именно, это касалось HLA-I+/HLA-DR- фенотипа. Показатели ОБ представлены в таблице 53 и на рисунке 34.

**Таблица 53** – Показатели ОБ больных раком молочной железы в зависимости от HLA - иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли                | ОБ, М ± m               |               |                | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|-------------------------|---------------|----------------|----------------|------|
|                                | 5-летняя                | 10-летняя     | Средняя        | n              | %    |
| HLA-I" +" HLA-DR" +"           | 96,8 ± 3,2 %            | 82,6 ± 10,6 % | 211,4 ± 14,9 % | 34             | 43,5 |
|                                | Медиана – не достигнута |               |                |                |      |
| HLA-I" +" HLA-DR" -"           | 72,7 ± 6,7 %            | 64,1 ± 8,5 %  | 162,7 ± 15,8 % | 44             | 56,4 |
|                                | Медиана – 204,0         |               |                |                |      |
|                                | $\chi^2$                |               |                | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          | 5,823                   |               |                | 0,016          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) | 5,622                   |               |                | 0,018          |      |
| Tarone-Ware                    | 5,802                   |               |                | 0,016          |      |

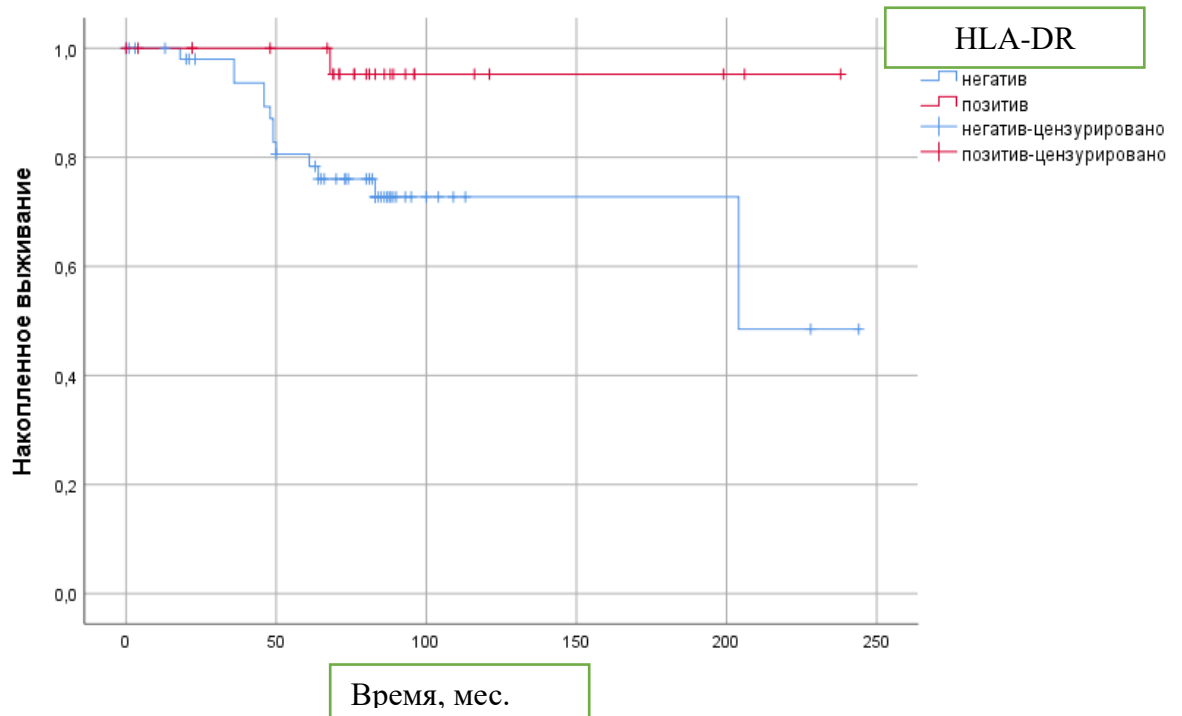


**Рисунок 34** – Общая выживаемость больных раком молочной железы при сравнении HLA-I+/HLA-DR- и HLA-I+ /HLA-DR+ иммунофенотипов

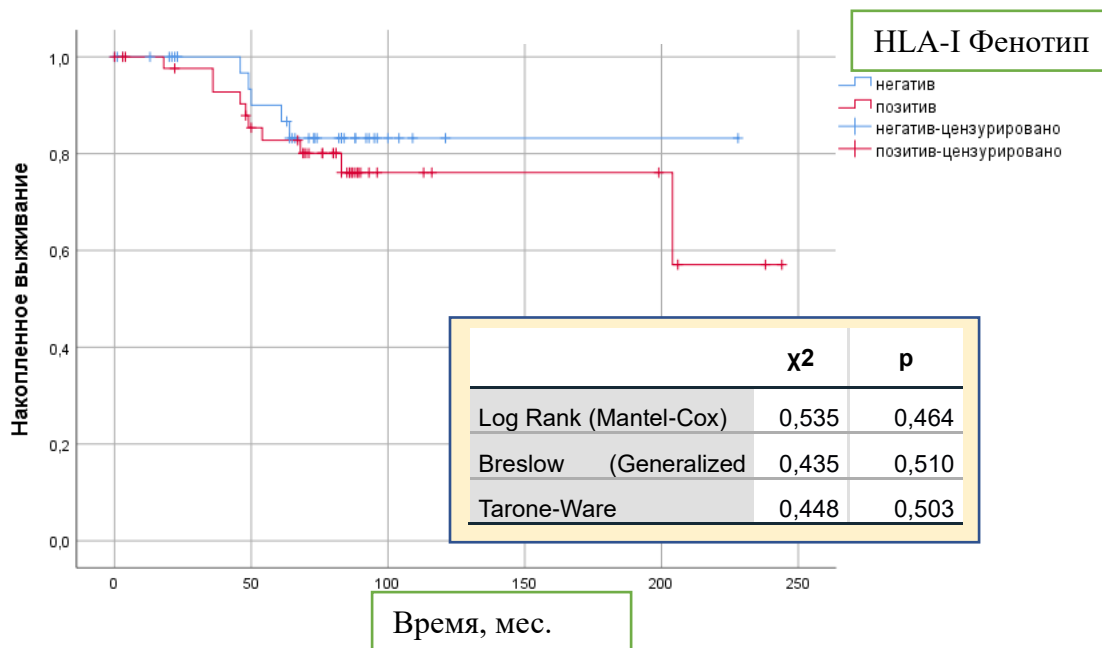
Интересные результаты были получены при анализе ОВ в группе люминального подтипа рака молочной железы (на основании экспрессии РЭ). Результаты представлены в таблице 54. Как видно из таблицы, выживаемость больных раком молочной железы в случаях экспрессии опухолью молекул HLA-DR (HLA-DR- позитивная группа) превышала таковую при их отсутствии на поверхности клеток рака (HLA-DR- негативная группа). Это касалось и 5-, и 10-летней ОВ, различия достоверны. Графики выживаемости представлены на рисунке 35. Для молекул HLA-I такого не наблюдалось (Рисунок 36).

**Таблица 54** – Показатели ОВ больных раком молочной железы люминального подтипа в зависимости от HLA-DR иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли                | ОВ, М ± m               |              |                | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|-------------------------|--------------|----------------|----------------|------|
|                                | 5-летняя                | 10-летняя    | Средняя        | n              | %    |
| HLA-DR"-"                      | 80,6 ± 5,6 %            | 72,7 ± 6,9 % | 181,5 ± 14,5 % | 54             | 66,6 |
|                                | Медиана – 204,00        |              |                |                |      |
| HLA-DR"+"                      | 95,2 ± 4,6 %            | 95,2 ± 4,6 % | 229,9 ± 7,9 %  | 27             | 34,4 |
|                                | Медиана – не достигнута |              |                |                |      |
|                                | $\chi^2$                |              |                | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                         |              | 5,167          | 0,023          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                         |              | 4,889          | 0,027          |      |
| Tarone-Ware                    |                         |              | 4,961          | 0,026          |      |

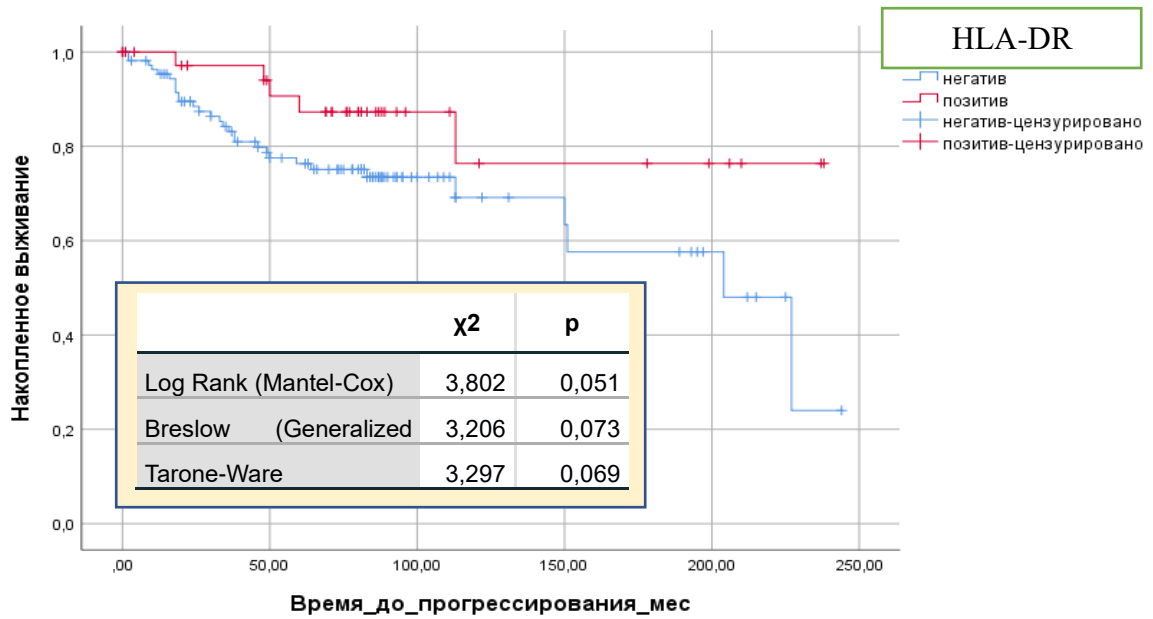


**Рисунок 35** – Общая выживаемость больных раком молочной железы с люминальным подтипом в зависимости от HLA-DR иммунофенотипа



**Рисунок 36** – Общая выживаемость больных раком молочной железы с люминальным подтипом в зависимости от HLA-I иммунофенотипа

Оценка выживаемости без прогрессирования (ВБП) в пределах всей выборки (n = 149) представлена на рисунке 37.



**Рисунок 37** – Выживаемость без прогрессирования больных раком молочной железы в зависимости от HLA-DR иммунофенотипа

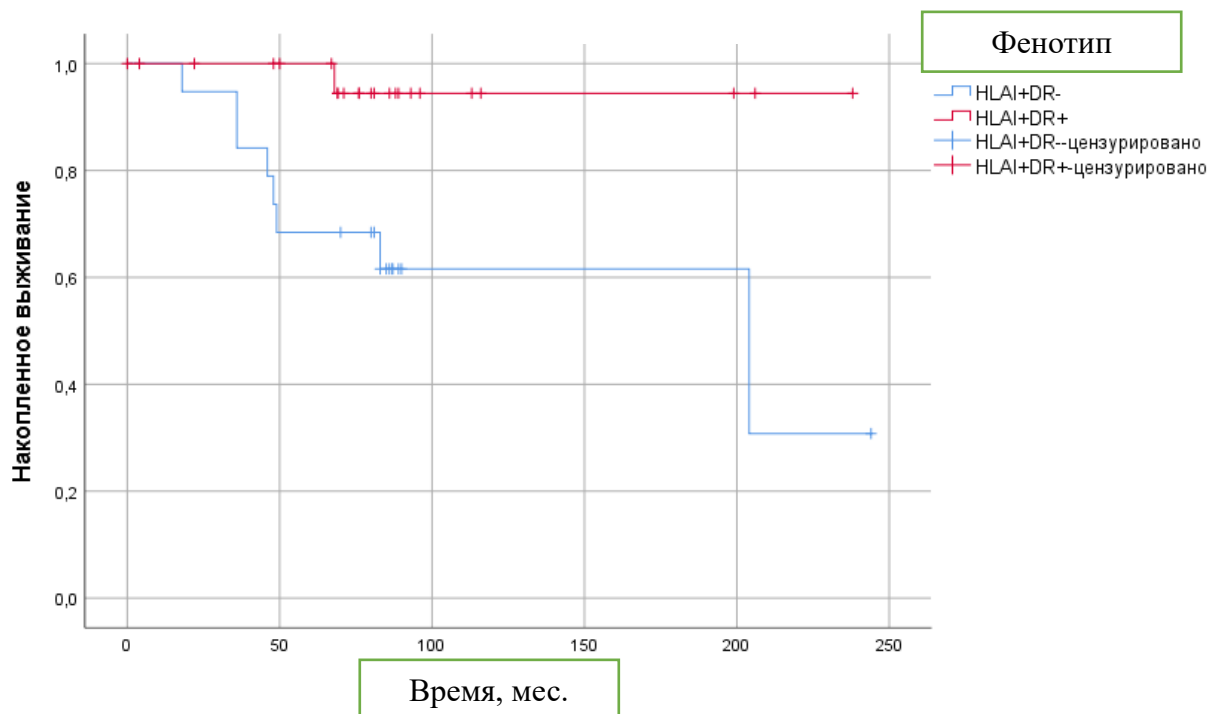
Как можно видеть из представленных на рисунке данных, HLA-DR фенотип опухоли не был ассоциирован с показателями выживаемости. Средняя продолжительность жизни составила  $163,5 \pm 11,7\%$  и  $199,8 \pm 16,5\%$ , медиана в HLA-DR позитивной группе не достигнута.

При дальнейшем анализе в пределах люминального подтипа рака молочной железы обнаружены различия в показателях выживаемости. Мы обратили внимание на связь экспрессии молекул HLA-DR опухолевыми клетками с показателями ВБП при люминальном подтипе рака молочной железы, которые были лучше в группе с HLA-DR позитивным фенотипом (Таблица 55).

**Таблица 55** – Показатели ВБП больных люминальным раком молочной железы в зависимости от HLA-DR иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли                | ВБП, М $\pm$ m          |                   |                     | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|-------------------------|-------------------|---------------------|----------------|------|
|                                | 5-летняя                | 10-летняя         | Средняя             | n              | %    |
| HLA-DR «-»                     | $78,5 \pm 6,1 \%$       | $72,6 \pm 6,9 \%$ | $173,1 \pm 16,3 \%$ | 54             | 66,6 |
|                                | Медиана – 204,00        |                   |                     |                |      |
| HLA-DR «+»                     | $95,0 \pm 4,9 \%$       | $95,0 \pm 4,9 \%$ | $229,1 \pm 8,6 \%$  | 27             | 34,4 |
|                                | Медиана – не достигнута |                   |                     |                |      |
|                                | $\chi^2$                |                   |                     | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                         |                   | 5,059               | 0,025          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                         |                   | 4,404               | 0,036          |      |
| Tarone-Ware                    |                         |                   | 4,585               | 0,032          |      |

При HLA-DR позитивном фенотипе мы наблюдали, что 5 -летняя, и 10-летняя ВБП составила  $95,0 \pm 4,9$  % и  $95,0 \pm 4,9$  0% против  $78,5 \pm 6,1$ % и  $72,6 \pm 6,9$ % при HLA-DR негативном фенотипе. Графики выживаемости представлены на рисунке 38.



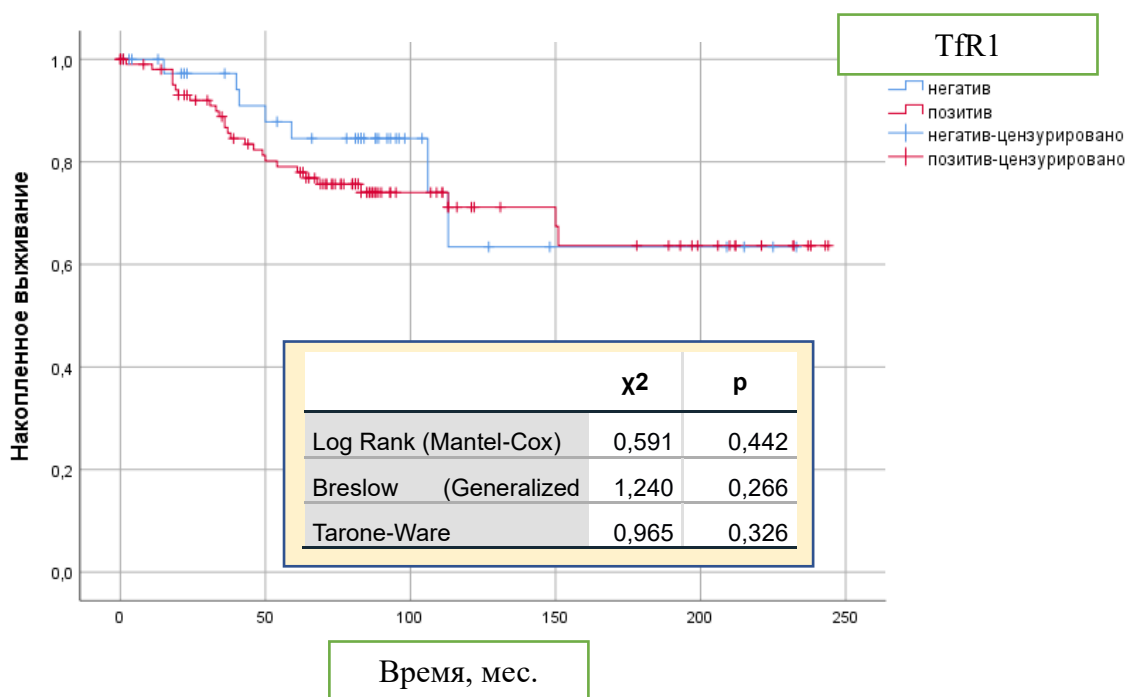
**Рисунок 38** – Общая выживаемость больных с люминальным подтипом рака молочной железы при сравнении HLA-I+ /HLA-DR- и HLA-I+/HLA-DR+ иммунофенотипов

Таким образом, мы видим, что экспрессия опухоли HLA- мономорфных детерминант была ассоциирована с показателями ОБ и ВБП больных раком молочной железы. В частности, это касалось молекул HLA-DR, отсутствие экспрессии которых опухолевыми клетками коррелировало с ухудшением показателей ОБ. Однако следует отметить, что группы анализа были неоднородны ввиду отсутствия информации о молекулярных подтипах рака молочной железы. Поэтому полученные результаты хотя и интересны, но делать какие-либо заключения пока преждевременно. По-всей видимости, это могло бы служить отражением ассоциации экспрессии молекул HLA-DR со стадией. Интересно, что при этом HLA-I фенотип не был связан с показателями ОБ. Напротив, фенотип HLA-DR коррелировал с показателями ОБ, как 5-, так и 10-летней. Возможно, на это стоит обратить внимание, и подвергнуть дальнейшему изучению каждый из подтипов рака молочной железы на предмет связи молекул HLA-DR с клиническим течением болезни.

Далее мы проанализировали показатели выживаемости в зависимости от типа экспрессии трансферриновых рецепторов TfR1 клетками опухоли. Как нами было установлено, экспрессия трансферриновых рецепторов TfR1 клетками рака молочной железы наблюдалась в



большинстве образцов, при этом в 62,2% ( $n = 69$ ) случаев опухоли характеризовались мономорфной экспрессией. Лишь в небольшом проценте случаев мы выявили мозаичный характер экспрессии. Мы разделили все случаи на позитивные и негативные по экспрессии TfR1 и провели оценку ОВ пределах всей выборки больных ( $n = 149$ ). Показатели 5-летней ОВ существенно не различались и составили по группам TfR1 негативной и TfR1-позитивной, соответственно,  $84,6 \pm 6,4\%$  и  $63,4 \pm 13,8\%$ . Также не различались и показатели 10-летней ОВ в зависимости от экспрессии опухоли трансферриновых рецепторов. Графики выживаемости представлены на рисунке 39.



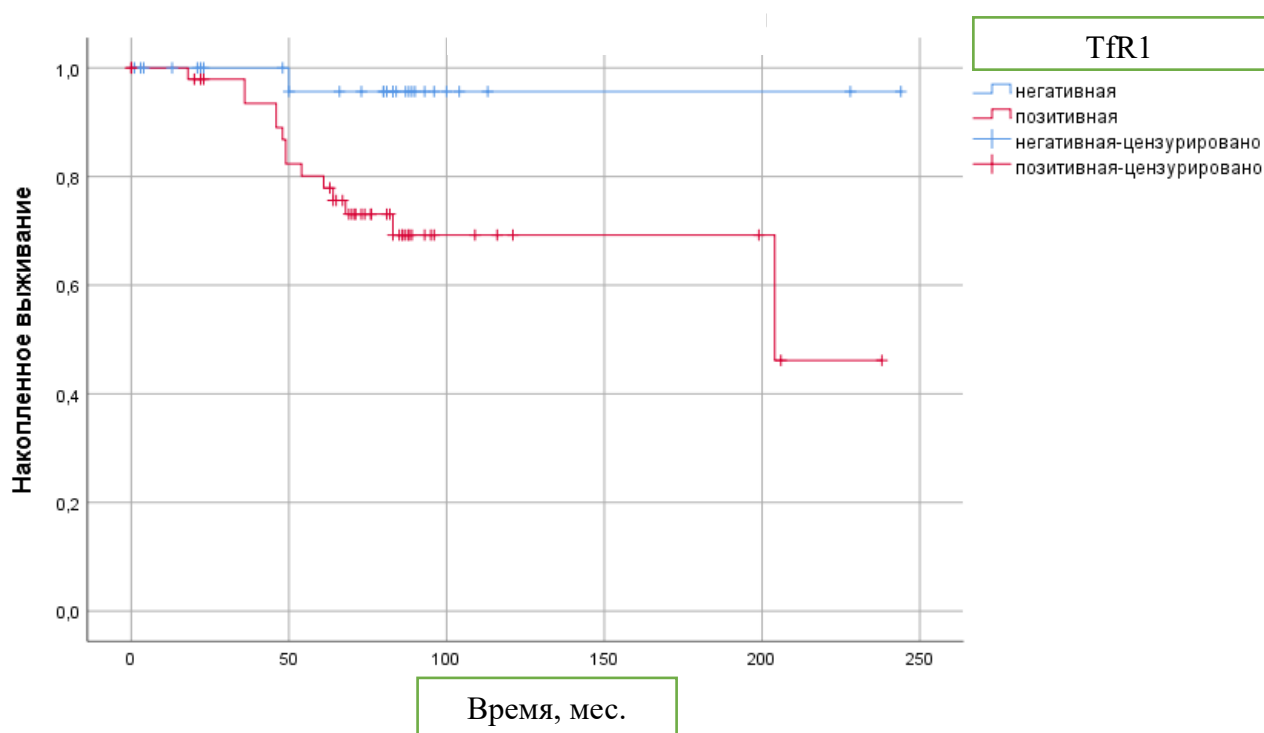
**Рисунок 39** – Выживаемость больных раком молочной железы в зависимости от TfR1-иммунофенотипа

Весьма любопытные результаты были получены при анализе ОВ в группе люминального подтипа рака молочной железы (на основании экспрессии РЭ) (Таблица 56). Как видно из таблицы, выживаемость больных раком молочной железы в случаях отсутствия экспрессии опухоли трансферриновых рецепторов (TfR1- негативная группа) превышала таковую при их экспрессии клетками рака (TfR1- позитивная группа). Это касалось и 5-, и 10-летней ОВ, различия оказались достоверны по всем трем тестам. Графики выживаемости представлены на рисунке 40. При сравнении графиков выживаемости можно наблюдать это начиная с 5-летнего периода после лечения. Этот факт новый и требует дальнейших исследований и обсуждений. Принимая во внимание те данные, что именно при люминальном подтипе рака молочной железы отсутствие молекул HLA-DR сопровождалось ухудшением выживаемости больных, можно предположить, что полученные результаты дополняют и расширяют наши представления

о биологических особенностях люминального рака молочной железы и дают основания для дальнейших исследований при каждом известном на сегодня подтипе рака молочной железы.

**Таблица 56** – Показатели общей выживаемости больных с люминальным подтипом рака молочной железы в зависимости от TfR1- иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли                | ОВ, М ± m               |              |               | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|-------------------------|--------------|---------------|----------------|------|
|                                | 5-летняя                | 10-летняя    | Средняя       | n              | %    |
| TfR1- негативный               | 95,7 ± 4,3 %            | 95,7 ± 4,3 % | 235,5 ± 8,2 % | 31             | 38,3 |
|                                | Медиана – не достигнута |              |               |                |      |
| TfR1- позитивный               | 80,1 ± 5,9 %            | 69,2 ± 7,3 % | 173,1 ± 14,1% | 50             | 61,7 |
|                                | Медиана – 204,00        |              |               |                |      |
|                                | $\chi^2$                |              |               | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                         |              | 6,223         | 0,013          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                         |              | 5,461         | 0,019          |      |
| Tarone-Ware                    |                         |              | 5,765         | 0,016          |      |



**Рисунок 40** – Выживаемость больных раком молочной железы с люминальным подтипом в зависимости от TfR1- иммунофенотипа

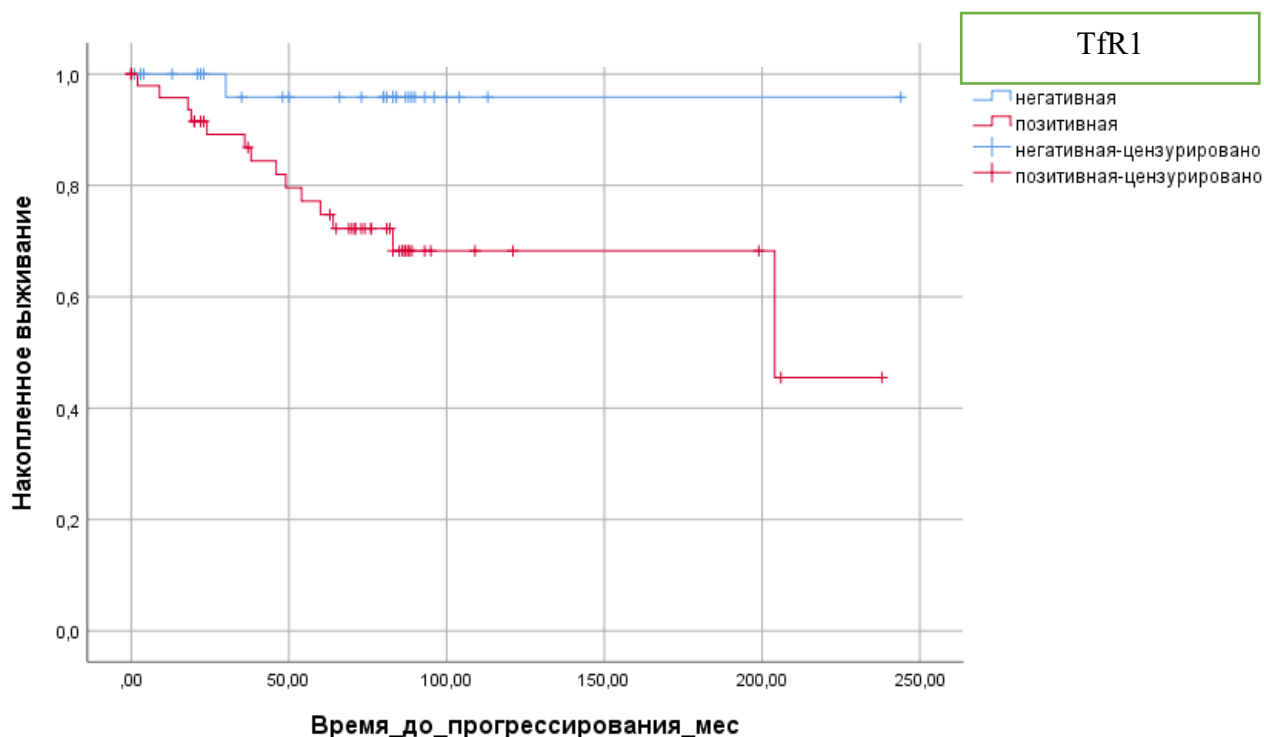
Мы не установили существенных различий в ВВП в зависимости от TfR1 – иммунофенотипа опухоли в целом по группе (n = 148). Показатели ВВП существенно не

различались в TfR1 негативной и TfR1- позитивной группах. Средние показатели ВБП составили  $178,7 \pm 17,1\%$  и  $166,6 \pm 11,7\%$ , соответственно, в негативной и позитивной группах.

В группе люминального рака молочной железы ВБП различалась. Результаты представлены в таблице 57. Как видно из таблицы, ВБП больных раком молочной железы в TfR1- негативной группе превышала таковую при их экспрессии клетками рака (TfR1- позитивная группа). Это касалось и 5-, и 10- летней ВБП. Графики выживаемости представлены на рисунке 41. Это очень интересное наблюдение и, учитывая литературные данные о прогностической роли рецепторов трансферрина, заслуживает внимания. Вместе с тем следует с осторожностью относиться к трактовке этих данных и подвергнуть дальнейшему исследованию это наблюдение в большей когорте больных с однородными группами.

**Таблица 57** – Показатели выживаемости без прогрессирования больных с люминальным подтипом рака молочной железы в зависимости от TfR1- иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли                | ВБП, М ± m              |                   |                    | Кол-во больных |       |
|--------------------------------|-------------------------|-------------------|--------------------|----------------|-------|
|                                | 5-летняя                | 10-летняя         | Средняя            | n              | %     |
| TfR1- негативный               | $95,8 \pm 4,1 \%$       | $95,8 \pm 4,1 \%$ | $235,0 \pm 8,7 \%$ | 31             | 38,3  |
|                                | Медиана – не достигнута |                   |                    |                |       |
| TfR1- позитивный               | $74,7 \pm 6,6 \%$       | $68,2 \pm 7,6 \%$ | $167,9 \pm 15,1\%$ | 50             | 61,7  |
|                                | Медиана – 204,00        |                   |                    |                |       |
|                                | $\chi^2$                |                   |                    | p              |       |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                         |                   |                    | 6,228          | 0,013 |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                         |                   |                    | 5,568          | 0,018 |
| Tarone-Ware                    |                         |                   |                    | 5,885          | 0,015 |



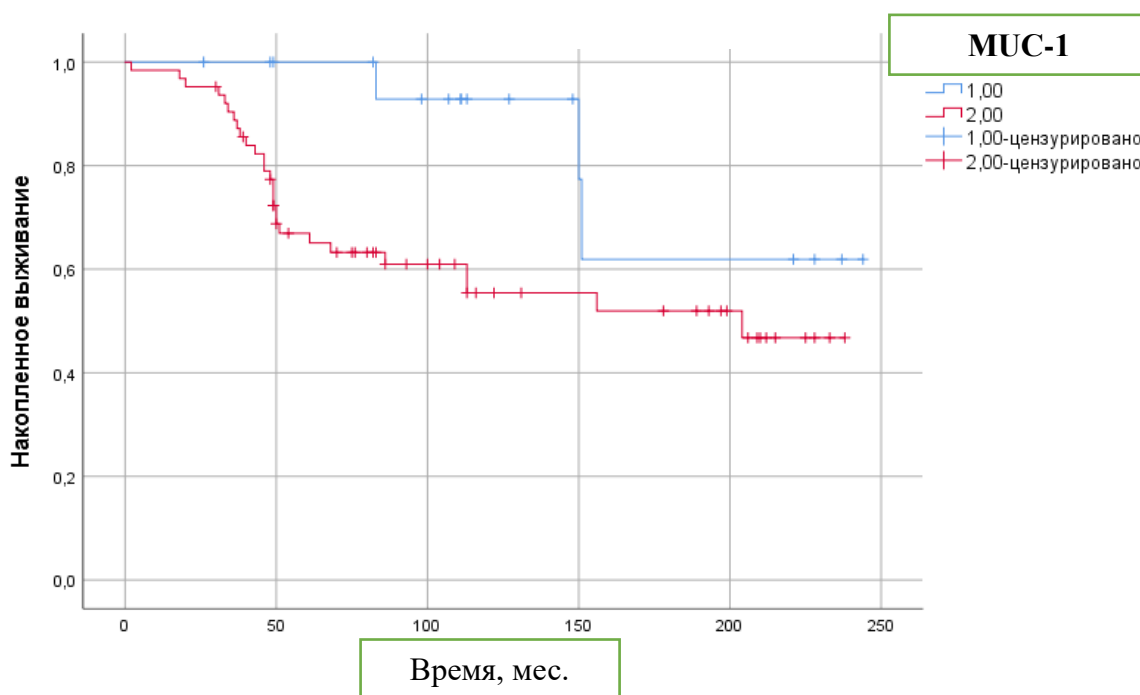
**Рисунок 41** – Выживаемость без прогрессирования больных раком молочной железы с люминальным подтипом в зависимости от Tfr1- иммунофенотипа

Анализ общей выживаемости в зависимости от типа экспрессии MUC1 проведен для 82 больных. MUC1 экспрессировался клетками рака молочной железы в большинстве случаев, при этом преимущественно мономорфно 74,4%,  $n = 61$ . Мозаичная экспрессия MUC1 наблюдалась в 20,7% случаев и лишь 4 случая оказались негативными. Поэтому мы объединили мозаичную и негативную группы. Мы оценили, есть ли различия в показателях ОВ между данными группами в пределах всей выборки больных. Оказалось, что показатели 5-летней ОВ существенно различались и составили по группам MUC1-mos (1-группа) и MUC1-mon (2 группа), соответственно,  $92,9 \pm 6,9\%$  и  $66,9 \pm 6,1\%$ , что представлено в таблице 58. Также различались и показатели 10-летней ОВ в зависимости от экспрессии опухолью молекул MUC1. Графики выживаемости представлены на рисунке 42.

**Таблица 58** – Показатели ОВ больных раком молочной железы в зависимости от MUC1-иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли | ОВ, М ± m        |                  |                     | Кол-во больных |      |
|-----------------|------------------|------------------|---------------------|----------------|------|
|                 | 5-летняя         | 10-летняя        | Средняя             | n              | %    |
| MUC1-mos        | $92,9 \pm 6,9\%$ | $92,9 \pm 6,9\%$ | $203,5 \pm 18,9 \%$ | 18             | 23,3 |

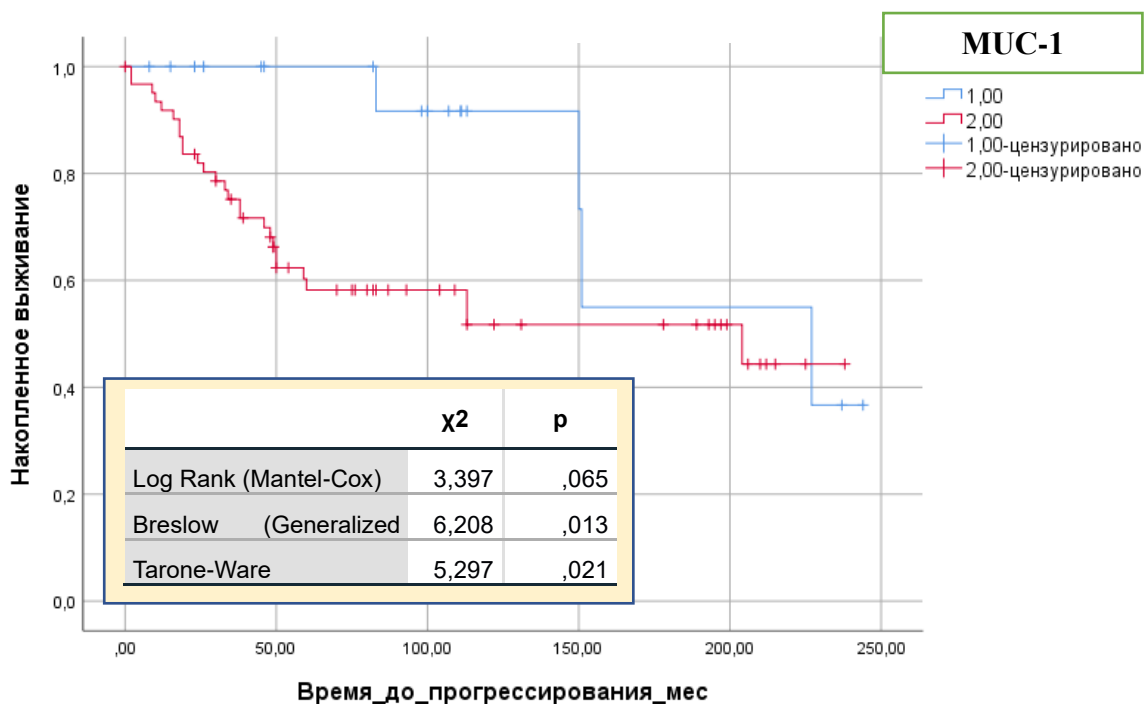
|                                |                         |              |               |       |       |
|--------------------------------|-------------------------|--------------|---------------|-------|-------|
|                                | Медиана – не достигнута |              |               |       |       |
| MUC1-mon                       | 66,9 ± 6,1%             | 66,9 ± 6,0 % | 150,7 ± 12,4% | 63    | 76,8  |
|                                | Медиана – 204,00        |              |               |       |       |
|                                | $\chi^2$                |              |               | p     |       |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                         |              |               | 3,956 | 0,047 |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                         |              |               | 5,918 | 0,011 |
| Tarone-Ware                    |                         |              |               | 5,214 | 0,022 |



**Рисунок 42** – Выживаемость больных раком молочной железы в зависимости от MUC1-иммунофенотипа

Анализ выживаемости в пределах люминального рака молочной железы не выявил различий в зависимости от MUC1- иммунофенотипа опухоли.

Анализ ВВП в зависимости от типа экспрессии MUC1 проведен для 82 больных. Показатели 5-летней ВВП различались и составили по группам MUC1-mos (1-группа, n = 19) и MUC1-mon (2 группа, n = 62), соответственно,  $91,7 \pm 8,0\%$  и  $73,3 \pm 17,6\%$ . Также различались и показатели 10-летней ВВП в зависимости от экспрессии опухолью молекул MUC1:  $60,0 \pm 6,5\%$  и  $51,7 \pm 7,3\%$ . Это хорошо иллюстрирует рисунок 43. Средние значение ВВП составило  $193,1 \pm 20,2\%$  и  $140,7 \pm 13,7\%$ , соответственно, при MUC1-mos и MUC1-mon. Различия достоверны по Log Rank (Mantel-Cox) и Tarone-Ware тестам.



**Рисунок 43** – Выживаемость без прогрессирования больных раком молочной железы в зависимости от MUC1- иммунофенотипа

Анализ ВБП в пределах люминального рака молочной железы не выявил в зависимости от MUC1- иммунофенотипа опухоли. К сожалению, количество больных в группах сравнения невелико (MUC1-mos, n = 4 и MUC1-mon, n = 23) и достоверный статистический анализ нам выполнить не удалось.

Таким образом, суммируя результаты по данному разделу работы, мы установили, что иммунофенотип опухоли взаимосвязан с показателями выживаемости при раке молочной железы. Одним из иммунофенотипических маркеров является антиген HLA-DR, отсутствие экспрессии которого опухолевыми клетками сопровождалось с ухудшением показателей 5-, 10-летней ОВ, ВБП при раке молочной железы как в целом по группе, так и при люминальном подтипе. Вторым маркером является TfR1 Экспрессии опухолью трансферриновых рецепторов была ассоциирована с ухудшением 5-, 10-летней ОВ и ВБП при раке молочной железы люминального подтипа. Несмотря на то, что эти результаты весьма любопытны, трактовка их неоднозначна, поскольку анализ выполнен с привлечением ретроспективного материала. Возможно, полученные результаты отражают корреляцию фенотипа со стадией. Вместе с тем, эти данные позволяют продолжить дальнейшие исследования в более однородных группах, чтобы прояснить выявленные факты. Дополнительным основанием может являться то, что в более ранних работах лаборатории TfR1 негативные случаи характеризовались уменьшением частоты метастатического поражения регионарных лимфатических узлов, улучшением

показателей выживаемости, что также целесообразно принять во внимание [245]. Третий иммунологический маркер – это MUC1, экспрессия которого, преимущественно мономорфная установлена, при раке молочной железы. Именно мономорфный MUC1 иммунофенотип был ассоциирован с ухудшением показателей общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования в целом по группе. Эти данные трактовать довольно сложно, целесообразно продолжить изучение данного аспекта.

### **3.4.3 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций при раке молочной железы с выживаемостью больных**

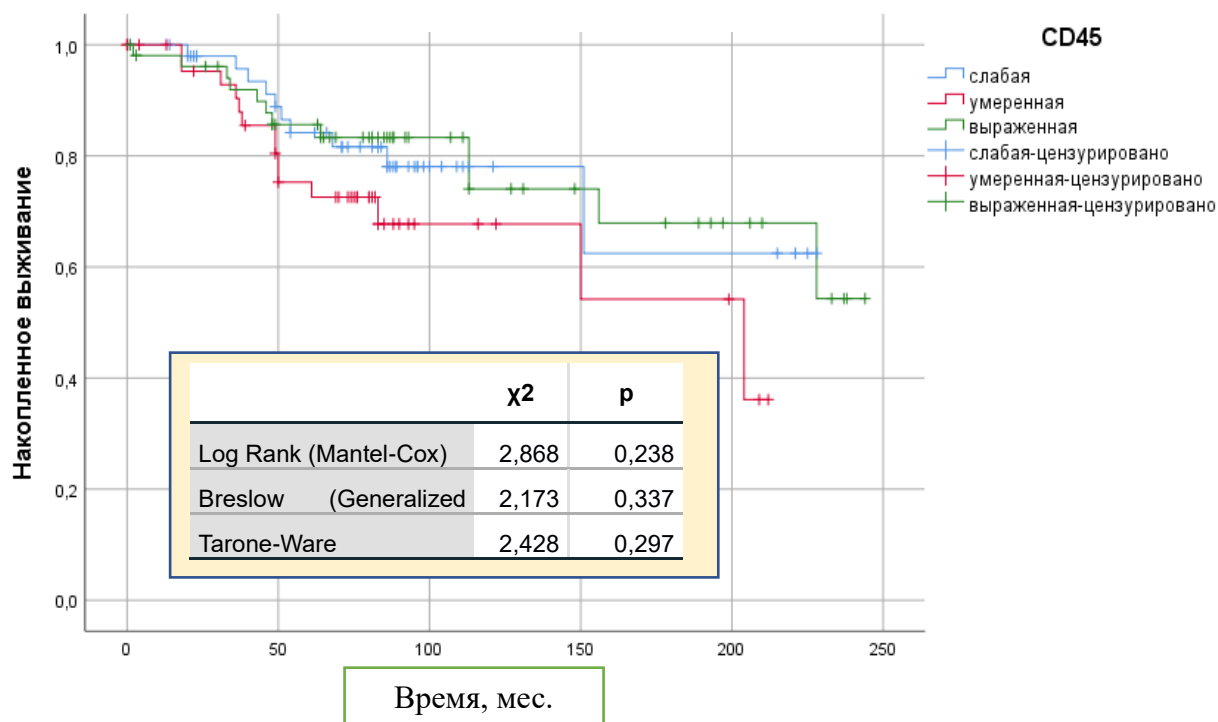
Для того, чтобы выяснить, какие иммунофенотипические параметры опухоли реализуют свое влияние, является ли она самостоятельными факторами или воздействие опосредуется через исходную степень распространенности опухолевого процесса (например, через увеличение частоты регионарного метастазирования, как это было показано для ряда антигенов), мы проанализировали общую выживаемость и выживаемость без прогрессирования больных раком молочной железы после лечения.

В нашей работе мы установили, что большая выраженность интратуморальных иммунных реакций в первичной опухоли (CD45+, CD3+, CD8+) характерна для более ранних стадий рака молочной железы. Различия в уровне CD20 и CD38 клеточных реакций касались I и III стадий, и были более выражены при распространенных стадиях рака. Дополнительно, отметим, что наличие метастазов в регионарных лимфоузлах характеризовалось снижением CD45 инфильтрации опухоли. Частота поражения лимфатических узлов достоверно была связана с уровнем CD38+ интратуморальных реакций, которые нарастали при увеличении индекса N.

Для того, чтобы оценить прогностическую роль интратуморальных реакций мы изучили общую выживаемость больных раком молочной железы. Нами установлены достоверные взаимосвязи отдельных видов иммунных реакций с показателями выживаемости, которые мы рассмотрим подробнее.

В первую очередь мы оценили прогностическую роль обшейкоцитарной инфильтрации CD45+. Анализ общей выживаемости проведен у 150 пациенток. На первый взгляд, мы видим преимущество в выживаемости у больных с CD45- позитивными опухолями, но при этом четкой корреляции с прогнозом не наблюдается. Графики выживаемости представлены на рисунке 44. Показатели 5-летней ОБ составили при слабой, умеренной и выраженной инфильтрации  $84,2 \pm 5,0\%$ ;  $75,3 \pm 6,8\%$ ,  $85,6 \pm 5,0\%$ , соответственно. Показатели 10-летней ОБ были следующими:  $78,1 \pm 6,0\%$ ;  $67,7 \pm 8,1\%$  и  $74,1 \pm 7,8\%$ , соответственно. Средняя

выживаемость:  $177,7 \pm 14,9\%$ ,  $148,7 \pm 13,9\%$ ,  $189,7 \pm 9,1\%$ . Медиана выживаемости для умеренной составила 204 мес.



**Рисунок 44** – Общая выживаемость больных раком молочной железы в зависимости от CD45+инфильтрации опухоли

Далее мы оценили ОВ в зависимости от уровня CD3+, CD4+, CD8+ интратуморальных иммунных реакций. Достоверных различий в показателях выживаемости для Т-клеточных реакций нами не установлено.

Интересными результатами увенчался анализ в зависимости от В-клеточных интратуморальных реакций. Мы установили, что слабая инфильтрация или ее отсутствие коррелировали с улучшением ОВ (Таблица 59).

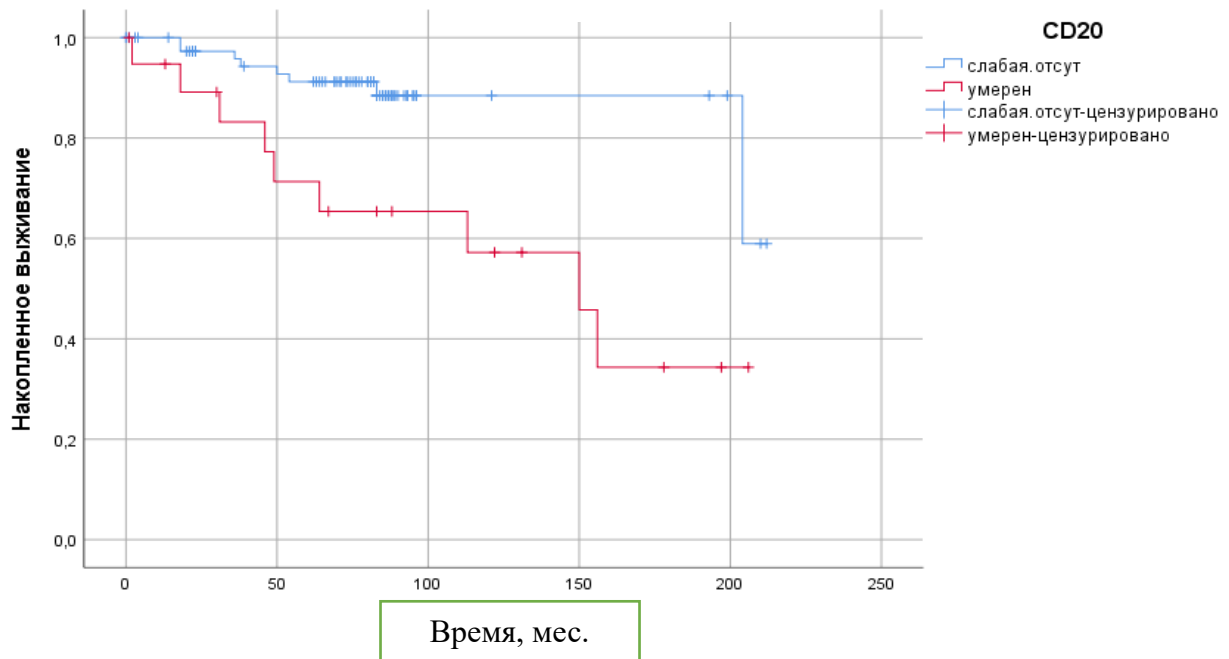
**Таблица 59** – Показатели общей выживаемости больных раком молочной железы в зависимости от CD20- интратуморальных реакций

| Тип иммунной реакции      | ОВ, М ± m               |                   |                    | Кол-во больных |      |
|---------------------------|-------------------------|-------------------|--------------------|----------------|------|
|                           | 5-летняя                | 10-летняя         | Средняя            | n              | %    |
| CD20<br>слабая/негативная | $91,2 \pm 3,4 \%$       | $88,5 \pm 4,3 \%$ | $190,6 \pm 7,0 \%$ | 79             | 80,0 |
|                           | Медиана – не достигнута |                   |                    |                |      |
| CD20- умеренная           | $71,3 \pm 1,0 \%$       | $57,2 \pm 1,2 \%$ | $127,1 \pm 18,3\%$ | 20             | 20,0 |
|                           | Медиана – 150,0         |                   |                    |                |      |
|                           | $\chi^2$                |                   |                    | p              |      |



|                                |       |       |
|--------------------------------|-------|-------|
| Log Rank (Mantel-Cox)          | 8,142 | 0,004 |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) | 8,176 | 0,004 |
| Tarone-Ware                    | 8,692 | 0,003 |

Графики выживаемости представлены на рисунке 45. Эти данные отражают наши результаты, полученные при анализе связей интратуморальных реакций с клинико-морфологическими параметрами опухоли, в частности со стадией. Слабые CD20+ реакции отмечались преимущественно при начальной стадии I опухоли, тогда как умеренные – при III стадии. Это свидетельствует, что при нарастании распространенности процесса важное значение играют В-клеточные интратуморальные реакции.



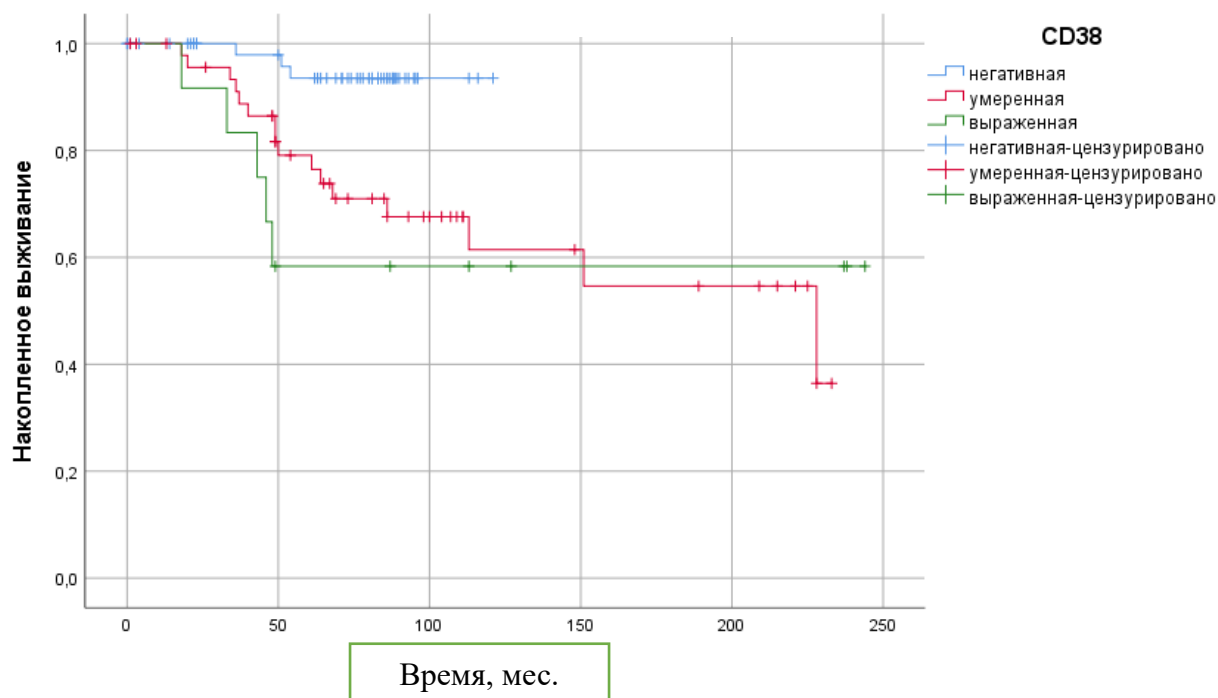
**Рисунок 45** – Общая выживаемость больных раком молочной железы в зависимости от CD20 - интратуморальных реакций

Не менее любопытные данные получены в отношении плазмоцитарных интратуморальных реакций. Мы наблюдали схожие закономерности с В-клеточными реакциями. Случаи CD38 негативные коррелировали с улучшением показателей ОВ (Таблица 60). Графики выживаемости отражены на рисунке 46. Как мы видим, эти данные отражают результаты, полученные при анализе взаимосвязей интратуморальных реакций с клинико-морфологическими параметрами опухоли, в частности со стадией. Слабые CD38+ реакции отмечались преимущественно при начальной стадии I опухоли, тогда как умеренные – при III

стадии. Это свидетельствует, что при нарастании распространенности процесса важное значение играют CD38- клеточные интратуморальные реакции.

**Таблица 60** – Показатели ОВ больных раком молочной железы в зависимости от CD38-интратуморальных реакций

| Тип иммунной реакции           | ОВ, М ± m               |               |                | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|-------------------------|---------------|----------------|----------------|------|
|                                | 5-летняя                | 10-летняя     | Средняя        | n              | %    |
| CD38- негативная               | 93,5 ± 3,6 %            | 93,5 ± 3,6 %  | 116,6 ± 2,6 %  | 58             | 48,8 |
|                                | Медиана – не достигнута |               |                |                |      |
| CD38- умеренная                | 71,9 ± 6,2 %            | 61,5 ± 9,0 %  | 159,1 ± 5,5% % | 48             | 40,3 |
|                                | Медиана – 228,0         |               |                |                |      |
| CD38- выраженная               | 58,3 ± 14,0 %           | 58,3 ± 14,0 % | 158,0 ± 29,4%  | 12             | 10,9 |
|                                | Медиана – не достигнута |               |                |                |      |
|                                |                         |               | $\chi^2$       | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                         |               | 11,179         | 0,004          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                         |               | 13,010         | 0,001          |      |
| Tarone-Ware                    |                         |               | 12,296         | 0,002          |      |



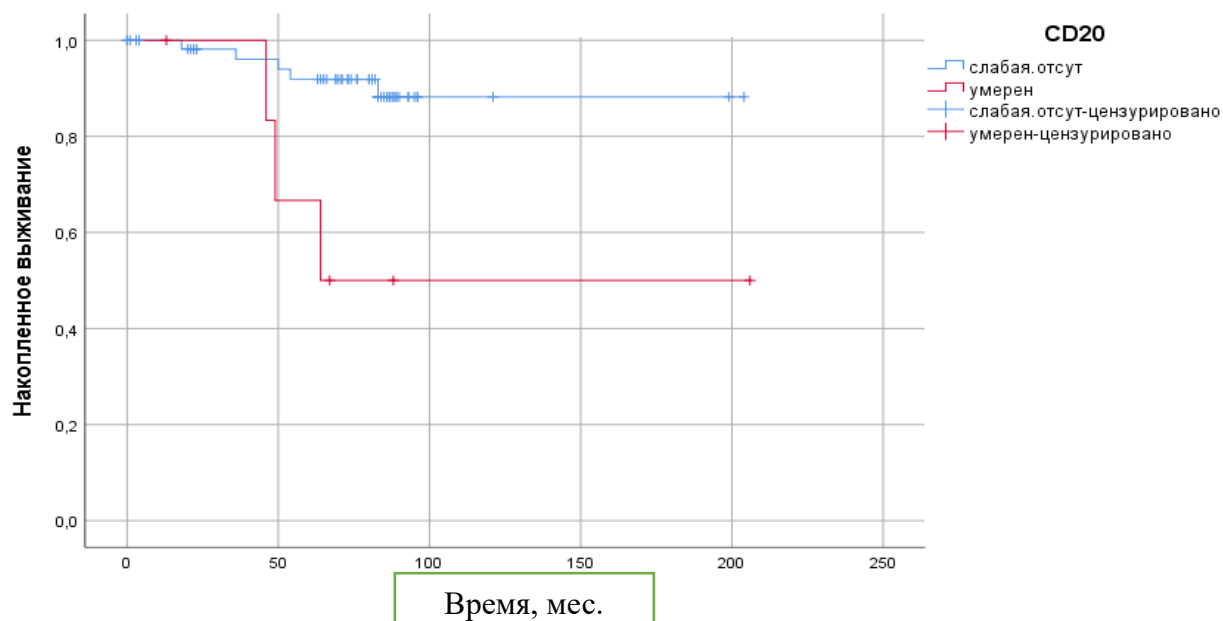
**Рисунок 46** – Общая выживаемость больных раком молочной железы в зависимости от CD38 - интратуморальных реакций

Важным наблюдением, на наш взгляд, и совершенно неожиданным стала взаимосвязь В-клеточных интратуморальных реакций с выживаемостью больных раком молочной железы с люминальным подтипом. В главе, посвященной результатам изучения связей между лимфоидной инфильтрацией опухоли и молекулярно-биологическими подтипами рака молочной железы, мы выявили, что при нелюминальном подтипе рака молочной железы В-клеточная и плазмочитарная инфильтрация была более значительной. А отсутствие CD38-клеточной реакции при люминальном раке выявлено в три раза чаще (66,2% и 22,9%). Это свидетельствует о некоторой корреляции рецептор-негативного статуса с инфильтрацией опухоли плазматическими клетками.

Анализ ОВ в пределах люминального подтипа стал тому подтверждением (Таблица 61). Показатели выживаемости при слабой В-клеточной интратуморальной реакции были выше, что отчетливо демонстрируют графики выживаемости (Рисунок 47).

**Таблица 61** – Показатели общей выживаемости больных с люминальным подтипом рака молочной железы в зависимости от CD20- интратуморальных реакций

| Тип иммунной реакции           | ОВ, М ± m       |              |               | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|-----------------|--------------|---------------|----------------|------|
|                                | 5-летняя        | 10-летняя    | Средняя       | n              | %    |
| CD20<br>слабая/негативная      | 91,9 ± 3,9 %    | 88,2 ± 5,2 % | 186,2 ± 8,0 % | 59             | 89,3 |
|                                | Медиана – 204,0 |              |               |                |      |
| CD20- умеренная                | 66,7 ± 1,9 %    | 50,0 ± 2,0 % | 129,5 ± 31,3% | 7              | 10,4 |
|                                | Медиана – 64,0  |              |               |                |      |
|                                | $\chi^2$        |              |               | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                 | 7,507        |               | 0,006          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                 | 7,520        |               | 0,006          |      |
| Tarone-Ware                    |                 | 7,637        |               | 0,006          |      |



**Рисунок 47** – Общая выживаемость больных с люминальным подтипом рака молочной железы в зависимости от CD20 - интратуморальных реакций

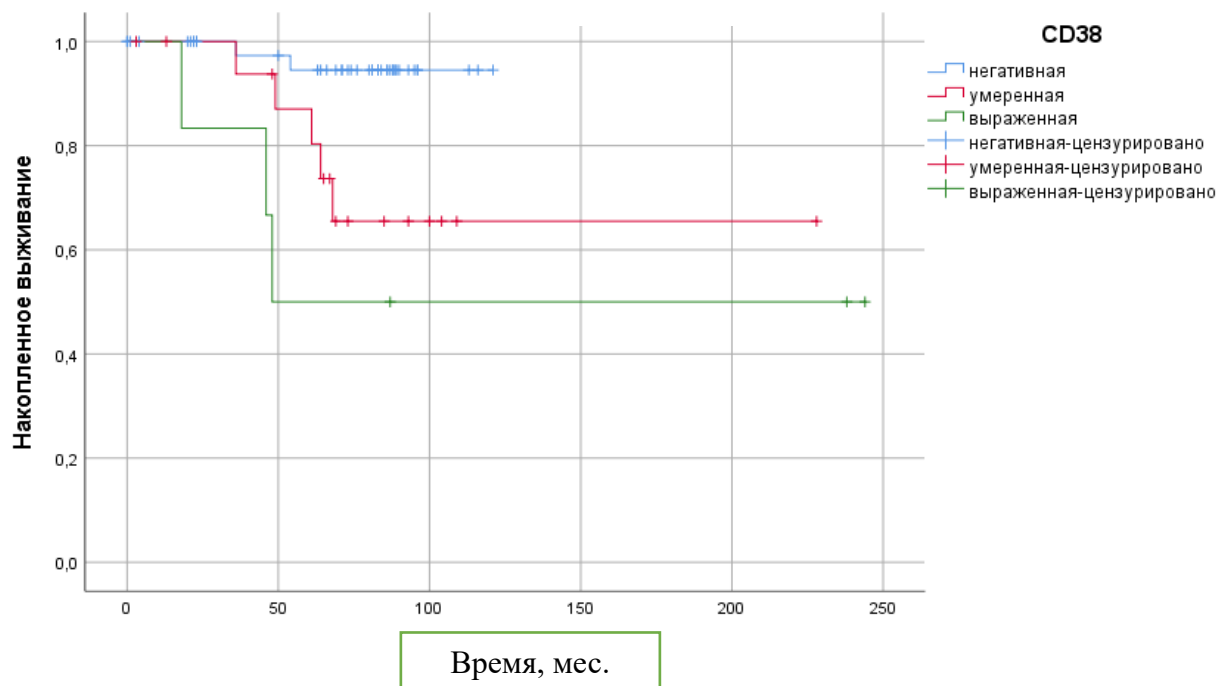
Дальнейший анализ позволил обнаружить схожие показатели ОВ в отношении CD38+ интратуморальных реакций, что представлено в таблице 62. Нарастание инфильтрации CD38-клетками (от слабой/негативной до выраженной) сопровождалось снижением показателей ОВ больных, что наблюдалось с 5-летнего срока (Рисунок 48). И это вполне объяснимо, поскольку выше нами показано, что выраженная CD38+ интратуморальные реакции чаще ассоциированы с распространенной стадией рака нежели с ранней.

Итак, мы видим, что оба типа интратуморальных реакций, как В-клеточные (CD20+), так и плазмочитарные (CD38+), коррелируют с выживаемостью. Это наблюдение довольно неожиданное и последнее обстоятельство, позволяет предположить, что изучение В-клеточных реакций в пределах каждого подтипа рака молочной железы было бы интересными и полезным с точки зрения более детального анализа особенностей интратуморальных реакций и их закономерностей.

**Таблица 62** – Показатели общей выживаемости больных с люминальным подтипом рака молочной железы в зависимости от CD38- интратуморальных реакций

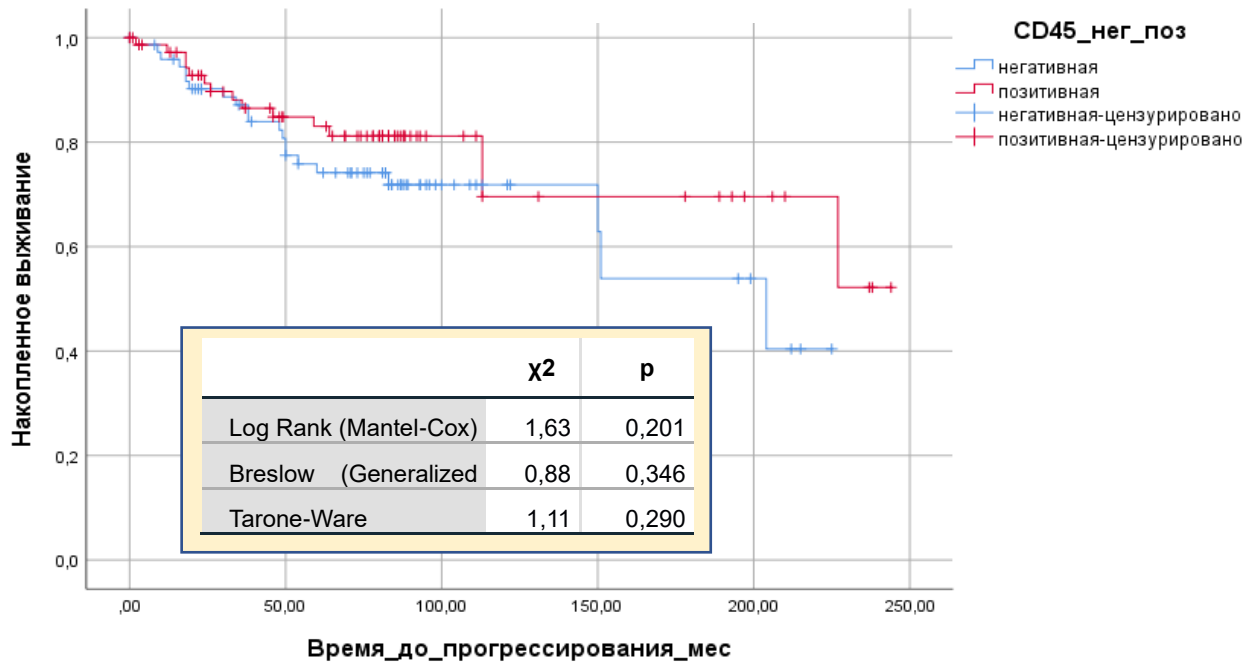
| Тип иммунной реакции | ОВ, М ± m               |               |                | Кол-во больных |      |
|----------------------|-------------------------|---------------|----------------|----------------|------|
|                      | 5-летняя                | 10-летняя     | Средняя        | n              | %    |
| CD38- негативная     | 94,5 ± 3,8 %            | 94,5 ± 3,8 %  | 116,8 ± 2,8 %  | 47             | 66,2 |
|                      | Медиана – не достигнута |               |                |                |      |
| CD38- умеренная      | 87,1 ± 8,6 %            | 65,5 ± 12,7 % | 168,7 ± 21,7 % | 18             | 25,3 |
|                      | Медиана – не достигнута |               |                |                |      |

|                                |                |              |                 |       |     |
|--------------------------------|----------------|--------------|-----------------|-------|-----|
| CD38- выраженная               | 50,0 ± 2,0 %   | 50,0 ± 2,0 % | 140,6 ± 42,3% % | 6     | 8,5 |
|                                | Медиана – 48,0 |              |                 |       |     |
|                                | $\chi^2$       |              |                 | p     |     |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                | 12,645       |                 | 0,002 |     |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                | 13,370       |                 | 0,001 |     |
| Tarone-Ware                    |                | 13,016       |                 | 0,001 |     |



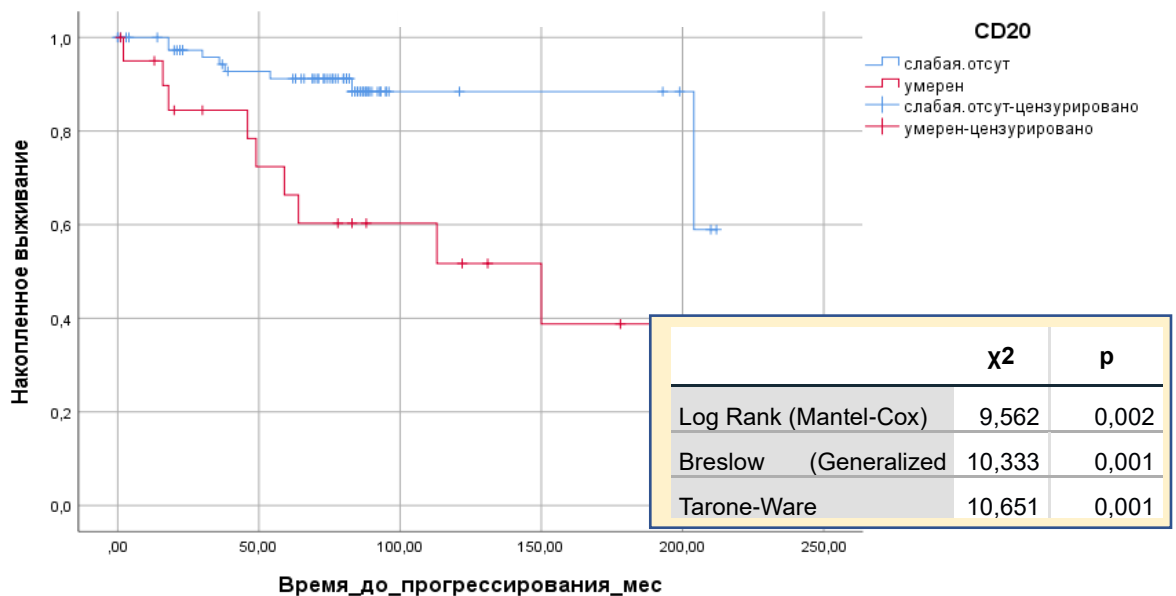
**Рисунок 48** – Выживаемость больных с люминальным подтипом рака молочной железы в зависимости от CD38- интратуморальных реакций

Анализ ВВП по группе в целом обнаружил, что различия в показателях выживаемости касались CD20+, CD38+ интратуморальных реакций. Так же как и ОВ, ВПБ не была связана достоверно с общелейкоцитарной инфильтрацией, что иллюстрирует рисунок 49. Средние показатели составили  $185,8 \pm 13,6\%$  для CD45- позитивной группы,  $155,9 \pm 12,3\%$  для CD45- негативной группы. На первый взгляд, представляется, что больные с CD45 позитивными опухолями имеют преимущество в выживаемости, однако по статистическим тестам такой корреляции не наблюдается. Одним из возможных аргументов может быть то, что в целом по группе преобладали те подтипы рака молочной железы, которые незначительно разнятся по степени инфильтрации, а, как и известно по литературным данным, именно выраженный уровень иммунной реакции по CD45 может служить фактором благоприятного прогноза у больных раком молочной железы.

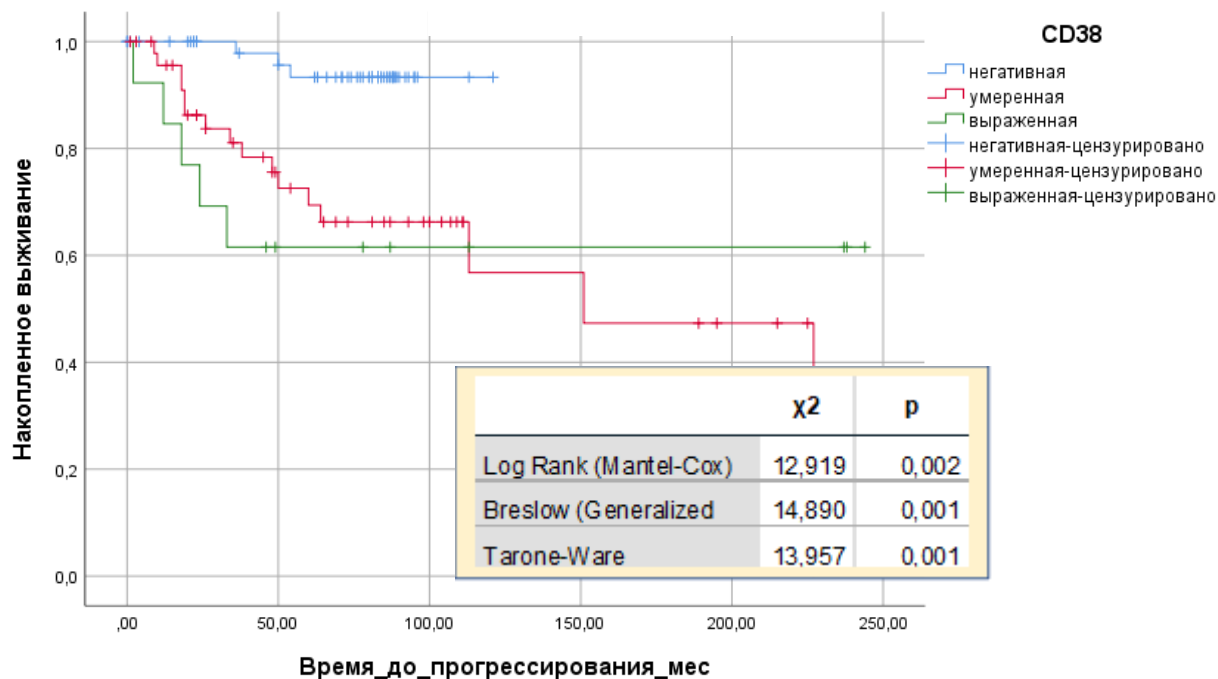


**Рисунок 49** – Выживаемость без прогрессирования больных раком молочной железы в зависимости от CD45+ инфильтрации опухоли

Как мы указали выше, анализ ВВП позволил обнаружить схожие показатели ВВП в отношении CD20+, CD38+ интратуморальных реакций. Умеренный тип CD20+ реакций, также как и нарастание инфильтрации CD38+ клетками (от слабой/негативной до выраженной) выявлялись при более низких показателях выживаемости больных (Рисунки 50 и 51). Результаты анализа представлены в таблице 63.



**Рисунок 50** – Выживаемость без прогрессирования больных раком молочной железы в зависимости от CD20- интратуморальных реакций



**Рисунок 51** – Выживаемость без прогрессирования больных раком молочной железы в зависимости от CD38- интратуморальных реакций

Как можно заметить, разница в показателях ВБП между негативными и позитивными по CD38 опухолями прослеживается, начиная с 2-летнего периода. Прогрессирование на отрезке от года до 5 лет при выраженной, равно как и при умеренной экспрессии явление частое. Для CD20+ реакций мы наблюдаем разницу в показателях ВБП начиная с 4-, 5- летнего периода.

**Таблица 63** – Показатели выживаемости без прогрессирования больных раком молочной железы в зависимости от CD20, CD38- интратуморальных реакций

| Тип иммунной реакции      | ОВ, М ± m               |               |                | Кол-во больных |      |
|---------------------------|-------------------------|---------------|----------------|----------------|------|
|                           | 5-летняя                | 10-летняя     | Средняя        | N              | %    |
| CD20<br>слабая/негативная | 91,2 ± 3,1 %            | 88,4 ± 4,3%   | 190,3 ± 7,1 %  | 79             | 80,0 |
|                           | Медиана – не достигнута |               |                |                |      |
| CD20- умеренная           | 66,3 ± 11,3 %           | 51,7 ± 12,9 % | 124,0 ± 19,1%  | 21             | 20,0 |
|                           | Медиана – 150,0         |               |                |                |      |
| CD38- негативная          | 93,3 ± 3,7 %            | 93,3 ± 3,7 %  | 116,0 ± 2,7 %  | 58             | 48,8 |
|                           | Медиана – не достигнута |               |                |                |      |
| CD38- умеренная           | 72,6 ± 7,1 %            | 56,8 ± 11,0%  | 143,8 ± 17,4 % | 48             | 40,3 |

|                  |                         |               |                |    |      |
|------------------|-------------------------|---------------|----------------|----|------|
|                  | Медиана – 151,0         |               |                |    |      |
| CD38- выраженная | 61,5 ± 13,5 %           | 61,5 ± 13,5 % | 157,0 ± 12,5 % | 13 | 10,9 |
|                  | Медиана – не достигнута |               |                |    |      |

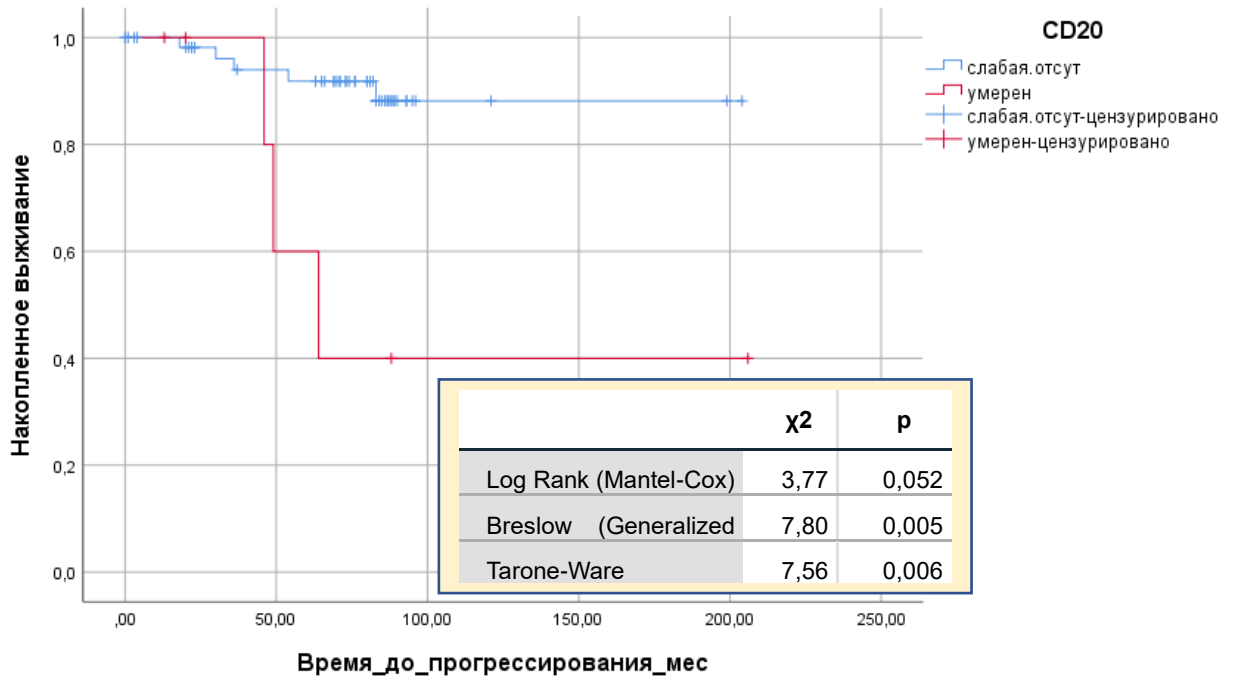
Анализ ВБП в пределах люминального подтипа обнаружил, что при слабых/негативных В-клеточных (CD20+) и плазмоцитарных (CD38+) интра tumorальных реакциях показатели выживаемости были выше (Таблица 64). Это касалось как 5-, так и 10 -летней выживаемости.

**Таблица 64** – Показатели выживаемости без прогрессирования больных раком молочной железы в зависимости от CD20-, CD38- интра tumorальных реакций

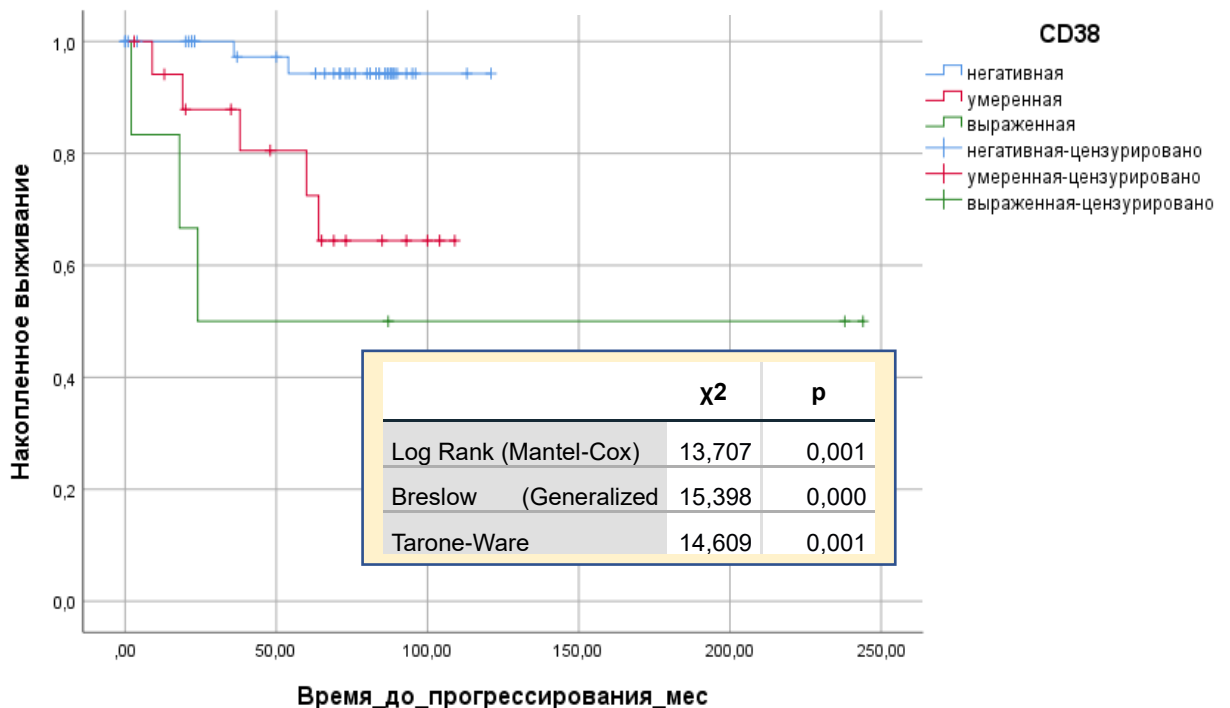
| Тип иммунной реакции      | ВБП, М ± m              |               |                | Кол-во больных |      |
|---------------------------|-------------------------|---------------|----------------|----------------|------|
|                           | 5-летняя                | 10-летняя     | Средняя        | N              | %    |
| CD20<br>слабая/негативная | 91,8 ± 3,9 %            | 88,2 ± 4,3%   | 185,7 ± 8,5%   | 59             | 89,3 |
|                           | Медиана – не достигнута |               |                |                |      |
| CD20- умеренная           | 60,0 ± 21,9 %           | 40,0 ± 21,9 % | 114,2 ± 33,6%  | 7              | 10,4 |
|                           | Медиана – 64,0          |               |                |                |      |
| CD38- негативная          | 94,3 ± 3,9 %            | 94,3 ± 3,9 %  | 116,0 ± 2,9 %  | 47             | 66,2 |
|                           | Медиана – не достигнута |               |                |                |      |
| CD38- умеренная           | 72,5 ± 11,9 %           | 64,4 ± 13,0%  | 84,7 ± 9,1 %   | 18             | 25,3 |
|                           | Медиана – 151,0         |               |                |                |      |
| CD38- выраженная          | 50,0 ± 20,4 %           | 61,5 ± 13,5 % | 129,3 ± 46,8 % | 6              | 8,5  |
|                           | Медиана – 24,0          |               |                |                |      |

Результаты анализа по CD20+, CD38+ интра tumorальным реакциям демонстрирует график выживаемости, представленный на рисунке 52, рисунке 53. Принимая во внимание результаты оценки характера местных иммунных реакций в зависимости от клинко-морфологических характеристик опухоли, можно предположить, что, вероятно, при люминальном подтипе полученные данные в отношении CD20+, CD38+ инфильтрации отражают ассоциацию с клинической стадией.





**Рисунок 52** – Выживаемость без прогрессирования больных раком молочной железы люминального подтипа в зависимости от CD20- интратуморальных реакций



**Рисунок 53** – Выживаемость без прогрессирования больных раком молочной железы люминального подтипа в зависимости от CD38- интратуморальных реакций

Резюмируя данный раздел работы, обратим внимание, что в целом CD45+ интратуморальные реакции не имели связи с показателями общей и выживаемости без прогрессирования, также как и Т-клеточные реакции. Вместе с тем эти данные позволяют вспомнить что степень CD45+ инфильтрации опухоли определяется подтипом рака молочной железы. По литературным данным, выраженные CD45+ реакции наблюдаются преимущественно при трижды негативном раке. В нашем исследовании доля последнего была вероятно невелика. Это может отчасти служить объяснением полученных результатов.

Считаем необходимым подчеркнуть, что хотя нам и не удалось выявить четкой корреляции CD45+ интратуморальных реакций с выживаемостью, тем не менее, выраженный уровень CD45+ реакции достоверно был связан с распространенностью опухолевого процесса и регионарным метастазированием, что продемонстрировано в соответствующей главе нашей работы. Также отметим аналогичную связь Т-клеточных CD3+, CD8+ реакций со стадией и размерами первичной опухоли. Как мы установили, на ранних стадиях рака преимущественно преобладали Т-клеточные реакции, тогда как на более поздних стадиях мы наблюдали В-клеточные типы интратуморальных реакций. И это нашло отражение при анализе показателей ОВ и ВБП: слабый характер как CD20+, так и CD38+ клеточных реакций наблюдался при более высокой выживаемости. При этом, следует подчеркнуть, что данная взаимосвязь прослеживалась при люминальном подтипе рака молочной железы, которая с одной стороны неожиданна, а с другой стороны дает основание для дальнейших исследований В-клеточных реакций для более детального анализа для каждого из подтипов.

### **3.5 Характеристика и взаимосвязь миелокариоцитов с клинико-морфологическими характеристиками рака молочной железы**

Первым этапом выполнена оценка средних значений показателей миелограмм в целом по группе и сопоставление их с нормой. Данные представлены в таблице 65. Среднее количество миелокариоцитов составило 78,2%, что оказалось выше нормы (58,5±8,9 тыс\мкл). В 74,7% (n = 71) нами отмечено снижение клеточности костного мозга. В остальных случаях (24,2%, n = 23) число миелокариоцитов находилось в пределах нормы.

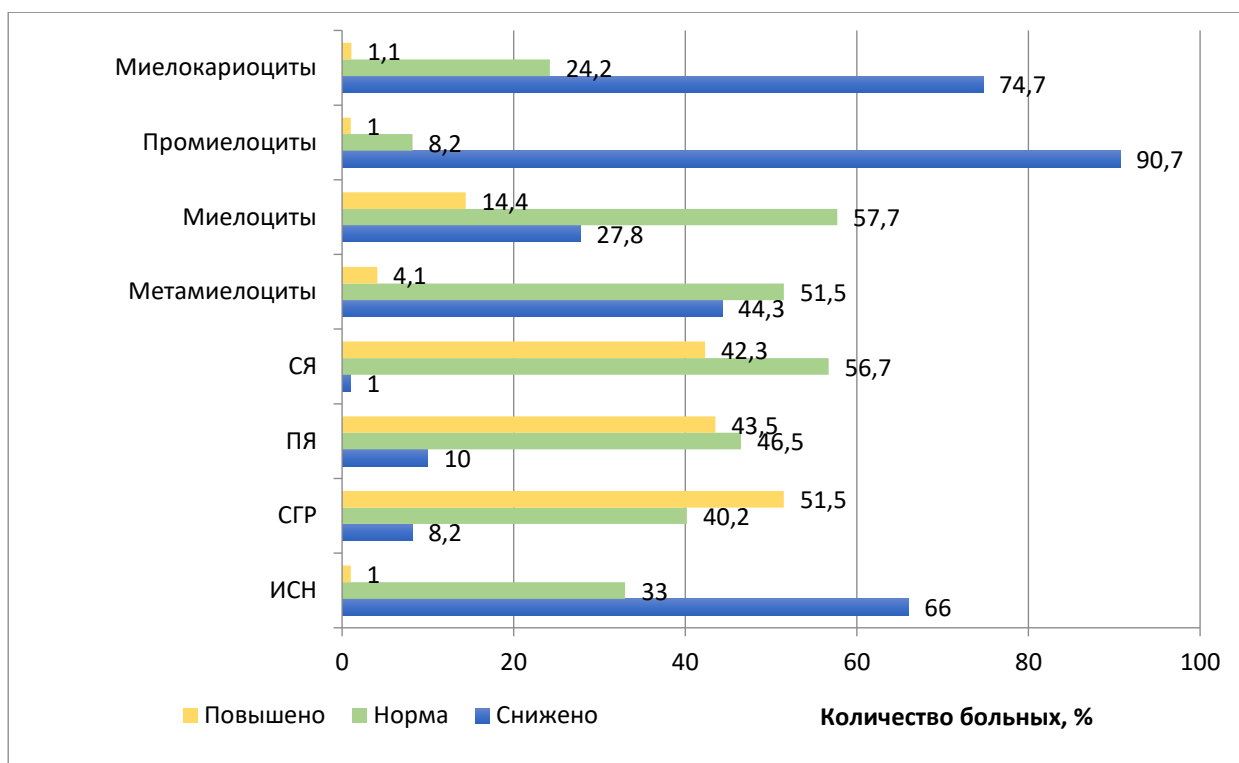
**Таблица 65** – Средние значения показателей миелограмм при раке молочной железы

| Показатель              | N  | Среднее | Ст. ошибка | Ст. отклонение |
|-------------------------|----|---------|------------|----------------|
| Миелокариоциты, тыс\мкл | 94 | 78,2021 | 5,81480    | 56,37653       |
| Промиелоциты, %         | 97 | ,3464   | ,06794     | ,66912         |

|                                      |    |         |        |         |
|--------------------------------------|----|---------|--------|---------|
| Нейтрофильные миелоциты, %           | 97 | 8,9144  | ,33427 | 3,29213 |
| Нейтрофильные метамиелоциты, %       | 97 | 8,5237  | ,31091 | 3,06209 |
| Палочкоядерные нейтрофилы, %         | 97 | 23,1876 | ,53624 | 5,28134 |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %        | 97 | 23,6680 | ,75834 | 7,46876 |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка | 97 | 66,5856 | ,95094 | 9,36570 |
| Индекс созревания нейтрофилов, %     | 97 | ,3928   | ,01723 | ,16971  |
| Моноциты, %                          | 97 | 3,0423  | ,12465 | 1,22762 |
| Лимфоциты, %                         | 97 | 11,7381 | ,57011 | 5,61496 |
| Плазматические клетки, %             | 97 | ,7258   | ,05453 | ,53702  |
| Базофильные нормобласты, %           | 97 | ,6763   | ,04659 | ,45889  |
| Полихроматофильные нормобласты, %    | 97 | 8,0948  | ,39218 | 3,86257 |
| Оксифильные нормобласты, %           | 97 | 7,2495  | ,29541 | 2,90944 |
| Сумма клеток эритроидного ростка     | 97 | 16,0206 | ,64116 | 6,31468 |
| Индекс созревания эритроцитов        | 97 | ,9680   | ,00476 | ,04687  |
| Лейкоэритробластическое соотношение  | 97 | 5,8804  | ,56498 | 5,56437 |

Обращало внимание снижение количества миелоидных предшественников: промиелоцитов – 0,3% (при норме 2,5%), миелоцитов – 8,9% (при норме 9,6%), метамиелоцитов – 8,5% (при норме 11,5%) (Рисунок 54). Снижение уровня промиелоцитов отмечено в 90,7 % случаев (n = 88), миелоцитов – в 27,8% (n = 27), метамиелоцитов – в 44,3% (n = 43) образцов.

Содержание зрелых форм гранулоцитарного ростка были следующим: палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы составили 23,1% (при норме 18,2%) и 23,6% (при норме 18,6%), соответственно. В 10% (n = 10) содержание палочкоядерных нейтрофилов было сниженным, почти в равном проценте случаев было нормальным или повышенным, 46,4% (n = 45) и 43,3% (n = 42), соответственно (Рисунок 54). Количество сегментоядерных нейтрофилов преимущественно было в норме, что составило 56,7% (n = 55) случаев, повышенные показатели отмечены в 42,3% образцов (n = 41).



СЯ – сегментоядерные нейтрофилы, ПЯ – палочкоядерные нейтрофилы, СГР – сумма клеток гранулоцитарного роста, ИСН – индекс созревания нейтрофилов

**Рисунок 54** – Показатели гранулоцитарного роста при раке молочной железы

Сумма клеток гранулоцитарного роста в 40,2% (n=39) случаях была в пределах нормы, в 51,5% (n = 50) наблюдений отмечено ее увеличение. Индекс созревания нейтрофилов в 33,0% (n = 32) наблюдений был в норме, а в 66,0% (n = 64) – снижен.

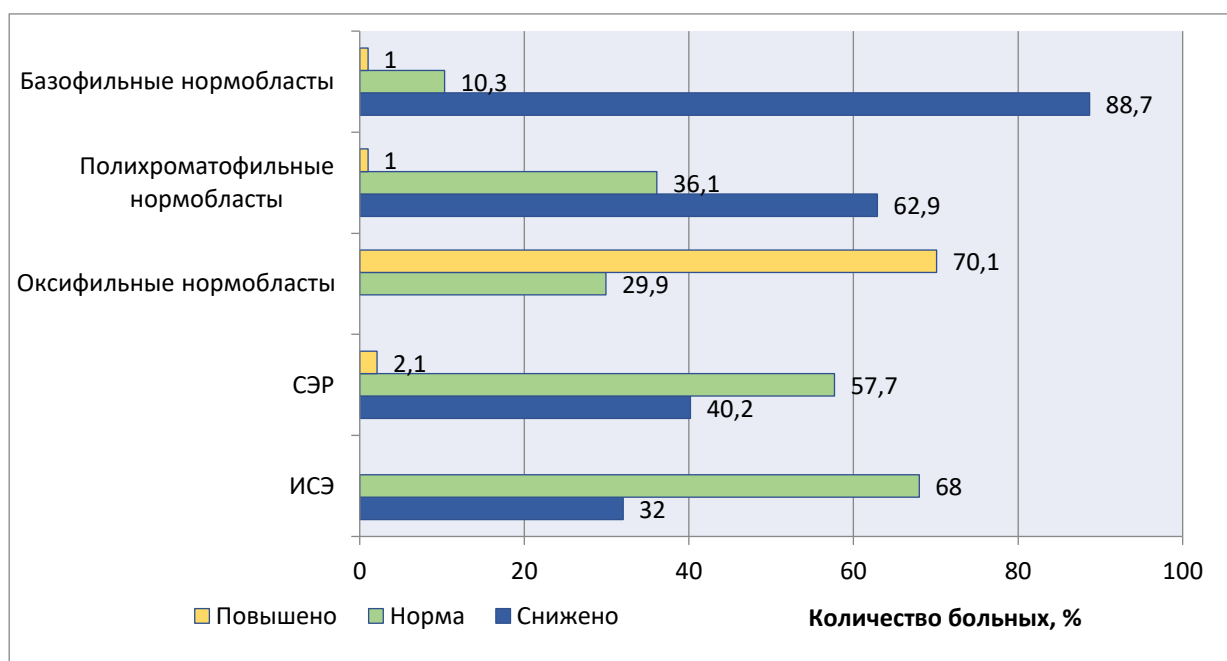
При анализе эритроидного роста в целом по группе получены следующие данные. Количество базофильных и полихроматофильных нормобластов оказались снижены, составив, соответственно, 0,69% (при норме 3,0%) и 8,0% (при норме 12,9%) (Рисунок 55). Сниженный уровень базофильных нормобластов наблюдался в подавляющем числе случаев (88,7%, n = 86), а полихроматофильных более чем в половине наблюдений (62,9%, n = 61). В остальных образцах их содержание было в норме, и лишь в одном случае ее превышало.

При анализе эритроидного роста установлено, что уровень оксифильных нормобластов был повышен и составил в среднем 7,2% при норме 3,2% (Рисунок 55). Повышение их числа мы наблюдали в 70,1% (n = 68) образцов костного мозга. Сумма всех клеток эритроидного роста в 57,7% (n = 56) случаев не выходила за пределы нормы, а в 40,2% (n = 39) наблюдений оказалась сниженной. Среднее значение составило 16,0% при норме 20,5%. Индекс созревания эритроцитов в среднем был повышен (0,9 при норме 0,8), что отмечено в 68,0% (n = 66) образцов.

Лейко-эритробластическое соотношение почти в равном количестве случаев было либо нормальным (53,6%), либо повышенным (45,4%) и составило в среднем 5,8.

Моноциты в среднем по группе были повышены и составили 3,0% (при норме 1,9%). Их повышение отмечено в 37,1% (n = 36) случаев, тогда как в 59,8% (n = 58) содержание моноцитов было в норме.

Уровень лимфоцитов в большинстве образцов был в пределах нормы (72,9%, n = 70), и в среднем составил 11,7% (при норме 9,0%). Повышенные уровни лимфоцитов зарегистрированы в 24% (n = 23) образцов костного мозга, а в остальных случаях их уровень был снижен. Содержание плазматических клеток в большинстве образцов было нормальным, что отмечено в 89,7% (n = 87). Повышенные уровни наблюдались в 5,2% (n = 5).



СЭР – сумма клеток эритроидного роста, ИСЭ – индекс созревания эритроцитов

**Рисунок 55** – Показатели эритроидного роста при раке молочной железы

Таким образом, в целом по группе отмечено, что в большинстве случаев имелось снижение уровня промиелоцитов, средние значения зрелых форм гранулоцитарного роста незначительно превышали норму. Мы наблюдали изменение пропорции эритроидных предшественников. Количество базофильных и полихроматофильных нормобластов оказались снижено, тогда как число оксифильных форм вдвое превышало норму. Уровни моноцитов превышали норму, что отмечено в трети образцов. Содержание лимфоцитов и плазмоцитов было нормальным.

Следующим шагом стало сравнение морфологически выявляемых клеточных типов костного мозга со стадией опухоли, ее размерами (Т), статусом лимфатических узлов (N), а также гистологическим типом и степенью ее дифференцировки. При анализе взаимосвязи показателей миелограмм со стадией опухоли обращало внимание, что при I стадии уровни миелоидных предшественников (промиелоцитов и миелоцитов) повышены в сравнении со II стадией,  $p = 0,05$  и  $p = 0,004$ . Данные представлены в таблице 66. Кроме того, несколько выше при первой стадии оказалась клеточность костного мозга: 88,0 тыс\мкл против 67,0 тыс\мкл,  $p = 0,06$ . Между I и III стадиями различия касались уровня метамиелоцитов ( $p = 0,05$ ) и суммарного количества клеток гранулоцитарного ростка ( $p = 0,03$ ): их средние значения были больше при начальной стадии рака молочной железы. А вот уровни базофильных нормобластов оказались повышены при III стадии,  $p = 0,04$  (Таблица 67).

**Таблица 66** – Взаимосвязь показателей миелограмм с I и II стадиями рака молочной железы

| Показатель                           | Стадия | n  | М       | Станд.     |          | P      |
|--------------------------------------|--------|----|---------|------------|----------|--------|
|                                      |        |    |         | отклонение | m        |        |
| Миелокарициты, тыс\мкл               | 1,00   | 30 | 88,0000 | 62,57685   | 11,42492 | 0,06   |
|                                      | 2,00   | 56 | 67,0357 | 41,77775   | 5,58279  |        |
| Промиелоциты, %                      | 1,00   | 31 | ,5452   | 1,08131    | ,19421   | 0,05   |
|                                      | 2,00   | 58 | ,2534   | ,31911     | ,04190   |        |
| Нейтрофильные миелоциты, %           | 1,00   | 31 | 10,1419 | 3,24189    | ,58226   | 0,004  |
|                                      | 2,00   | 58 | 8,1086  | 3,02552    | ,39727   |        |
| Нейтрофильные метамиелоциты, %       | 1,00   | 31 | 9,1194  | 2,91438    | ,52344   | > 0,05 |
|                                      | 2,00   | 58 | 8,4259  | 3,22417    | ,42335   |        |
| Палочкоядерные нейтрофилы, %         | 1,00   | 31 | 22,8290 | 4,79925    | ,86197   | > 0,05 |
|                                      | 2,00   | 58 | 23,5500 | 5,49702    | ,72179   |        |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %        | 1,00   | 31 | 22,6645 | 6,83060    | 1,22681  | > 0,05 |
|                                      | 2,00   | 58 | 24,6862 | 7,76218    | 1,01922  |        |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка | 1,00   | 31 | 67,5645 | 6,22364    | 1,11780  | > 0,05 |
|                                      | 2,00   | 58 | 66,6466 | 11,03631   | 1,44914  |        |
| Индекс созревания нейтрофилов, %     | 1,00   | 31 | ,4419   | ,17277     | ,03103   | 0,02   |
|                                      | 2,00   | 58 | ,3603   | ,15095     | ,01982   |        |
| Моноциты, %                          | 1,00   | 31 | 2,8903  | 1,13940    | ,20464   | > 0,05 |
|                                      | 2,00   | 58 | 3,1707  | 1,30693    | ,17161   |        |

|  |      |    |         |         |         |        |
|--|------|----|---------|---------|---------|--------|
| Лимфоциты, %                           | 1,00 | 31 | 11,0645 | 5,82120 | 1,04552 | > 0,05 |
|  | 2,00 | 58 | 12,0241 | 5,66814 | ,74426  |        |
| Плазматические клетки,<br>%            | 1,00 | 31 | ,7581   | ,49516  | ,08893  | > 0,05 |
|  | 2,00 | 58 | ,6638   | ,51867  | ,06810  |        |
| Базофильные<br>нормобласты, %          | 1,00 | 31 | ,6548   | ,41299  | ,07417  | > 0,05 |
|  | 2,00 | 58 | ,6397   | ,45728  | ,06004  |        |
| Полихроматофильные<br>нормобласты, %   | 1,00 | 31 | 8,1968  | 3,69743 | ,66408  | > 0,05 |
|  | 2,00 | 58 | 7,7362  | 3,97945 | ,52253  |        |
| Оксифильные<br>нормобласты, %          | 1,00 | 31 | 7,3839  | 2,96896 | ,53324  | > 0,05 |
|  | 2,00 | 58 | 6,9534  | 2,93307 | ,38513  |        |
| Сумма клеток<br>эритроидного ростка    | 1,00 | 31 | 16,2355 | 6,33291 | 1,13742 | > 0,05 |
|  | 2,00 | 58 | 15,3293 | 6,33780 | ,83219  |        |
| Индекс созревания<br>эритроцитов       | 1,00 | 31 | ,9742   | ,04448  | ,00799  | > 0,05 |
|  | 2,00 | 58 | ,9672   | ,04734  | ,00622  |        |
| Лейкоэритробластическое<br>соотношение | 1,00 | 31 | 6,0871  | 6,97413 | 1,25259 | > 0,05 |
|  | 2,00 | 58 | 6,1190  | 5,04389 | ,66230  |        |

**Таблица 67** – Взаимосвязь показателей миелограмм с I и III стадиями рака молочной железы

| Показатель                              | Стадия | n  | M        | Ст. откл. | m       | P      |
|---|--------|----|----------|-----------|---------|--------|
| Миелокарициты,<br>тыс/мкл               | 1,00   | 30 | 88,0000  | 62,57685  | 11,4249 | > 0,05 |
|   | 3,00   | 8  | 119,6250 | 94,44414  | 33,3910 |        |
| Промиелоциты, %                         | 1,00   | 31 | ,5452    | 1,08131   | ,19421  | > 0,05 |
|   | 3,00   | 8  | ,2500    | ,20702    | ,07319  |        |
| Нейтрофильные<br>миелоциты, %           | 1,00   | 31 | 10,1419  | 3,24189   | ,58226  |        |
|   | 3,00   | 8  | 10,0000  | 3,95691   | 1,39898 |        |
| Нейтрофильные<br>метамиелоциты, %       | 1,00   | 31 | 9,1194   | 2,91438   | ,52344  | 0,05   |
|   | 3,00   | 8  | 6,9250   | 1,72358   | ,60938  |        |
| Палочкоядерные<br>нейтрофилы, %         | 1,00   | 31 | 22,8290  | 4,79925   | ,86197  | > 0,05 |
|   | 3,00   | 8  | 21,9500  | 5,86101   | 2,07218 |        |
| Сегментоядерные<br>Нейтрофилы, %        | 1,00   | 31 | 22,6645  | 6,83060   | 1,22681 | > 0,05 |
|   | 3,00   | 8  | 20,1750  | 6,88803   | 2,43529 |        |
| Сумма клеток<br>гранулоцитарного ростка | 1,00   | 31 | 67,5645  | 6,22364   | 1,11780 | 0,03   |
|   | 3,00   | 8  | 62,3500  | 4,51505   | 1,59631 |        |

|                                     |      |    |         |         |         |        |
|-------------------------------------|------|----|---------|---------|---------|--------|
| Индекс созревания нейтрофилов, %    | 1,00 | 31 | ,4419   | ,17277  | ,03103  | > 0,05 |
|                                     | 3,00 | 8  | ,4375   | ,24458  | ,08647  |        |
| Моноциты, %                         | 1,00 | 31 | 2,8903  | 1,13940 | ,20464  | > 0,05 |
|                                     | 3,00 | 8  | 2,7000  | ,90711  | ,32071  |        |
| Лимфоциты, %                        | 1,00 | 31 | 11,0645 | 5,82120 | 1,04552 | > 0,05 |
|                                     | 3,00 | 8  | 12,2750 | 4,74605 | 1,67798 |        |
| Плазматические клетки, %            | 1,00 | 31 | ,7581   | ,49516  | ,08893  |        |
|                                     | 3,00 | 8  | 1,0500  | ,74642  | ,26390  |        |
| Базофильные нормобласты, %          | 1,00 | 31 | ,6548   | ,41299  | ,07417  | 0,04   |
|                                     | 3,00 | 8  | 1,0250  | ,54968  | ,19434  |        |
| Полихроматофильные нормобласты, %   | 1,00 | 31 | 8,1968  | 3,69743 | ,66408  | > 0,05 |
|                                     | 3,00 | 8  | 10,3000 | 3,22490 | 1,14018 |        |
| Оксифильные нормобласты, %          | 1,00 | 31 | 7,3839  | 2,96896 | ,53324  | > 0,05 |
|                                     | 3,00 | 8  | 8,8750  | 2,10560 | ,74444  |        |
| Сумма клеток эритроидного ростка    | 1,00 | 31 | 16,2355 | 6,33291 | 1,13742 | > 0,05 |
|                                     | 3,00 | 8  | 20,2000 | 4,87560 | 1,72378 |        |
| Индекс созревания эритроцитов       | 1,00 | 31 | ,9742   | ,04448  | ,00799  | > 0,05 |
|                                     | 3,00 | 8  | ,9500   | ,05345  | ,01890  |        |
| Лейкоэритробластическое соотношение | 1,00 | 31 | 6,0871  | 6,97413 | 1,25259 | > 0,05 |
|                                     | 3,00 | 8  | 3,3500  | 1,01700 | ,35956  |        |

Далее проанализированы параметры миелограммы в зависимости от размеров первичной опухоли – Т категория. Единственный параметр миелограммы, связанный с размером опухоли, оказался уровень миелоидных предшественников, а именно миелоцитов, содержание которых было достоверно больше при Т1 стадии,  $p = 0,001$  (Таблица 68). Также при Т1 стадии более высоким выглядел индекс созревания нейтрофилов,  $p = 0,01$ .

**Таблица 68** – Взаимосвязь показателей миелограмм с размером опухоли (индекс Т)

| Показатель             | Т    | n  | М       | Станд. отклонение | m       | Р      |
|------------------------|------|----|---------|-------------------|---------|--------|
| Миелокарициты, тыс\мкл | 1,00 | 46 | 85,2391 | 56,39156          | 8,31448 | > 0,05 |
|                        | 2,00 | 47 | 72,1702 | 56,50676          | 8,24236 |        |
| Промиелоциты, %        | 1,00 | 47 | ,4532   | ,89536            | ,13060  | > 0,05 |
|                        | 2,00 | 49 | ,2510   | ,32283            | ,04612  |        |



|   |      |    |         |          |         |        |
|---|------|----|---------|----------|---------|--------|
| Нейтрофильные<br>миелоциты, %           | 1,00 | 47 | 10,0809 | 3,25407  | ,47465  | 0,001  |
|   | 2,00 | 49 | 7,8510  | 2,98134  | ,42591  |        |
| Нейтрофильные<br>метамиелоциты, %       | 1,00 | 47 | 8,7085  | 2,80720  | ,40947  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | 8,3367  | 3,33571  | ,47653  |        |
| Палочкоядерные<br>нейтрофилы, %         | 1,00 | 47 | 22,7298 | 4,76531  | ,69509  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | 23,5980 | 5,79693  | ,82813  |        |
| Сегментоядерные<br>Нейтрофилы, %        | 1,00 | 47 | 22,3660 | 6,28031  | ,91608  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | 24,7347 | 8,32360  | 1,18909 |        |
| Сумма клеток<br>гранулоцитарного ростка | 1,00 | 47 | 65,5128 | 11,50634 | 1,67837 | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | 67,4796 | 6,76008  | ,96573  |        |
| Индекс созревания<br>нейтрофилов, %     | 1,00 | 47 | ,4362   | ,17745   | ,02588  | 0,01   |
|   | 2,00 | 49 | ,3531   | ,15425   | ,02204  |        |
| Моноциты, %                             | 1,00 | 47 | 3,0553  | 1,17192  | ,17094  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | 2,9857  | 1,26392  | ,18056  |        |
| Лимфоциты, %                            | 1,00 | 47 | 11,2809 | 5,10442  | ,74456  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | 12,2082 | 6,13242  | ,87606  |        |
| Плазматические клетки,<br>%             | 1,00 | 47 | ,8149   | ,56951   | ,08307  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | ,6510   | ,49671   | ,07096  |        |
| Базофильные<br>нормобласты, %           | 1,00 | 47 | ,6702   | ,42371   | ,06180  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | ,6837   | ,49889   | ,07127  |        |
| Полихроматофильные<br>нормобласты, %    | 1,00 | 47 | 8,6021  | 3,66372  | ,53441  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | 7,6469  | 4,05509  | ,57930  |        |
| Оксифильные<br>нормобласты, %           | 1,00 | 47 | 7,3170  | 2,70365  | ,39437  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | 7,2551  | 3,11000  | ,44429  |        |
| Сумма клеток<br>эритроидного<br>ростка  | 1,00 | 47 | 16,5894 | 5,92828  | ,86473  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | 15,5857 | 6,70435  | ,95776  |        |
| Индекс созревания<br>эритроцитов        | 1,00 | 47 | ,9681   | ,04712   | ,00687  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | ,9694   | ,04657   | ,00665  |        |
| Лейкоэритробластическое<br>соотношение  | 1,00 | 47 | 5,4851  | 5,78420  | ,84371  | > 0,05 |
|   | 2,00 | 49 | 6,2388  | 5,43652  | ,77665  |        |

При анализе по таблицам сопряженности установлено, что повышенные уровни миелоцитов при T1 стадии наблюдались значительно чаще (23,4%), чем при размерах опухоли, соответствующим T2 (6,1%), что представлено в таблице 69.

**Таблица 69** – Взаимосвязь миелоцитов с размером опухоли (индекс T)

| Т индекс                    |   | Миелоциты |        |          | Всего   |
|-----------------------------|---|-----------|--------|----------|---------|
|                             |   | Снижены   | Норма  | Повышены |         |
| T1                          | n | 8         | 28     | 11       | 47      |
|                             | % | 17,00%    | 59,60% | 23,40%   | 100,00% |
| T2-3                        | n | 19        | 28     | 3        | 49      |
|                             | % | 37,70%    | 57,10% | 6,10%    | 100,00% |
| Всего                       | n | 27        | 56     | 14       | 97      |
|                             | % | 27,80%    | 57,70% | 14,40%   | 100,00% |
| $p = 0,02, \chi^2 = 10,958$ |   |           |        |          |         |

Сравнение показателей миелограмм в зависимости от статуса лимфатических узлов (N0 и N+) не выявило различий. Аналогично не наблюдали различий между гистологическими типами рака, за исключением количества миелокариоцитов, количество которых было выше при дольковом раке (98,2 тыс\мкл (n = 14) против 69,4 тыс\мкл (n = 68),  $p = 0,04$ ) при протоковом раке.

Степень злокачественности опухоли была связана с количеством миелокариоцитов, содержание которых оказалось выше при 1 степени (156,8 тыс\мкл (n = 5)) в сравнении со 2 степенью (75,3 тыс\мкл (n = 63),  $p = 0,003$ ) и 3 степенью (71,5 тыс\мкл (n = 12),  $p = 0,03$ ). По таблицам сопряженности мы отметили, что при 3 степени злокачественности случаев повышенного и нормального числа миелокариоцитов не наблюдалось (Таблица 70).

**Таблица 70** – Взаимосвязь миелокариоцитов со степенью злокачественности опухоли

| Степень злокачественности |   | Миелокариоциты, $p = 0,04, \chi^2 = 10,363$ |       |          | Всего  |
|---------------------------|---|---|-------|----------|--------|
|                           |   | Снижены                                     | Норма | Повышены |        |
| 1                         | n | 2   | 3     | 0        | 5      |
|                           | % | 40,0%                                       | 60,0% | 0,0%     | 100,0% |
| 2                         | n | 53  | 9     | 1        | 63     |
|                           | % | 84,1%                                       | 14,3% | 1,6%     | 100,0% |
| 3                         | n | 12  | 0     | 0        | 12     |
|                           | % | 100,0%                                      | 0,0%  | 0,0%     | 100,0% |
| Всего                     | n | 67  | 12    | 1        | 80     |
|                           | % | 83,8%                                       | 15,0% | 1,3%     | 100,0% |

Далее выполнено сопоставление показателей миелограмм с молекулярно-биологическим подтипом рака молочной железы (Таблица 71). Не выявлено достоверных взаимосвязей между люминальным и нелюминальными подтипами ни по одному из параметров. Достоверные различия нами отмечены при сравнении в пределах нелюминальных подтипов. Количество миелокарицитов при трижды негативном подтипе было увеличено в сравнении с Erb++ подтипом и составило 95,6 тыс\мкл против 59,1 тыс\мкл,  $p = 0,03$ . Отмечено изменение пропорции эритроидных предшественников: нарастание уровня полихроматофильных ( $p = 0,07$ ) и оксифильных ( $p = 0,02$ ) нормобластов при трижды негативном подтипе в сравнении с Erb++ подтипом, 9,1% и 8,3% против 6,6% и 5,8%, соответственно. Кроме того, сумма клеток эритроидного ростка при трижды негативном подтипе была больше,  $p = 0,02$ , что нашло отражение в изменении лейко-эритробластического соотношения.

**Таблица 71** – Взаимосвязь показателей миелограмм с суррогатным подтипом рака молочной железы

| Показатель                           | Подтип | n  | М       | Станд.     |         | p      |
|--------------------------------------|--------|----|---------|------------|---------|--------|
|                                      |        |    |         | отклонение | m       |        |
| Миелокарициты, тыс\мкл               | Erb++  | 13 | 59,1538 | 31,93443   | 8,85702 | 0,03   |
|                                      | ТНРМЖ  | 15 | 95,6667 | 50,75525   | 13,1049 |        |
| Промиелоциты, %                      | Erb++  | 14 | ,3857   | ,46716     | ,12485  | > 0,05 |
|                                      | ТНРМЖ  | 15 | ,3000   | ,38359     | ,09904  |        |
| Нейтрофильные миелоциты, %           | Erb++  | 14 | 8,6429  | 3,07664    | ,82227  | > 0,05 |
|                                      | ТНРМЖ  | 15 | 8,7133  | 3,15614    | ,81491  |        |
| Нейтрофильные метамиелоциты, %       | Erb++  | 14 | 7,8286  | 2,85103    | ,76197  | > 0,05 |
|                                      | ТНРМЖ  | 15 | 8,6467  | 2,82865    | ,73035  |        |
| Палочкоядерные нейтрофилы, %         | Erb++  | 14 | 22,2571 | 5,56386    | 1,48700 | > 0,05 |
|                                      | ТНРМЖ  | 15 | 25,4733 | 4,70265    | 1,21422 |        |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %        | Erb++  | 14 | 26,1571 | 7,94255    | 2,12274 | > 0,05 |
|                                      | ТНРМЖ  | 15 | 21,2667 | 6,82377    | 1,76189 |        |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка | Erb++  | 14 | 67,4929 | 5,86469    | 1,56740 | > 0,05 |
|                                      | ТНРМЖ  | 15 | 62,8933 | 17,97043   | 4,63995 |        |
| Индекс созревания нейтрофилов, %     | Erb++  | 14 | ,3429   | ,15549     | ,04156  | > 0,05 |
|                                      | ТНРМЖ  | 15 | ,3933   | ,15337     | ,03960  |        |
| Моноциты, %                          | Erb++  | 14 | 3,1714  | 1,72378    | ,46070  | > 0,05 |
|                                      | ТНРМЖ  | 15 | 2,8467  | ,90464     | ,23358  |        |
| Лимфоциты, %                         | Erb++  | 14 | 13,5857 | 7,72985    | 2,06589 | > 0,05 |
|                                      | ТНРМЖ  | 15 | 10,2800 | 3,60777    | ,93152  |        |

|  |       |    |         |         |         |        |
|--|-------|----|---------|---------|---------|--------|
| Плазматические клетки,<br>%            | Erb++ | 14 | ,8429   | ,53882  | ,14401  | > 0,05 |
|  | ТНРМЖ | 15 | ,6867   | ,56678  | ,14634  |        |
| Базофильные<br>нормобласты, %          | Erb++ | 14 | ,6000   | ,42967  | ,11483  | > 0,05 |
|  | ТНРМЖ | 15 | ,7267   | ,37123  | ,09585  |        |
| Полихроматофильные<br>нормобласты, %   | Erb++ | 14 | 6,6786  | 3,27794 | ,87607  | 0,07   |
|  | ТНРМЖ | 15 | 9,1867  | 3,99605 | 1,03177 |        |
| Оксифильные<br>нормобласты, %          | Erb++ | 14 | 5,8500  | 2,72220 | ,72754  | 0,02   |
|  | ТНРМЖ | 15 | 8,3467  | 2,91740 | ,75327  |        |
| Сумма клеток<br>эритроидного ростка    | Erb++ | 14 | 13,1286 | 6,13921 | 1,64077 | 0,02   |
|  | ТНРМЖ | 15 | 18,2600 | 5,70110 | 1,47202 |        |
| Индекс созревания<br>эритроцитов       | Erb++ | 14 | ,9643   | ,04972  | ,01329  | > 0,05 |
|  | ТНРМЖ | 15 | ,9667   | ,04880  | ,01260  |        |
| Лейкоэритробластическое<br>соотношение | Erb++ | 14 | 8,5643  | 8,60908 | 2,30087 | 0,07   |
|  | ТНРМЖ | 15 | 4,2400  | 2,13602 | ,55152  |        |

ТНРМЖ – трижды негативный рак молочной железы

Резюмируя, можно отметить, что на данном этапе работы морфологические изменения его клеточного состава по сравнению с нормой, во-вторых, установить взаимосвязи с отдельными клинико-морфологическими параметрами опухоли.

В целом по группе отмечено снижение уровня промиелоцитов в большинстве случаев, средние значения зрелых форм гранулоцитарного ростка незначительно превышали норму. Установлено изменение пропорции эритроидных предшественников. Количество базофильных и полихроматофильных нормобластов оказались снижены, тогда как, число оксифильных форм вдвое превышало норму. В трети образцов отмечены повышенные уровни моноцитов. Содержание лимфоцитов и плазмоцитов было нормальным.

Размеры опухоли были связаны с уровнем миелоцитов, содержание которых достоверно больше при T1 в сравнении с T2 стадией. При этом также был выше индекс созревания нейтрофилов. При 1 степени злокачественности в сравнении со 2 степенью количество миелокариоцитов было больше. Интересные данные получены при сравнении молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы. При трижды негативном подтипе в сравнении с Erb++ подтипом было увеличено количество миелокариоцитов. Кроме того, отмечено нарастание уровня полихроматофильных и оксифильных нормобластов при трижды негативном подтипе, и увеличение суммы клеток эритроидного ростка, что нашло отражение в изменении лейко-эритробластического соотношения.

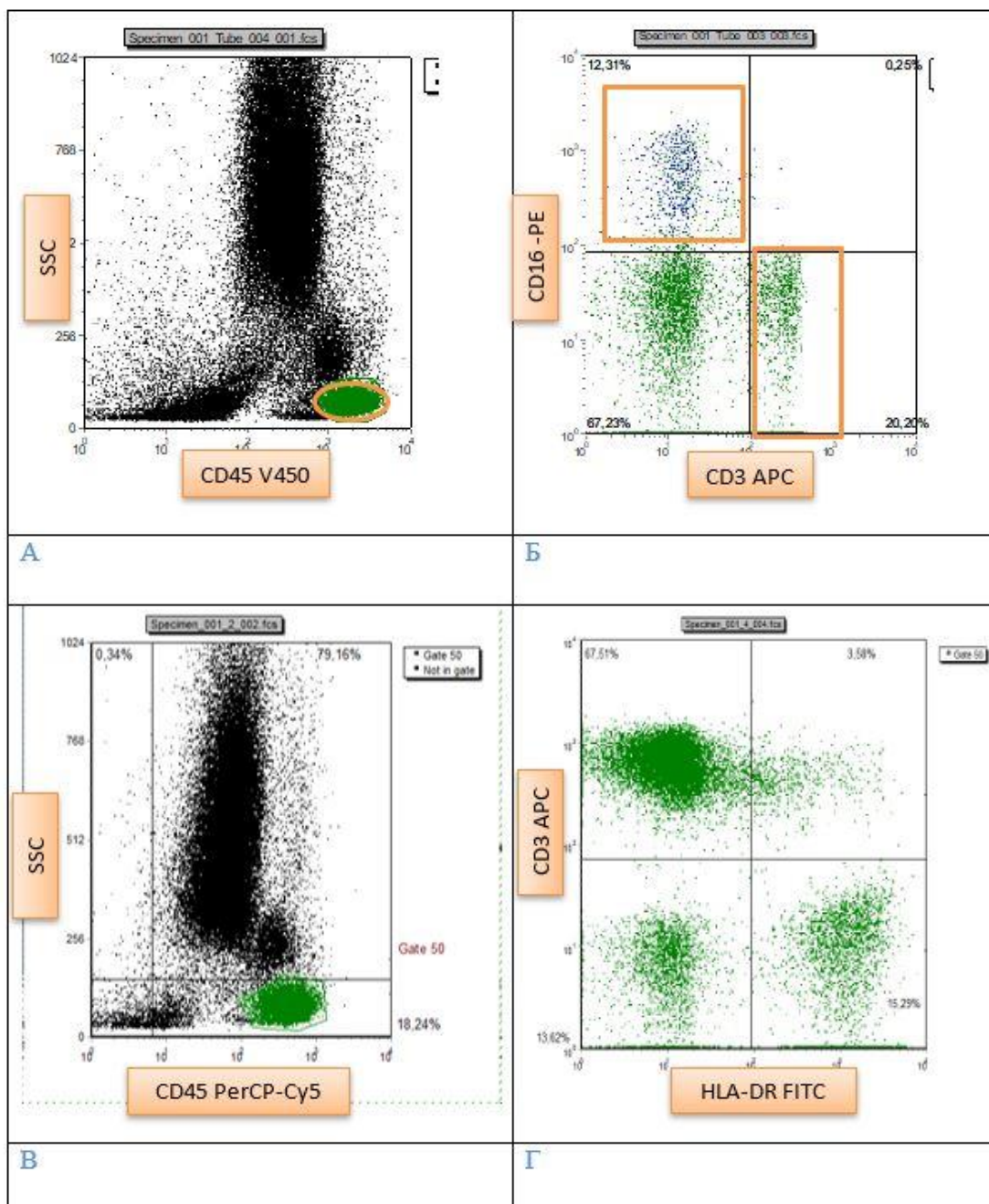
### 3.6 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций в костном мозге с клинико-морфологическими характеристиками опухоли

Нами изучены зрелые CD3+ Т-клетки, цитотоксические CD8+ Т-клетки, хелперные CD4+ лимфоциты, NK-клетки (CD16+,CD56+), активированные цитотоксические CD8+HLADR+ лимфоциты, активированные CD4+CD25+ клетки, клетки памяти CD45RO+, CD19+ В-лимфоциты и их субпопуляции CD19+CD5+, CD19+CD10+ у 70 больных. Средние значения по группе представлены в таблице 72. В целом по группе установлено, что 68,9% случаев характеризовались повышенным содержанием CD3+ Т-клеток (более 60%). CD8+ клетки в 81,3% превышали 30%, а CD4+лимфоциты – в 76,6% наблюдений.

**Таблица 72** – Средние уровни костно-мозговых популяций лимфоцитов при раке молочной железы

| Популяции лимфоцитов | n  | Среднее | Ст. ошибка | Стандартное отклонение |
|----------------------|----|---------|------------|------------------------|
| CD45RO+              | 53 | 36,0430 | 2,04997    | 14,92398               |
| CD3+                 | 61 | 62,6513 | 1,35824    | 10,60820               |
| CD8+                 | 64 | 38,0820 | 1,40105    | 11,20836               |
| CD4+                 | 64 | 42,4969 | 1,78891    | 14,31132               |
| CD3-CD16+, CD3-CD56+ | 43 | 11,1221 | 1,90862    | 12,36929               |
| CD4/CD8              | 63 | 1,0168  | ,05469     | ,43408                 |
| CD8+HLADR+           | 59 | 8,1398  | 1,33278    | 10,23725               |
| CD4+CD25+            | 58 | 3,0329  | ,34435     | 2,62248                |
| CD19+                | 58 | 16,7755 | 1,33009    | 10,12967               |
| CD19+CD10+           | 55 | 17,2267 | 2,32296    | 16,58926               |
| CD19+CD38+           | 62 | 26,3838 | 1,97417    | 15,29184               |
| CD19+CD5+            | 57 | 14,3079 | 2,36114    | 17,18935               |

Пример оценки процентного содержания эффекторных лимфоцитарных популяций в костном мозге представлен на рисунке 56.



А — в координатах CD45/SSC выделен гейт лимфоцитов (CD45+) – зеленый цвет, Б — в гейте лимфоцитов в координатах CD16/CD3 NK-клетки (CD16+CD3-) составляют 12,3% – синий цвет, CD3-клетки – 20,2% -зеленый цвет; В — выделен гейт лимфоцитов (зеленый цвет), CD45+ клетки составляют 18,2%; Г – в гейте лимфоцитов CD3+ клетки составляют 67,5%, Т -клетки с экспрессией HLA-DR составляют 3,58%

**Рисунок 56** – Цитометрический анализ лимфоидных популяций в костном мозге

На следующем этапе работы нами проанализировано среднее содержание различных субпопуляций лимфоцитов костного мозга в зависимости от стадии, размера опухоли, статуса регионарного метастазирования (Т-критерий для независимых выборок). Мы объединили стадии в три группы. Достоверных различий в содержании эффекторных клеток изучаемых

популяций при I и II стадиях не выявлено. Результаты представлены в таблице 73. Маргинальная значимость ( $0,05 < p < 0,1$ ) отмечена в отношении CD19+CD5+, CD19+CD10+ клеток, уровень которых при II стадии был выше. Несмотря на отсутствие высокой значимости следует обратить внимание, что уровень CD19+CD10+ клеток при второй стадии возростал практически в два раза (20,1% против 9,8%. Отметим, что содержание CD19+CD5+ клеток аналогично увеличилось более чем вдвое (17,6 против 6,9%). При I стадии несколько повышен был процент NK- клеток.

**Таблица 73** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга при I и II стадии рака молочной железы

| Популяции лимфоцитов    | Стадия | n  | M, %    | Станд. отклонение | m       | P      |
|-------------------------|--------|----|---------|-------------------|---------|--------|
| CD45RO+                 | 1,00   | 14 | 34,5307 | 8,69362           | 2,32347 | > 0,05 |
|                         | 2,00   | 33 | 35,4867 | 15,93135          | 2,77329 |        |
| CD3+                    | 1,00   | 17 | 58,8471 | 9,57750           | 2,32288 | > 0,05 |
|                         | 2,00   | 38 | 63,1539 | 10,92581          | 1,77240 |        |
| CD8+                    | 1,00   | 17 | 40,5571 | 14,26565          | 3,45993 | > 0,05 |
|                         | 2,00   | 41 | 43,0093 | 15,23853          | 2,37986 |        |
| CD4+                    | 1,00   | 16 | 36,3931 | 11,16827          | 2,79207 | > 0,05 |
|                         | 2,00   | 42 | 37,5550 | 11,47811          | 1,77111 |        |
| CD3-CD16+,<br>CD3-CD56+ | 1,00   | 13 | 15,2831 | 19,53541          | 5,41815 | > 0,05 |
|                         | 2,00   | 23 | 9,3930  | 6,55319           | 1,36643 |        |
| CD4/CD8                 | 1,00   | 16 | 1,0138  | ,44296            | ,11074  | > 0,05 |
|                         | 2,00   | 41 | 1,0098  | ,45628            | ,07126  |        |
| CD8+HLADR+              | 1,00   | 16 | 10,8694 | 16,93617          | 4,23404 | > 0,05 |
|                         | 2,00   | 37 | 7,1122  | 6,33165           | 1,04092 |        |
| CD4+CD25+               | 1,00   | 15 | 2,3827  | 2,13642           | ,55162  | > 0,05 |
|                         | 2,00   | 37 | 3,2981  | 2,86903           | ,47166  |        |
| CD19+                   | 1,00   | 15 | 17,9500 | 10,46471          | 2,70198 | > 0,05 |
|                         | 2,00   | 37 | 15,4346 | 7,53573           | 1,23887 |        |
| CD19+CD10+              | 1,00   | 13 | 9,8908  | 12,63716          | 3,50492 | 0,06   |
|                         | 2,00   | 32 | 20,1044 | 17,38184          | 3,07270 |        |
| CD19+CD38+              | 1,00   | 16 | 25,8500 | 12,93442          | 3,23361 | > 0,05 |
|                         | 2,00   | 38 | 26,5684 | 16,71865          | 2,71212 |        |
| CD19+CD5+               | 1,00   | 12 | 6,9833  | 3,93925           | 1,13716 | 0,07   |
|                         | 2,00   | 35 | 17,6994 | 20,25245          | 3,42329 |        |

При сравнении I и III стадий установлено, что зрелые Т-клетки CD3+ преобладали при третьей стадии, составив при этом 70,2% против 58,8%,  $p = 0,01$ , что наблюдалось преимущественно за счет увеличения доли CD4+ клеток: 46,2% против 36,3%, ( $0,05 < p < 0,1$ ) (Таблица 74). Содержание популяций В-клеток было несколько больше при третьей стадии, но статистически не значимо. При сравнении II и III стадий мы не выявили достоверных различий. Единственно процент CD4+ клеток при третьей стадии  $46,2\% \pm 2,4$  против  $37,5\% \pm 1,7$  ( $0,05 < p < 0,1$ ),  $p = 0,07$ . Таким образом мы видим, что различия в Т-клеточных реакциях преимущественно касаются I и III стадий, тогда как В-клеточные реакции различались между более ранними стадиями (I и II).

Сравнение среднего содержания эффекторных лимфоцитов костного мозга в зависимости от размера опухоли (индекс Т) показало, что в целом по группе их уровни достоверно не различались, за исключением количества В-предшественников и В1-клеток. Их содержание увеличилось при T2 стадии практически вдвое: CD19+CD10+ клетки составили 20,1%, CD19+CD5+ - 11,8%,  $p = 0,04$  и  $p = 0,03$ , соответственно (Таблица 75).

**Таблица 74** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга при I и III стадиях рака молочной железы

| Популяции лимфоцитов    | Стадия | n  | M, %    | Станд. отклонение | m       | P      |
|-------------------------|--------|----|---------|-------------------|---------|--------|
| CD45RO+                 | 1,00   | 14 | 34,5307 | 8,69362           | 2,32347 | > 0,05 |
|                         | 3,00   | 6  | 42,6317 | 20,85489          | 8,51397 |        |
| CD3+                    | 1,00   | 17 | 58,8471 | 9,57750           | 2,32288 | 0,01   |
|                         | 3,00   | 6  | 70,2467 | 7,29103           | 2,97655 |        |
| CD8+                    | 1,00   | 17 | 40,5571 | 14,26565          | 3,45993 | > 0,05 |
|                         | 3,00   | 6  | 44,4917 | 7,21122           | 2,94397 |        |
| CD4+                    | 1,00   | 16 | 36,3931 | 11,16827          | 2,79207 | 0,05   |
|                         | 3,00   | 6  | 46,2750 | 6,03135           | 2,46229 |        |
| CD3-CD16+,<br>CD3-CD56+ | 1,00   | 14 | 14,3307 | 19,10429          | 5,10584 | > 0,05 |
|                         | 3,00   | 5  | 10,0920 | 9,55688           | 4,27397 |        |
| CD4/CD8                 | 1,00   | 16 | 1,0138  | ,44296            | ,11074  | > 0,05 |
|                         | 3,00   | 6  | 1,0733  | ,27940            | ,11407  |        |
| CD8+HLADR+              | 1,00   | 16 | 10,8694 | 16,93617          | 4,23404 | > 0,05 |
|                         | 3,00   | 6  | 7,1983  | 5,81609           | 2,37441 |        |
| CD4+CD25+               | 1,00   | 15 | 2,3827  | 2,13642           | ,55162  | > 0,05 |
|                         | 3,00   | 6  | 3,0233  | 2,13721           | ,87251  |        |
| CD19+                   | 1,00   | 15 | 17,9500 | 10,46471          | 2,70198 | > 0,05 |
|                         | 3,00   | 6  | 22,1083 | 20,06711          | 8,19236 |        |



|            |      |    |         |          |         |        |
|------------|------|----|---------|----------|---------|--------|
| CD19+CD10+ | 1,00 | 13 | 9,8908  | 12,63716 | 3,50492 | > 0,05 |
|            | 3,00 | 6  | 17,7733 | 17,38632 | 7,09794 |        |
| CD19+CD38+ | 1,00 | 16 | 25,8500 | 12,93442 | 3,23361 | > 0,05 |
|            | 3,00 | 6  | 26,6383 | 13,70302 | 5,59424 |        |
| CD19+CD5+  | 1,00 | 12 | 6,9833  | 3,93925  | 1,13716 | > 0,05 |
|            | 3,00 | 6  | 9,1733  | 2,96263  | 1,20949 |        |

**Таблица 75** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга в зависимости от размера опухоли (индекс T)

| Популяции лимфоцитов    | Индекс T | n  | M, %    | Станд. отклонение | m       | P      |
|-------------------------|----------|----|---------|-------------------|---------|--------|
| CD45RO+                 | 1        | 28 | 37,0425 | 15,18830          | 2,87032 | > 0,05 |
|                         | 2        | 24 | 34,1913 | 14,70305          | 3,00125 |        |
| CD3+                    | 1        | 31 | 61,9610 | 10,56265          | 1,89711 | > 0,05 |
|                         | 2        | 29 | 64,0738 | 10,24245          | 1,90198 |        |
| CD8+                    | 1        | 32 | 42,6794 | 13,85597          | 2,44941 | > 0,05 |
|                         | 2        | 32 | 42,3144 | 14,97257          | 2,64680 |        |
| CD4+                    | 1        | 31 | 37,7265 | 11,42810          | 2,05255 | > 0,05 |
|                         | 2        | 32 | 38,8822 | 11,01236          | 1,94673 |        |
| CD3-CD16+,<br>CD3-CD56+ | 1        | 27 | 12,5878 | 14,64265          | 2,81798 | > 0,05 |
|                         | 2        | 15 | 8,4840  | 6,18747           | 1,59760 |        |
| CD4/CD8                 | 1        | 31 | ,9877   | ,40923            | ,07350  | > 0,05 |
|                         | 2        | 32 | 1,0450  | ,46165            | ,08161  |        |
| CD8+HLADR<br>+          | 1        | 31 | 9,4023  | 12,74500          | 2,28907 | > 0,05 |
|                         | 2        | 27 | 6,9733  | 6,38782           | 1,22934 |        |
| CD4+CD25+               | 1        | 30 | 2,6800  | 2,15020           | ,39257  | > 0,05 |
|                         | 2        | 27 | 3,4004  | 3,10153           | ,59689  |        |
| CD19+                   | 1        | 28 | 16,6850 | 9,29645           | 1,75686 | > 0,05 |
|                         | 2        | 29 | 16,8000 | 11,19910          | 2,07962 |        |
| CD19+CD10+              | 1        | 24 | 11,8033 | 12,82378          | 2,61764 | 0,04   |
|                         | 2        | 26 | 20,1223 | 15,54715          | 3,04905 |        |
| CD19+CD38+              | 1        | 30 | 25,5337 | 11,54358          | 2,10756 | > 0,05 |
|                         | 2        | 29 | 26,9352 | 18,71893          | 3,47602 |        |
| CD19+CD5+               | 1        | 23 | 8,7800  | 6,50371           | 1,35612 | 0,03   |
|                         | 2        | 29 | 19,0890 | 21,49412          | 3,99136 |        |

Следующим шагом мы оценили процентное содержание костно-мозговых популяций лимфоцитов в зависимости от регионарного метастазирования (индекс N). Данный анализ показал, что единственной популяцией, которая реагировала на распространенность опухоли была популяция CD4+ Т-клеток (Таблица 76). При отсутствии метастатического поражения лимфатических узлов (статусе N0) ее процентное содержание составило  $34,7\% \pm 1,8$  ( $n = 35$ ), тогда как при метастазах в лимфатические узлы (N+) –  $42,0\% \pm 1,9$  ( $n = 29$ ), признаки достоверно связаны,  $p = 0,008$ . Различий при сравнении количества пораженных лимфатических узлов, N1 и N2 статуса, не выявлено.

**Таблица 76** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга в зависимости от статуса N

| Популяции лимфоцитов    | Статус N | n  | M, %    | Ст. отклонение | m       | P      |
|-------------------------|----------|----|---------|----------------|---------|--------|
| CD45RO+                 | 0        | 28 | 33,4746 | 12,68675       | 2,39757 | > 0,05 |
|                         | «+»      | 25 | 38,9196 | 16,88736       | 3,37747 |        |
| CD3+                    | 0        | 34 | 61,1965 | 11,05125       | 1,89527 | > 0,05 |
|                         | «+»      | 27 | 64,4833 | 9,92114        | 1,90932 |        |
| CD8+                    | 0        | 35 | 41,5643 | 15,96441       | 2,69848 | > 0,05 |
|                         | «+»      | 29 | 43,6224 | 12,20475       | 2,26637 |        |
| CD4+                    | 0        | 35 | 34,7649 | 10,67976       | 1,80521 | 0,008  |
|                         | «+»      | 29 | 42,0855 | 10,66810       | 1,98102 |        |
| CD3-CD16+,<br>CD3-CD56+ | 0        | 22 | 11,6114 | 15,59028       | 3,32386 | > 0,05 |
|                         | «+»      | 20 | 10,5840 | 7,80593        | 1,74546 |        |
| CD4/CD8                 | 0        | 34 | ,9806   | ,44798         | ,07683  | > 0,05 |
|                         | «+»      | 29 | 1,0593  | ,42099         | ,07818  |        |
| CD8+HLADR+              | 0        | 31 | 9,0019  | 13,27689       | 2,38460 | > 0,05 |
|                         | «+»      | 28 | 7,1854  | 5,24105        | ,99047  |        |
| CD4+CD25+               | 0        | 30 | 2,9870  | 3,02530        | ,55234  | > 0,05 |
|                         | «+»      | 28 | 3,0821  | 2,16418        | ,40899  |        |
| CD19+                   | 0        | 31 | 16,8926 | 9,19314        | 1,65114 | > 0,05 |
|                         | «+»      | 27 | 16,6411 | 11,28725       | 2,17223 |        |
| CD19+CD10+              | 0        | 27 | 18,4207 | 19,34907       | 3,72373 | > 0,05 |
|                         | «+»      | 24 | 15,8833 | 13,09550       | 2,67311 |        |
| CD19+CD38+              | 0        | 32 | 25,0450 | 14,51849       | 2,56653 | > 0,05 |
|                         | «+»      | 28 | 27,9139 | 16,26094       | 3,07303 |        |
| CD19+CD5+               | 0        | 28 | 14,1354 | 17,23013       | 3,25619 | > 0,05 |
|                         | «+»      | 25 | 14,5012 | 17,49665       | 3,49933 |        |

Не установлено связи с гистологическим подтипом опухоли. При этом при дольковом раке молочной железы количество костно-мозговых популяций CD4+CD25+ клеток было несколько выше, составив: 4,0% против 2,5 % при протоковом раке ( $0,05 < p < 0,1$ ). Данные представлены в таблице 77.

**Таблица 77** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга в зависимости от гистологического типа рака молочной железы

| Популяции лимфоцитов    | Гист.тип опухоли | n  | M, %    | Станд. отклонение | m       | P      |
|-------------------------|------------------|----|---------|-------------------|---------|--------|
| CD45RO+                 | ИПР              | 37 | 36,7811 | 13,82004          | 2,27200 | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 9  | 32,6589 | 18,03644          | 6,01215 |        |
| CD3+                    | ИПР              | 44 | 61,9148 | 9,86248           | 1,48682 | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 10 | 62,6840 | 15,42612          | 4,87817 |        |
| CD8+                    | ИПР              | 46 | 42,6233 | 16,11768          | 2,37642 | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 10 | 44,6530 | 9,96896           | 3,15246 |        |
| CD4+                    | ИПР              | 47 | 36,8181 | 11,17933          | 1,63067 | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 10 | 42,2820 | 8,58895           | 2,71606 |        |
| CD3-CD16+,<br>CD3-CD56+ | ИПР              | 30 | 12,2760 | 13,99557          | 2,55523 | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 8  | 5,7225  | 2,97598           | 1,05217 |        |
| CD4/CD8                 | ИПР              | 46 | 1,0137  | ,46410            | ,06843  | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 10 | 1,0100  | ,38245            | ,12094  |        |
| CD8+HLADR+              | ИПР              | 42 | 8,2067  | 11,16926          | 1,72345 | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 10 | 8,1290  | 9,08962           | 2,87439 |        |
| CD4+CD25+               | ИПР              | 41 | 2,5920  | 2,11653           | ,33055  | 0,08   |
|                         | ИДР              | 10 | 4,0180  | 2,94989           | ,93284  |        |
| CD19+                   | ИПР              | 42 | 17,3962 | 10,28521          | 1,58704 | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 10 | 16,3190 | 12,03107          | 3,80456 |        |
| CD19+CD10+              | ИПР              | 37 | 17,6373 | 16,43490          | 2,70188 | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 9  | 12,4600 | 17,45637          | 5,81879 |        |
| CD19+CD38+              | ИПР              | 44 | 24,5243 | 13,09510          | 1,97416 | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 9  | 27,9400 | 11,66815          | 3,88938 |        |
| CD19+CD5+               | ИПР              | 40 | 14,8358 | 18,58791          | 2,93901 | > 0,05 |
|                         | ИДР              | 8  | 11,6325 | 11,51221          | 4,07018 |        |

ИПР – инфильтративно-протоковый рак, ИДР – инфильтративно- дольковый рак

В нашей выборке преобладали опухоли с G2 дифференцировкой, поэтому мы смогли сравнить только наиболее многочисленные группы, G2 и G3. При сравнении процентного содержания лимфоцитов костного мозга со степенью злокачественности рака молочной железы оказались связаны В-клеточные реакции (Таблица 78). Это касалось В1 (CD5+)- клеток, количество которых при третьей степени злокачественности было в два раза больше и составило 20,7%,  $p = 0,02$ .

**Таблица 78** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга в зависимости от степени злокачественности рака молочной железы

| Популяции лимфоцитов    | G | n  | M, %    | Станд. отклонение | m       | P      |
|-------------------------|---|----|---------|-------------------|---------|--------|
| CD45RO+                 | 2 | 43 | 36,4049 | 14,86058          | 2,26622 | > 0,05 |
|                         | 3 | 8  | 32,7963 | 16,70011          | 5,90438 |        |
| CD3+                    | 2 | 41 | 62,2895 | 12,19549          | 1,90461 | > 0,05 |
|                         | 3 | 7  | 63,6800 | 8,05411           | 3,04417 |        |
| CD8+                    | 2 | 43 | 40,8933 | 11,97179          | 1,82568 | > 0,05 |
|                         | 3 | 8  | 43,5988 | 15,97620          | 5,64844 |        |
| CD4+                    | 2 | 44 | 39,9766 | 10,78284          | 1,62557 | > 0,05 |
|                         | 3 | 8  | 39,1975 | 13,21231          | 4,67126 |        |
| CD3-CD16+,<br>CD3-CD56+ | 2 | 26 | 10,5881 | 15,02992          | 2,94761 | > 0,05 |
|                         | 3 | 7  | 10,1557 | 6,24857           | 2,36174 |        |
| CD4/CD8                 | 2 | 43 | 1,0770  | ,40086            | ,06113  | > 0,05 |
|                         | 3 | 8  | 1,0575  | ,57161            | ,20209  |        |
| CD8+HLADR+              | 2 | 39 | 9,0608  | 12,03233          | 1,92671 | > 0,05 |
|                         | 3 | 7  | 9,7614  | 7,22210           | 2,72970 |        |
| CD4+CD25+               | 2 | 38 | 3,3426  | 2,14364           | ,34774  | > 0,05 |
|                         | 3 | 7  | 3,9114  | 4,26659           | 1,61262 |        |
| CD19+                   | 2 | 39 | 18,1026 | 10,92727          | 1,74976 | > 0,05 |
|                         | 3 | 6  | 16,3633 | 5,00089           | 2,04160 |        |
| CD19+CD10+              | 2 | 35 | 17,4211 | 18,02204          | 3,04628 | > 0,05 |
|                         | 3 | 4  | 6,8725  | 7,31600           | 3,65800 |        |
| CD19+CD38+              | 2 | 41 | 27,7873 | 16,07909          | 2,51113 | > 0,05 |
|                         | 3 | 7  | 24,7786 | 15,68519          | 5,92844 |        |
| CD19+CD5+               | 2 | 38 | 9,7718  | 8,05713           | 1,30704 | 0,02   |
|                         | 3 | 7  | 20,7986 | 22,02477          | 8,32458 |        |

Резюмируя по данному разделу, отметим, что лимфоцитарные популяции костного мозга были связаны со стадией опухоли, ее размером, регионарным метастазированием, степенью ее дифференцировки. Маргинальная значимость отмечена в отношении CD19+CD5+,

CD19+CD10+ клеток, уровень которых при II стадии был выше практически в два раза. При сравнении I и III стадий установлено, достоверное преобладание зрелых Т-клеток (за счет доли CD4+) при третьей стадии.

Содержание популяций В-клеток было несколько больше при третьей стадии, но статистически не значимо.

Таким образом, различия в Т- клеточных реакциях преимущественно касаются I и III стадий, тогда как В- клеточные реакции имеют различия между более ранними стадиями (I и II).

Далее проанализировано среднее содержание различных субпопуляций лимфоцитов костного мозга в зависимости от подтипа рака молочной железы на основании экспрессии опухоли рецепторов эстрогенов (Таблица 79).

Опухоли экспрессирующие рецепторы эстрогена относились к люминальному подтипу. Нам не удалось выявить значимых различий. При этом следует отметить, что при люминальном подтипе несколько выше было содержание В-предшественников (18,9% и 13,7%,  $p = 0,29$ ), тогда как число В1- клеток ниже (11,7% и 20,1%),  $p = 0,10$ .

**Таблица 79** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга в зависимости от подтипа рака молочной железы (по РЭ)

| Популяции лимфоцитов    | Подтип (по РЭ) | n  | M, %    | Станд. отклонение | m       | P      |
|-------------------------|----------------|----|---------|-------------------|---------|--------|
| CD45RO+                 | ЛРМЖ           | 42 | 36,5610 | 14,43668          | 2,22763 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ          | 11 | 34,0655 | 17,26934          | 5,20690 |        |
| CD3+                    | ЛРМЖ           | 42 | 62,8564 | 11,74271          | 1,81194 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ          | 19 | 62,1979 | 7,79180           | 1,78756 |        |
| CD8+                    | ЛРМЖ           | 43 | 42,5963 | 12,92059          | 1,97037 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ          | 21 | 42,2933 | 17,16163          | 3,74497 |        |
| CD4+                    | ЛРМЖ           | 43 | 39,1481 | 11,21985          | 1,71101 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ          | 21 | 35,8990 | 11,13195          | 2,42919 |        |
| CD3-CD16+,<br>CD3-CD56+ | ЛРМЖ           | 27 | 12,1189 | 14,93324          | 2,87390 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ          | 15 | 9,3280  | 5,34403           | 1,37982 |        |
| CD4/CD8                 | ЛРМЖ           | 42 | 1,0267  | ,42896            | ,06619  | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ          | 21 | ,9971   | ,45419            | ,09911  |        |
| CD8+HLADR+              | ЛРМЖ           | 38 | 9,4518  | 12,27980          | 1,99205 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ          | 21 | 5,7657  | 3,97074           | ,86649  |        |
| CD4+CD25+               | ЛРМЖ           | 37 | 3,3327  | 2,64785           | ,43530  | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ          | 21 | 2,5048  | 2,55370           | ,55726  |        |
| CD19+                   | ЛРМЖ           | 39 | 17,5636 | 10,93303          | 1,75069 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ          | 19 | 15,1579 | 8,27533           | 1,89849 |        |

|            |       |    |         |          |         |        |
|------------|-------|----|---------|----------|---------|--------|
| CD19+CD10+ | ЛРМЖ  | 34 | 18,9647 | 18,74312 | 3,21442 | > 0,05 |
|            | НЛРМЖ | 17 | 13,7506 | 10,77904 | 2,61430 |        |
| CD19+CD38+ | ЛРМЖ  | 40 | 26,5400 | 13,38146 | 2,11579 | > 0,05 |
|            | НЛРМЖ | 20 | 26,0715 | 18,93227 | 4,23338 |        |
| CD19+CD5+  | ЛРМЖ  | 37 | 11,7697 | 11,31773 | 1,86062 | > 0,05 |
|            | НЛРМЖ | 16 | 20,1775 | 25,77307 | 6,44327 |        |

ЛРМЖ – люминальный подтип рака молочной железы, НЛРМЖ – нелюминальный подтип рака молочной железы

Аналогично проведен анализ процентного количества субпопуляций лимфоцитов костного мозга в зависимости экспрессии опухолью рецепторов прогестерона. Мы наблюдали что при статусе РП позитивном несколько выше было содержание CD19+CD10+ лимфоцитов (20,0% и 14,8%,  $p = 0,26$ ), достоверно более высоким было число В1 (CD19+CD5+) - клеток (22,4% и 8,5%),  $p = 0,003$  (Таблица 80).

**Таблица 80** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга в зависимости от экспрессии рецепторов прогестерона

| Популяции лимфоцитов    | РП    | n  | M, %    | Станд. отклонение | m       | P      |
|-------------------------|-------|----|---------|-------------------|---------|--------|
| CD45RO+                 | отриц | 35 | 36,5777 | 14,71121          | 2,48665 | > 0,05 |
|                         | полож | 18 | 35,0033 | 15,70683          | 3,70213 |        |
| CD3+                    | отриц | 36 | 62,7006 | 12,01496          | 2,00249 | > 0,05 |
|                         | полож | 25 | 62,5804 | 8,41440           | 1,68288 |        |
| CD8+                    | отриц | 36 | 41,7494 | 13,28244          | 2,21374 | > 0,05 |
|                         | полож | 28 | 43,4579 | 15,73212          | 2,97309 |        |
| CD4+                    | отриц | 36 | 39,7847 | 11,26912          | 1,87819 | 0,17   |
|                         | полож | 28 | 35,8929 | 10,93958          | 2,06739 |        |
| CD3-CD16+,<br>CD3-CD56+ | отриц | 23 | 9,7791  | 7,57907           | 1,58034 | > 0,05 |
|                         | полож | 19 | 12,7479 | 16,52866          | 3,79193 |        |
| CD4/CD8                 | отриц | 35 | 1,0683  | ,42061            | ,07110  | > 0,05 |
|                         | полож | 28 | ,9525   | ,44965            | ,08498  |        |
| CD8+HLADR+              | отриц | 34 | 9,6603  | 12,40094          | 2,12674 | > 0,05 |
|                         | полож | 25 | 6,0720  | 5,83854           | 1,16771 |        |
| CD4+CD25+               | отриц | 33 | 3,0958  | 2,55260           | ,44435  | > 0,05 |
|                         | полож | 25 | 2,9500  | 2,76288           | ,55258  |        |

|            |       |    |         |          |         |        |
|------------|-------|----|---------|----------|---------|--------|
| CD19+      | отриц | 34 | 17,2888 | 11,18344 | 1,91794 | > 0,05 |
|            | полож | 24 | 16,0483 | 8,59686  | 1,75483 |        |
| CD19+CD10+ | отриц | 28 | 14,8686 | 16,08973 | 3,04067 | > 0,05 |
|            | полож | 23 | 20,0974 | 17,08959 | 3,56342 |        |
| CD19+CD38+ | отриц | 34 | 24,6991 | 12,00512 | 2,05886 | > 0,05 |
|            | полож | 26 | 28,5869 | 18,78066 | 3,68319 |        |
| CD19+CD5+  | отриц | 31 | 8,5477  | 5,03598  | ,90449  | 0,003  |
|            | полож | 22 | 22,4245 | 24,02963 | 5,12313 |        |

Также нами проанализировано среднее содержание лимфоцитов костного мозга в зависимости от подтипа рака молочной железы на основании экспрессии опухолью рецепторов к обоим гормонам (эстрогенам и прогестерону) (Таблица 81). Опухоли, экспрессирующие рецепторы эстрогена и прогестерона, относились к люминальному подтипу. Установлено, что количество В1- клеток меньше при люминальном подтипе (10,8% и 21,08%),  $p = 0,038$ ; содержание CD19+CD10+ лимфоцитов несколько повышено (19,4% и 13,1%,  $p = 0,26$ ), но незначимо статистически,  $p = 0,19$ .

**Таблица 81** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга в зависимости от подтипа рака молочной железы (по РЭ/РП)

| Популяции лимфоцитов    | Подтип (по РЭ/РП) | n  | М, %    | Станд. отклонение | m       | P      |
|-------------------------|-------------------|----|---------|-------------------|---------|--------|
| CD45RO+                 | ЛРМЖ              | 41 | 37,1485 | 14,95017          | 2,33482 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ             | 12 | 32,2658 | 14,83267          | 4,28182 |        |
| CD3+                    | ЛРМЖ              | 41 | 62,5020 | 11,92848          | 1,86292 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ             | 20 | 62,9575 | 7,46112           | 1,66836 |        |
| CD8+                    | ЛРМЖ              | 42 | 42,3167 | 13,21711          | 2,03944 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ             | 22 | 42,8409 | 16,52838          | 3,52386 |        |
| CD4+                    | ЛРМЖ              | 42 | 38,2350 | 11,08661          | 1,71070 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ             | 22 | 37,7900 | 11,69501          | 2,49338 |        |
| CD3-CD16+,<br>CD3-CD56+ | ЛРМЖ              | 26 | 11,7900 | 15,29927          | 3,00043 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ             | 16 | 10,0369 | 5,10450           | 1,27612 |        |
| CD4/CD8                 | ЛРМЖ              | 41 | 1,0134  | ,41150            | ,06427  | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ             | 22 | 1,0232  | ,48342            | ,10307  |        |
| CD8+HLADR+              | ЛРМЖ              | 38 | 9,4118  | 12,29983          | 1,99530 | > 0,05 |
|                         | НЛРМЖ             | 21 | 5,8381  | 3,92527           | ,85656  |        |

|            |       |    |         |          |         |        |
|------------|-------|----|---------|----------|---------|--------|
| CD4+CD25+  | ЛРМЖ  | 37 | 3,3303  | 2,64856  | ,43542  | > 0,05 |
|            | НЛРМЖ | 21 | 2,5090  | 2,55383  | ,55729  |        |
| CD19+      | ЛРМЖ  | 37 | 17,9030 | 10,99723 | 1,80793 | > 0,05 |
|            | НЛРМЖ | 21 | 14,7890 | 8,26157  | 1,80282 |        |
| CD19+CD10+ | ЛРМЖ  | 33 | 19,4676 | 18,79937 | 3,27255 | > 0,05 |
|            | НЛРМЖ | 18 | 13,1183 | 10,79577 | 2,54459 |        |
| CD19+CD38+ | ЛРМЖ  | 39 | 26,2467 | 13,79835 | 2,20950 | > 0,05 |
|            | НЛРМЖ | 21 | 26,6386 | 18,11007 | 3,95194 |        |
| CD19+CD5+  | ЛРМЖ  | 35 | 10,8203 | 9,06518  | 1,53230 | 0,038  |
|            | НЛРМЖ | 18 | 21,0894 | 25,80136 | 6,08144 |        |

ЛРМЖ – люминальный подтип рака молочной железы, ТНРМЖ – трижды негативный подтип рака молочной железы

Отмечены корреляции по Спирмену средней силы для НК- клеток (CD3CD16, CD3CD56)  $R = -0,330$ ,  $p = 0,033$ , и для CD19+CD10+ клеток,  $R = -0,364$ ,  $p = 0,009$  с подтипом (по РЭ).

Как мы видим по результатам данного анализа, имеется некоторая связь экспрессионного подтипа опухоли (по рецепторам РЭ, а также РП) с В- клеточным звеном иммунопоэза. И эти различия прослеживаются при нескольких вариантах анализа. Опухоли, не экспрессирующие рецепторов к гормонам характеризуются повышенными уровнями CD19+CD5+ клеток, относящихся к врожденному иммунитету.

Отметим, что при этом нелюминальный подтип в первичной опухоли отличается выраженными интратуморальными иммунными реакциями (как Т-, так и В-клеточными). В этой связи отдельным разделом нашей работы стал анализ взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций и костно-мозговых лимфоидных популяций. Кроме того мы, выполнили более детальный анализ между молекулярными подтипами, который представлен ниже по каждому подтипу.

Итак, первым этапом мы выполнили анализ между люминальными подтипами. В первую очередь люминального А и люминального В-Her2/neu «-» подтипов, данные представлены в таблице 82. Различия установлены по количеству CD19+CD38+ клеток, содержание которых в костном мозге при люминальном В- Her2/neu «-» раке молочной железы составило 30,5% против 21,2%,  $p = 0,05$ . Хотелось бы отметить, что при А подтипе мы наблюдали увеличение доли CD45RO+ клеток,  $p = 0,27$ .



**Таблица 82** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга при люминальных А и В-Her2/neu «-» подтипах

| Популяции лимфоцитов    | Подтип  | n  | M, %    | Станд. отклонение | m       | P      |
|-------------------------|---------|----|---------|-------------------|---------|--------|
| CD45RO+                 | Lum A   | 12 | 41,3458 | 14,76637          | 4,26269 | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 26 | 34,9685 | 14,94377          | 2,93071 |        |
| CD3+                    | Lum A   | 12 | 65,1800 | 13,80467          | 3,98507 | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 26 | 61,4446 | 11,46690          | 2,24884 |        |
| CD8+                    | Lum A   | 11 | 43,7491 | 14,48588          | 4,36766 | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 28 | 41,3107 | 12,66296          | 2,39307 |        |
| CD4+                    | Lum A   | 11 | 41,9518 | 12,55902          | 3,78669 | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 28 | 38,4918 | 11,36604          | 2,14798 |        |
| CD3-CD16+,<br>CD3-CD56+ | Lum A   | 7  | 12,1400 | 7,53932           | 2,84960 | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 17 | 13,4694 | 18,05387          | 4,37871 |        |
| CD4/CD8                 | Lum A   | 10 | 1,1510  | ,52391            | ,16567  | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 28 | 1,0221  | ,41037            | ,07755  |        |
| CD8+HLADR+              | Lum A   | 11 | 8,6409  | 7,72584           | 2,32943 | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 23 | 10,1365 | 14,67513          | 3,05998 |        |
| CD4+CD25+               | Lum A   | 11 | 2,9673  | 2,16031           | ,65136  | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 22 | 3,7323  | 3,04245           | ,64865  |        |
| CD19+                   | Lum A   | 12 | 16,7767 | 8,63866           | 2,49377 | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 23 | 19,0804 | 12,21597          | 2,54721 |        |
| CD19+CD10+              | Lum A   | 10 | 24,8710 | 20,79719          | 6,57665 | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 21 | 18,5390 | 18,04164          | 3,93701 |        |
| CD19+CD38+              | Lum A   | 12 | 21,2608 | 9,06905           | 2,61801 | 0,05   |
|                         | LumB«-» | 24 | 30,5829 | 14,75865          | 3,01260 |        |
| CD19+CD5+               | Lum A   | 10 | 11,9860 | 8,21811           | 2,59879 | > 0,05 |
|                         | LumB«-» | 23 | 12,6300 | 13,19306          | 2,75094 |        |

LumA – люминальный А подтип рака молочной железы, LumB«-» – люминальный В Her2/neu «-» подтип рака молочной железы

Сравнение люминального В Her2/neu «-», люминального В Her2/neu«+» и трижды негативного подтипов не выявило значимых различий (Таблица 83). Интересно, что люминальный В Her2/neu «-» не имел различий с трижды негативным подтипом. При этом при люминальном В Her2/neu «-» подтипе в сравнении с люминальным В Her2/neu «+» подтипом содержание популяций CD19+CD5+, CD19+CD10+, CD19+CD38+ клеток было больше (Таблица 83).

Отметим также, что при трижды негативном подтипе по сравнению с люминальным В Her2/neu «+» содержание CD19+CD5+, CD19+CD10+, CD19+CD38+, В-клеток было выше, хотя

статистически не значимо. Трижды негативный подтип и ERb-B2 по уровню лимфоидных популяций не различались, за исключением пропорции CD4+CD25+, которая была больше при трижды негативном раке ( $p = 0,06$ ), при этом, хотя и недостоверно, был снижен процент CD19+CD5+ клеток (Таблица 83).

**Таблица 83** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга при люминальном В, ERb-B2, ТНPMЖ

| Популяции лимфоцитов | Подтип | n  | M, %    | Станд. отклонение | m        | P      |
|----------------------|--------|----|---------|-------------------|----------|--------|
| CD19+CD10+           | Lum B- | 21 | 18,5390 | 18,04164          | 3,93701  | 0,13   |
|                      | Lum B+ | 3  | 2,2567  | ,31565            | ,18224   |        |
| CD19+CD38+           | Lum B- | 24 | 30,5829 | 14,75865          | 3,01260  | 0,11   |
|                      | Lum B+ | 4  | 18,1200 | 4,42093           | 2,21046  |        |
| CD19+CD5+            | Lum B- | 23 | 12,6300 | 13,19306          | 2,75094  | 0,35   |
|                      | Lum B+ | 4  | 6,2825  | 3,47662           | 1,73831  |        |
| CD19+CD10+           | Lum B+ | 3  | 2,2567  | ,31565            | ,18224   | 0,23   |
|                      | ТНPMЖ  | 10 | 12,0930 | 12,99609          | 4,10973  |        |
| CD19+CD38+           | Lum B+ | 4  | 18,1200 | 4,42093           | 2,21046  | > 0,05 |
|                      | ТНPMЖ  | 11 | 27,5709 | 22,95502          | 6,92120  |        |
| CD19+CD5+            | Lum B+ | 4  | 6,2825  | 3,47662           | 1,73831  | > 0,05 |
|                      | ТНPMЖ  | 10 | 16,9510 | 24,39478          | 7,71431  |        |
| CD4+CD25+            | ERb-B2 | 9  | 1,3278  | 1,62357           | ,54119   | 0,06   |
|                      | ТНPMЖ  | 12 | 3,3875  | 2,82072           | ,81427   |        |
| CD19+CD5+            | ERb-B2 | 6  | 25,5550 | 29,42859          | 12,01417 | > 0,05 |
|                      | ТНPMЖ  | 10 | 16,9510 | 24,39478          | 7,71431  |        |
| CD19+CD10+           | ERb-B2 | 7  | 16,1186 | 6,73536           | 2,54573  | 0.009  |
|                      | LumB+  | 3  | 2,2567  | ,31565            | ,18224   |        |
| CD19+CD38+           | ERb-B2 | 9  | 24,2389 | 13,62855          | 4,54285  | > 0,05 |
|                      | LumB+  | 4  | 18,1200 | 4,42093           | 2,21046  |        |
| CD19+CD5+            | ERb-B2 | 6  | 25,5550 | 29,42859          | 12,01417 | > 0,05 |
|                      | LumB+  | 4  | 6,2825  | 3,47662           | 1,73831  |        |

LumB«-» – люминальный В Her2/neu «-» подтип рака молочной железы, LumB«+» – люминальный В Her2/neu «+» подтип рака молочной железы, ТНPMЖ – трижды негативный подтип рака молочной железы, ERb-B2 – гиперэкспрессирующий Her2/neu подтип рака молочной железы

При ERb-B2 отмечено достоверное увеличение числа CD19+CD10+ В-клеток (16,0% против 2,2% при LumB+),  $p = 0,009$ , и в то же время пропорции CD19+CD10+ и CD19+CD38+ лимфоцитов, хотя значимости не достигнуто.

Резюмируя данный раздел работы, следует констатировать что различия между молекулярными подтипами рака молочной железы наблюдаются. Во-первых, имеется четкая связь экспрессионного подтипа опухоли (по рецепторам РЭ, а также РП) с В-клеточным звеном иммунопоэза. И эти различия прослеживаются при нескольких вариантах анализа. Опухоли, не экспрессирующие рецепторов к гормонам характеризуются повышенными уровнями CD19+CD5+ клеток, относящихся к врожденному иммунитету. Отметим, что при этом нелюминальный подтип в первичной опухоли отличается выраженными интратуморальными иммунными реакциями (как Т-, так и В-клеточными).

Во-вторых, при детальном анализе взаимосвязей каждого из суррогатных подтипов с лимфоидными популяциями в костном мозге мы установили преимущественно изменение пропорции В-клеточных популяций. В той или иной степени они касались В-предшественников, В1-клеток врожденного иммунитета, а также плазмочитарных популяций, при этом статистическая значимость варьировала от высокой до слабой (или полного отсутствия), что вероятно обусловлено небольшим объемом наблюдений.

Тем не менее, мы обратим внимание, что количество CD19+CD38+ В-клеток ( $p = 0,05$ ) в костном мозге было выше при люминальном В Her2/neu«-» (против люминального А подтипа). Отметим, что увеличение доли CD4+CD25+ клеток маргинальной значимости установлено при люминальном А (против ERb-B2).

Трижды негативный подтип рак молочной железы (против ERb-B2) отличался повышенным уровнем CD4+CD25+ клеток ( $p = 0,06$ ) и недостоверным снижением процента CD19+CD5+ В-клеток.

При ERb-B2 подтипе рака молочной железы отмечено достоверное увеличение числа CD19+CD10+ В-предшественников (против LumB+ подтипа), при этом различия носили достоверный характер,  $p = 0,009$ . В то же время наблюдалось увеличение пропорции CD19+CD5+ и CD19+CD38+ В лимфоцитов, но статистически не значимо. Интересно, что при люминальном В Her2/neu«-» (против при люминальном В Her2/neu«+») был увеличен процент В-клеточных популяций (CD5+, CD10+, CD38+), хотя и недостоверно. Отметим, что схожие результаты по всем трем популяциям были при трижды негативном подтипе раке молочной железы (против при люминальном В Her2/neu«+»), что требует дальнейших исследований для уточнения взаимосвязей.

### 3.7 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций в костном мозге с показателями миелограмм

На данном этапе работы мы проанализировали эффекторные лимфоцитарные популяции костного мозга во взаимосвязи с показателями гемопоэза у больных раком молочной железы. Корреляционные связи морфологически выявляемых клеточных типов, а именно общего количества миелокариоцитов, клеток гранулоцитарного ростка, с лимфоцитарными субпопуляциями представлены в таблицах 84, 85. Также мы оценили взаимосвязи эффекторных лимфоцитарных популяций с моноцитами, лимфоцитами, плазматическими клетками и клетками эритроидного ростка.

Как видно из таблиц, нами выявлены интересные закономерности, которые в первую очередь касались Т-клеточного звена иммунопоэза. Мы наблюдали, что миелоидные предшественники находились в отрицательной корреляции средней силы с Т- эффекторными клетками (CD4+, CD4+CD25+, CD8+HLA-DR+). Обратная корреляция отмечена для сегментоядерных нейтрофилов с CD8+HLA-DR+ популяциями.

CD45RO+ клетки имели отрицательную связь средней силы с суммой клеток эритроидного ростка.

Положительная высокодостоверная связь наблюдалась между эффекторными CD4+CD25+ лимфоцитами и палочкоядерными нейтрофилами.

Для В-клеточного звена иммунопоэза отмечены следующие взаимосвязи. Положительная корреляция наблюдалась со зрелыми клетками гранулоцитарного ростака, а именно, нейтрофилами. Это касалось CD19+ клеток, и CD19+CD38+ лимфоцитарных популяций В лимфоцитов.

**Таблица 84** – Корреляционные связи Т-лимфоцитарных субпопуляций костного мозга с миелокариоцитами, клетками гранулоцитарного ростка

| Показатель     |   | CD8+  | CD4+   | CD16+CD56+ | CD4/<br>CD8 | CD8+<br>HLA-DR+ |
|----------------|---|-------|--------|------------|-------------|-----------------|
| Миелокариоциты | R | 0,139 | -,265* | 0,131      | -,315*      | -0,101          |
|                | p | 0,277 | 0,036  | 0,408      | 0,013       | 0,449           |
|                | n | 63    | 63     | 42         | 62          | 58              |

|                             |   |        |        |        |        |        |
|-----------------------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|
| Нейтрофильные промиелоциты  | R | -0,122 | -,299* | 0,031  | -0,138 | -0,102 |
|                             | p | 0,337  | 0,017  | 0,846  | 0,282  | 0,443  |
|                             | n | 64     | 64     | 42     | 63     | 59     |
| Нейтрофильные миелоциты     | R | 0,086  | 0,168  | -0,097 | -0,026 | 0,144  |
|                             | p | 0,497  | 0,184  | 0,543  | 0,842  | 0,276  |
|                             | n | 64     | 64     | 42     | 63     | 59     |
| Нейтрофильные метамиелоциты | R | -0,04  | 0,03   | 0,082  | 0,033  | -0,22  |
|                             | p | 0,756  | 0,815  | 0,606  | 0,797  | 0,095  |
|                             | n | 64     | 64     | 42     | 63     | 59     |
| Нейтрофилы палочкоядерные   | R | 0,1    | 0,069  | -0,166 | -0,054 | 0,025  |
|                             | p | 0,432  | 0,587  | 0,295  | 0,675  | 0,853  |
|                             | n | 64     | 64     | 42     | 63     | 59     |
| Нейтрофилы сегментоядерные  | R | -,278* | -0,132 | 0,098  | 0,173  | -,281* |
|                             | p | 0,026  | 0,299  | 0,536  | 0,176  | 0,031  |
|                             | n | 64     | 64     | 42     | 63     | 59     |

**Таблица 85** – Корреляционные связи В-лимфоцитарных субпопуляций костного мозга с миелокариоцитами, клетками гранулоцитарного ростка

|                            |   | CD19+  | CD19+CD10+ | CD19+CD38+ | CD19+CD5+ |
|----------------------------|---|--------|------------|------------|-----------|
| Миелокариоциты             | R | -0,101 | 0,066      | 0,03       | 0,031     |
|                            | p | 0,453  | 0,65       | 0,823      | 0,827     |
|                            | n | 57     | 50         | 59         | 52        |
| Нейтрофильные промиелоциты | R | 0,028  | 0,084      | -0,1       | 0,076     |
|                            | p | 0,834  | 0,557      | 0,447      | 0,59      |
|                            | n | 58     | 51         | 60         | 53        |

|                                |   |        |        |        |        |
|--------------------------------|---|--------|--------|--------|--------|
| Нейтрофильные<br>миелоциты     | R | 0,169  | -0,142 | -0,105 | -0,073 |
|                                | p | 0,206  | 0,32   | 0,427  | 0,605  |
|                                | n | 58     | 51     | 60     | 53     |
| Нейтрофильные<br>метамиелоциты | R | 0,13   | -0,156 | 0,056  | -0,04  |
|                                | p | 0,331  | 0,274  | 0,669  | 0,778  |
|                                | n | 58     | 51     | 60     | 53     |
| Нейтрофилы<br>палочкоядерные   | R | ,266*  | 0,169  | 0,252  | 0,153  |
|                                | p | 0,044  | 0,236  | 0,052  | 0,275  |
|                                | n | 58     | 51     | 60     | 53     |
| Нейтрофилы<br>сегментоядерные  | R | -0,013 | 0,071  | 0,179  | -0,167 |
|                                | p | 0,924  | 0,621  | 0,171  | 0,232  |
|                                | n | 58     | 51     | 60     | 53     |

Взаимосвязь с моноцитами, лимфоцитами, плазматическими клетками и клетками эритроидного ростка представлены в таблицах 86, 87. Плазматические клетки, эритроидные предшественники высокодостоверно отрицательно коррелировали с NK- клетками. Считаем необходимым отметить корреляции с маргинальной значимостью. Оксифильные нормобласты были взаимосвязаны с зрелыми Т- клетками (CD3<sup>+</sup>): положительная корреляция слабой силы. Отрицательная слабая корреляция отмечена для CD19<sup>+</sup> с оксифильными нормобластами, и положительная между базофильными нормобластами и CD19<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> клетками.

**Таблица 86** – Корреляционные связи Т-лимфоцитарных субпопуляций костного мозга с моноцитами, лимфоцитами, плазматическими клетками и клетками эритроидного ростка

| Показатель |   | CD45<br>RO <sup>+</sup> | CD3 <sup>+</sup> | CD8 <sup>+</sup> | CD4 <sup>+</sup> | CD16 <sup>+</sup> CD<br>56 <sup>+</sup> | CD4/<br>CD8 | CD8 <sup>+</sup><br>HLA-DR <sup>+</sup> |
|------------|---|-------------------------|------------------|------------------|------------------|---|-------------|---|
| Плазмоциты | R | -0,068                  | -0,029           | 0,110            | -0,051           | -,438**                                 | -0,106      | 0,109                                   |
|            | p | 0,631                   | 0,824            | 0,388            | 0,691            | 0,004                                   | 0,407       | 0,413                                   |
|            | n | 53                      | 61               | 64               | 64               | 42                                      | 63          | 59                                      |
| БЗНБ       | R | 0,114                   | 0,165            | 0,024            | 0,000            | -,481**                                 | -0,055      | 0,059                                   |
|            | p | 0,427                   | 0,213            | 0,851            | 1,000            | 0,002                                   | 0,675       | 0,662                                   |
|            | n | 51                      | 59               | 62               | 62               | 40                                      | 61          | 57                                      |

Продолжение таблицы 86

|      |   |        |       |        |       |        |        |       |
|------|---|--------|-------|--------|-------|--------|--------|-------|
| ПХНБ | R | -0,141 | 0,078 | ,260*  | 0,002 | -0,146 | -,273* | 0,105 |
|      | p | 0,313  | 0,551 | 0,038  | 0,987 | 0,357  | 0,030  | 0,431 |
|      | n | 53     | 61    | 64     | 64    | 42     | 63     | 59    |
| ОКНБ | R | -0,099 | 0,250 | -0,043 | 0,132 | 0,075  | 0,070  | 0,154 |
|      | p | 0,479  | 0,052 | 0,734  | 0,297 | 0,637  | 0,588  | 0,245 |
|      | n | 53     | 61    | 64     | 64    | 42     | 63     | 59    |
| СЭР  | R | -,291* | 0,041 | 0,149  | 0,016 | 0,091  | -0,167 | 0,222 |
|      | p | 0,034  | 0,757 | 0,238  | 0,900 | 0,565  | 0,192  | 0,092 |
|      | N | 53     | 61    | 64     | 64    | 42     | 63     | 59    |

БЗНБ – базофильные нормобласты, ПХНБ – полихроматофильные нормобласты, ОКНБ – оксифильные нормобласты, СЭР – сумма клеток эритроидного ростка

**Таблица 87** – Корреляционные связи В-лимфоцитарных субпопуляций костного мозга с моноцитами, лимфоцитами, плазматическими клетками и клетками эритроидного ростка

| Показатель |   | CD19+  | CD19+CD10+ | CD19+CD38+ | CD19+CD5+ |
|------------|---|--------|------------|------------|-----------|
| Лимфоциты  | R | 0,030  | -0,093     | -0,147     | 0,235     |
|            | p | 0,824  | 0,518      | 0,267      | 0,094     |
|            | n | 57     | 50         | 59         | 52        |
| Плазмоциты | R | 0,062  | -0,023     | -0,061     | -0,116    |
|            | p | 0,646  | 0,871      | 0,645      | 0,408     |
|            | n | 58     | 51         | 60         | 53        |
| БЗНБ       | R | -0,064 | 0,206      | 0,031      | -0,108    |
|            | p | 0,640  | 0,156      | 0,816      | 0,453     |
|            | n | 56     | 49         | 58         | 51        |
| ПХНБ       | R | -0,001 | -0,170     | 0,155      | 0,025     |
|            | p | 0,994  | 0,233      | 0,236      | 0,860     |
|            | n | 58     | 51         | 60         | 53        |
| ОКНБ       | R | -0,257 | -0,057     | -0,005     | 0,015     |
|            | p | 0,052  | 0,693      | 0,968      | 0,915     |
|            | N | 58     | 51         | 60         | 53        |

БЗНБ – базофильные нормобласты, ПХНБ – полихроматофильные нормобласты, ОКНБ – оксифильные нормобласты, СЭР – сумма клеток эритроидного ростка

Таким образом, на данном этапе работы установлены важные корреляционные связи морфологически выявляемых клеточных типов костного с эффекторными лимфоцитарными популяциями, которые касались как Т-, так и В-клеточного звена. Миелоидные предшественники находились в отрицательной корреляции средней силы с Т- эффекторными клетками, зрелые нейтрофилы – в положительной связи.

Плазматические клетки, эритроидные предшественники высокодостоверно отрицательно коррелировали с НК- клетками. CD19+, CD19+CD38+ лимфоцитарные популяции положительно коррелировали со зрелыми нейтрофилами. Связь эффекторных лимфоцитарных популяций с эритроидными предшественниками не была высокодостоверной.

### **3.8 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций в первичном очаге поражения и костном мозге при раке молочной железы**

При корреляционном анализе лимфоидных популяций костного мозга со степенью инфильтрации опухоли лимфоцитами нами выявлены интересные закономерности. Данные представлены в таблице 88. Как видно из таблицы, костномозговые лимфоидные популяции находятся в отрицательной корреляционной связи с иммунокомпетентными клетками, инфильтрирующими опухоль. Это не исключает регуляторного влияния соответствующих клеток с цитотоксическим потенциалом, а также клеток врожденного иммунитета на иммунные интрамуральные реакции. Установлена отрицательная корреляционная связь средней силы уровня плазматической инфильтрации CD38+ с уровнем популяций НК – клеток костного мозга:  $R = - 0,455$ ,  $p = 0,044$ .

Аналогично, отрицательная корреляция средней силы выявлена в отношении инфильтрирующих опухоль Т-клеток CD4+ с уровнем В-предшественников (CD19+CD10+):  $R = - 0,420$ ,  $p = 0,021$ . Интересно отметить, что в опухоли имелась положительная корреляция CD20+ клеток уровнем Т-клеточных реакций ( $R = 0,285$ ,  $p = 0,004$ ,  $n = 100$ ), с частности с содержанием CD4+ лимфоцитов ( $R = 0,401$ ,  $p = 0,001$ ,  $n = 69$ ), а также с уровнем CD8+ клеток ( $R = 0,304$ ,  $p = 0,011$ ,  $n = 69$ ).

Отрицательная корреляция (Пирсона) для CD8+ клеток выявлена с B1(CD5+)-лимфоцитами:  $R = - 0,520$ ,  $p = 0,047$ . Также следует отметить следующие корреляции с маргинальной значимостью: для CD3+, CD8+ клеток с В-предшественниками ( $0,05 < p < 0,1$ ). Наблюдалась отрицательная корреляция средней силы с CD8+интрамуральными реакциями,  $R = - 0,340$ , и аналогичного характера с CD3+ реакциями,  $R = -0,323$ .



**Таблица 88** – Корреляционные связи костно-мозговых лимфоцитов с интрацеребральными иммунными реакциями

| Популяции лимфоцитов костного мозга |   | Опухоль инфильтрирующие популяции лимфоцитов |        |        |        |        |        |
|-------------------------------------|---|--|--------|--------|--------|--------|--------|
|                                     |   | CD45+  | CD3+   | CD4+   | CD8+   | CD20+  | CD38+  |
| CD16+CD3,<br>CD56+CD3-              | R | 0,216  | 0      | 0,045  | -0,107 | -0,344 | -,455* |
|                                     | p | 0,347  | 1      | 0,832  | 0,636  | 0,149  | 0,044  |
|                                     | n | 21   | 21     | 25     | 22     | 19     | 20     |
| CD3+                                | R | -0,127                                       | -0,067 | -0,113 | -0,228 | 0,203  | -0,116 |
|                                     | p | 0,497  | 0,722  | 0,525  | 0,209  | 0,29   | 0,543  |
|                                     | n | 31   | 31     | 34     | 32     | 29     | 30     |
| CD45RO+                             | R | 0,142  | -0,199 | 0,02   | 0,072  | 0,265  | 0,156  |
|                                     | p | 0,432  | 0,268  | 0,907  | 0,688  | 0,149  | 0,393  |
|                                     | n | 33   | 33     | 35     | 34     | 31     | 32     |
| CD4+                                | R | 0,026  | 0,015  | -0,003 | -0,026 | 0,029  | -0,14  |
|                                     | p | 0,882  | 0,931  | 0,987  | 0,88   | 0,874  | 0,436  |
|                                     | n | 34   | 34     | 36     | 35     | 32     | 33     |
| CD8+                                | R | -0,079                                       | -0,02  | -0,019 | 0,021  | 0,245  | 0,178  |
|                                     | p | 0,662  | 0,914  | 0,91   | 0,906  | 0,184  | 0,33   |
|                                     | n | 33   | 33     | 36     | 35     | 31     | 32     |
| CD4+/CD8+                           | R | 0,054  | -0,036 | 0,012  | -0,006 | -0,184 | -0,156 |
|                                     | p | 0,766  | 0,843  | 0,947  | 0,972  | 0,322  | 0,393  |
|                                     | n | 33   | 33     | 35     | 34     | 31     | 32     |
| CD8+HLADR+                          | R | -0,111                                       | 0,047  | 0,071  | 0,076  | -0,012 | 0,077  |
|                                     | p | 0,561  | 0,805  | 0,69   | 0,678  | 0,952  | 0,69   |
|                                     | n | 30   | 30     | 34     | 32     | 28     | 29     |
| CD4+CD25+                           | R | 0,136  | 0,161  | 0,159  | -0,01  | 0,252  | -0,006 |
|                                     | p | 0,481  | 0,403  | 0,377  | 0,959  | 0,205  | 0,977  |
|                                     | n | 29   | 29     | 33     | 31     | 27     | 28     |
| CD19+                               | R | 0,167  | 0,175  | 0,154  | 0,098  | -0,013 | -0,124 |
|                                     | p | 0,395  | 0,372  | 0,407  | 0,613  | 0,948  | 0,538  |
|                                     | n | 28   | 28     | 31     | 29     | 26     | 27     |
| CD19+CD10+                          | R | -0,153                                       | -0,323 | -,420* | -0,34  | 0,28   | -0,089 |
|                                     | p | 0,437  | 0,094  | 0,021  | 0,077  | 0,166  | 0,659  |
|                                     | n | 28   | 28     | 30     | 28     | 26     | 27     |
| CD19+CD38+                          | R | 0,046  | 0,204  | 0,218  | 0,177  | 0,248  | -0,033 |
|                                     | p | 0,804  | 0,272  | 0,209  | 0,323  | 0,194  | 0,863  |
|                                     | n | 31   | 31     | 35     | 33     | 29     | 30     |
| CD19+CD5+                           | R | -0,271                                       | -0,178 | -0,217 | -,520* | -0,062 | 0,023  |
|                                     | p | 0,309  | 0,51   | 0,438  | 0,047  | 0,827  | 0,935  |
|                                     | n | 16   | 16     | 15     | 15     | 15     | 15     |

Резюмируя по данному разделу, можно заключить, что выраженность интратуморальных иммунных реакций взаимосвязана не только с HLA- иммунофенотипом, как указано выше, но и иммунокомпетентные клетки, инфильтрирующие опухоль находятся в отрицательной корреляционной связи с костномозговыми лимфоидными популяциями. А именно, CD38+клетки с уровнем NK- клеток костного мозга; CD4+ клетки с уровнем В-предшественников; CD3+, CD8+ клетки с уровнем В-предшественников. Отрицательная корреляция CD8+ клеток отмечена с уровнем В1-лимфоцитов CD5+. Это факты новые и требуют дальнейших исследований.

## ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

### 4.1 Взаимосвязь иммунофенотипа рака яичников с клиническими и морфологическими показателями

Первым этапом работы стало изучение связи иммунофенотипа опухоли с клинико-морфологическими характеристиками первичного рака яичников (серозная аденокарцинома, high grade, n = 33): стадия, уровень онкомаркера СА-125, метастатическое поражение большого сальника, метастатическое поражение кишечника, канцероматоз брюшины, объем остаточной опухоли. Рассмотрим результаты анализа по каждому антигену, экспрессия которого была изучена на опухолевых клетках.

Полученные результаты анализа экспрессии молекул HLA-I и II класса (HLA-DR) клетками рака яичников представлены в таблице 89. При изучении экспрессии антигенных детерминант HLA-I класса установлено, что в 15,2% (n = 5) образцов была отрицательная реакция, то есть наблюдалось менее 10% антигенположительных клеток. Мономорфная экспрессия анализируемого маркера выявлена в 33,3% (n = 11) случаев, мозаичный тип реакции отмечен в 51,5% (n = 17) (Рисунок 57).

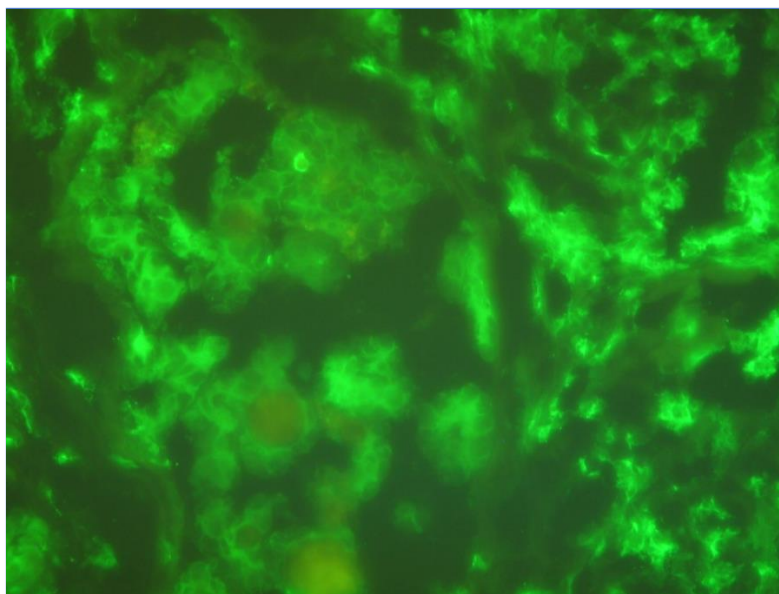
**Таблица 89** – Экспрессия опухолевыми клетками молекул HLA-I, HLA-DR

| Оценка экспрессии антигена | Абс. | %     |
|----------------------------|------|-------|
| <b>HLA-I</b>               |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 5    | 15,2  |
| Мозаичная реакция «-/»     | 17   | 51,5  |
| Мономорфная реакция «+»    | 11   | 33,3  |
| Всего                      | 33   | 100,0 |
| <b>HLA-DR</b>              |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 10   | 30,3  |
| Мозаичная реакция «-/»     | 18   | 54,5  |
| Мономорфная реакция «+»    | 5    | 15,5  |
| Всего                      | 33   | 100,0 |

В отношении молекулы HLA-DR наблюдалась следующая картина. Антигены более чем в половине изученных образцов экспрессировались клетками рака, что соответствовало 70,0% (n = 23), из них экспрессия HLA-DR антигена мозаичного характера отмечена более чем 50%

опухолевых клеток ( $n = 18$ ). Мономорфная экспрессия данного антигена опухолевыми клетками установлена в 15,5% ( $n = 5$ ) образцов.

Как видим, частота экспрессии молекул HLA I и II класса была схожей. Большинство клеток рака яичников экспрессируют оба класса молекул, несколько чаще отмечено отсутствие экспрессии молекул HLA II класса, а вот мономорфная реакция чаще наблюдалась в отношении антигенов HLA I класса.



**Рисунок 57** - Экспрессия молекул HLA-DR клетками рака яичников (увеличение  $\times 400$ ) — зеленый цвет

При анализе взаимосвязи экспрессии обеих HLA- детерминант отмечено следующее (Таблица 90). Мономорфная экспрессия обеих детерминант отмечена в 18,2% случаев. В 40,0% образцов наблюдалось отсутствие экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости I и II класса. При HLA-I негативном фенотипе отсутствовала мономорфная экспрессия молекул HLA-DR, преимущественно наблюдался мозаичный HLA-DR фенотип, что отмечено в 60,0% наблюдений.

При мозаичном HLA-I фенотипе одинаково часто встречались мозаичный тип реакций и отсутствие экспрессии HLA-DR (41,2%). Мономорфная экспрессия молекул HLA-I только в 1 случае (9,1%) сопровождалась отрицательным фенотипом по HLA-DR, в половине случаев (54,5%) клетки опухоли экспрессировали молекулы HLA-DR переменным количеством клеток, а в 15,2% наблюдений обе исследуемые детерминанты были экспрессированы большинством клеток серозной аденокарциномы яичников. Среди опухолей с мономорфной экспрессией HLA-I класса 72,1% характеризовались мозаичным HLA-II фенотипом. При оценке по тестам ранговых корреляций взаимосвязь достоверна ( $p = 0,047$ )

**Таблица 90** – Взаимосвязь экспрессии молекул HLA-I с HLA-DR

| Тип реакции |               |      | HLA-DR        |           |             | Всего  |
|-------------|---------------|------|---------------|-----------|-------------|--------|
|             |               |      | отрицательная | мозаичная | мономорфная |        |
| HLA-I       | отрицательная | Абс. | 2             | 3         | 0           | 5      |
|             |               | %    | 40,0%         | 60,0%     | 0,0%        | 100,0% |
|             | мозаичная     | Абс. | 7             | 7         | 3           | 17     |
|             |               | %    | 41,2%         | 41,2%     | 17,6%       | 100,0% |
|             | мономорфная   | Абс. | 1             | 8         | 2           | 11     |
|             |               | %    | 9,1%          | 72,7%     | 18,2%       | 100,0% |
| p = 0,047   |               |      |               |           |             |        |

Мы проанализировали взаимосвязи клинической стадии, размеров первичной опухоли с HLA- иммунофенотипом рака яичников. Получены следующие результаты. Не установлено связи экспрессии молекул HLA I и II класса со стадией опухолевого процесса (Таблица 91).

**Таблица 91** – Взаимосвязь HLA- фенотипа со стадией рака яичников

| Стадия |      | Иммунофенотип |              |            | Итого   |
|--------|------|---------------|--------------|------------|---------|
|        |      | HLA- I «-»    | HLA- I «+/-» | HLA- I «+» |         |
| I -II  | Абс. | 0             | 2            | 2          | 4       |
|        | %    | 0%            | 50%          | 50%        | 100,00% |
| III    | Абс. | 5             | 12           | 7          | 24      |
|        | %    | 20,80%        | 50,00%       | 29,20%     | 100,00% |
| IV     | Абс. | 0             | 3            | 2          | 5       |
|        | %    | 0%            | 60,00%       | 40,00%     | 100,00% |
|        |      | HLA-DR «-»    | HLA-DR «+/-» | HLA-DR «+» |         |
| I -II  | Абс. | 1             | 3            | 0          | 4       |
|        | %    | 25%           | 75%          | 0%         | 100,00% |
| III    | Абс. | 9             | 11           | 4          | 24      |
|        | %    | 37,50%        | 45,80%       | 16,70%     | 100,00% |
| IV     | Абс. | 0             | 4            | 1          | 5       |
|        | %    | 0%            | 80,00%       | 20,00%     | 100,00% |

Вместе с тем считаем необходимым отметить следующее. На ранних стадиях (IC и IIC) рака яичников наблюдалась экспрессия молекул HLA-I класса. Так, в 50% случаев клетки рака мозаично экспрессировали молекулы HLA-I класса, их мономорфная экспрессия отмечена в аналогичном проценте наблюдений. При III стадии 20,8% (n = 3) опухолей были антиген-негативными и 50,0% (n = 3) частично экспрессировали этот антиген. При IV стадии 60% (n = 3) характеризовались частичной утратой HLA-I класса. Как видим, прогрессия рака яичников сопровождается утратой данных антигенов.

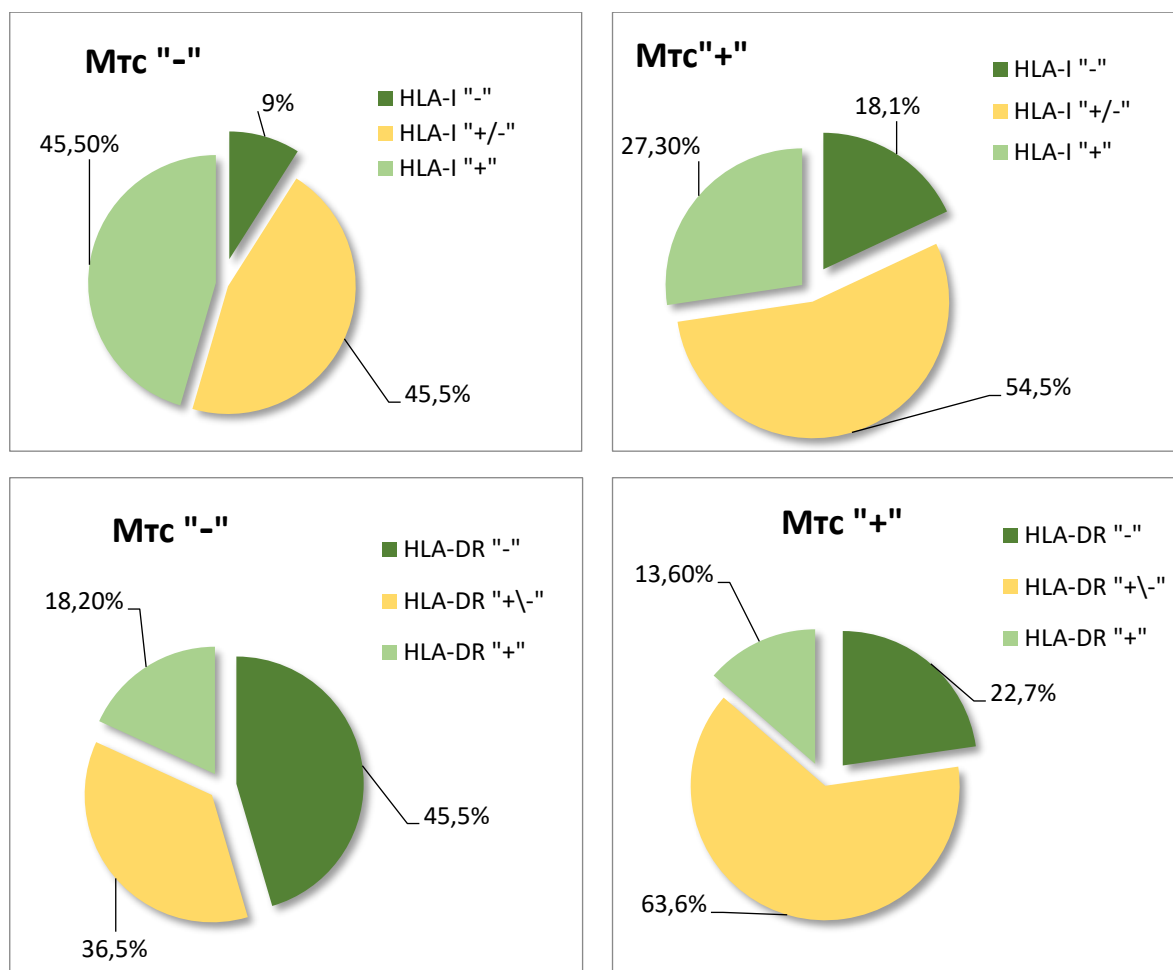
HLA- DR отрицательный фенотип наблюдался при ранних стадиях — в 25,0% случаев, а при ШС — в 37,5% ( $n = 9$ ). При этом несколько увеличилась доля мозаичных и мономорфных опухолей: при IV стадии опухоли с мономорфной экспрессией составили 20,0%, а с мозаичной — 80,0% против 0% и 75,0 при ранних стадиях. На клетках покровного эпителия яичников эти антигены в норме отсутствуют [150]. Как можно заметить по нашим результатам, с нарастанием стадии случаи положительного HLA-DR фенотипа встречаются чаще, но достоверности не наблюдается. Аналогичное наблюдение указывается и другими авторами: экспрессия молекул HLA II класса не зависела от стадии рака яичников [154].

Не установлено связи экспрессии молекул HLA-I и II класса со средними размерами первичной опухоли. Маргинальная значимость ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ) отмечена для HLA-DR фенотипа: размеры негативных опухолей в среднем составили  $11,2 \pm 1,6$  см, мозаичных —  $7,7 \pm 0,7$  см, мономорфных —  $8,0 \pm 2,0$  см,  $p = 0,1$ .

Не выявлено связи с уровнем онкомаркера СА-125.

Далее был выполнен анализ фенотипа в зависимости от распространенности рака яичников по брюшине, метастатического поражения большого сальника и кишечника, а также объема остаточной опухоли. Нами не обнаружено статистически значимых различий между признаками. Вместе с тем следует обратить внимание, что HLA-I мономорфный фенотип наблюдался в два раза чаще при интактной брюшине: 45,5% против 27,3% при канцероматозе (Рисунок 58). Кроме того, интересно отметить, что HLA-I негативные опухоли при канцероматозе брюшины встречались чаще, составив 18,1% против 9,1%. В отношении экспрессии молекул HLA-DR нами отмечено, что при канцероматозе частота мозаичного фенотипа возросла и уменьшилась частота HLA-DR-негативного фенотипа, составив 63,6% против 36,5%, и 22,7% против 45,5%, соответственно.

Таким образом, при раке яичников частота экспрессии молекул HLA I и II класса была схожей. Большинство клеток рака яичников экспрессируют оба класса молекул, несколько чаще отмечено отсутствие экспрессии молекул HLA-II класса, мономорфная реакция чаще наблюдалась в отношении антигенов HLA-I класса. Прогрессия рака яичников сопровождается утратой HLA-I антигенов. С нарастанием стадии опухоли случаи положительного HLA-DR фенотипа встречаются чаще. При канцероматозе брюшины доля HLA- негативных опухолей несколько больше. Однако эти наблюдения не носили достоверный характер.



**Рисунок 58** – Взаимосвязь метастазирования по брюшине с экспрессией HLA- молекул

Далее рассмотрим особенности экспрессии клетками рака яичников трансферриновых рецепторов (TfR1), молекул интегринов CD29. Установлено, что в половине случаев образцы характеризовались мозаичной экспрессией TfR1 (57,6%,  $n = 19$ ), а в 42,4% ( $n = 14$ ) наблюдений клетки рака не экспрессировали исследуемый антиген. Интересно, что TfR1- мозаичный фенотип часто ассоциирован был с HLA-DR экспрессией: мозаичная реакция составила 73,7%, а мономорфная 10,5%. TfR1- негативный фенотип в равном числе случаев сочетался с HLA-DR негативным и позитивным фенотипом опухоли,  $p = 0,03$  (Таблица 92).

Экспрессия CD29 клетками рака яичников наблюдалась в подавляющем числе случаев и составила 94,0% ( $n = 31$ ). Мономорфный и мозаичный типы экспрессии молекул адгезии отмечены в 54,6% ( $n = 18$ ) и 39,4% ( $n = 13$ ). Негативными оказались лишь 6,0% ( $n = 2$ ) опухолей. Мы обратили внимание, что мономорфный CD29 фенотип в большинстве случаев (78,6%) встречался именно при TfR1 отрицательном фенотипе. Доля мозаичных и негативных опухолей при этом составляла лишь 14,3% и 7,1%, соответственно. При TfR1- позитивных опухолях доля мономорфно-экспрессирующих CD29 клеток была в два раза меньше: 36,8%,  $p = 0,001$ .

**Таблица 92** – Экспрессии трансферринового рецептора клетками рака яичников и ее взаимосвязь с экспрессией молекул HLA-DR, CD29

| Экспрессия TfR1,<br>вид реакции |      | Вид реакции                 |           |             | Итого  |
|---------------------------------|------|-----------------------------|-----------|-------------|--------|
|                                 |      | Отрицательная               | Мозаичная | Мономорфная |        |
|                                 |      | Экспрессия HLA-DR, p = 0,03 |           |             |        |
| Отрицательная                   | Абс. | 7                           | 4         | 3           | 14     |
|                                 | %    | 50,0%                       | 28,6%     | 21,4%       | 100,0% |
| Мозаичная                       | Абс. | 3                           | 14        | 2           | 19     |
|                                 | %    | 15,8%                       | 73,7%     | 10,5%       | 100,0% |
|                                 |      | Экспрессия CD29, p = 0,001  |           |             |        |
| Отрицательная                   | Абс. | 2                           | 1         | 11          | 14     |
|                                 | %    | 14,3%                       | 7,1%      | 78,6%       | 100,0% |
| Мозаичная                       | Абс. | 0                           | 12        | 7           | 19     |
|                                 | %    | 0,0%                        | 63,2%     | 36,8%       | 100,0% |

Изучение TfR1, CD29 фенотипа в зависимости от стадии рака яичников не выявило достоверных различий (Таблица 93).

**Таблица 93** – Взаимосвязь TfR1, CD29 фенотипа со стадией рака яичников

| Стадия   |      | Иммунофенотип |            |          | Итого   |
|----------|------|---------------|------------|----------|---------|
|          |      | TfR1 «-»      | TfR1 «+/-» | TfR1 «+» |         |
| I -II    | Абс. | 0             | 4          | -        | 4       |
|          | %    | 0%            | 100%       | -        | 100,00% |
| III      | Абс. | 11            | 13         | -        | 24      |
|          | %    | 45,80%        | 54,20%     | -        | 100,00% |
| IV       | Абс. | 3             | 2          | -        | 5       |
|          | %    | 60,00%        | 40,00%     | -        | 100,00% |
|          |      | CD29 «-»      | CD29 «+/-» | CD29 «+» |         |
| I -II    | Абс. | 0             | 2          | 2        | 4       |
|          | %    | 0%            | 50%        | 50%      | 100,00% |
| III      | Абс. | 2             | 10         | 12       | 24      |
|          | %    | 8,30%         | 41,70%     | 50,00%   | 100,00% |
| IV       | Абс. | 0             | 1          | 4        | 5       |
|          | %    | 0%            | 20,00%     | 80,00%   | 100,00% |
| p > 0,05 |      |               |            |          |         |

Тем не менее, хотелось бы отметить, что при начальных стадиях рака яичников все образцы демонстрировали мозаичный TfR1- фенотип, а при увеличении распространенности опухолевого процесса (III и IV стадии) мы наблюдали появление доли TfR1- негативных



опухолей. На IV стадии частота TfR1- негативного фенотипа составляла более половины случаев. Как мы видим, при нарастании стадии экспрессия трансферриновых рецепторов клетками рака снижается.

Средние размеры первичной опухоли не были взаимосвязаны с TfR1 и CD29 фенотипами рака яичников. Отметим, что средние размеры TfR1- негативных опухолей едва различались от мозаичных и в среднем составили  $10,1 \pm 1,5$  см и  $7,8 \pm 0,6$  см,  $p = 0,1$ .

Не выявлено связи TfR1, CD29 фенотипа в зависимости от уровня онкомаркера СА-125.

Далее был выполнен анализ фенотипа в зависимости от распространенности рака яичников по брюшине, метастатического поражения большого сальника и кишечника, а также объема остаточной опухоли. Частота мозаичного TfR1 фенотипа при метастатическом поражении брюшины составила 54,5%, при интактной брюшине несколько выше — 63,6%, TfR1 негативные опухоли встречались в 45,5% и 36,4% случаев, соответственно, но различия не достоверны,  $p = 0,8$ . Фенотип CD29 практически не зависел от наличия или отсутствия канцероматоза брюшины, частота разных типов реакций была сопоставима.

Интересные данные получены при анализе связи метастатического поражения большого сальника и экспрессии TfR1 (Таблица 94). Доля TfR1- позитивных опухолей при отсутствии поражения большого сальника составила 100%, тогда при метастазах — 48,1%,  $p = 0,02$ . В остальных случаях экспрессия TfR1 клетками рака отсутствовала. Приближенные к вышеуказанным результаты отмечены в отношении экспрессии CD29,  $p = 0,015$ ,  $n = 25$ , 7,739. Метастазы в большой сальник сопровождалось снижением частоты мономорфного фенотипа (с 84,6% до 33,3%).

Маргинальная значимость отмечена в отношении фенотипа CD29: при метастатическом поражении кишечника во всех случаях отмечен мономорфный тип экспрессии молекул адгезии. При отсутствии метастатического поражения кишечника в 51,7% случаев наблюдались негативный и мозаичный фенотипы, доля мономорфного уменьшилась (Таблица 94).

**Таблица 94** – Результаты анализа взаимосвязей экспрессии трансферринового рецептора, молекул интегринов CD29 с распространенностью опухоли

| Признак                    |      | TfR1 фенотип, $p = 0,02$ |           |             | Итого   |
|----------------------------|------|--------------------------|-----------|-------------|---------|
|                            |      | Отрицательный            | Мозаичный | Мономорфный |         |
| Большой сальник<br>Мтс «-» | Абс. | 0                        | 6         | -           | 6       |
|                            | %    | 0%                       | 100,00%   |             | 100,00% |
| Большой сальник<br>Мтс «+» | Абс. | 14                       | 13        | -           | 24      |
|                            | %    | 51,90%                   | 48,10%    |             | 100,00% |

| CD29 фенотип, p = 0,05 |      |                           |             |         |
|------------------------|------|---------------------------|-------------|---------|
|                        |      | Отрицательный и мозаичный | Мономорфный |         |
| Кишечник               | Абс. | 15                        | 14          | 29      |
| Мтс «-»                | %    | 51,70%                    | 48,30%      | 100,00% |
| Кишечник               | Абс. | 0                         | 4           | 4       |
| Мтс «+»                | %    | 0%                        | 100,00%     | 100,00% |

Таким образом, на данном этапе работы установлено, TfR1- мозаичный фенотип достоверно чаще ассоциирован с HLA-DR экспрессией: мозаичная реакция составила 73,7%, а мономорфная 10,5%. TfR1- негативный фенотип в равном числе случаев сочетался с HLA-DR негативным и позитивным фенотипом опухоли.

Экспрессия молекул интегринов CD29 клетками рака яичников наблюдалась в подавляющем числе случаев. Мономорфный CD29 фенотип достоверно чаще (78,6% случаев) встречался именно при TfR1 отрицательном фенотипе.

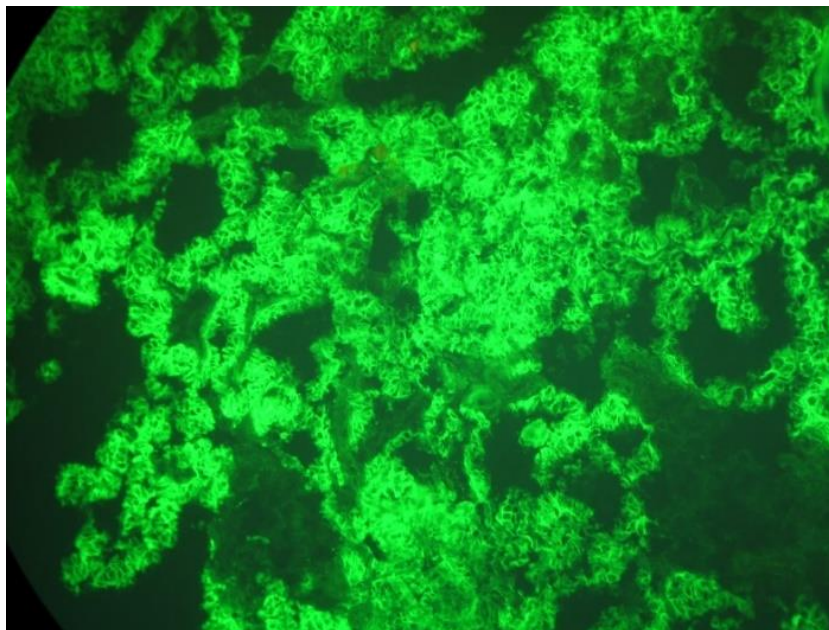
Частота экспрессии трансферриновых рецепторов и молекул адгезии CD29 не связана достоверно со степенью распространенности опухолевого процесса по большинству анализируемых признаков. При метастазах в большой сальник позитивный TfR1 фенотип отмечен в 48,1% случаев, тогда как при интактном большом сальнике он наблюдался достоверно чаще (100,0%).

Рассмотрим результаты анализа экспрессии муцинового белка MUC1 и молекулы CD56 клетками рака яичников, которые представлены в таблице 95.

**Таблица 95 – Экспрессии муцинового белка MUC1 и CD56 клетками рак яичников**

| Оценка экспрессии антигена | Абс. | %     |
|----------------------------|------|-------|
| CD56                       |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 17   | 51,5  |
| Мозаичная реакция «-/»     | 12   | 36,4  |
| Мономорфная реакция «+»    | 4    | 12,1  |
| Всего                      | 33   | 100,0 |
| MUC1                       |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 2    | 6,0   |
| Мозаичная реакция «-/»     | 12   | 36,4  |
| Мономорфная реакция «+»    | 19   | 57,6  |
| Всего                      | 33   | 100,0 |

Установлено, что MUC1 экспрессировался клетками опухоли в большинстве случаев, при этом мономорфно в 57,6%, мозаично в 36,4% наблюдений. CD56- позитивные опухоли отмечены в половине случаев (48,5%). Наименьшую долю составили опухоли с мономорфной экспрессией CD56 – 12,1%, а с мозаичным типом реакции в три раза больше. Пример экспрессии молекул CD56 клетками рака яичников представлен на рисунке 59.



**Рисунок 59** – Экспрессия CD56 клетками рака яичников (увеличение x400) – зеленый цвет

Изучение MUC1-, CD56- фенотипа в зависимости от стадии не выявило достоверных различий, но хотелось бы обратить внимание на следующие данные (Таблица 96). Как можно видеть из таблицы, с нарастанием стадии частота мономорфной MUC1 экспрессии уменьшалась и увеличивалась доля мозаичной реакции. Принимая во внимание, что этот муциновый белок участвует в процессах, которые приводят к увеличению инвазивного потенциала клеток, можно предположить, что именно на начальных стадиях развития рака яичников его гиперэкспрессия определенным пулом опухолевых клеток потенцирует быструю диссеминацию [188]. Хотя другими авторами отмечено, что повышенная экспрессия MUC-1 (более 50% клеток опухоли) статистически значимо коррелировала с распространенными стадиями заболевания (III - IV) [10].

Также с увеличением стадии нами отмечено нарастание доли мономорфной и мозаичной экспрессии CD56, которая является неблагоприятным фактором прогноза при многих злокачественных новообразованиях. Однако число случаев невелико и любые суждения на этот счет преждевременны.

**Таблица 96** – Взаимосвязь MUC1-, CD56- фенотипа опухоли со стадией

| Стадия  |      | Иммунофенотип |            |          | Итого  |
|---------|------|---------------|------------|----------|--------|
|         |      | CD56 «-»      | CD56 «+/-» | CD56 «+» |        |
| I-II    | Абс. | 2             | 1          | 1        | 4      |
|         | %    | 50%           | 25,0%      | 25%      | 100,0% |
| III     | Абс. | 14            | 8          | 2        | 24     |
|         | %    | 58,3%         | 33,3%      | 8,3%     | 100,0% |
| IV      | Абс. | 1             | 3          | 1        | 5      |
|         | %    | 20%           | 60,0%      | 20,0%    | 100,0% |
| p = 0,5 |      |               |            |          |        |
|         |      | MUC1«-»       | MUC1«+/-»  | MUC1 «+» |        |
| I-II    | Абс. | 0             | 0          | 4        | 3      |
|         | %    | 0%            | 0%         | 100%     | 100,0% |
| III     | Абс. | 2             | 9          | 13       | 24     |
|         | %    | 8,3%          | 37,5%      | 54,2%    | 100,0% |
| IV      | Абс. | 0             | 3          | 2        | 5      |
|         | %    | 0%            | 60,0%      | 40,0%    | 100,0% |
| p = 0,3 |      |               |            |          |        |

При изучении размеров первичного опухолевого очага в зависимости от экспрессии молекул MUC1 мы наблюдали различия маргинальной значимости ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). В отношении MUC1- фенотипа получены следующие данные: MUC1- негативные опухоли были больше, и в среднем их размер составил  $13,0 \pm 9,0$  см. Меньше размером оказались опухоли с мозаичным и мономорфным фенотипами, их средние значения были  $6,92 \pm 0,9$  см и  $9,58 \pm 0,8$  см, соответственно,  $p = 0,1$ .

В отношении CD56- фенотипа наблюдались следующие различия. Оказалось, что средний размер первичной опухоли был достоверно взаимосвязан с экспрессией молекул CD56. Опухоли мономорфного CD56 фенотипа имели размеры меньше, чем опухоли с мозаичным или негативным фенотипами. Кроме того, отметим, что опухоли, экспрессирующие CD56 мономорфно, во всех случаях имели солидное строение (100%), признаки достоверно связаны,  $p = 0,012$ . При мозаичном и негативном фенотипе доля солидных новообразований, соответственно, составила 16,7% и 41,2%.

Анализ CD56-, MUC1- фенотипа рака яичников в зависимости от уровня онкомаркера СА-125 не выявил значимых различий.

Далее был выполнен анализ CD56-, MUC1- фенотипа в зависимости от распространенности рака яичников по брюшине, метастатического поражения большого сальника и кишечника, а также объема остаточной опухоли после хирургического вмешательства. Получены следующие данные.

Мы не наблюдали достоверных различий в фенотипе CD56, MUC1 в зависимости от диссеминации рака яичников по брюшине. Так, частота мозаичного CD56 фенотипа при наличии и отсутствии метастазов по брюшине составила 36,4%, мономорфного — 9,1% и 18,2%, соответственно, негативного — 54,5% и 45,5%, соответственно,  $p = 0,7$ . При этом, мы обнаружили, что CD56 позитивный фенотип рака характеризовался более крупными размерами диссеминатов по брюшине ( $4,2 \pm 1,1$  см), чем негативный фенотип опухоли —  $2,7 \pm 0,5$  см, что представлено в таблице 97.

**Таблица 97** – Результаты анализа взаимосвязей экспрессии молекул CD56 с размерами опухолевых очагов

| Признак                              | CD56 иммунофенотип      |                     |                       | p     |
|--------------------------------------|-------------------------|---------------------|-----------------------|-------|
|                                      | Отрицательный<br>n = 17 | Мозаичный<br>n = 12 | Мономорфный<br>n = 12 |       |
| Средний размер первичной опухоли, см | $7,9 \pm 0,8$           | $10,3 \pm 1,5$      | $5,3 \pm 0,6$         | 0,05  |
| Объем остаточной опухоли, см         | $3,4 \pm 0,7$           | $6,8 \pm 1,3$       | $6,0 \pm 0,5$         | 0,018 |
| Размер диссеминатов брюшины, см      | $2,7 \pm 0,5$           | $4,2 \pm 1,1$       |                       | 0,05  |

Как видно из таблицы, также в зависимости от CD56 -фенотипа опухоли различался объем остаточной опухоли после хирургического лечения. Размеры опухолевых очагов были достоверно больше при мономорфной и мозаичной экспрессии молекул CD56 и их средние значения составили  $6,0 \pm 0,5$  см и  $6,8 \pm 1,3$  см, соответственно, тогда как при отрицательном CD56 фенотипе они не превышали  $3,4 \pm 0,7$  см. Различия статистически значимы,  $p = 0,018$ .

Таким образом, на данном этапе работы по большинству признаков не выявлено значимых взаимосвязей между частотой экспрессии MUC-1 и клинико-морфологическими характеристиками рака яичников.

Установлены взаимосвязи CD56- фенотипа со средним размером первичной опухоли яичников: достоверно больших размераа опухоли были при мономорфном фенотипе. CD56 мономорфные опухоли во всех случаях имели солидное строение,  $p = 0,012$ .

Высокая частота экспрессии молекул CD56 опухолевыми клетками чаще отмечена при крупных диссеминатах брюшины, а также ассоциирована с большими размерами остаточной опухоли в сравнении с негативным фенотипом.

## 4.2 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с клиническими и морфологическими показателями

### 4.2.1 Оценка интратуморальных иммунных реакций методом иммуногистохимии на криостатных срезах

Изучение интратуморальных реакций нами проводилось отдельно в паренхиме и стромальном компоненте опухоли. В этом разделе мы сразу дадим характеристику и паренхиматозного, и стромального компонента опухоли, а затем уже приступим к анализу взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций в паренхиме опухоли с клинико-морфологическими показателями.

Итак, рассмотрим результаты оценки лимфоидной инфильтрации паренхимы опухоли. Первым этапом выполнена оценка выраженности общей лейкоцитарной инфильтрации на основании количества CD45+ лимфоцитов в опухолевых срезах (n = 33) (Таблица 98).

**Таблица 98** – Лимфоидная инфильтрация опухоли при раке яичников

| Антиген |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |        |                      |        |
|---------|---|---------------------------------------|--------|----------------------|--------|
|         |   | Слабая                                |        | Умеренная/выраженная |        |
|         |   | опухоль                               | строма | опухоль              | строма |
| CD45    | n | 6                                     | 5      | 27                   | 28     |
|         | % | 18,2%                                 | 15,5%  | 81,8%                | 81,8%  |
| CD7     | n | 17                                    | 15     | 16                   | 18     |
|         | % | 51,5%                                 | 45,5%  | 48,4%                | 54,5%  |
| CD3     | n | 21                                    | 14     | 12                   | 19     |
|         | % | 63,6%                                 | 42,4%  | 36,4%                | 57,5%  |
| CD8     | n | 21                                    | 21     | 12                   | 12     |
|         | % | 63,6%                                 | 63,3%  | 36,4%                | 36,4%  |
| CD4     | n | 26                                    | 23     | 7                    | 10     |
|         | % | 81,8%                                 | 69,7%  | 18,2%                | 30,3%  |
| CD56    | n | 11                                    | 13     | 6                    | 1      |
|         | % | 64,7%                                 | 76,5%  | 35,3%                | 23,5%  |
| CD20    | n | -                                     | 23     | -                    | 4      |
|         | % | -                                     | 69,7%  | -                    | 3,0%   |

Умеренная и выраженная лимфоидная инфильтрация опухоли по группе в целом выявлена в 81,8% (n = 27) случаев, в 18,2% (n = 6) отмечена слабая инфильтрация. Т-клеточные интратуморальные реакции составили следующую картину (n = 33): CD7+ клетки

инфильтрировали опухоль выражено или умеренно почти в половине случаев, что составило 48,4% (n = 16), CD3+ клеточные реакции отмечены в 36,6% наблюдений.

Пропорция цитотоксических CD8+ клеток в опухоли составила 36,3%, что вдвое больше чем CD4+ клеток. Умеренная и выраженная инфильтрация CD56+ клетками отмечалась в 35,3% опухолей.

В строме в целом наблюдались сходные результаты оценки общелейкоцитарных, Т-клеточных реакций, но обращало внимание некоторое преобладание пропорции зрелых CD3+ клеток. Частота CD3- клеточных реакций в строме составила 57,5%, тогда как в опухоли она была 36,4%.

Хорошо заметны различия в уровне NK- клеточных стромальных реакций, частота которых в строме была ниже по сравнению с паренхимой: 23,5% и 35,3%, соответственно. Кроме того, в строме присутствовали В- клеточные реакции, которых вовсе не наблюдалось в опухоли. Следовательно, интратуморальные иммунные реакции в строме и в опухоли качественно различаются. Как мы выявили, преимущественно Т-клеточные (CD7+, CD3+) реакции наблюдались в строме, тогда как в паренхиме имело место преобладание NK-клеточных реакций.

Интратуморальные иммунные реакции были взаимосвязаны между собой. Положительные корреляции выявлены между общим уровнем лейкоцитарной инфильтрации и Т-клеточными CD7+ реакциями ( $R = 0,46$ ,  $p = 0,007$ ), CD4-, цитотоксическими CD8-клеточными реакциями:  $R = 0,37$ ,  $p = 0,03$  и  $R = 0,46$ ,  $p = 0,003$ , соответственно. Уровень обще-Т-клеточной CD7- инфильтрации был взаимосвязан с числом зрелых CD3+ клеток ( $R = 0,459$ ,  $p = 0,007$ ) и количеством CD56+ клеток ( $R = 0,47$ ,  $p = 0,03$ ).

Также присутствовали корреляции между стромальными лимфоидными реакциями. Положительная корреляция средней силы отмечена между уровнем обще-Т-клеточной (CD7), пропорцией зрелых Т CD3+ клеток и общелейкоцитарной реакцией:  $R = 0,398$ ,  $p = 0,022$  и  $R = 0,549$ ,  $p = 0,001$ , соответственно. Кроме того, CD7- Т-клеточные реакции были высокодостоверно взаимосвязаны с выраженностью CD3+ ( $R = 0,456$ ,  $p = 0,008$ ) и CD8+ инфильтрацией стромы ( $R = 0,552$ ,  $p = 0,001$ ). Цитотоксические CD8- реакции положительно коррелировали с CD4- инфильтрацией ( $R = 0,401$ ,  $p = 0,021$ ) и уровнем В-клеточных реакций CD20 ( $R = 0,381$ ,  $p = 0,029$ ).

Мы видим, что существуют определенные закономерности формирования клеточных иммунных реакций как в опухоли, так и в ее стромальном компоненте, что безусловно влияет на характер развития опухоли.

Следующим шагом мы изучили взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций в паренхиме опухоли с клинико-морфологическими параметрами, что позволило выявить ряд

закономерностей. Во-первых, в целом интенсивность общего уровня местных иммунных реакций по CD45 была более выражена при ранних стадиях рака яичников, хотя различия и не достигли достоверного уровня (Таблица 99). Аналогичную картину мы наблюдали в отношении инфильтрации зрелыми CD3+ клетками. Во-вторых, обнаружен достоверный уровень различий при оценке CD7- Т клеточных реакций, доля которых при ранних стадиях составила 100%, тогда как при IV стадии инфильтрация опухоли CD7+ клетками ослабевала и встречалась в 20,0% случаев ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

**Таблица 99** – Инфильтрация в паренхиме опухоли CD45+, CD3+, CD7+ клетками при раке яичников в зависимости от стадии

| Стадия |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |                      |      | Всего   |
|--------|---|---------------------------------------|----------------------|------|---------|
|        |   | Слабая                                | Умеренная/выраженная | p    |         |
|        |   | CD45+ клетки                          |                      |      |         |
| I-II   | n | 1                                     | 3                    | 0,8  | 4       |
|        | % | 25,00%                                | 75,00%               |      | 100,00% |
| III    | n | 7                                     | 17                   |      | 24      |
|        | % | 29,20%                                | 70,80%               |      | 100,00% |
| IV     | n | 2                                     | 3                    |      | 5       |
|        | % | 40,00%                                | 60,00%               |      | 100,00% |
|        |   | CD3+ клетки                           |                      | p    |         |
| I-II   | n | 2                                     | 2                    | 0,6  | 4       |
|        | % | 50,00%                                | 50,00%               |      | 100,00% |
| III    | n | 14                                    | 10                   |      | 24      |
|        | % | 58,30%                                | 41,70%               |      | 100,00% |
| IV     | n | 4                                     | 1                    |      | 5       |
|        | % | 80,00%                                | 20,00%               |      | 100,00% |
|        |   | CD7+ клетки                           |                      | p    |         |
| I-II   | n | 0                                     | 4                    | 0,05 | 4       |
|        | % | 0%                                    | 100%                 |      | 100%    |
| III    | n | 13                                    | 11                   |      | 24      |
|        | % | 54,20%                                | 45,80%               |      | 100%    |
| IV     | n | 4                                     | 1                    |      | 5       |
|        | % | 80,00%                                | 20,00%               |      | 100%    |

В-третьих, оценка цитотоксических CD8+ Т-клеточных интратуморальных реакций показала, что с увеличением стадии рака яичников достоверно возрастала доля умеренных и выраженных реакций, что демонстрирует таблица 100. Такое наблюдение при синхронном снижении CD3+ Т-клеточной инфильтрации может косвенно свидетельствовать об изменении



пропорции иммунных клеток в сторону NK-лимфоцитов, фенотип которых соответствует CD3-CD8+.

Наконец, CD56-клеточные реакций преимущественно наблюдались на ранних стадиях, напротив, при III стадии процент CD56- инфильтрации опухоли несколько снижался, хотя значимость маргинальная ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

Эти данные указывают, что ранние стадии рака яичников сопровождаются высокой частотой как Т- клеточных, так и NK- клеточных интратуморальных реакций при выраженном общем уровне местных иммунных реакций, но слабой инфильтрацией CD8+ клетками.

**Таблица 100** – Инфильтрация в паренхиме опухоли CD8+, CD4+, CD56+ клетками при раке яичников в зависимости от стадии

| Стадия |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |                      |      |         |
|--------|---|---------------------------------------|----------------------|------|---------|
|        |   | Слабая                                | Умеренная/выраженная |      |         |
|        |   | CD8+ клетки                           |                      | р    | Всего   |
| I-II   | n | 3                                     | 1                    | 0,05 | 4       |
|        | % | 75,00%                                | 25,00%               |      | 100,00% |
| III    | n | 16                                    | 8                    |      | 24      |
|        | % | 66,70%                                | 33,00%               |      | 100,00% |
| IV     | n | 2                                     | 3                    |      | 5       |
|        | % | 40,00%                                | 60,00%               |      | 100,00% |
|        |   | CD4+ клетки                           |                      |      |         |
| I-II   | n | 1                                     | 3                    | 0,4  | 4       |
|        | % | 25,00%                                | 75,00%               |      | 100,00% |
| III    | n | 7                                     | 17                   |      | 24      |
|        | % | 29,20%                                | 70,80%               |      | 100,00% |
| IV     | n | 3                                     | 2                    |      | 5       |
|        | % | 60,00%                                | 40,00%               |      | 100,00% |
|        |   | CD56+ клетки                          |                      |      |         |
| I-II   | n | 0                                     | 2                    | 0,08 | 2       |
|        | % | 0%                                    | 100%                 |      | 100,00% |
| III    | n | 2                                     | 11                   |      | 13      |
|        | % | 15,40%                                | 84,60%               |      | 100,00% |
| IV     | n | 1                                     | 0                    |      | 1       |
|        | % | 100,00%                               | 0,00%                |      | 100,00% |

Анализ в зависимости от степени злокачественности рака яичников не позволил выявить закономерностей ввиду преобладания High grade аденокарциномы. Не выявлено связи с уровнем онкомаркера СА-125 по большинству интратуморальных реакций, за исключением общелейкоцитарной инфильтрации и CD7+ Т-клеточных реакций (Таблица 101).

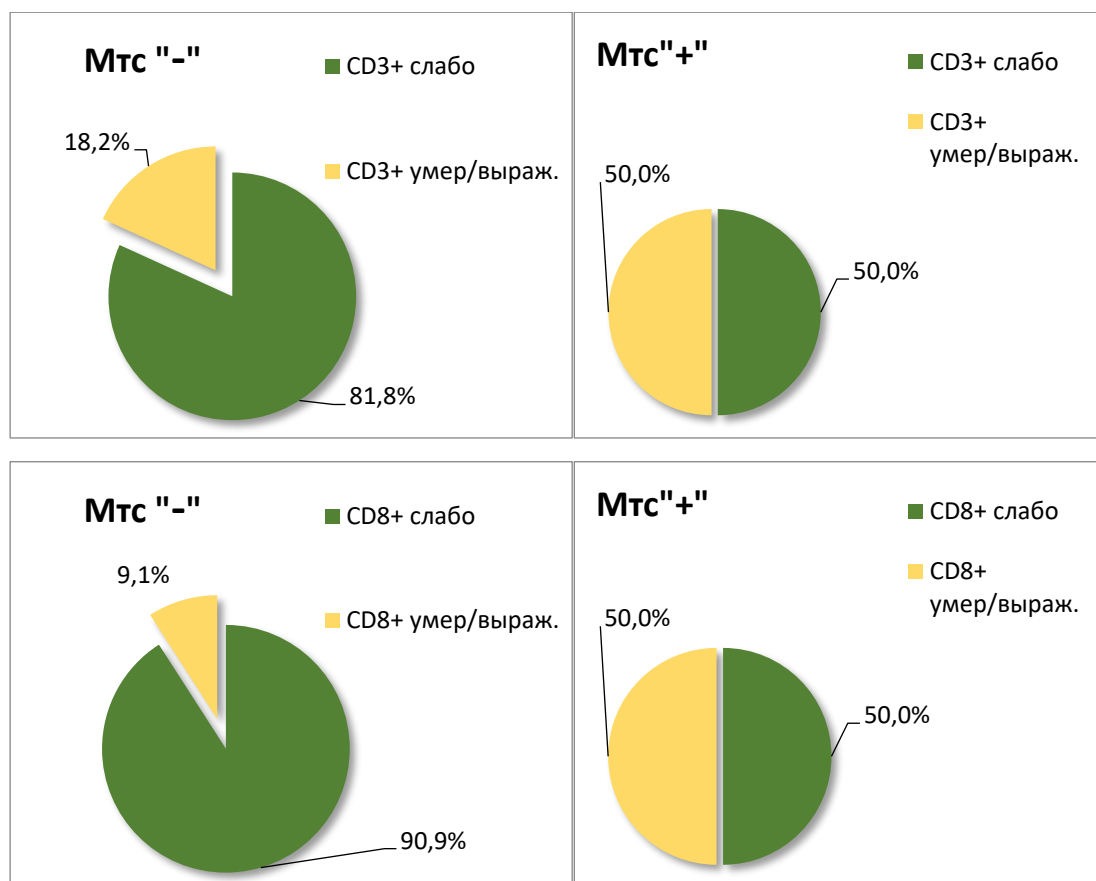
**Таблица 101** – Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций в паренхиме опухоли с уровнем СА-125 в сыворотке крови больных раком яичников

| Маркер           | Вид интратуморальной иммунной реакции |                           | p    |
|------------------|---------------------------------------|---------------------------|------|
|                  | Слабая                                | Умеренная/выраженная      |      |
|                  | CD45+ клетки                          |                           |      |
| СА-125,<br>МЕ/мл | 500,50±113,76<br>n = 10               | 2344,13±624,26<br>n = 23  | 0,02 |
|                  | CD7+ клетки                           |                           |      |
| СА-125,<br>МЕ/мл | 1634,76±767,9<br>n = 17               | 1988,7±505,7<br>n = 16    | 0,05 |
|                  | CD8+ клетки                           |                           |      |
| СА-125,<br>МЕ/мл | 884,38±186,38<br>n = 21               | 3419,83±1098,14<br>n = 12 | 0,1  |

Как видно, из таблицы, слабый тип CD45+ клеточных реакций сопровождался низкими уровнями онкомаркера СА-125, тогда как при умеренных и выраженных типах интратуморальных реакций концентрация данного онкомаркера была значительно выше, признаки достоверно связаны,  $p = 0,02$ . Различия, приближенные к вышеуказанным, но с маргинальной значимостью отмечены в отношении CD7- и CD8- Т-клеточной инфильтрации.

Далее был выполнен анализ интратуморальных реакций в зависимости от распространенности рака яичников по брюшине, метастатического поражения большого сальника и кишечника, а также объема остаточной опухоли. Получены следующие данные.

Распространенность рака яичников по брюшине сопровождалась нарастанием уровня умеренных и выраженных CD45+ интратуморальных реакций в паренхиме опухоли (77,3% и 54,5%,  $p = 0,17$ ). Это находило отражение в уровне Т-клеточных CD3+ реакций, для которых наблюдались различия маргинальной значимости ( $p = 0,08$ ), тогда как для цитотоксических CD8- реакций различия были достоверны,  $p = 0,02$  (Рисунок 60). На диаграмме отчетливо видно, что доля CD3- и CD8- инфильтрации умеренного и выраженного типа значительно увеличивалась при метастазировании рака яичников по брюшине.



**Рисунок 60** – Взаимосвязь метастазирования по брюшине с характером интратуморальных иммунных реакций в паренхиме опухоли

Метастатическое поражение большого сальника сопровождалось снижением частоты умеренных и выраженных CD45- интратуморальных реакций (83,3% и 66,67%,  $p = 0,4$ ), CD7-реакций (100,0% и 37,0%,  $p = 0,07$ ), CD3-реакций (50,0% и 37,0%,  $p = 0,4$ ). Цитотоксические CD8 реакции нарастали (16,7% и 40,7%,  $p = 0,26$ ), также как Т-реакции CD4+ (50,0% и 70,4%,  $p = 0,3$ ). Вместе с тем не наблюдалось статистической значимости.

Выраженность лимфоидных реакций не была достоверно связана с метастатическим поражением кишечника. Различия маргинальной значимости ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ) отмечены для CD7-Т-клеточных реакций: умеренные и выраженные типы реакций чаще наблюдались при отсутствии метастатического поражения кишечника (55,2% и 0%), тогда как слабый тип – при метастазах (100,0 и 44,8%),  $p = 0,06$ .

Таким образом, анализ взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций в паренхиме опухоли с клинико-морфологическими параметрами рака яичников позволил выявить ряд закономерностей. Увеличение стадии опухоли сопровождалось достоверным снижением Т-клеточных (CD7) реакций умеренного и выраженного типа (100%, 45,8%, 20,0%), некоторым снижением уровня НК-инфильтрации при нарастании частоты CD8+ цитотоксических реакций.

Сывороточный уровень онкомаркера СА-125 достоверно коррелировал с уровнем лимфоидной инфильтрации CD45, в частности с уровнем цитотоксических Т-клеточных реакций. Эти результаты могут быть истрактованы следующим образом. Поскольку антиген СА-125 экспрессируется опухолевыми клетками, то в результате реализации цитолитического эффекта CD8+ инфильтрирующими опухоль лимфоцитами его концентрация в крови начинает возрастать. Метастатическое поражение брюшины ассоциировано с достоверным увеличением частоты цитотоксических CD8+Т- клеточных реакций умеренного и выраженного типа.

Далее нами проанализированы взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами интратуморальных реакций стромального компонента опухоли. Результаты анализа были приближены к таковым при анализе паренхиматозного компонента опухоли. Так, увеличение частоты CD4- Т-клеточных реакций умеренного и выраженного типа лимфоцитами наблюдали с увеличением стадии заболевания,  $p = 0,08$ . Кроме того, отмечалось снижение общелейкоцитарной CD45+, CD7+, CD20+ инфильтрации, но не достоверно.

Не отмечено связи уровня стромальной инфильтрации со степенью злокачественности опухоли, а также с концентрацией сывороточного онкомаркера СА-125.

Анализ интратуморальных реакций стромы в зависимости от распространенности рака яичников по брюшине, метастатического поражения большого сальника и кишечника, а также объема остаточной опухоли показал схожие изменения характера инфильтрации, описанные выше для паренхимы опухоли.

Распространенность рака яичников по брюшине сопровождалась нарастанием уровня умеренных и выраженных CD45+ интратуморальных реакций (68,2% и 54,5%,  $p = 0,3$ ). Это находило отражение в уровне Т-клеточных CD3+ реакций ( $p = 0,14$ ), цитотоксических CD8+ реакций,  $p = 0,08$ . Доля CD3- и CD8- инфильтрации умеренного и выраженного типа увеличивалась при метастазировании рака яичников по брюшине: 86,4% против 63,6% и 50,0% против 18,2%, соответственно. Метастатическое поражение большого сальника сопровождалось недостоверным снижением частоты умеренных и выраженных CD45-, Т- клеточных интратуморальных реакций.

Таким образом, в целом выявленные нами изменения инфильтрации стромы не носили достоверного характера при анализе всех клинико-морфологических признаков.

Следующим этапом работы стал анализ корреляционных связей между субпопуляциями стромального и паренхиматозного компонента опухоли. Напомним, что в целом выявленные нами изменения инфильтрации стромы не носили достоверного характера при анализе с клинико-морфологическими признаками. Но мы не можем сбрасывать со счетов особенности инфильтрации стромы. И действительно важность стромального компонента наравне с паренхиматозным нам раскрывает корреляционный анализ.

Мы видим, что имеется прямая связь между выраженностью общелейкоцитарной инфильтрацией в строме и паренхиме опухоли: связь высокодостоверная, умеренной силы (Таблица 102). Также общелейкоцитарная инфильтрация стромы связана с Т-клеточными интратуморальными реакциями, мы видим положительную корреляцию средней силы для цитотоксической популяции CD8+ клеток ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). В свою очередь CD45+ реакции паренхимы четко коррелируют с Т-клеточными реакциями в строме. Связь положительная, т.е. при нарастании уровня общей лимфоидной инфильтрации в паренхиме инфильтрация увеличивается пропорция Т-клеточных реакций стромы,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ , и, соответственно, наоборот.

Выраженность инфильтрации Т-лимфоцитами в строме как можно заметить, строго коррелирует с уровнем инфильтрации в паренхиме. Это прослеживается по нескольким Т-клеточным маркерам (CD3, CD7, CD4, CD8). При внимательном рассмотрении взаимосвязей мы также обнаруживаем, что общий повышение уровня Т-клеточных реакций в строме прямо коррелирует с цитотоксических CD8+ реакций в паренхиме опухоли, связь средней силы. В свою очередь, нельзя не отметить, что CD8+ инфильтрация паренхимы прямо взаимосвязана с CD4+ реакциями в стромальном компоненте опухоли ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). Значимость данной связи маргинальная, но это несколько не исключает взаимовлияния этих признаков.

**Таблица 102** – Корреляционные связи между лимфоидной инфильтрацией в паренхиме и строме при раке яичников

| Паренхима<br>Строма |   | CD45   | CD7    | CD3    | CD4    | CD8   | CD20   | CD56   |
|---------------------|---|--------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|
|                     |   |        |        |        |        |       |        |        |
| CD45                | R | ,735** | 0,229  | -0,035 | -0,134 | 0,310 | -0,196 | -0,242 |
|                     | p | 0,000  | 0,200  | 0,846  | 0,458  | 0,080 | 0,276  | 0,303  |
|                     | N | 33     | 33     | 33     | 33     | 33    | 33     | 20     |
| CD7                 | R | 0,152  | ,577** | 0,162  | 0,086  | ,355* | -0,089 | 0,043  |
|                     | p | 0,399  | 0,000  | 0,369  | 0,635  | 0,042 | 0,624  | 0,858  |
|                     | N | 33     | 33     | 33     | 33     | 33    | 33     | 20     |
| CD3                 | R | 0,303  | 0,207  | ,418*  | -0,210 | ,392* | 0,027  | -0,182 |
|                     | p | 0,086  | 0,248  | 0,015  | 0,242  | 0,024 | 0,881  | 0,444  |
|                     | N | 33     | 33     | 33     | 33     | 33    | 33     | 20     |

|      |   |        |        |        |       |        |        |        |
|------|---|--------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|
| CD4  | R | 0,148  | 0,020  | 0,008  | 0,326 | 0,324  | 0,060  | 0,023  |
|      | p | 0,412  | 0,912  | 0,964  | 0,064 | 0,066  | 0,739  | 0,924  |
|      | N | 33     | 33     | 33     | 33    | 33     | 33     | 20     |
| CD8  | R | 0,262  | 0,211  | 0,112  | 0,175 | ,680** | 0,011  | 0,032  |
|      | p | 0,141  | 0,239  | 0,537  | 0,329 | 0,000  | 0,950  | 0,895  |
|      | N | 33     | 33     | 33     | 33    | 33     | 33     | 20     |
| CD20 | R | -0,072 | -0,089 | -0,011 | 0,258 | 0,184  | ,467** | 0,314  |
|      | p | 0,690  | 0,624  | 0,950  | 0,147 | 0,305  | 0,006  | 0,177  |
|      | N | 33     | 33     | 33     | 33    | 33     | 33     | 20     |
| CD56 | R | 0,031  | 0,372  | 0,337  | 0,352 | -0,097 | 0,062  | ,740** |
|      | p | 0,893  | 0,097  | 0,135  | 0,117 | 0,675  | 0,790  | 0,000  |
|      | N | 21     | 21     | 21     | 21    | 21     | 21     | 19     |

Наличие высокодостверной умеренной силы связи между CD8+, CD56+ стромы и паренхиматозного компонента, ясно демонстрирует их взаимовлияние в ходе иммунного противоопухолевого ответа. Это наблюдается не только для Т-клеточных реакций, но и В-клеточных реакций, для которых также имеет место прямая корреляция.

Таким, образом, мы можем утверждать, что по результатам данного анализа имеется очевидная связь интратуморальных иммунных реакций паренхиматозного и стромального компонентов опухоли. Как мы можем заключить, важное значение в противоопухолевом ответе серозного рака яичников играют как локация, так и направленность интратуморальных иммунных реакций. Именно поэтому, на наш взгляд, столько кропотливая оценка лимфоидной инфильтрации в паренхиме и строме опухоли по отдельности была оправдана и позволила выявить вышеуказанные закономерности.

#### 4.2.2 Оценка интратуморальных иммунных реакций методом проточной цитометрии

Количественная оценка интратуморальных иммунных реакций при раке яичников методом проточной цитометрии позволила более подробно охарактеризовать клеточный состав, инфильтрирующих опухоль лимфоцитов. Анализ проведен для 18 случаев. Мы оценили

несколько субпопуляций Т-клеток, а также соотношение цитотоксических и хелперных субпопуляций. Результаты представлены в таблице 103. Как видно из таблицы, зрелые Т-клетки преобладали среди интратуморальных лимфоцитов, в среднем составив 73,36%. Среднее содержание цитотоксических лимфоцитов было 41,46%, а доля CD3+CD4+ клеток составила 25,47%. Рецептор интерлейкина-2 (CD25) определялся как на цитотоксической популяции лимфоцитов (CD8+), так на хелперах (CD4+). Пропорция CD25+CD4+CD3+ Т-клеток варьировала в диапазоне от 0,3% до 31,7%, и равнялась в среднем 8,31%, при этом в ряде случаев составляя значительную долю в пределах CD3+CD4+ Т-клеток.

**Таблица 103** – Результаты оценки интратуморальных иммунных реакций методом проточной цитометрии при раке яичников

| Тип иммунных реакций   | Минимум | Максимум | M, %  | m, % | Ст. отклонение |
|------------------------|---------|----------|-------|------|----------------|
| CD3+                   | 44,20   | 94,10    | 73,36 | 3,79 | 16,09779       |
| CD3+CD8+               | 7,50    | 75,50    | 41,64 | 4,72 | 19,48          |
| CD3+CD4+               | 3,10    | 59,50    | 25,47 | 4,08 | 16,83          |
| CD3+CD25+              | 0,50    | 36,90    | 11,05 | 2,35 | 9,71           |
| CD4+CD25+              | 0,30    | 31,70    | 8,31  | 2,24 | 9,26           |
| CD4+CD8+               | 0,30    | 19,90    | 3,65  | 1,28 | 4,97           |
| CD3+CD8+/<br>CD3+CD4+  | 0,68    | 7,70     | 2,56  | 0,54 | 2,23           |
| CD3+CD8+/<br>CD4+CD25+ | 1,74    | 76,20    | 16,26 | 5,00 | 20,64          |

При сопоставлении средних значений с клиническими стадиями рака яичников нами установлено повышение уровня содержания CD3+CD4+ клеток с увеличением распространенности опухоли (Таблица 104). Как можно видеть из таблицы, на начальных стадиях их пропорция составила  $13,1 \pm 9,8\%$ , при распространенных стадиях показатели были следующие: при IIIС —  $22,3 \pm 5,22\%$ , а при IV —  $40,1 \pm 2,3\%$ , ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). В целом эта тенденция отмечена и в отношении CD3+CD25+, CD4+CD25+ субпопуляций Т-клеток, но статистической значимости не достигнуто.

Далее был выполнен анализ интратуморальных реакций в зависимости от распространенности рака яичников по брюшине, метастатического поражения большого сальника и кишечника, а также объема остаточной опухоли. Получены следующие данные. Распространенность рака яичников по брюшине, на первый взгляд, сопровождалась

нарастанием пропорции зрелых Т-клеток, цитотоксических и хелперных лимфоцитов, а также регуляторных Т-клеток, однако различия не носили достоверного характера. Результаты представлены в таблице 105.

**Таблица 104** – Взаимосвязь интратуморальных лимфоцитов со стадией заболевания

| Тип иммунных реакций | Стадия     |            |            | p    |
|----------------------|------------|------------|------------|------|
|                      | I-II       | III        | IV         |      |
| CD3+                 | 68,3±12,1  | 71,62±5,0  | 81,12±6,32 | 0,53 |
| CD3+CD4+             | 13,1±9,8   | 22,3±5,22  | 40,1±2,3   | 0,07 |
| CD3+CD8+             | 30,75±7,15 | 43,08±6,88 | 43,15±6,39 | 0,5  |
| CD3+CD25+            | 9,15±7,85  | 9,65±3,06  | 15,85±4,4  | 0,4  |
| CD4+CD25+            | 6,15±5,75  | 6,38±2,75  | 14,7±4,6   | 0,17 |
| CD4+CD8+             | 2,6±1,6    | 4,4±1,88   | 1,73±0,39  | 0,9  |
| CD3+CD8+/CD3+CD4+    | 4,4±2,75   | 2,77±0,66  | 1,07±0,16  | 0,12 |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+   | 31,9±27,9  | 17,86±6,18 | 4,4±1,74   | 0,2  |

**Таблица 105** – Взаимосвязь интратуморальных лимфоцитов с метастатическим поражением брюшины

| Тип иммунных реакций | Метастазирование по брюшине |             | p    |
|----------------------|-----------------------------|-------------|------|
|                      | Мтс «+»                     | Мтс «-»     |      |
| CD3+                 | 76,32±4,37                  | 67,45±7,22  | 0,3  |
| CD3+CD4+             | 28,09±5,28                  | 19,18±5,32  | 0,3  |
| CD3+CD8+             | 45,7±6,18                   | 32,6±4,7    | 0,16 |
| CD3+CD25+            | 12,88±3,03                  | 6,66±2,77   | 0,3  |
| CD4+CD25+            | 9,95±2,98                   | 4,4±2,07    | 0,3  |
| CD4+CD8+             | 3,77±1,83                   | 3,42±1,44   | 0,7  |
| CD3+CD8+/CD3+CD4+    | 2,51±0,64                   | 2,67±1,12   | 0,5  |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+   | 14,74±5,92                  | 19,19±10,04 | 0,5  |

Метастатическое поражение большого сальника также сопровождалось увеличением содержания интратуморальных лимфоцитов всех анализируемых субпопуляций, однако достоверных взаимосвязей не наблюдалось. При интактном большом сальнике мы отметили



увеличение соотношений CD3+CD8+/CD3+CD4+, CD3+CD8+/CD4+CD25+, но различия оказались не значимы. Данные представлены в таблице 106.

**Таблица 106** – Взаимосвязь интралимфоцитарных лимфоцитов с метастатическим поражением большого сальника

| Тип иммунных реакций | Большой сальник |             | p   |
|----------------------|-----------------|-------------|-----|
|                      | Мтс «+»         | Мтс «-»     |     |
| CD3+                 | 74,0±4,1        | 68,3±12,1   | 0,6 |
| CD3+CD4+             | 27,1±4,36       | 13,1±9,8    | 0,2 |
| CD3+CD8+             | 43,1±5,2        | 30,7±7,15   | 0,3 |
| CD3+CD25+            | 11,3±2,56       | 9,1±7,85    | 0,9 |
| CD4+CD25+            | 8,6±2,5         | 6,1±5,7     | 0,6 |
| CD4+CD8+             | 3,8±1,47        | 2,6±1,6     | 0,8 |
| CD3+CD8+/CD3+CD4+    | 2,3±0,5         | 4,4±2,75    | 0,4 |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+   | 14,28           | 31,09±27,91 | 0,8 |

Тип лимфоидных реакций был взаимосвязан с метастатическим поражением кишечника (Таблица 107).

**Таблица 107** – Взаимосвязь интралимфоцитарных лимфоцитов с метастатическим поражением кишечника

| Тип иммунных реакций | Метастатическое поражение кишечника |            | p    |
|----------------------|-------------------------------------|------------|------|
|                      | Мтс «+»                             | Мтс «-»    |      |
| CD3+                 | 81,12±6,32                          | 71,15±4,45 | 0,3  |
| CD3+CD4+             | 40,17±2,3                           | 20,96±4,62 | 0,03 |
| CD3+CD8+             | 43,15±6,39                          | 41,18±5,97 | 0,6  |
| CD3+CD25+            | 15,85±4,4                           | 9,57±2,7   | 0,2  |
| CD4+CD25+            | 14,72±2,4                           | 6,34±4,6   | 0,06 |
| CD4+CD8+             | 1,7±0,4                             | 4,13±1,58  | 0,8  |
| CD3+CD8+/CD3+CD4+    | 1,07±0,16                           | 3,02±0,6   | 0,06 |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+   | 4,45±1,7                            | 19,89±0,2  | 0,07 |

Различия отмечены для CD3+ лимфоцитов (81,12±6,32% против 71,15±4,45%, p = 0,03), CD4+CD25+ - лимфоцитов (14,72±2,4% против 6,34±4,6%, 0,05 ≤ p ≤ 0,1). Соотношения

CD3+CD8+/CD3+CD4+, CD3+CD8+/CD4+CD25+ при интактном кишечнике были выше,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ . Также, отметим, что при интактном кишечнике мы наблюдали недостоверно более высокий уровень содержания CD4+CD8+ клеток.

Таким образом, анализ взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций с клинико-морфологическими параметрами рака яичников методом проточной цитометрии позволил выявить ряд закономерностей.

Во-первых, отмечена связь количества CD3+CD4+ клеток с клинической стадией опухоли, их доля увеличивалась с нарастанием стадии заболевания (I-II —  $13,1 \pm 9,8\%$ , IIIС —  $22,3 \pm 5,22\%$ , а при IV —  $40,1 \pm 2,3\%$ , ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). Не исключено, что это могло быть связано с возрастанием доли регуляторных CD25+-Т-клеток, которое было отмечено, хотя и недостоверно.

Во-вторых, тип интратуморальных реакций находился в зависимости от распространенности рака яичников, в частности, метастатического поражения кишечника. Это касалось CD3+CD4+, CD4+CD25+ популяций клеток. По-видимому, прогрессирование опухоли связано с увеличением пропорции CD25+-Т-клеток. Дополнительно, отметим, что метастатическое поражение брюшины, хотя и не было достоверно связано с CD8+-Т-клеточными реакциями ( $p = 0,16$ ), тем не менее некоторое увеличение доли CD3+CD8+ -клеток имело место. Эти данные перекликаются с результатами иммуногистохимического исследования на криостатных срезах, при котором мы обнаружили ассоциацию метастатического поражения брюшины с достоверным увеличением частоты цитотоксических CD8+-Т-клеточных реакций умеренного и выраженного типа.

Подводя итог анализу интратуморальных лимфоидных реакций при раке яичников нам следует обратить внимание, по крайней мере, на два аспекта. Одним из важных, на наш взгляд является то, что типы интратуморальных реакций в строме и паренхиме опухоли различаются. Это совершенно четко демонстрирует метод иммуногистохимического анализа на криостатных срезах опухолевой ткани. В паренхиме Т-клетки были представлены преимущественно CD8+ популяцией, однако количество Т-лимфоцитов, с экспрессией маркера (CD3) было значительно ниже, чем с экспрессией обще-Т-клеточных маркеров (CD7, CD5). Эти данные в сочетании с высокими уровнями CD56+ реакций указывают на то, что в паренхиме опухоли доминирующими являлись NK-клеточные реакции. Стромальный компонент опухоли характеризовался инфильтрацией преимущественно зрелыми Т-лимфоцитами. Следующим аспектом, требующим внимания, является то, что исследование проточно-цитометрическим методом возможно только в суспензии клеток, а, следовательно, это исключает возможность анализа интратуморальных иммунных реакций в паренхиме и строме отдельно. Проточно-цитометрический метод, несмотря на возможность оценки в параллели нескольких маркеров

иммунокомпетентных клеток, дает общую картину инфильтрации опухоли. Последнее обстоятельство лишает нас возможности иметь четкое представление об истинных иммунных процессах в паренхиме, а именно они, по данным литературы, играют важную роль в клиническом течении болезни [35]. Речь об этом пойдет в следующих главах работы.

#### **4.3 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипическим портретом опухоли**

Как было указано выше, экспрессия опухолевыми клетками на своей поверхности спектра антигенов (молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I и II класса, трансферриновых рецепторов TfR1, молекул  $\beta$ 1 интегринов CD29, муциновых белков MUC1) варьировала в диапазоне разной степени выраженности, а в ряде случаев эти антигены отсутствовали вовсе. Интратуморальные иммунные реакции были представлены общелейкоцитарной, Т-, NK-, В- клеточной инфильтрацией. Умеренная и выраженная лимфоидная инфильтрация опухоли по группе в целом выявлена в 81,8%, при этом среди Т-клеточных реакций цитотоксические преобладали над CD4+ клеточными реакциями. Рассмотрим по-порядку выраженность местных иммунных реакций в зависимости от каждого иммунофенотипа клеток рака яичников.

##### **4.3.1 Оценка интратуморальных иммунных реакций методом иммуногистохимии на криостатных срезах**

Первым этапом мы оценили взаимосвязи лимфоидной инфильтрации паренхимы опухоли с экспрессией клетками рака яичников молекул HLA-I и II класса. Нами не обнаружено достоверной ассоциации экспрессии HLA-I с выраженностью общелейкоцитарной инфильтрации (Таблица 108). При сравнении групп с HLA-I-мономорфным, мозаичным и негативным фенотипом можно отметить, что частота CD45+ инфильтрации почти не различалась. В таблице также можно видеть данные по некоторым видам инфильтрации с маргинальной значимостью ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

Уровень Т-клеточных реакций был более выражен в опухолях с HLA-I мономорфным фенотипом в сравнении с мозаичным фенотипом: 80,0% и 29,4%. Хотя при этом несколько ниже, чем при HLA-I негативном фенотипе, но достоверности не достигнуто,  $p = 0,058$ . В отношении CD56+ NK- клеточных реакций установлено, что их выраженность нарастала в HLA-I мономорфных опухолях,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ .

**Таблица 108** – Уровень интратуморальных иммунных реакций в паренхиме в зависимости от HLA-I фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                      |         |       |
|-----------------------|---|---------------------------------------|----------------------|---------|-------|
|                       |   | Слабая                                | Умеренная\выраженная | Всего   | p     |
|                       |   | CD45                                  |                      |         |       |
| HLA-I «-»             | n | 2                                     | 3                    | 5       | 0,676 |
|                       | % | 40,00%                                | 60,00%               | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»           | n | 4                                     | 13                   | 17      |       |
|                       | % | 23,50%                                | 76,50%               | 100,00% |       |
| HLA-I «+»             | n | 4                                     | 7                    | 11      |       |
|                       | % | 36,40%                                | 63,6                 | 100,00% |       |
|                       |   | CD7                                   |                      |         |       |
| HLA-I «-»             | n | 1                                     | 4                    | 5       | 0,058 |
|                       | % | 20,00%                                | 80,00%               | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»           | n | 12                                    | 5                    | 17      |       |
|                       | % | 70,60%                                | 29,40%               | 100,00% |       |
| HLA-I «+»             | n | 4                                     | 7                    | 11      |       |
|                       | % | 36,40%                                | 63,60%               | 100,00% |       |
|                       |   | CD3                                   |                      |         |       |
| HLA-I «-»             | n | 2                                     | 3                    | 5       | 0,414 |
|                       | % | 40,00%                                | 60,00%               | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»           | n | 12                                    | 5                    | 17      |       |
|                       | % | 70,60%                                | 29,40%               | 100,00% |       |
| HLA-I «+»             | n | 6                                     | 5                    | 11      |       |
|                       | % | 54,50%                                | 45,50%               | 100,00% |       |
|                       |   | CD4                                   |                      |         |       |
| HLA-I «-»             | n | 2                                     | 3                    | 5       | 0,855 |
|                       | % | 40,00%                                | 60,00%               | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»           | n | 6                                     | 11                   | 17      |       |
|                       | % | 35,30%                                | 64,70%               | 100,00% |       |
| HLA-I «+»             | n | 3                                     | 8                    | 11      |       |
|                       | % | 27,30%                                | 72,70%               | 100,00% |       |
|                       |   | CD8                                   |                      |         |       |
| HLA-I «-»             | n | 4                                     | 1                    | 5       | 0,395 |
|                       | % | 80,00%                                | 20,00%               | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»           | n | 9                                     | 8                    | 17      |       |
|                       | % | 52,90%                                | 47,10%               | 100,00% |       |
| HLA-I «+»             | n | 8                                     | 3                    | 11      |       |
|                       | % | 72,70%                                | 27,30%               | 100,00% |       |

|             |   | CD56   |         |         |      |
|-------------|---|--------|---------|---------|------|
| HLA-I «-»   | n | 2      | 1       | 3       | 0,08 |
|             | % | 66,70% | 33,30%  | 100,00% |      |
| HLA-I «+/-» | n | 2      | 6       | 8       |      |
|             | % | 25,50% | 75,00%  | 100,00% |      |
| HLA-I «+»   | n | 0      | 6       | 6       |      |
|             | % | 0%     | 100,00% | 100,00% |      |

При сравнении групп с HLA-DR-мономорфным, мозаичным и негативным фенотипом оказалось, что частота CD45- инфильтрации нарастала по мере увеличения экспрессии опухолью молекул HLA-DR: 50,0% – 77,8% – 80,0%, но статистической значимости различий не достигнуто (Таблица 109).

Так, общий уровень Т- CD7+ клеточных реакций при негативным HLA-DR фенотипе в равном количестве случаев был слабым (50,0%), умеренным и выраженным (50,0%), схожие результаты получены при мозаичном фенотипе, тогда как в мономорфных опухолях наблюдали преимущественно слабую Т-клеточную реакцию. CD4+ инфильтрацию при мономорфном фенотипе наблюдали чаще, чем при мозаичном, но несколько реже, чем при негативном,  $p = 0,062$ . Цитотоксические реакции в HLA-DR-мономорфных и мозаичных опухолях были более выражены, чем в негативных, хотя и недостоверно. NK- клеточные реакции часто наблюдались при HLA-DR негативном фенотипе, тогда как при мономорфном несколько реже: умеренная и выраженная инфильтрация, соответственно 85,7% и 66,7% ( $p = 0,7$ ).

**Таблица 109** – Уровень интратуморальных иммунных реакций в паренхиме в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |         |       |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|---------|-------|
|                       |   | Слабая                                | Умеренная\<br>выраженная | Всего   | p     |
|                       |   | CD45                                  |                          |         |       |
| HLA-DR «-»            | n | 5                                     | 5                        | 10      | 0,266 |
|                       | % | 50,00%                                | 50,00%                   | 100,00% |       |
| HLA-DR «+/-»          | n | 4                                     | 14                       | 18      |       |
|                       | % | 22,20%                                | 77,80%                   | 100,00% |       |
| HLA-DR «+»            | n | 1                                     | 4                        | 5       |       |
|                       | % | 20,00%                                | 80,00%                   | 100,00% |       |
|                       |   | CD7                                   |                          |         |       |
| HLA-DR «-»            | n | 5                                     | 5                        | 10      | 0,346 |
|                       | % | 50,00%                                | 50,00%                   | 100,00% |       |

|              |   |        |        |         |           |
|--------------|---|--------|--------|---------|-----------|
| HLA-DR «+/-» | n | 8      | 10     | 18      |           |
|              | % | 44,40% | 55,60% | 100,00% |           |
| HLA-DR «+»   | n | 4      | 1      | 5       |           |
|              | % | 80,00% | 20,00% | 100,00% |           |
|              |   | CD3    |        |         |           |
| HLA-DR «->»  | n | 6      | 4      | 10      |           |
|              | % | 60,00% | 40,00% | 100,00% |           |
| HLA-DR «+/-» | n | 10     | 8      | 18      | 0,59      |
|              | % | 55,60% | 44,40% | 100,00% |           |
| HLA-DR «+»   | n | 4      | 1      | 5       |           |
|              | % | 80,00% | 20,00% | 100,00% |           |
|              |   | CD4    |        |         |           |
| HLA-DR «->»  | n | 1      | 9      | 10      | 0,062     |
|              | % | 10,00% | 90,00% | 100,00% | $\chi^2=$ |
| HLA-DR «+/-» | n | 9      | 9      | 18      | 5,1       |
|              | % | 50,00% | 50,00% | 100,00% |           |
| HLA-DR «+»   | n | 1      | 4      | 5       |           |
|              | % | 20,00% | 80,00% | 100,00% |           |
|              |   | CD8    |        |         |           |
| HLA-DR «->»  | n | 8      | 2      | 10      |           |
|              | % | 80,00% | 20,00% | 100,00% |           |
| HLA-DR «+/-» | n | 10     | 8      | 18      | 0,408     |
|              | % | 55,60% | 44,40% | 100,00% |           |
| HLA-DR «+»   | n | 3      | 2      | 5       |           |
|              | % | 60,00% | 40,00% | 100,00% |           |
|              |   | CD56   |        |         |           |
| HLA-DR «->»  | n | 1      | 6      | 7       |           |
|              | % | 14,30% | 85,70% | 100,00% |           |
| HLA-DR «+/-» | n | 2      | 5      | 7       | 0,7       |
|              | % | 28,60% | 71,40% | 100,00% |           |
| HLA-DR «+»   | n | 1      | 2      | 3       |           |
|              | % | 33,30% | 66,70% | 100,00% |           |

Оценка степени выраженности интратуморальных иммунных реакций в зависимости от статуса экспрессии клетками рака яичников трансферриновых рецепторов выявила некоторые интересные различия (Таблица 110). Общий уровень лейкоцитарной инфильтрации умеренной и выраженной степени в TfR1- позитивных опухолях был достоверно выше, чем в TfR1-

негативных: 84,2% и 50,0%. Дополнительно выполнен корреляционный анализ Спирмена: установлена положительная корреляция средней силы,  $R = 368$ ,  $p = 0,035$ .

TfR1- позитивные опухоли демонстрировали более выраженные Т-клеточные реакции. Умеренная и выраженная CD7+ инфильтрация достоверно чаще наблюдалась в опухолях, экспрессирующих трансферриновые рецепторы. TfR1-негативные опухоли, как правило, характеризовались слабыми Т-клеточными реакциями, а умеренные и выраженные типы реакций отмечены только в 28,6% случаев. CD3- Т-клеточные реакции аналогично были более выражены при позитивном TfR1 фенотипе. Напротив, отсутствие экспрессии трансферриновых рецепторов клетками рака яичников сопровождалось преимущественно слабыми CD3+ реакциями, что отмечено в 78,6% случаев,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ . Схожая картина просматривалась в отношении CD4+ инфильтрации.

**Таблица 110** – Уровень интратуморальных иммунных реакций в паренхиме в зависимости от TfR1 фенотипа опухоли

| Иммуннофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |         |                |
|------------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|---------|----------------|
|                        |   | Слабая                                | Умеренная\<br>выраженная | Всего   | p,<br>$\chi^2$ |
|                        |   | CD45                                  |                          |         |                |
| TfR1 «-»               | n | 7                                     | 7                        | 14      | 0,034<br>4,467 |
|                        | % | 50,00%                                | 50,00%                   | 100,00% |                |
| TfR1 «+»               | n | 3                                     | 16                       | 19      |                |
|                        | % | 15,80%                                | 84,20%                   | 100,00% |                |
|                        |   | CD7                                   |                          |         |                |
| TfR1 «-»               | n | 10                                    | 4                        | 14      | 0,047<br>3,86  |
|                        | % | 71,40%                                | 28,60%                   | 100,00% |                |
| TfR1 «+»               | n | 7                                     | 12                       | 19      |                |
|                        | % | 36,80%                                | 63,20%                   | 100,00% |                |
|                        |   | CD3                                   |                          |         |                |
| TfR1 «-»               | n | 11                                    | 3                        | 14      | 0,065<br>3,285 |
|                        | % | 78,60%                                | 21,40%                   | 100,00% |                |
| TfR1 «+»               | n | 9                                     | 10                       | 19      |                |
|                        | % | 47,40%                                | 52,60%                   | 100,00% |                |
|                        |   | CD4                                   |                          |         |                |
| TfR1 «-»               | n | 5                                     | 9                        | 14      | 0,804<br>0,062 |
|                        | % | 35,70%                                | 64,30%                   | 100,00% |                |
| TfR1 «+»               | n | 6                                     | 13                       | 19      |                |
|                        | % | 31,60%                                | 68,40%                   | 100,00% |                |

Фенотип CD29, MUC-1 опухоли был преимущественно мономорфным или мозаичным. По результатам анализа мы наблюдали, что различия в интратуморальных иммунных реакциях между данными фенотипами были незначительные. При этом отметим, что CD7+ Т- клеточные реакции умеренного и выраженного типа при мозаичном CD29 фенотипе выявлялись несколько чаще, чем при мономорфном: 76,9% и 33,3%,  $p = 0,013$  (Таблица 111). Схожие результаты отмечены для CD3+ Т- клеточных реакций (61,5% и 27,8%,  $p = 0,059$ ). В отношении CD29, MUC-1 негативных опухолей ввиду малого числа событий полноценного сравнения провести не удалось.

**Таблица 111** – Уровень интратуморальных иммунных реакций в паренхиме в зависимости от CD29 фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |         |                |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|---------|----------------|
|                       |   | Слабая                                | Умеренная\<br>выраженная | Всего   | P,<br>$\chi^2$ |
| CD7                   |   |                                       |                          |         |                |
| CD29 «-»              | n | 2                                     | 0                        | 2       | 0,013<br>7,746 |
|                       | % | 100,00%                               | 0,00%                    | 100,00% |                |
| CD29 «+/-»            | n | 3                                     | 10                       | 13      |                |
|                       | % | 23,10%                                | 76,90%                   | 100,00% |                |
| CD29 «+»              | n | 12                                    | 6                        | 18      |                |
|                       | % | 66,70%                                | 33,30%                   | 100,00% |                |
| CD3                   |   |                                       |                          |         |                |
| CD29 «-»              | n | 2                                     | 0                        | 2       | 0,059<br>4,985 |
|                       | % | 100,00%                               | 0,00%                    | 100,00% |                |
| CD29 «+/-»            | n | 5                                     | 8                        | 13      |                |
|                       | % | 38,50%                                | 61,50%                   | 100,00% |                |
| CD29 «+»              | n | 13                                    | 5                        | 18      |                |
|                       | % | 72,20%                                | 27,80%                   | 100,00% |                |

Дальнейший анализ иммунофенотипа клеток рака яичников показал, что CD56 негативный фенотип ассоциировался с более выраженной степенью интратуморальных реакций (Таблица 112). Отмечено, что опухоли CD56 мономорфные демонстрировали CD4+ клеточные реакции умеренного и выраженного типа в 100,0% случаев, напротив, CD56- негативные опухоли – в 70,6% наблюдений ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). CD8+ Т-клеточные выраженные реакции при отсутствии экспрессии CD56 наблюдались чаще в сравнении с мономорфной экспрессией CD56 (35,3% и 0%), но различия не достигли статистической значимости.



**Таблица 112** – Уровень интратуморальных иммунных реакций в паренхиме в зависимости от CD56 фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |         |                |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|---------|----------------|
|                       |   | Слабая                                | Умеренная\<br>выраженная | Всего   | P,<br>$\chi^2$ |
|                       |   | CD4                                   |                          |         |                |
| CD56 «-»              | n | 5                                     | 12                       | 17      | 0,092<br>3,618 |
|                       | % | 29,40%                                | 70,60%                   | 100,00% |                |
| CD56 «+/-»            | n | 6                                     | 6                        | 12      |                |
|                       | % | 50,00%                                | 50,00%                   | 100,00% |                |
| CD56 «+»              | n | 0                                     | 4                        | 4       |                |
|                       | % | 0,00%                                 | 100,00%                  | 100,00% |                |
|                       |   | CD8                                   |                          |         |                |
| CD56 «-»              | n | 11                                    | 6                        | 17      | 0,103<br>3,258 |
|                       | % | 64,70%                                | 35,30%                   | 100,00% |                |
| CD56 «+/-»            | n | 6                                     | 6                        | 12      |                |
|                       | % | 50,00%                                | 50,00%                   | 100,00% |                |
| CD56 «+»              | n | 4                                     | 0                        | 4       |                |
|                       | % | 100,00%                               | 0,00%                    | 100,00% |                |

Рассмотрим теперь выраженность стромальных иммунных реакций опухоли в зависимости от иммунофенотипа клеток рака яичников. Первым этапом мы оценили связи лимфоидной инфильтрации с экспрессией опухолевыми клетками молекул HLA-I и II класса. Нами не обнаружено достоверной ассоциации экспрессии HLA-I с выраженностью интратуморальных иммунных реакций стромы. Напротив, HLA-DR фенотип опухоли достоверно был связан с частотой иммунных стромальных реакций. Данные анализа приведены в таблице 113. Мы наблюдали, что общий уровень лейкоцитарной инфильтрации умеренной и выраженной степени в HLA-DR- мономорфных опухолях был достоверно выше, составив 80,0% против 30,0% при негативном фенотипе,  $p = 0,031$ . Однако при этом уровни Т-клеточных реакций (CD8, CD4), а также В-клеточных выглядели сниженными: уменьшение частоты инфильтрации умеренного и выраженного типа мы отметили при мономорфной экспрессии HLA-DR. Данные недостоверны. Уровень NK-клеточных реакций был выражен в опухолях с HLA-DR негативным фенотипом в сравнении с мозаичным фенотипом и мономорфным,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ .

**Таблица 113** – Уровень иммунных реакций в строме в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |         |                              |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|---------|------------------------------|
|                       |   | Слабая                                | Умеренная\<br>выраженная | Всего   | p                            |
|                       |   | CD45                                  |                          |         |                              |
| HLA-DR «-»            | n | 7                                     | 3                        | 10      | 0,031<br>$\chi^2 =$<br>7,023 |
|                       | % | 70,00%                                | 30,00%                   | 100,00% |                              |
| HLA-DR «+/-»          | n | 4                                     | 14                       | 18      |                              |
|                       | % | 22,20%                                | 77,80%                   | 100,00% |                              |
| HLA-DR «+»            | n | 1                                     | 4                        | 5       |                              |
|                       | % | 20,00%                                | 80,00%                   | 100,00% |                              |
|                       |   | CD7                                   |                          |         |                              |
| HLA-DR «-»            | n | 6                                     | 4                        | 10      | 0,479                        |
|                       | % | 60,00%                                | 40,00%                   | 100,00% |                              |
| HLA-DR «+/-»          | n | 7                                     | 11                       | 18      |                              |
|                       | % | 38,90%                                | 61,10%                   | 100,00% |                              |
| HLA-DR «+»            | n | 3                                     | 2                        | 5       |                              |
|                       | % | 60,00%                                | 40,00%                   | 100,00% |                              |
|                       |   | CD3                                   |                          |         |                              |
| HLA-DR «-»            | n | 4                                     | 6                        | 10      | 0,214                        |
|                       | % | 40,00%                                | 60,00%                   | 100,00% |                              |
| HLA-DR «+/-»          | n | 2                                     | 16                       | 18      |                              |
|                       | % | 11,10%                                | 88,90%                   | 100,00% |                              |
| HLA-DR «+»            | n | 1                                     | 4                        | 5       |                              |
|                       | % | 20,00%                                | 80,00%                   | 100,00% |                              |
|                       |   | CD4                                   |                          |         |                              |
| HLA-DR «-»            | n | 7                                     | 3                        | 10      | 0,354                        |
|                       | % | 70,00%                                | 30,00%                   | 100,00% |                              |
| HLA-DR «+/-»          | n | 9                                     | 9                        | 18      |                              |
|                       | % | 50,00%                                | 50,00%                   | 100,00% |                              |
| HLA-DR «+»            | n | 4                                     | 1                        | 5       |                              |
|                       | % | 80,00%                                | 20,00%                   | 100,00% |                              |
|                       |   | CD8                                   |                          |         |                              |
| HLA-DR «-»            | n | 6                                     | 4                        | 10      | 0,678                        |
|                       | % | 60,00%                                | 40,00%                   | 100,00% |                              |
| HLA-DR «+/-»          | n | 13                                    | 5                        | 18      |                              |
|                       | % | 72,20%                                | 27,80%                   | 100,00% |                              |
| HLA-DR «+»            | n | 4                                     | 1                        | 5       |                              |
|                       | % | 80,00%                                | 20,00%                   | 100,00% |                              |

|               |   | CD56   |         |         |       |
|---------------|---|--------|---------|---------|-------|
| HLA-DR «->»   | n | 0      | 7       | 7       | 0,7   |
|               | % | 0%     | 100,00% | 100,00% |       |
| HLA-DR «+/->» | n | 5      | 5       | 7       |       |
|               | % | 50,00% | 50,00%  | 100,00% |       |
| HLA-DR «+>»   | n | 2      | 2       | 4       |       |
|               | % | 50,00% | 50,00%  | 100,00% |       |
|               |   | CD20   |         |         |       |
| HLA-DR «->»   | n | 4      | 6       | 10      | 0,228 |
|               | % | 40,00% | 60,00%  | 100,00% |       |
| HLA-DR «+/->» | n | 7      | 11      | 18      |       |
|               | % | 38,90% | 61,10%  | 100,00% |       |
| HLA-DR «+>»   | n | 4      | 1       | 5       |       |
|               | % | 80,00% | 20,00%  | 100,00% |       |

Далее мы сравнили выраженность интратуморальных реакций в строме опухоли в зависимости от экспрессии клетками рака яичников трансферриновых рецепторов (Таблица 114). Сразу отметим, что мы получили результаты, которые повторяют анализ паренхимы опухоли. Преимущественно слабый тип иммунных реакций встречался в TfR1-негативных опухолях, в то время как TfR1- позитивные опухоли отличались увеличением доли реакций умеренного и выраженного типа. Во-первых, экспрессия трансферриновых рецепторов клетками опухоли сопровождалась умеренной и выраженной стромальной CD7- Т-клеточной реакцией, что отмечено в 68,4% наблюдений против 28,6%,  $p = 0,022$ . Во-вторых, примерно в таком же проценте случаев отмечались CD8- клеточные реакции стромы, составив 57,9% против 14,3%,  $p = 0,009$ . В-третьих, в TfR1- позитивных опухолях чаще обнаруживалась CD4+ инфильтрация, 42,1% против 14,3%,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ .

**Таблица 114** – Уровень интратуморальных иммунных реакций в строме в зависимости от TfR1 фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                      |         | p, $\chi^2$    |
|-----------------------|---|---------------------------------------|----------------------|---------|----------------|
|                       |   | Слабая                                | Умеренная\выраженная | Всего   |                |
|                       |   | CD45                                  |                      |         |                |
| TfR1 «->»             | n | 9                                     | 5                    | 14      | 0,004<br>8,192 |
|                       | % | 64,30%                                | 35,70%               | 100,00% |                |
| TfR1 «+>»             | n | 3                                     | 16                   | 19      |                |
|                       | % | 15,80%                                | 84,20%               | 100,00% |                |

|          |   | CD7    |        |         |                |  |
|----------|---|--------|--------|---------|----------------|--|
| TfR1 «-» | n | 10     | 4      | 14      | 0,022<br>5,125 |  |
|          | % | 71,40% | 28,60% | 100,00% |                |  |
| TfR1 «+» | n | 6      | 13     | 19      |                |  |
|          | % | 31,60% | 68,40% | 100,00% |                |  |
|          |   | CD3    |        |         |                |  |
| TfR1 «-» | n | 6      | 8      | 14      | 0,029<br>6,186 |  |
|          | % | 42,90% | 57,10% | 100,00% |                |  |
| TfR1 «+» | n | 1      | 18     | 19      |                |  |
|          | % | 5,30%  | 94,70% | 100,00% |                |  |
|          |   | CD4    |        |         |                |  |
| TfR1 «-» | n | 12     | 2      | 14      | 0,076<br>2,954 |  |
|          | % | 85,70% | 14,30% | 100,00% |                |  |
| TfR1 «+» | n | 11     | 8      | 19      |                |  |
|          | % | 57,90% | 42,10% | 100,00% |                |  |
|          |   | CD8    |        |         |                |  |
| TfR1 «-» | n | 12     | 2      | 14      | 0,009<br>6,421 |  |
|          | % | 85,70% | 14,30% | 100,00% |                |  |
| TfR1 «+» | n | 8      | 11     | 19      |                |  |
|          | % | 42,10% | 57,90% | 100,00% |                |  |

В ходе анализа взаимосвязей интратуморальных реакций стромы с фенотипом CD29 нами не выявлено достоверных закономерностей. Обращало внимание, что при CD29 негативном фенотипе опухоли умеренного и выраженного типа Т-клеточных реакций не наблюдалось, хотя число случаев мало и полноценная оценка невозможна. Дополнительно, отметим, при мозаичном фенотипе в сравнении с мономорфным наблюдались интратуморальные реакции преимущественно умеренного и выраженного характера. Эти результаты повторяют данные, полученные при анализе инфильтрации паренхимы опухоли.

В отношении MUC-1 фенотипа аналогично трудность анализа данных была обусловлена малочисленностью негативной группы. При увеличении MUC-1 позитивных опухолей имелось увеличение доли умеренной и выраженной инфильтрации в строме (CD45+, CD3+ реакции), уменьшение частоты умеренной и выраженной CD7-, CD8-, CD20- стромальных реакций. Но достоверных различий мы не наблюдали.

Достоверных взаимосвязей CD56 иммунофенотипа клеток рака яичников с типом интратуморальных реакций в строме по большинству анализируемых параметров не обнаружено. Исключение составили CD3- Т-клеточные реакции, которые были более выражены при мозаичном фенотипе опухоли, тогда как при мономорфном отмечался только

слабый их тип ( $p = 0,03$ ) (Таблица 115). Выраженные НК- клеточные реакции преимущественно отмечены при негативного фенотипе.

**Таблица 115** – Уровень иммунных реакций в строме в зависимости от CD56 фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                      |         |      |
|-----------------------|---|---------------------------------------|----------------------|---------|------|
|                       |   | Слабая                                | Умеренная\выраженная | Всего   | P    |
|                       |   | CD3                                   |                      |         |      |
| CD56 «-»              | n | 9                                     | 8                    | 17      | 0,03 |
|                       | % | 52,80%                                | 47,10%               | 100,00% |      |
| CD56 «+/-»            | n | 3                                     | 9                    | 12      |      |
|                       | % | 50,00%                                | 75,00%               | 100,00% |      |
| CD56 «+»              | n | 4                                     | 0                    | 4       |      |
|                       | % | 100,00%                               | 0%                   | 100,00% |      |
|                       |   | CD56                                  |                      |         |      |
| CD56 «-»              | n | 3                                     | 13                   | 17      | 0,03 |
|                       | % | 18,80%                                | 81,20%               | 100,00% |      |
| CD56 «+/-»            | n | 3                                     | 1                    | 12      |      |
|                       | % | 75,00%                                | 25,00%               | 100,00% |      |
| CD56 «+»              | n | 1                                     | 0                    | 4       |      |
|                       | % | 100,00%                               | 0,00%                | 100,00% |      |

Суммируя по данному разделу работы, отметим, что изучение взаимосвязи иммунофенотипических характеристик рака яичников с видом интратуморальных иммунных реакций обнаружило ряд интересных фактов. При HLA-DR-мономорфном фенотипе рака яичников достоверно чаще отмечена умеренная/выраженная стромальная CD45+ клеточная реакция в сравнении с негативным (80,0% и 30,0% случаев).

TfR1- позитивные опухоли демонстрировали более выраженные CD45+ и Т-клеточные (CD7+, CD3+) реакции. Негативный TfR1- фенотип чаще отличался слабой CD45+ инфильтрацией стромы,  $p = 0,006$ . Умеренная и выраженная CD7+ инфильтрация достоверно чаще наблюдалась в опухолях, экспрессирующих трансферриновые рецепторы,  $p = 0,027$ . CD8+ стромальные интратуморальные реакции умеренного и выраженного типа достоверно чаще наблюдались при TfR1- позитивных опухолях,  $p = 0,009$ .

CD56- негативный фенотип опухоли ассоциировался с более выраженной степенью интратуморальных реакций ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). CD8+ Т-клеточные выраженные реакции наблюдались при отсутствии экспрессии молекул CD56 чаще в сравнении с мономорфной экспрессией (35,3% и 0%), но различия не достигли статистической значимости.

### 4.3.2 Оценка интратуморальных иммунных реакций методом проточной цитометрии

Мы оценили взаимосвязи между иммунофенотипическими особенностями клеток рака яичников и пропорцией интратуморальных лимфоцитов. Рассмотрим результаты по каждому из изученных антигенов, которые нами изучены на клетках опухоли. В первую очередь мы оценили взаимосвязи с мономорфными HLA- детерминантами.

HLA-I мозаичный и мономорфный фенотипы характеризовались примерно равной пропорцией зрелых CD3+ лимфоцитов (Таблица 116). Отмечено, что несколько более выраженной была доля CD3+CD8+ клеток при мозаичном фенотипе в сравнении с мономорфным (49,4±4,69% против 33,05±8,82%). Также при мозаичной экспрессии мы наблюдали увеличение доли CD3+CD4+ клеток (31,6%±5,42% и 19,38±5,22%) и CD4+CD25+ клеток (12,55±3,2 против 2,33±0,63). Отмеченные различия были маргинальной значимости ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). HLA-I негативный фенотип был лишь в одном случае, поэтому сравнения не выполнялось.

**Таблица 116** – Взаимосвязь HLA-I фенотипа с интратуморальными лимфоцитами

| Тип иммунных реакций | Иммунофенотип опухоли |             |            | p    |
|----------------------|-----------------------|-------------|------------|------|
|                      | HLA-I «-»             | HLA-I «+/-» | HLA-I «+»  |      |
| CD3+                 | 88,3                  | 74,8±5,47   | 68,11±4,8  | 0,2  |
| CD3+CD4+             | 3,1                   | 31,6±5,42   | 19,38±5,22 | 0,12 |
| CD3+CD8+             | 15,1                  | 49,4±4,69   | 33,05±8,82 | 0,07 |
| CD3+CD25+            | 6,8                   | 14,82±3,45  | 5,48±1,75  | 0,14 |
| CD4+CD25+            | 1,9                   | 12,55±3,2   | 2,33±0,63  | 0,08 |
| CD4+CD8+             | 0,3                   | 4,32±1,78   | 2,82±1,95  | 0,1  |
| CD3+CD8+/CD3+CD4+    | 4,9                   | 2,6±0,8     | 2,06±0,66  | 0,6  |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+   | 7,95                  | 17,08±8,5   | 16,28±2,1  | 0,13 |

Мы не наблюдали значимых различий в характере инфильтрации в зависимости от HLA-DR фенотипа (Таблица 117). Вместе с тем считаем важным отметить, что пропорция зрелых CD3+ Т-клеток и их субпопуляций оказалась более выражена при мономорфной экспрессии HLA-DR. Так, доля CD3+CD4+ клеток при мономорфном фенотипе была вдвое выше, чем при мозаичном и негативном HLA-DR фенотипе (38,17±9,73% против 21,5±3,6% и 21,6±5,8%, соответственно). Кроме того, мы отметили, что количество CD4+CD25+ клеток в опухолях,

мономорфно экспрессирующих HLA-DR, было увеличено также в два раза, и составило  $14,52 \pm 6,67\%$ .

**Таблица 117** – Взаимосвязь HLA-DR фенотипа с интратуморальными лимфоцитами

| Тип иммунных реакций | Имунофенотип опухоли |              |            | p    |
|----------------------|----------------------|--------------|------------|------|
|                      | HLA-DR «-»           | HLA-DR «+/-» | HLA-DR «+» |      |
| CD3+                 | 62,04±9,23           | 77,42±3,95   | 78,4±7,54  | 0,26 |
| CD3+CD4+             | 21,5±3,6             | 21,6±5,8     | 38,17±9,73 | 0,2  |
| CD3+CD8+             | 41,87±9,88           | 36,92±7,15   | 52,05±6,99 | 0,4  |
| CD3+CD25+            | 9,72±2,98            | 8,27±2,72    | 18,62±6,84 | 0,3  |
| CD4+CD25+            | 6,25±2,13            | 6,47±2,8     | 14,52±6,76 | 0,3  |
| CD4+CD8+             | 2,8±0,77             | 1,68±0,42    | 9,93±5,43  | 0,12 |
| CD3+CD8+/CD3+CD4+    | 1,89±0,2             | 3,1±0,92     | 2,02±1,01  | 0,5  |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+   | 8,7±2,15             | 22,85        | 8,9±4,03   | 0,5  |

Следующим этапом выполнен анализ количества популяций лимфоцитов в зависимости от экспрессии опухолью трансферриновых рецепторов (Таблица 118). При оценке взаимосвязей TfR1- фенотипа с интратуморальными лимфоцитами мы обратили внимание, что достоверные различия касались исключительно соотношения CD3+CD8+/CD3+CD4+, а также CD3+CD8+/CD4+CD25+, которые было выше при мозаичном фенотипе опухоли в сравнении с негативным,  $3,09 \pm 0,93\%$  против  $22,74 \pm 8,95\%$  и  $3,09 \pm 0,93\%$  против  $22,74 \pm 8,95\%$ .

**Таблица 118** – Взаимосвязь TfR1- фенотипа с интратуморальными лимфоцитами

| Тип иммунных реакций | Имунофенотип опухоли |            | p     |
|----------------------|----------------------|------------|-------|
|                      | TfR1 «-»             | TfR1 «+/-» |       |
| CD3+                 | 70,35±6,79           | 75,79±4,33 | 0,2   |
| CD3+CD4+             | 29,08±4,36           | 22,25±6,73 | 0,12  |
| CD3+CD8+             | 48,21±5,8            | 35,81±6,9  | 0,5   |
| CD3+CD25+            | 12,25±2,67           | 9,98±3,88  | 0,3   |
| CD4+CD25+            | 9,6±2,9              | 7,2±3,5    | 0,7   |
| CD4+CD8+             | 3,02±1,02            | 4,2±2,3    | 0,3   |
| CD3+CD8+/CD3+CD4+    | 1,97±0,47            | 3,09±0,93  | 0,02  |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+   | 8,97±2,06            | 22,74±8,95 | 0,016 |

Далее нами изучено количественно содержание интратуморальных лимфоцитов в зависимости от экспрессии клетками рака яичников молекул адгезии, муцинового белка, а также CD56. Надо признать, что данный анализ не выявил значимых взаимосвязей между CD29, MUC1, CD56 фенотипами и количественным статусом интратуморальных реакций. Считаем необходимым обратить внимание, что при мозаичном CD29 фенотипе опухоли имело место повышенное соотношение CD3+CD8+/CD4+CD25+ в сравнении с мономорфным (Таблица 119). CD29 негативный фенотип был лишь в одном случае, поэтому сравнения не выполнялось. Также отметим, что несколько более выраженная доля CD3+ клеток и их субпопуляций наблюдалась в мозаично экспрессирующих CD56 опухолях, хотя различия не носили достоверного характера (Таблица 120).

**Таблица 119** – Взаимосвязь CD29 фенотипа с интратуморальными лимфоцитами

| Тип иммунных реакций | Иммунофенотип опухоли |            |             | p    |
|----------------------|-----------------------|------------|-------------|------|
|                      | CD29 «-»              | CD29 «+/-» | CD29 «+»    |      |
| CD3+                 | 44,2                  | 77,93±13,9 | 73,52±15,65 | 0,25 |
| CD3+CD4+             | 26,4                  | 18,6±23,15 | 28,5±14,32  | 0,4  |
| CD3+CD8+             | 67,2                  | 39,5±26,6  | 40,26±15,97 | 0,5  |
| CD3+CD25+            | 11,5                  | 9,25±15,6  | 11,82±7,13  | 0,3  |
| CD4+CD25+            | 5,9                   | 7,02±13,81 | 9,1±7,66    | 0,2  |
| CD4+CD8+             | 4,1                   | 5,12±8,31  | 2,7±2,5     | 0,6  |
| CD3+CD8+/CD3+CD4+    | 2,5                   | 3,9±3,29   | 1,96±1,52   | 0,5  |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+   | 11,4                  | 36,08±30,6 | 7,7±5,28    | 0,14 |

**Таблица 120** – Взаимосвязь CD56 фенотипа с интратуморальными лимфоцитами

| Тип иммунных реакций | Иммунофенотип опухоли |             |            | p    |
|----------------------|-----------------------|-------------|------------|------|
|                      | CD56 «-»              | CD56 «+/-»  | CD56 «+»   |      |
| CD3+                 | 72,4±5,45             | 82,06±4,94  | 62,16±7,94 | 0,24 |
| CD3+CD4+             | 21,9±4,9              | 37,02±10,25 | 21,86±8,24 | 0,4  |
| CD3+CD8+             | 40,2±5,82             | 53,37±10,22 | 30,6±11,8  | 0,2  |
| CD3+CD25+            | 8,9±1,82              | 17,1±8,47   | 10,1±4,9   | 0,8  |
| CD4+CD25+            | 5,7±1,86              | 14,8±7,75   | 8,4±4,06   | 0,6  |
| CD4+CD8+             | 2,52±0,8              | 8,1±5,88    | 2,5±0,95   | 0,4  |



|                    |            |             |            |     |
|--------------------|------------|-------------|------------|-----|
| CD3+CD8+/CD3+CD4+  | 2,9±0,7    | 2,6±1,68    | 1,33±0,17  | 0,3 |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+ | 15,47±5,12 | 22,47±17,99 | 10,58±7,21 | 0,7 |

Таким образом, анализ взаимосвязи интралимфоцитарных иммунных реакций с иммунофенотипом рака яичников методом проточной цитометрии позволил отметить ряд интересных наблюдений. При HLA-I мозаичном фенотипе мы наблюдали увеличение доли CD3+CD4+ клеток ( $31,6\% \pm 5,42\%$  и  $19,38 \pm 5,22\%$ ), что вероятно обусловлено увеличением пропорции CD4+CD25+ клеток ( $12,55 \pm 3,2$  против  $2,33 \pm 0,63$ ). Отмеченные различия были маргинальной значимости ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). Мы видим, что утрата молекул HLA-I класса сопровождается нарастанием популяции CD4+CD25+ клеток.

Мономорфный HLA-DR фенотип ассоциировался с увеличением доли CD3+CD4+ клеток в два раза в сравнении с мозаичным и негативным фенотипом ( $38,17 \pm 9,73\%$  против  $21,5 \pm 3,6\%$  и  $21,6 \pm 5,8\%$ , соответственно). Важно подчеркнуть, что количество CD4+CD25+ клеток в опухолях с мономорфной экспрессией HLA-DR, было вдвое больше. Нельзя не отметить, что это тенденция схожа с результатами анализа HLA-I фенотипа, указанными выше. Напомним, что мономорфная экспрессия HLA-DR, по данным ИГХ анализа, достоверно связана с увеличением общелейкоцитарной инфильтрации (CD45+). В этой связи, не исключено, что данные проточной цитометрии отражают это событие, в частности, за счет увеличения содержания CD4+CD25+ клеток. Полагаем, уместно обратить внимание, что с нарастанием стадии опухоли случаи положительного HLA-DR фенотипа встречаются чаще. Несмотря на то, что статистической значимости не отмечено, эти наблюдения заслуживают внимания.

При оценке взаимосвязей Tfr1- фенотипа с интралимфоцитарными лимфоцитами мы обратили внимание, что достоверные различия касались соотношения CD3+CD8+/CD3+CD4+, а также CD3+CD8+/CD4+CD25+, которые было выше при мозаичном фенотипе опухоли в сравнении с негативным. Это может косвенно свидетельствовать об увеличении доли CD3+CD8+ при мозаичном фенотипе, который чаще наблюдался при ранних стадиях рака, как показали данные иммуногистохимического исследования на криостатных срезах. И тут принципиально отметить еще один важный факт: при ранних стадиях доля CD3+CD4+ не велика, а ее увеличение мы наблюдали с нарастанием распространенности опухоли (различия близки к достоверным).

#### **4.4 Иммунологические факторы прогноза рака яичников на основе иммунофенотипа первичной опухоли и интратуморальных иммунных реакций**

Как было указано выше экспрессия опухолевыми клетками на своей поверхности спектра антигенов (молекулы главного комплекса гистосовместимости HLA-I и II класса, трансферриновые рецепторы, молекулы апоптоза, молекулы адгезии, муциновые белки и Р-гликопротеины) варьировала в диапазоне разной степени выраженности, а в ряде случаев эти антигены отсутствовали. Интратуморальные иммунные реакции были представлены общелейкоцитарной, Т-, В - клеточной инфильтрацией.

Одной из задач данного исследования является оценка прогностической роли иммунофенотипа опухоли и интратуморальных иммунных реакций. Рассмотрим клиническую значимость выраженности местных иммунных реакций и иммунофенотипа клеток рака молочной железы.

Поскольку прогрессирование при раке яичников довольно частое событие и развивается уже на первом году с момента начала лечения, мы сочли целесообразным оценить взаимосвязи иммунофенотипа опухоли с непосредственными результатами лечения на сроке наблюдения 15-24 мес.

Период наблюдения для оценки непосредственных результатов лечения составил в среднем  $15,2 \pm 1,5$  мес. По данным комплексного обследования после комбинированного лечения отмечено прогрессирование у 14 больных. Группу сравнения составили 14 больных, у которых была подтверждена ремиссия. Исключены из анализа четыре случая: три в связи с потерей, один в связи со смертью в раннем послеоперационном периоде. Длительность наблюдения варьировала от 3 до 27 месяцев. Установлено, что в 32,1% случаев была полная ремиссия, в 17,7% — частичный эффект и стабилизация. В остальных случаях констатировано прогрессирование.

##### **4.4.1 Взаимосвязь иммунофенотипа рака яичников с прогрессированием рака яичников**

При анализе взаимосвязи результатов комбинированного лечения с особенностями иммунофенотипа опухоли нам не удалось выявить четких корреляций. В группе больных с благоприятным прогнозом отмечена более высокая частота мономорфного MUC-1 фенотипа (71,4%) в сравнении с группой с явлениями прогрессирования, рецидивирования заболевания, метастазирования, 50,0%,  $p = 0,4$ . Частота мономорфного MUC-1 фенотипа экспрессии в группе с неблагоприятным прогнозом в два раза превышала таковую в другой группе больных, составив 21,4% и 7,1% , соответственно. Данные представлены в таблице 121.

**Таблица 121** – Взаимосвязь результата лечения с MUC-1, CD56 иммунофенотипом рака яичников

| Результаты лечения   |      | Иммунофенотип |            |          | Итого  |
|----------------------|------|---------------|------------|----------|--------|
|                      |      | CD56 «-»      | CD56 «+/-» | CD56 «+» |        |
| Без прогрессирувания | Абс. | 9             | 4          | 10       | 14     |
|                      | %    | 64,3%         | 28,6%      | 71,4%    | 100,0% |
| Прогрессирование     | Абс. | 5             | 6          | 7        | 14     |
|                      | %    | 35,7%         | 42,9%      | 50,0%    | 100,0% |
| p = 0,2              |      |               |            |          |        |
|                      |      | MUC1«-»       | MUC1«+/-»  | MUC1 «+» |        |
| Без прогрессирувания | Абс. | 1             | 3          | 10       | 14     |
|                      | %    | 7,1%          | 21,4%      | 71,4%    | 100,0% |
| Прогрессирование     | Абс. | 1             | 6          | 7        | 14     |
|                      | %    | 7,1%          | 42,9%      | 50,0%    | 100,0% |
| p = 0,4              |      |               |            |          |        |

Отмечено двукратное снижение частоты CD56-негативного фенотипа в группе больных с неблагоприятным прогнозом. При анализе взаимосвязи статуса болезни на момент последней явки с особенностями других фенотипических признаков (HLA-DR, HLA-1, Tfr1, CD29) достоверных закономерностей не выявлено.

#### 4.4.2 Взаимосвязь интратуморальных реакций при раке яичников с прогрессированием рака яичников

Сравнение выраженности интратуморальных реакций паренхимы выявило, что ремиссия сочеталась с высоким уровнем местных иммунных реакций паренхимы (Таблица 122). Частота общелейкоцитарной инфильтрации паренхимы умеренного и выраженного типа составила 71,4%, в то время как при прогрессировании — 64,3%. Кроме того, более выражены оказались Т-клеточные CD7+, и NK-клеточные реакции CD56+, частота которых в стадии ремиссии была выше 57,1% и 88,9%. Вместе с тем статистической значимости не достигнуто.

**Таблица 122** – Взаимосвязь результатов лечения с интратуморальными реакциями паренхимы

| Результат лечения |   | Слабая | Умеренная\выраженная | Всего   | p   |
|-------------------|---|--------|----------------------|---------|-----|
|                   |   | CD45   |                      |         |     |
| Б\ПР              | n | 4      | 10                   | 14      | 0,6 |
|                   | % | 28,60% | 71,40%               | 100,00% |     |

|      |   |        |        |         |     |
|------|---|--------|--------|---------|-----|
| ПР   | n | 5      | 9      | 14      |     |
|      | % | 35,70% | 64,30% | 100,00% |     |
|      |   | CD7    |        |         |     |
| Б\ПР | n | 6      | 8      | 14      | 0,2 |
|      | % | 42,20% | 57,10% | 100,00% |     |
| ПР   | n | 9      | 5      | 14      |     |
|      | % | 64,30% | 35,70% | 100,00% |     |
|      |   | CD3    |        |         |     |
| Б\ПР | n | 9      | 5      | 14      | 0,1 |
|      | % | 64,30% | 35,70% | 100,00% |     |
| ПР   | n | 9      | 5      | 14      |     |
|      | % | 64,30% | 35,70% | 100,00% |     |
|      |   | CD4    |        |         |     |
| Б\ПР | n | 5      | 9      | 14      | 0,1 |
|      | % | 35,70% | 64,30% | 100,00% |     |
| ПР   | n | 6      | 13     | 19      |     |
|      | % | 31,60% | 68,40% | 100,00% |     |
|      |   | CD56   |        |         |     |
| Б\ПР | n | 1      | 8      | 9       | 0,3 |
|      | % | 11,10% | 88,90% | 100,00% |     |
| ПР   | n | 1      | 3      | 5       |     |
|      | % | 40,00% | 60,00% | 100,00% |     |

Б\ПР – без прогрессирования, ПР – прогрессирование

Достоверные взаимосвязи с непосредственными результатами лечения установлены в отношении CD8-интратуморальных реакций паренхимы опухоли (Таблица 123). Частота цитотоксических местных иммунных реакций умеренного и выраженного характера оказалась значительно выше в группе ремиссии, составив 80,0% против 20,0%. Чаще при прогрессировании мы наблюдали слабый уровень цитотоксических реакций. Более того, отмечено, что высокий иммунорегуляторный индекс ассоциирован также с ремиссией. Его низкие значения у большинства больных установлены при прогрессировании рак яичников,  $p = 0,005$ . Таким образом, мы считаем важным акцентировать, что именно паренхиматозный компонент опухоли играл ключевую роль и оказался ценным в прогностической оценке течения рака яичников.

**Таблица 123** – Взаимосвязь CD8- клеточных реакций с результатами лечения

| Результат лечения | CD8-интратуморальные реакции |                      |       |
|-------------------|------------------------------|----------------------|-------|
|                   | Слабая                       | Умеренная/выраженная | p     |
| Без               | 33,3 % (6)                   | 80,0% (8)            | 0,02  |
| Прогрессирование  | 66,7% (12)                   | 20,0% (2)            |       |
| Итого             | 100,0% (18)                  | 100,0% (10)          |       |
|                   | Индекс CD8+ / CD4+           |                      | p     |
|                   | Низкое                       | Высокое              |       |
| Без               | 27,8% (4)                    | 81,8% (10)           | 0,005 |
| Прогрессирование  | 72,2% (12)                   | 18,2% (2)            |       |
| Итого             | 32 (100%)                    | 19 (100%)            |       |

Поскольку мы проводили оценку интратуморальных иммунных реакций методом проточной цитометрии, то мы проанализировали в зависимости от непосредственных результатов комбинированного лечения количественный состав интратуморальных лимфоцитов (Таблица 124). Следует констатировать, что значимых различий нами не обнаружено. Однако, отметим, что при полной ремиссии мы наблюдали увеличенное содержание цитоксических Т-клеток.

**Таблица 124** – Взаимосвязь результата лечения с интратуморальными лимфоцитами

| Тип иммунных реакций | Эффект от лечения |                         |                  | p    |
|----------------------|-------------------|-------------------------|------------------|------|
|                      | Полный            | Частичный+ стабилизация | Прогрессирование |      |
| CD3+                 | 68,17±5,6         | 80,04±7,38              | 79,0±3,9         | 0,2  |
| CD3+CD4+             | 21,8±5,07         | 26,6±8,9                | 38,0             | 0,6  |
| CD3+CD8+             | 46,74±6,1         | 33,84±9,5               | 26,0             | 0,5  |
| CD3+CD25+            | 10,25±3,4         | 13,1±4,4                | 5,1              | 0,7  |
| CD4+CD25+            | 6,7±2,9           | 11,68±4,6               | 2,7              | 0,8  |
| CD4+CD8+             | 4,98±2,03         | 1,2±0,3                 | -                | 0,12 |
| CD3+CD8+/CD3+CD4+    | 3,2±0,7           | 1,94±0,7                | 0,7              | 0,1  |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+   | 22,22±7,86        | 8,2±4,31                | 9,6              | 0,4  |

Сравнение характера интратуморальных реакций со статусом болезни установило, что в группе без прогрессирования доля CD3+ CD25+ и CD4+CD25+ - лимфоцитов была значительно ниже, составив 2,5±0,8% и 1,27±0,46%, соответственно, чем в группе больных с

прогрессированием заболевания —  $12,03 \pm 2,6\%$  и  $9,3 \pm 2,75\%$ , соответственно (Таблица 125). Соотношение CD8+/CD25+ - лимфоцитов было также достоверно выше ( $p = 0,02$ ). Интересно, что практически одинаково было содержание зрелых Т-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов.

По данным иммуногистохимического исследования со статусом болезни (на момент последней явки) были связаны CD8+-клеточные реакции, а также величина иммунорегуляторного индекса, поэтому возможно, что положительный эффект ассоциирован именно с влиянием НК – клеток. Это предположение подтверждается тем фактом, что в ремиссии мы наблюдали более выраженный CD45+, CD56+ тип клеточных реакций при низком уровне CD3- инфильтрации.

**Таблица 125 – Взаимосвязь интрамуральных лимфоцитов со статусом болезни**

| Тип иммунных реакций | Статус болезни   |                  | p    |
|----------------------|------------------|------------------|------|
|                      | БПР              | ПР               |      |
| CD3+                 | $74,57 \pm 6,29$ | $74,32 \pm 5,75$ | 0,9  |
| CD3+CD4+             | $14,27 \pm 6,46$ | $25,93 \pm 5,14$ | 0,2  |
| CD3+CD8+             | $39,35 \pm 12,7$ | $38,5 \pm 6,58$  | 0,9  |
| CD3+CD25+            | $2,5 \pm 0,8$    | $12,03 \pm 2,6$  | 0,03 |
| CD4+CD25+            | $1,27 \pm 0,46$  | $9,3 \pm 2,75$   | 0,05 |
| CD4+CD8+             | $3,4 \pm 1,85$   | $1,82 \pm 0,5$   | 0,6  |
| CD3+CD8+/CD3+CD4+    | $4,4 \pm 1,73$   | $2,07 \pm 0,55$  | 0,2  |
| CD3+CD8+/CD4+CD25+   | $41,2 \pm 15,6$  | $8,48 \pm 2,48$  | 0,02 |

#### 4.4.3 Взаимосвязь иммунофенотипа клеток рака яичников с выживаемостью больных

Для того, чтобы выяснить, какие иммунофенотипические параметры опухоли реализуют свое влияние, являются ли они самостоятельными факторами, мы проанализировали общую выживаемость и выживаемость без прогрессирования больных раком яичников после лечения.

Анализ ОБ и ВБП в зависимости от типа экспрессии HLA-I и II класса проведен для 30 больных раком яичников (серозная аденокарцинома, High grade, всем больным выполнена первичная циторедуктивная операция с последующей адъювантной химиотерапией).

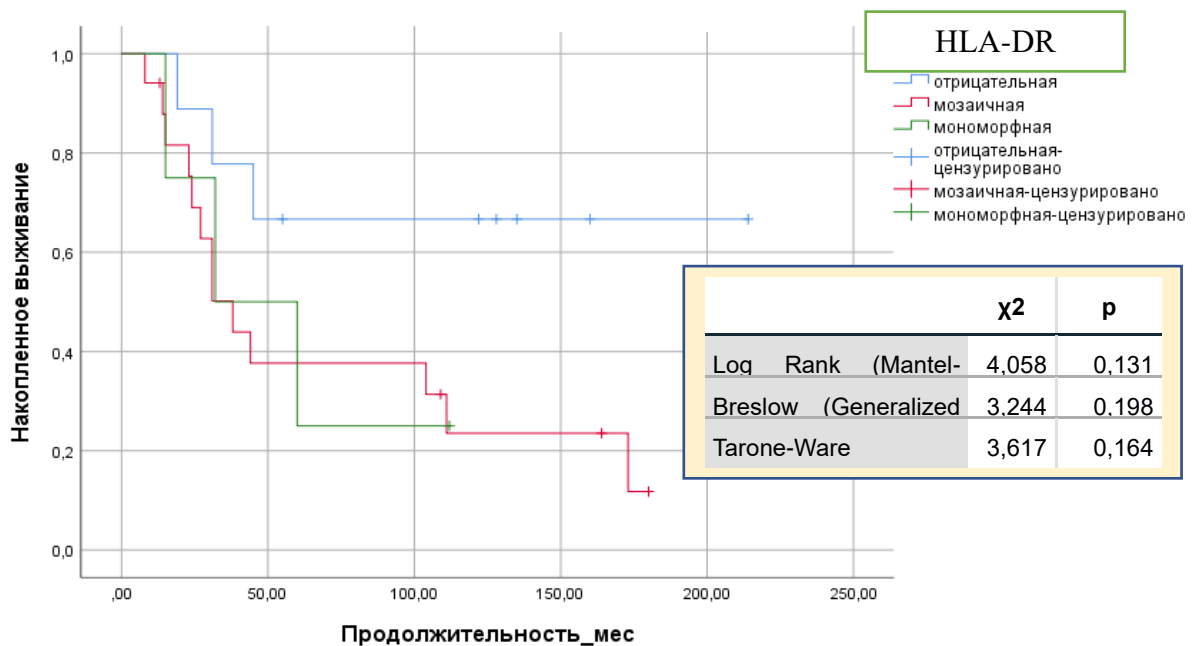
Показатели 3-летней ОБ существенно не различались и составили по группам HLA-I-, HLA-I+/- и HLA-I+, соответственно,  $40,0 \pm 2,1\%$ ,  $62,5 \pm 12,1\%$  и  $63,0 \pm 16,9\%$  (Таблица 126).

Показатели 5-летней ОБ в зависимости от мозаичной и мономорфной экспрессии опухоли молекул HLA-I составили  $54,7 \pm 12,9\%$  и  $12,7 \pm 11,9\%$ , но различия не были достоверными. 5-летней ОБ в группе HLA-I негативной не наблюдалось.

**Таблица 126**– Показатели общей выживаемости больных раком яичников в зависимости от HLA-I иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли       | ОБ, М ± m         |                   | Кол-во больных |      |
|-----------------------|-------------------|-------------------|----------------|------|
|                       | 3-летняя          | 5-летняя          | n              | %    |
| HLA-I <sup>-</sup> -  | $40,0 \pm 2,1\%$  | -                 | 9              | 45,0 |
| HLA-I <sup>+</sup> \- | $62,5 \pm 12,1\%$ | $54,7 \pm 12,9\%$ |                |      |
| HLA-I <sup>+</sup> +  | $63,0 \pm 16,9\%$ | $12,7 \pm 11,9\%$ | 21             | 55,0 |
| $p > 0,05$            |                   |                   |                |      |

Показатели 3-летней ОБ в группах HLA-DR<sup>-</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>\- и HLA-DR<sup>+</sup> составили:  $77,8 \pm 13,9\%$ ,  $43,9 \pm 12,4\%$  и  $50,0 \pm 25,0\%$ , достоверности не достигнуто. Установлено, что показатели 5-летней ОБ в группе с отсутствием экспрессии HLA-DR были лучше, чем в группе с мозаичной реакцией, однако достоверности не достигнуто. 5-летней ОБ в группе мономорфного HLA-DR фенотипа не наблюдалось. Для фенотипов HLA-DR<sup>-</sup> и HLA-DR<sup>+</sup>\- показатели составили, соответственно,  $66,7 \pm 15,7\%$ ,  $23,5 \pm 11,6\%$ . Данные представлены на рисунке 61.



**Рисунок 61** – Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от типа экспрессии HLA-DR

В отношении HLA-DR получены иные данные. (Таблица 127). Как видно из таблицы, выживаемость больных раком яичников в случаях отсутствия экспрессии опухолью молекул HLA-DR (HLA-DR- негативная группа) превышала таковую при их наличии на поверхности клеток опухоли (HLA-DR- позитивная группа).

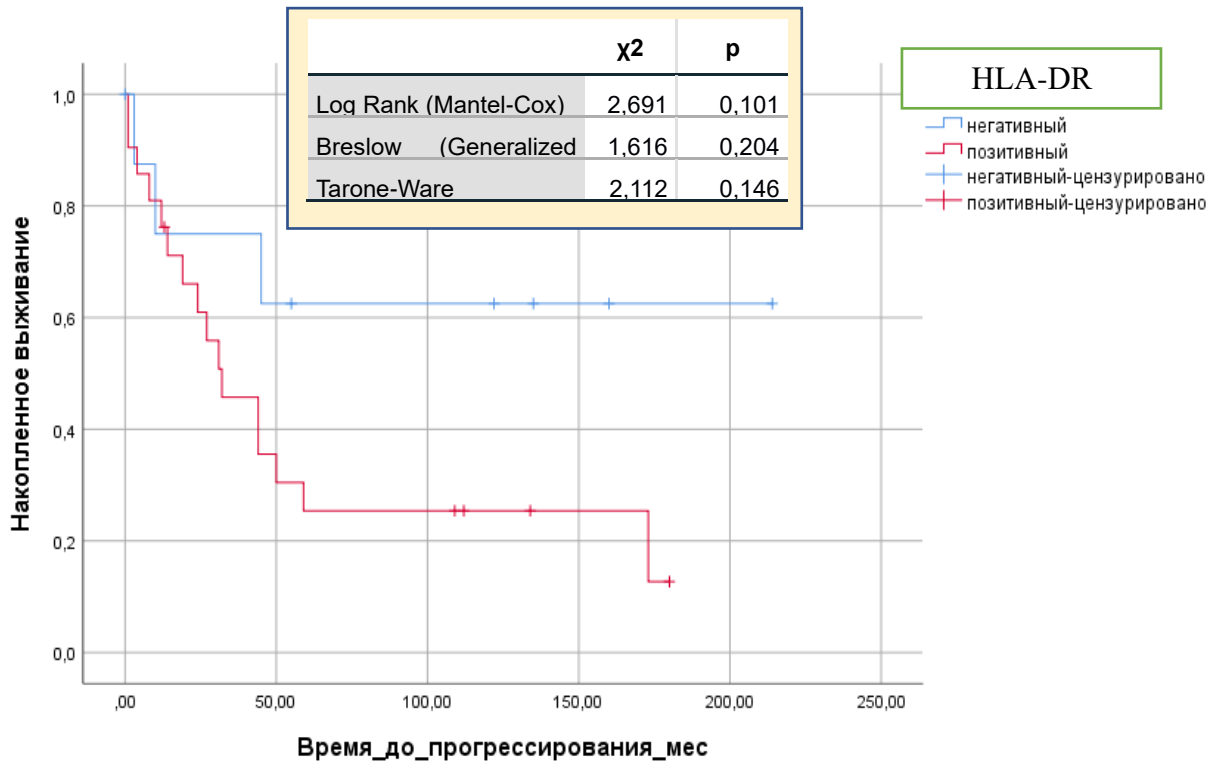
**Таблица 127**– Показатели общей выживаемости больных раком яичников в зависимости от HLA-DR иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли                | ОВ, М ± m               |               |                | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|-------------------------|---------------|----------------|----------------|------|
|                                | 3-летняя                | 5-летняя      | Средняя        | n              | %    |
| HLA-DR"-"                      | 77,8 ± 13,9 %           | 66,7 ± 15,7 % | 153,2 ± 28,7 % | 9              | 45,0 |
|                                | Медиана – не достигнута |               |                |                |      |
| HLA-DR"+"                      | 45,1 ± 1,1 %            | 24,1 ± 9,8 %  | 72,4 ± 14,4 %  | 21             | 55,0 |
|                                | Медиана – 38,0          |               |                |                |      |
|                                | $\chi^2$                |               |                | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                         | 4,026         |                | 0,045          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                         | 3,166         |                | 0,075          |      |
| Tarone-Ware                    |                         | 3,561         |                | 0,059          |      |

Оценка ВПБ показала, что при HLA-DR негативном серозном раке яичников показатели выживаемости были выше, но при этом различия оказались недостоверны, что представлено на рисунке 62. Средняя продолжительность жизни составила в HLA-DR негативной группе 141,5 ± 33,5%, медиана не достигнута; в группе сравнения – 63,5 ± 15,1%, медиана = 32,0.

Экспрессия HLA-I и ВПБ: показатели 3-летней ВПБ практически не различались, составив 40,0 ± 21,9% и 57,2 ± 10,3%, соответственно, в группах негативного и позитивного фенотипа.

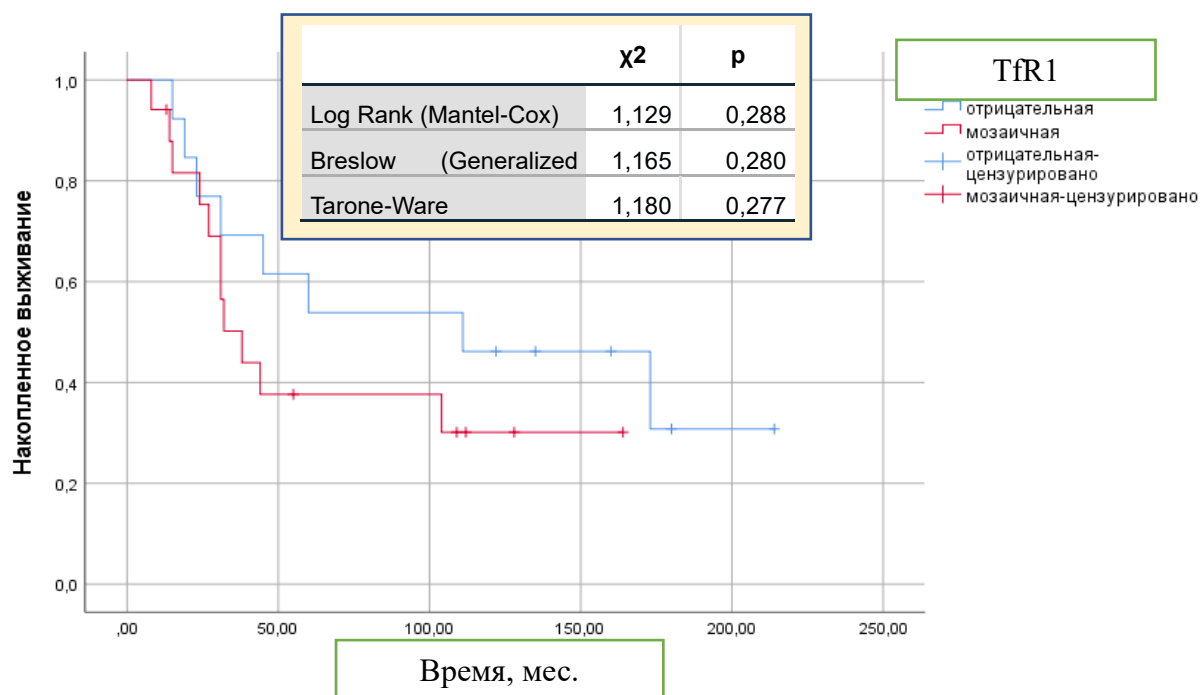




**Рисунок 62** – Выживаемость без прогрессирования больных раком яичников в зависимости от HLA-DR иммунофенотипа

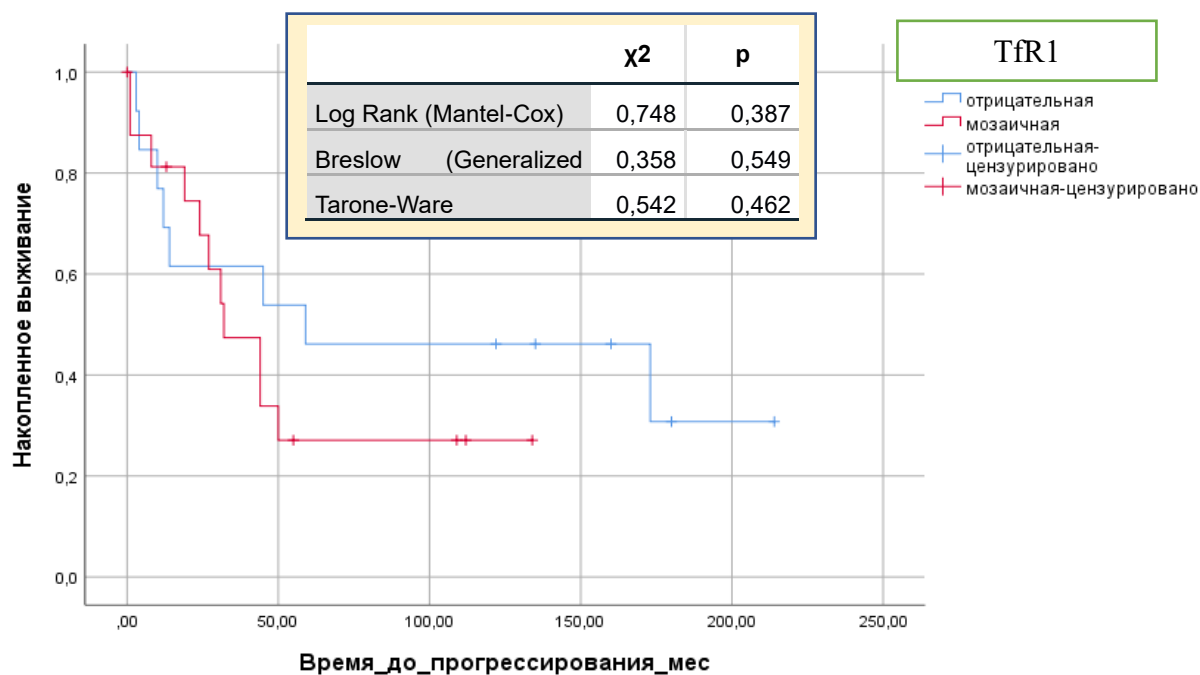
Таким образом, следует констатировать, что ОВ больных раком яичников различалась при разном характере экспрессии опухолью HLA- мономорфных детерминант. В частности, достоверные различия установлены в отношении молекул HLA-DR: ухудшение показателей ОВ сопровождалось экспрессией опухолевыми клетками данных молекул. Следует обратить внимание, что это не противоречит результатам нашего исследования, которые получены при анализе взаимосвязей HLA-DR фенотипа с клиническими характеристиками рака яичников: с нарастанием стадии опухоли случаи положительного HLA-DR фенотипа встречались чаще.

Как нами было установлено, экспрессия трансферринового рецептора клетками рака яичников наблюдалась в большинстве образцов носила мозаичный характер (57,6%,  $n = 19$ ), а в 42,4% ( $n = 14$ ) случаев опухоли характеризовались отсутствием экспрессии трансферриновых рецепторов. Показатели 3-летней ОВ существенно не различались и составили по группам TfR1 негативной и TfR1-позитивной, соответственно,  $69,2 \pm 12,8\%$  и  $63,4 \pm 13,8\%$ . Также не различались и показатели 5-летней ОВ в зависимости от экспрессии опухолью трансферриновых рецепторов:  $46,2 \pm 13,8\%$  и  $30,1 \pm 11,8\%$ . Графики выживаемости представлены на рисунке 63. Показатели средней выживаемости составили  $115,8 \pm 13,8\%$  (Медиана = 111,0) и  $73,7 \pm 15,8\%$  (Медиана = 38,0).



**Рисунок 63** – Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от TfR1-иммунофенотипа

Оценка ВПБ в зависимости от фенотипа TfR1 выполнена у 30 больных. На рисунке 64 представлен график выживаемости. Средние показатели составили  $103,7 \pm 25,6\%$  (Медиана = 59,0) и  $55,2 \pm 12,8\%$  (Медиана = 32,0). Показатели 3-летней ВПБ практически не различались  $61,5 \pm 13,5\%$  и  $54,2 \pm 12,8\%$ , также как и 5-летней ( $46,2 \pm 13,5\%$  против  $27,1 \pm 11,5\%$ ).



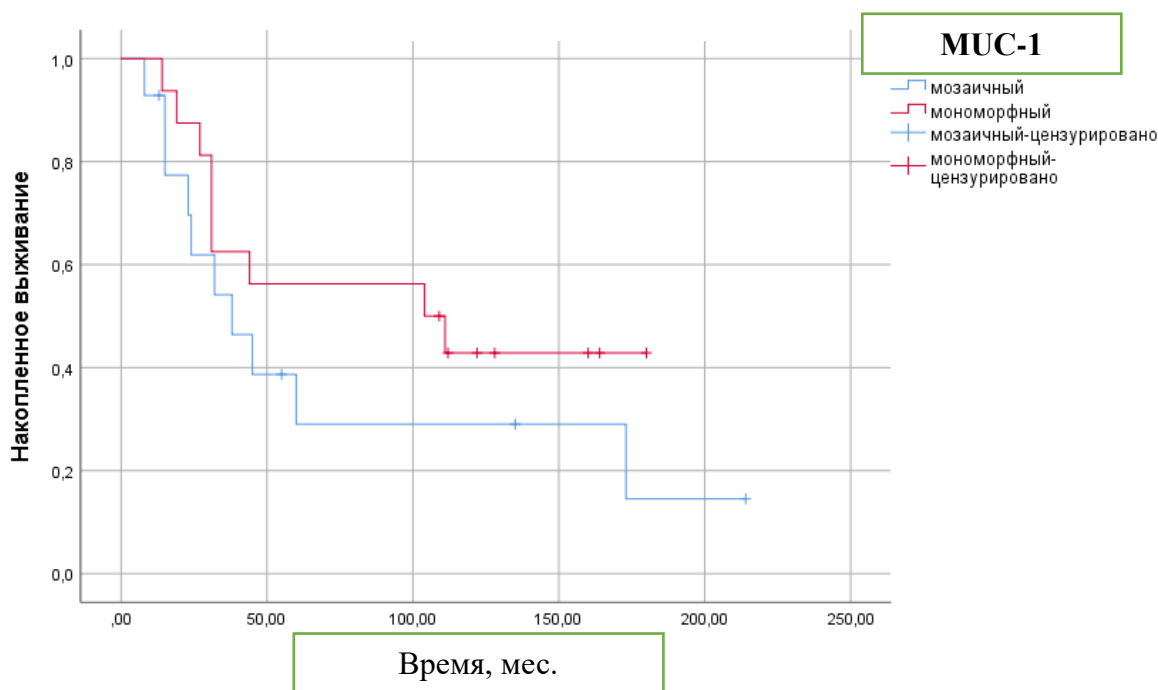
**Рисунок 64** – Выживаемость без прогрессирования больных раком яичников в зависимости от TfR1- иммунофенотипа

Таким образом, можно заключить, взаимосвязи между экспрессией трансферриновых рецепторов клетками рака яичников и выживаемостью больных не наблюдалось.

Анализ ОВ в зависимости от типа экспрессии MUC1 проведен для 28 больных. MUC1 экспрессировался клетками рака яичников в большинстве случаев, при этом преимущественно мономорфно (57,0%). Мозаичная экспрессия MUC1 наблюдалась в 36,0% случаев и лишь 2 случая оказались негативными. Поэтому мы объединили мозаичную и негативную группы. Мы оценили, есть ли различия в показателях ОВ между данными группами в пределах всей выборки больных. Оказалось, что показатели 3-летней ОВ существенно не различались и составили по группам MUC1-mos (1-группа) и MUC1-mon (2 группа), соответственно,  $55,0 \pm 15,0\%$  и  $62,5 \pm 12,1\%$  (Таблица 128). Показатели 5-летней ОВ в зависимости от экспрессии опухоли молекул MUC1 также не различались. Графики выживаемости представлены на рисунке 65.

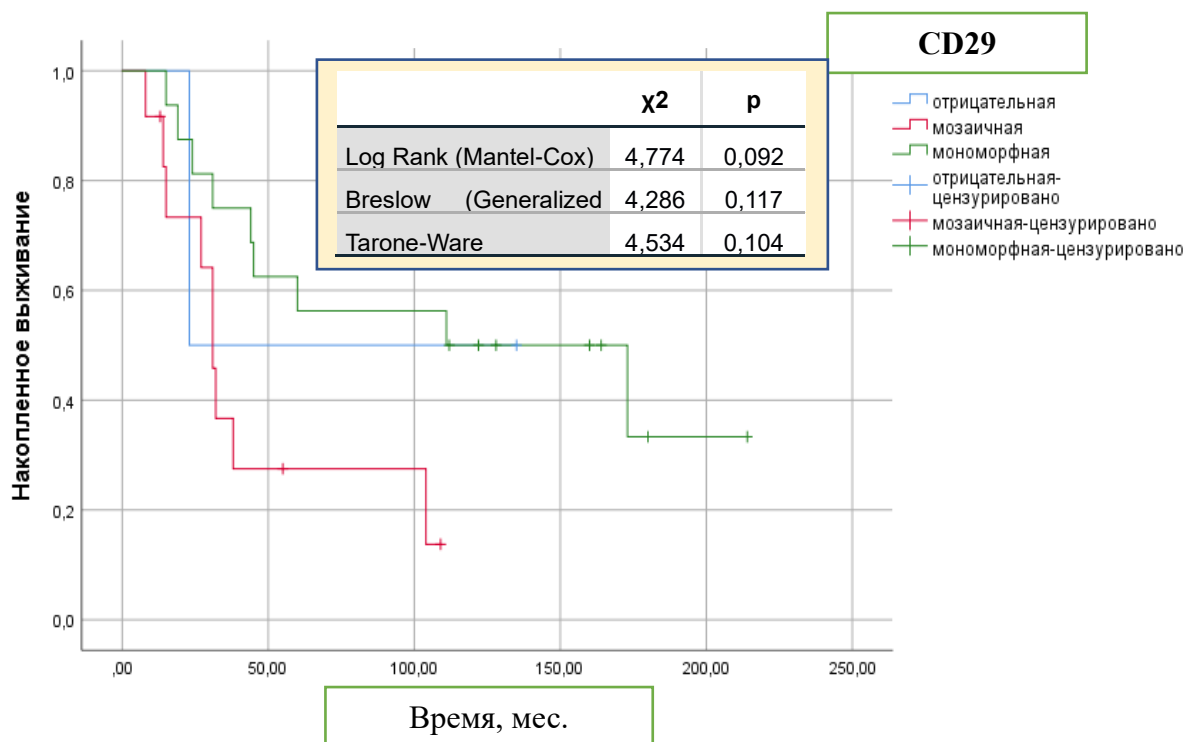
**Таблица 128** – Показатели ОВ больных раком яичников в зависимости от MUC1-иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли                | ОВ, М ± m        |                   |                    | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|----------------|------|
|                                | 3-летняя         | 5-летняя          | Средняя            | n              | %    |
| MUC1-mos                       | $92,9 \pm 6,9\%$ | $24,4 \pm 13,9\%$ | $66,5 \pm 20,7\%$  | 12             | 42,8 |
|                                | Медиана – 38     |                   |                    |                |      |
| MUC1-mon                       | $66,9 \pm 6,1\%$ | $42,9 \pm 12,6\%$ | $103,8 \pm 17,8\%$ | 16             | 57,2 |
|                                | Медиана – 104,0  |                   |                    |                |      |
|                                | $\chi^2$         |                   |                    | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                  | 1,769             |                    | 0,183          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                  | 1,174             |                    | 0,279          |      |
| Tarone-Ware                    |                  | 1,375             |                    | 0,241          |      |

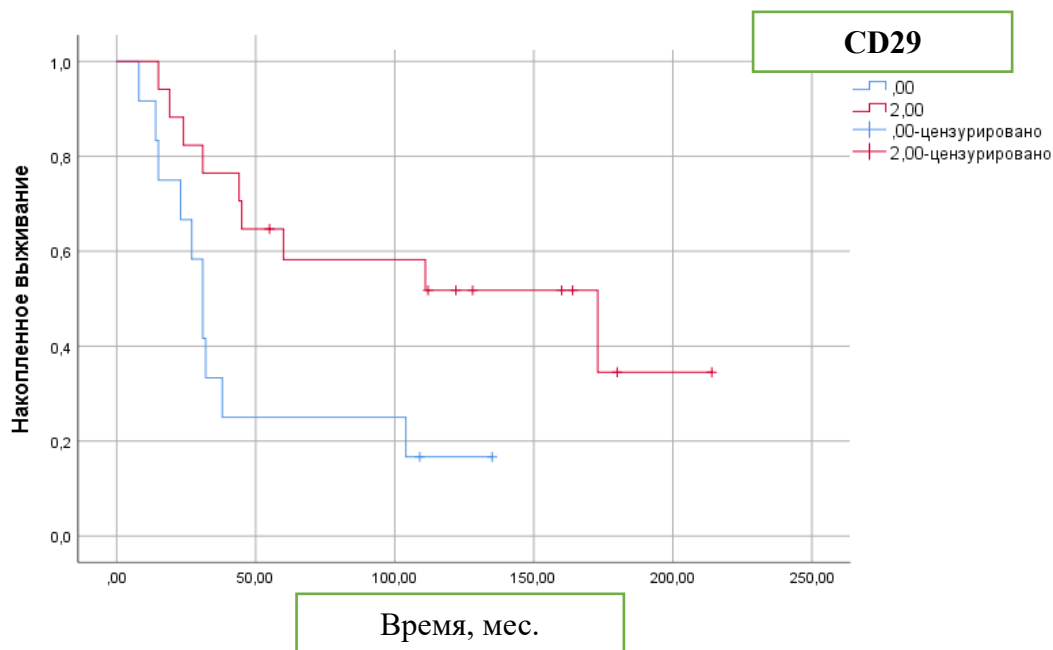


**Рисунок 65** – Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от MUC1 иммунофенотипа

CD29 экспрессировался клетками рака яичников в большинстве случаев, при этом преимущественно мономорфно (53,3%). Мозаичная экспрессия CD29 наблюдалась в 40,0% случаев и лишь 2 случая оказались негативными. Анализ общей выживаемости в зависимости от типа экспрессии CD29 проведен для 30 больных (Рисунок 66). Графики выживаемости демонстрируют, что между изучаемыми группами есть различия, но значимость по тесту Log Rank (Mantel-Cox) = 0,092. Поэтому мы выполнили дополнительный анализ, объединив негативный и мозаичный фенотипы в одну группу (это группа 0), результаты которого представлены на рисунке 67.



**Рисунок 66** – Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от CD29 иммунофенотипа



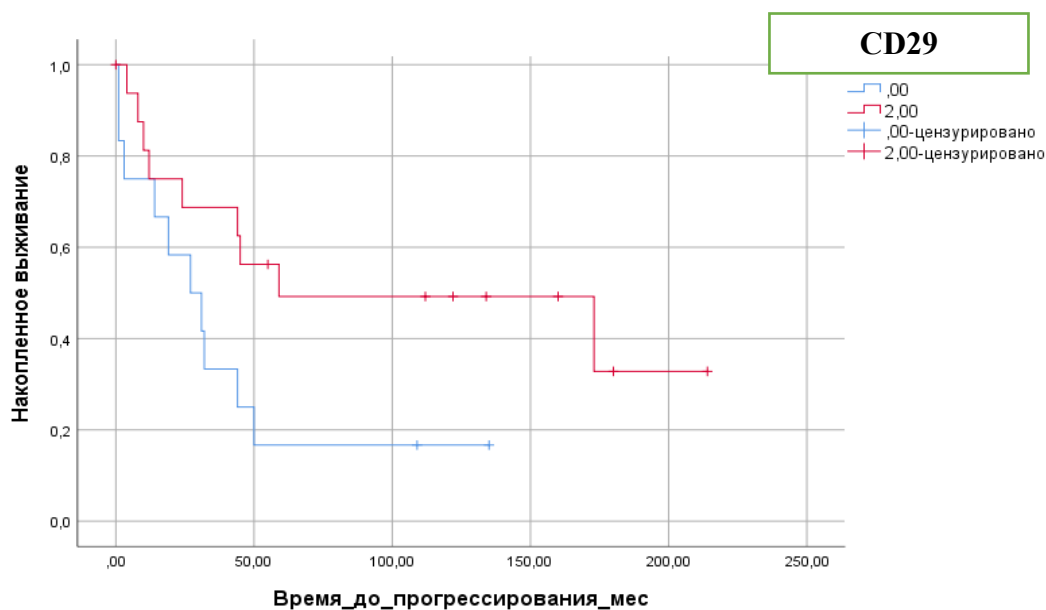
**Рисунок 67** – Общая выживаемость больных раком яичников при фенотипе CD29+/- и CD29+

Показатели выживаемости в этих двух группах достоверно различались: 3-летняя ОВ в группе 0 составила  $36,7 \pm 14,6\%$  против  $75,0 \pm 10,8\%$  в группе 2 (мономорфная экспрессия). В группе 0 мы не наблюдали 5-летнюю выживаемость (Таблица 129).

**Таблица 129** – Показатели общей выживаемости больных раком яичников в зависимости от CD29- иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли                | ОВ, М ± m         |                    |                    | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|----------------|------|
|                                | 3-летняя          | 5-летняя           | Средняя            | n              | %    |
| CD29 «+/-» (группа 0 )         | $36,7 \pm 14,6\%$ | -                  | $49,4 \pm 12,9\%$  | 12             | 42,8 |
|                                | Медиана – 31,0    |                    |                    |                |      |
| CD29 «+» (группа 2)            | $75,0 \pm 10,8\%$ | $50,0 \pm 12,5 \%$ | $125,2 \pm 20,5\%$ | 16             | 57,2 |
|                                | Медиана – 173,0   |                    |                    |                |      |
|                                | $\chi^2$          |                    |                    | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                   |                    | 5,686              | 0,017          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                   |                    | 5,596              | 0,018          |      |
| Tarone-Ware                    |                   |                    | 5,732              | 0,017          |      |

Анализ ВВП в зависимости от MUC1 фенотипа опухоли серозного рака яичников не выявил различий. Графики выживаемости представлены на рисунке 68. Обнаружены различия в показателях ВВП в зависимости от типа экспрессии молекул CD29. Показатели ВВП существенно различались в группе 0 и группе 2 с мономорфной экспрессией CD29, но уровень значимости был маргинальный ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ) (Таблица 130).



**Рисунок 68** – Выживаемость без прогрессирования больных раком яичников в зависимости от CD29 иммунофенотипа

Мы не можем игнорировать полученные данные. Не исключено, что экспрессия молекул интегринов CD29 при серозном раке яичников имеет значение, при этом отсутствие достоверности обусловлено, вероятно, небольшим числом пациентов.

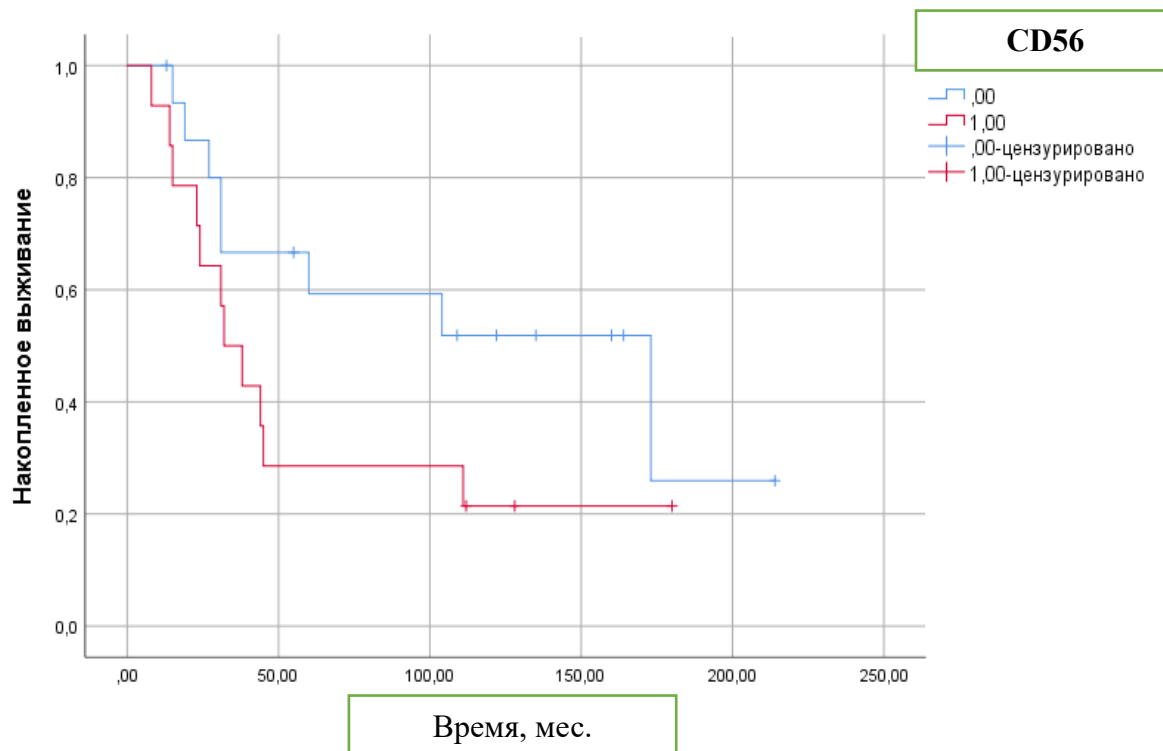
**Таблица 130** – Показатели выживаемости без прогрессирования больных раком яичников в зависимости от CD29- иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли                | ВБП, М ± m     |               |               | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|----------------|---------------|---------------|----------------|------|
|                                | 3-летняя       | 5-летняя      | Средняя       | n              | %    |
| CD29 «+/-» (группа 0)          | 33,3 ± 13,6%   | 16,7 ± 10,8%  | 41,0 ± 12,9%  | 12             | 41,3 |
|                                | Медиана – 27,0 |               |               |                |      |
| CD29 «+» (группа 2)            | 68,8 ± 11,6%   | 49,2 ± 12,7 % | 111,9 ± 22,9% | 17             | 58,7 |
|                                | Медиана – 59,0 |               |               |                |      |
|                                | $\chi^2$       |               |               | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                | 3,584         |               | ,058           |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                | 3,149         |               | ,076           |      |
| Tarone-Ware                    |                | 3,400         |               | ,065           |      |

Таким образом, следует констатировать, что экспрессия опухолью молекул интегринов CD29 была связана с ОБ больных раком яичников. Интересным фактом стало обнаружение достоверных различий между мономорфным и мозаичным фенотипами. Это наблюдалось как при оценке ОБ, так и на ВБП. Это прослеживалось, начиная с 4-летнего срока наблюдения. Несмотря на то, что возможности провести полноценный анализ негативного фенотипа CD29 не представилось, все же, на наш взгляд, игнорировать полученные данные не стоит и в перспективе дальнейших исследований этот факт целесообразно изучить более детально в большей когорте больных.

Анализ ОБ в зависимости от типа экспрессии молекул CD56 проведен для 28 больных серозной аденокарциномой. Напомним, что молекулы CD56 экспрессировались клетками рака яичников в половине случаев. Наименьшую долю составили опухоли с мономорфной экспрессией CD56 – 12,1%, а с мозаичным типом реакции в три раза больше. Сравнение размеров очагов опухоли (остаточной и диссеминатов по брюшине) показало, что именно при экспрессии молекул CD56 (мозаичный/мономорфный типы) они были наибольшие, а при отсутствии экспрессии – наименьшие. Более того, при увеличении стадии мы отметили увеличение частоты экспрессии молекул CD56. Группы мозаичного и мономорфного фенотипа опухоли объединены в одну (группа 1). Мы не наблюдали достоверной разницы в показателях ОБ (Рисунок 69). Тем не менее, следует обратить внимание, что при позитивном фенотипе ОБ (группа 1) была значительно ниже, чем при негативном CD56 фенотипе (группа 0), уровень

значимости маргинальный ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). Различия в ОВ мы наблюдали на сроке 50 - 170 мес. После достижения срока наблюдения в 170 мес различий не наблюдалось. Показатели ОВ представлены в таблице 131.



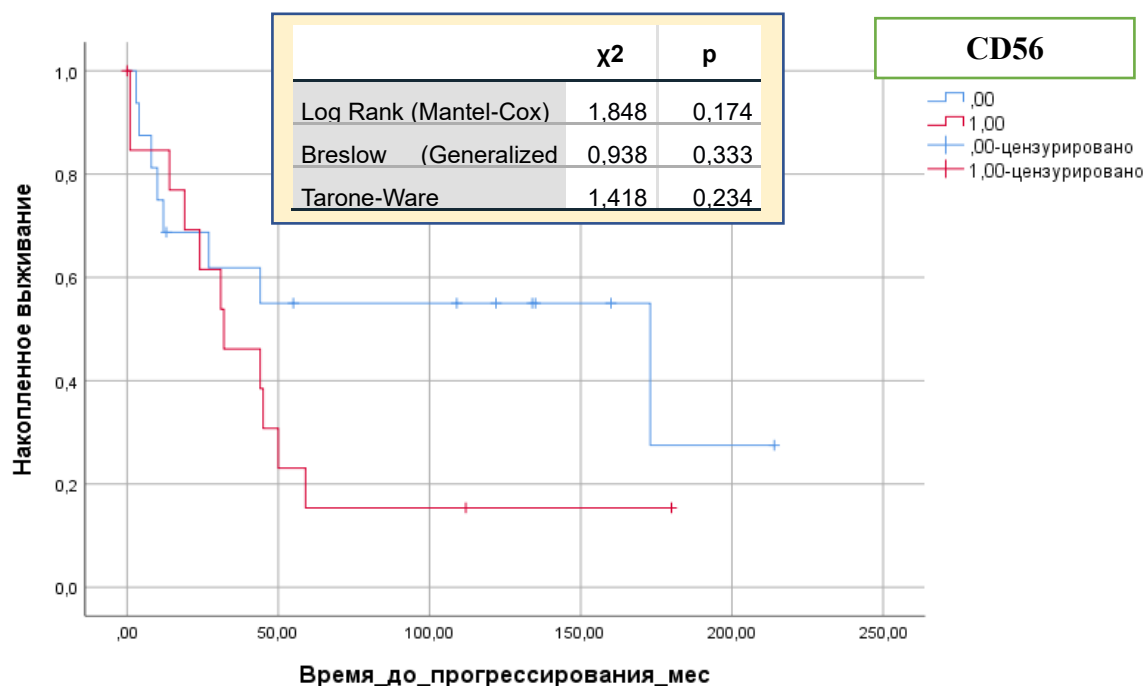
**Рисунок 69** – Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от CD56 иммунофенотипа

**Таблица 131** – Показатели общей выживаемости больных раком яичников в зависимости от CD56- иммунофенотипа опухоли

| Фенотип опухоли                | ОВ, М ± m       |               |               | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|-----------------|---------------|---------------|----------------|------|
|                                | 3-летняя        | 5-летняя      | Средняя       | n              | %    |
| CD56 «->» (группа 0)           | 66,7 ± 12,2%    | 51,9 ± 13,2%  | 120,6 ± 21,8% | 16             | 53,3 |
|                                | Медиана – 173,0 |               |               |                |      |
| CD56 «+» (группа 1)            | 42,9 ± 13,2%    | 21,4 ± 11,1 % | 66,0 ± 17,7%  | 14             | 46,7 |
|                                | Медиана – 32,0  |               |               |                |      |
|                                | $\chi^2$        |               |               | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                 | 2,316         |               | 0,128          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                 | 2,579         |               | 0,108          |      |
| Tarone-Ware                    |                 | 2,611         |               | 0,106          |      |



Мы не установили существенных различий в ВБП в зависимости от CD56 – иммунофенотипа опухоли. Показатели ВБП различались в CD56 негативной (группа 0) и CD56 – позитивной группах (группа 1), но достоверности не достигнуто. Это можно видеть на рисунке 70. Средние значения ВБП составили  $113,6 \pm 23,5\%$  и  $52,3 \pm 15,8\%$ , соответственно, в негативной и позитивной группах. Медиана наблюдения 173,0 и 32,0, соответственно.



**Рисунок 70** – Выживаемость без прогрессирования больных раком яичников в зависимости от CD56 иммунофенотипа

Таким образом, нельзя не согласиться с тем, что в целом некая связь фенотипа CD56 прослеживалась. Как мы видим, в данном случае сложно категорично судить о результатах в отношении серозного рака яичников, но логично заключить, что изучение фенотипа CD56 в целом при раке яичников необходимо. Справедливо отметить, что размеры очагов опухоли (остаточной и диссеминатов по брюшине) и фенотип CD56 были взаимосвязаны: при экспрессии CD56 (мозаичный/мономорфный типы) размеры опухоли были больше, чем при отсутствии экспрессии. Более того, при увеличении стадии имело место нарастание экспрессии CD56. Поэтому, возможно, правомочно предположить, что отсутствие статистической значимости продиктовано неоднородностью групп и небольшим числом случаев.

Суммируя по данному разделу работы, мы можем утверждать, что иммунофенотип опухоли возможно взаимосвязан с показателями выживаемости при раке яичников. Одним из иммунологических маркеров, который обращает на себя внимание, является антиген HLA-DR, экспрессия которого опухолевыми клетками коррелировала с ухудшением показателей 3-, 5-

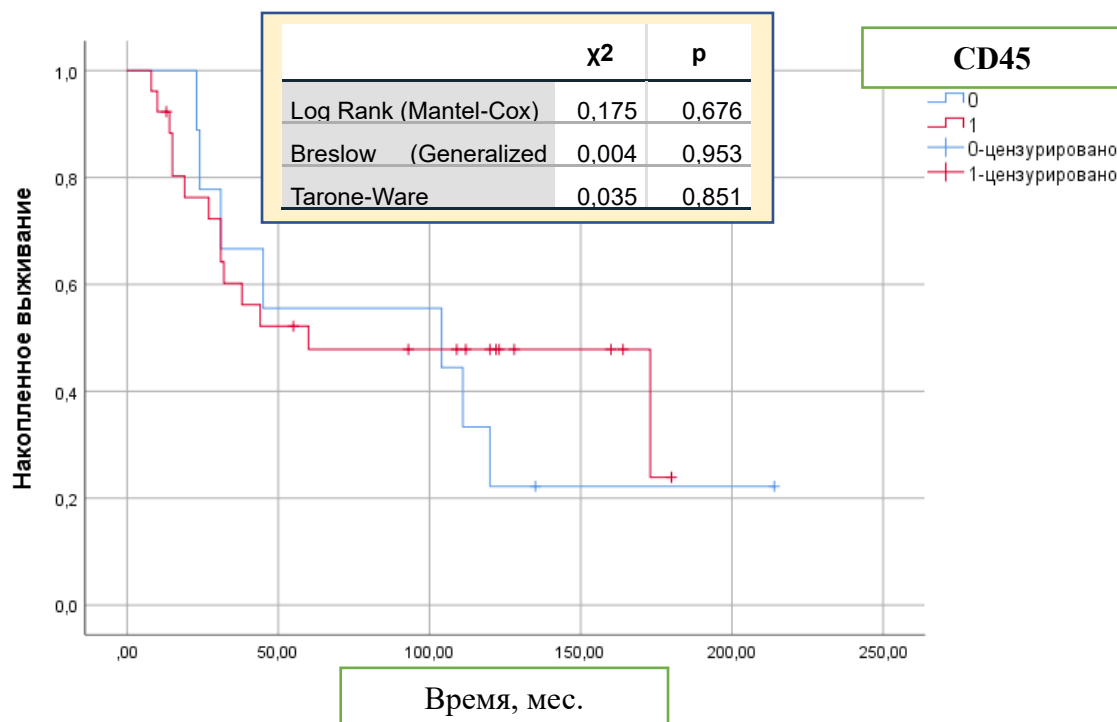
летней ОВ при раке яичников. Следует обратить внимание, что это не противоречит результатам нашего исследования, которые получены при анализе взаимосвязей HLA-DR фенотипа с клиническими характеристиками рака яичников: с нарастанием стадии опухоли случаи положительного HLA-DR фенотипа встречались чаще. Четкой корреляции ВБП и HLA-DR фенотипа не наблюдалось. Вторым изученным маркером стал CD29. Показатели ОВ, так и ВБП различались при разном типе экспрессии. Обнаруженные достоверные различия между мономорфным и мозаичным фенотипами явились неожиданным и интересным фактом. Результаты анализа позволяют продолжить исследование указанных маркеров более масштабно и детально для прояснения взаимосвязей с течением болезни.

#### **4.4.4 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций при раке яичников с выживаемостью больных**

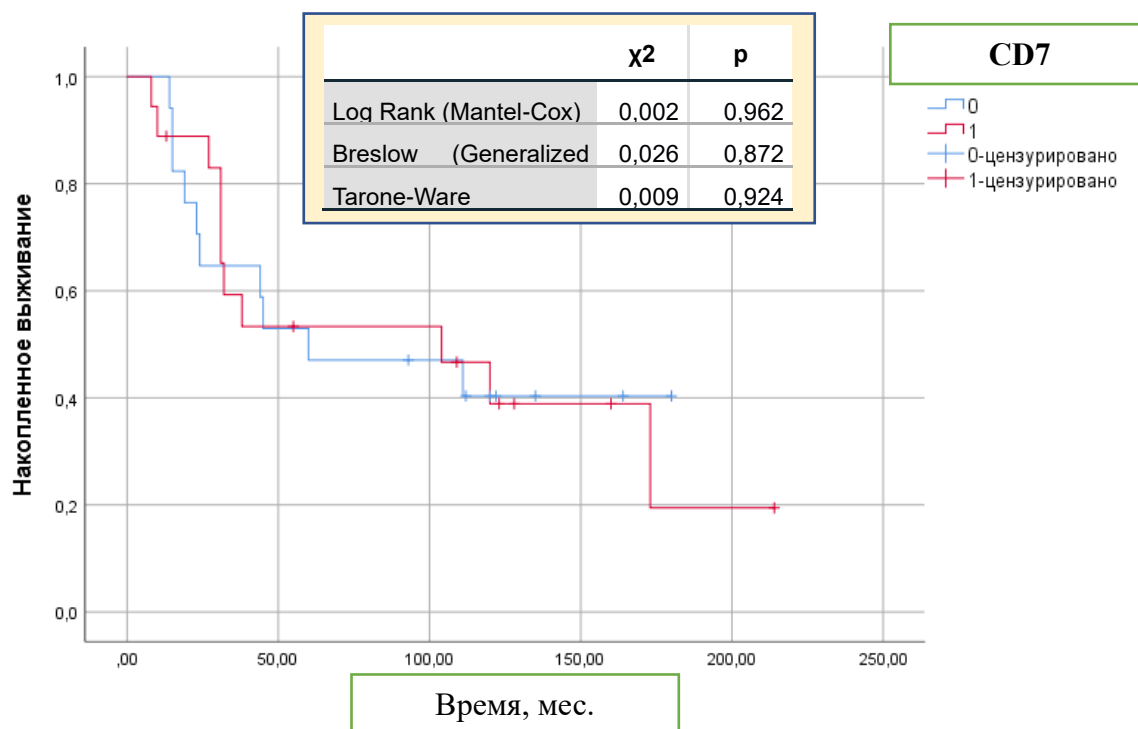
В нашей работе мы установили, что умеренная и выраженная лимфоидная инфильтрация опухоли по группе в целом выявлена в 81,8%. Т-клеточные интратуморальные реакции выраженные или умеренные наблюдались почти в половине случаев. Интересно, что доля CD8+ реакций в опухоли составила 36,3%, что вдвое больше, чем CD4+. В трети случаев отмечались выраженные НК-клеточные реакции. Мы отметили, что увеличение стадии опухоли сопровождалось достоверным снижением Т-клеточных реакций умеренного и выраженного типа, некоторым снижением уровня НК-клеточных при нарастании частоты CD8+ цитотоксических реакций. Вместе с тем, отмечена корреляция онкомаркера с общелейкоцитарной инфильтрацией, а метастатическое поражение брюшины было ассоциировано с достоверным увеличением частоты цитотоксических CD8+Т-клеточных реакций умеренного и выраженного типа.

Для того, чтобы оценить роль интратуморальных реакций мы изучили общую выживаемость и выживаемость без прогрессирования больных раком яичников.

В первую очередь мы оценили прогностическую роль общелейкоцитарной инфильтрации. Мы не наблюдали различий в показателях выживаемости при серозном раке (Рисунок 71). Показатели ОВ были сопоставимы. Аналогично не выявлено различий в выживаемости в зависимости от Т-клеточных реакций (CD3+, CD7+), как для CD4+, так и для CD8+. На рисунке 72 представлены графики в зависимости от CD7+ инфильтрации опухоли.



**Рисунок 71** – Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от CD45+ инфильтрации опухоли



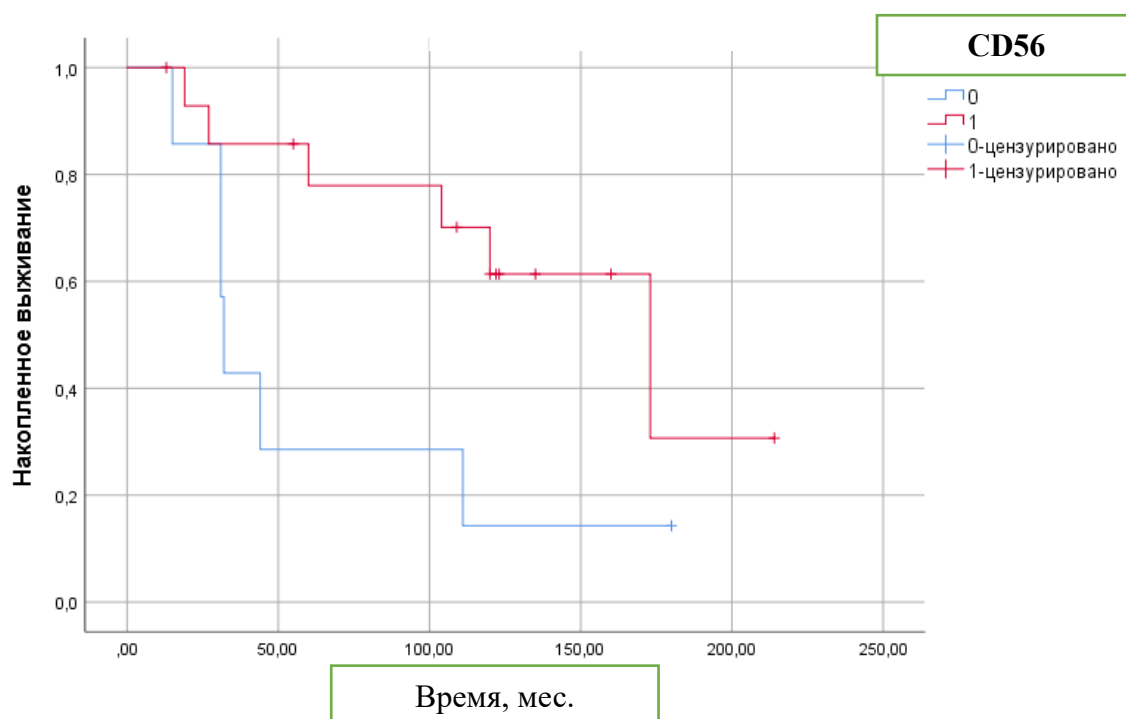
**Рисунок 72** – Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от CD7+ инфильтрации опухоли

Единственным типом интрагуморальных иммунных реакций, который коррелировал с показателями выживаемости, был NK- клеточный тип. Результаты анализа представлены в таблице 132. Как видно из таблицы, выраженный уровень CD56 инфильтрации сопровождался

значительным увеличением показателей ОВ больных раком яичников, и несмотря на то, что число анализируемых случаев невелико, наличие различий подтверждается по всем трем критериями статистической значимости. Графики выживаемости приведены на рисунке 73.

**Таблица 132** – Показатели общей выживаемости больных раком яичников в зависимости от CD56- инфильтрации опухоли

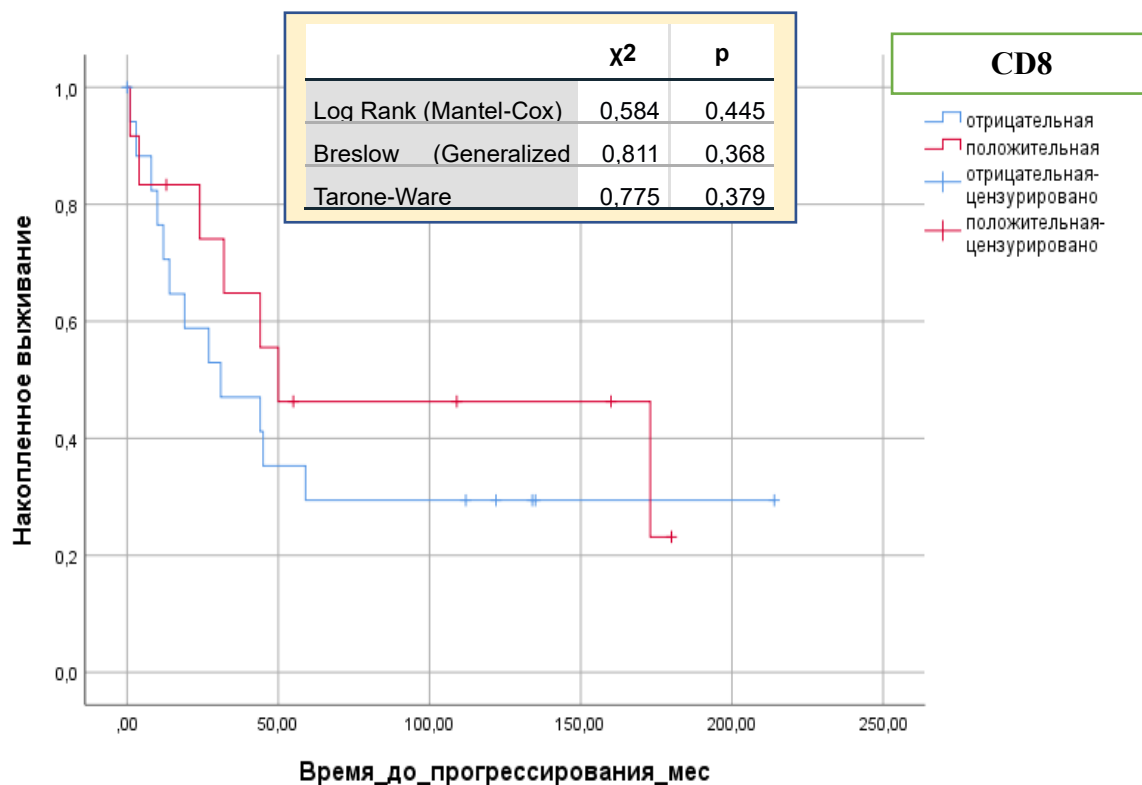
| Тип иммунной реакции           | ОВ, М ± m       |               |               | Кол-во больных |      |
|--------------------------------|-----------------|---------------|---------------|----------------|------|
|                                | 3-летняя        | 5-летняя      | Средняя       | n              | %    |
| CD56 «-» (группа 0)            | 42,9 ± 18,7%    | 14,3 ± 13,2%  | 145,3 ± 20,0% | 7              | 31,2 |
|                                | Медиана – 32,0  |               |               |                |      |
| CD56 «+» (группа 1)            | 85,7 ± 9,4%     | 61,4 ± 13,7 % | 63,4 ± 21,0%  | 15             | 68,1 |
|                                | Медиана – 173,0 |               |               |                |      |
|                                | $\chi^2$        |               |               | p              |      |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                 |               | 4,074         | 0,044          |      |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                 |               | 4,939         | 0,026          |      |
| Tarone-Ware                    |                 |               | 4,881         | 0,027          |      |



**Рисунок 73** – Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от CD56 инфильтрации опухоли

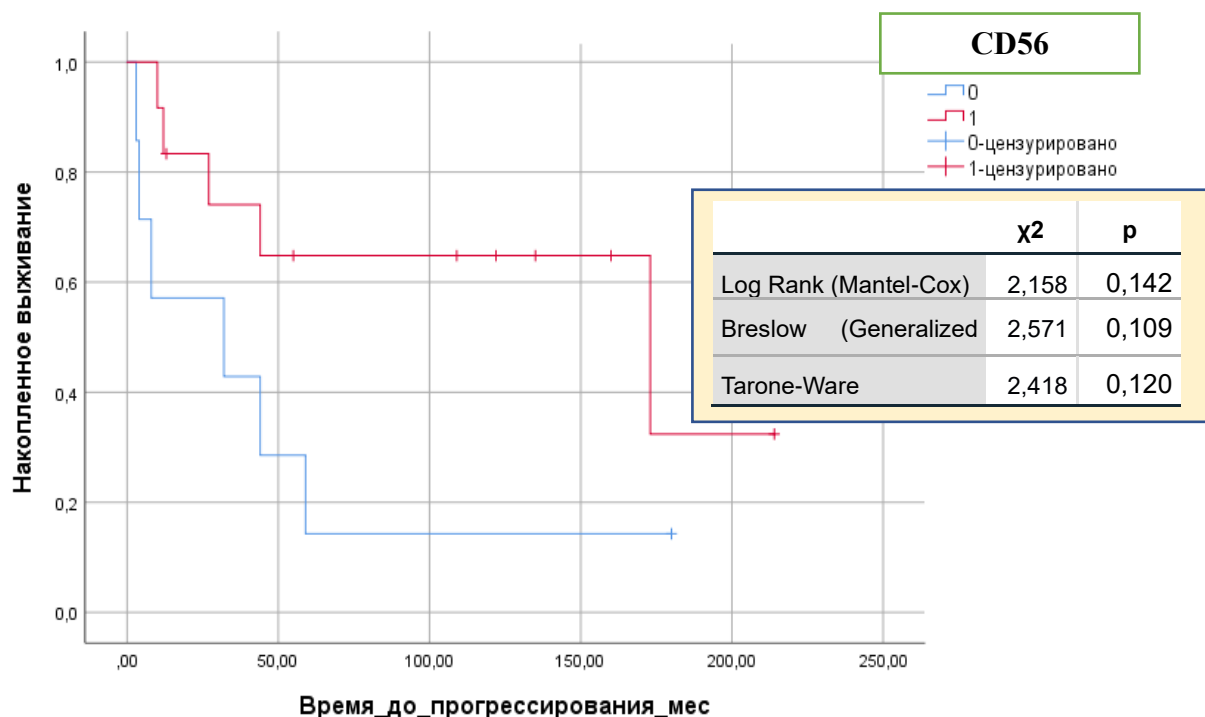
Мы не наблюдали различий в показателях ВВП при серозном раке яичников в зависимости от выраженности CD45-, Т- клеточных реакций. Показатели ВВП были

сопоставимы. Анализ в зависимости от CD8<sup>+</sup>- клеточных реакций не выявил достоверных различий (Рисунок 74). При этом следует обратить внимание, что при CD8<sup>+</sup> инфильтрации прослеживается небольшое преимущество в выживаемости: средние значения ВБП составили  $79,1 \pm 21,4\%$  (медиана = 31,0, n = 18) и  $96,0 \pm 22,7\%$  (медиана = 50,0, n = 12). По-видимому, принимая во внимание литературные данные, можно предположить, что выраженность CD8-интратуморальных реакций связана с непосредственными результатами лечения, но не с отдаленными результатами, в частности ВБП.



**Рисунок 74** – Выживаемость без прогрессирования больных раком яичников в зависимости от CD8<sup>+</sup> инфильтрации опухоли

Результаты ВБП в отношении НК- клеточных реакций серозного рака яичников представлены на рисунке 75, в таблице 133. Достоверность по Log Rank (Mantel-Cox) тесту составила 0,070, по Breslow (Generalized Wilcoxon) – 0,044, по Tarone-Ware – 0,048.

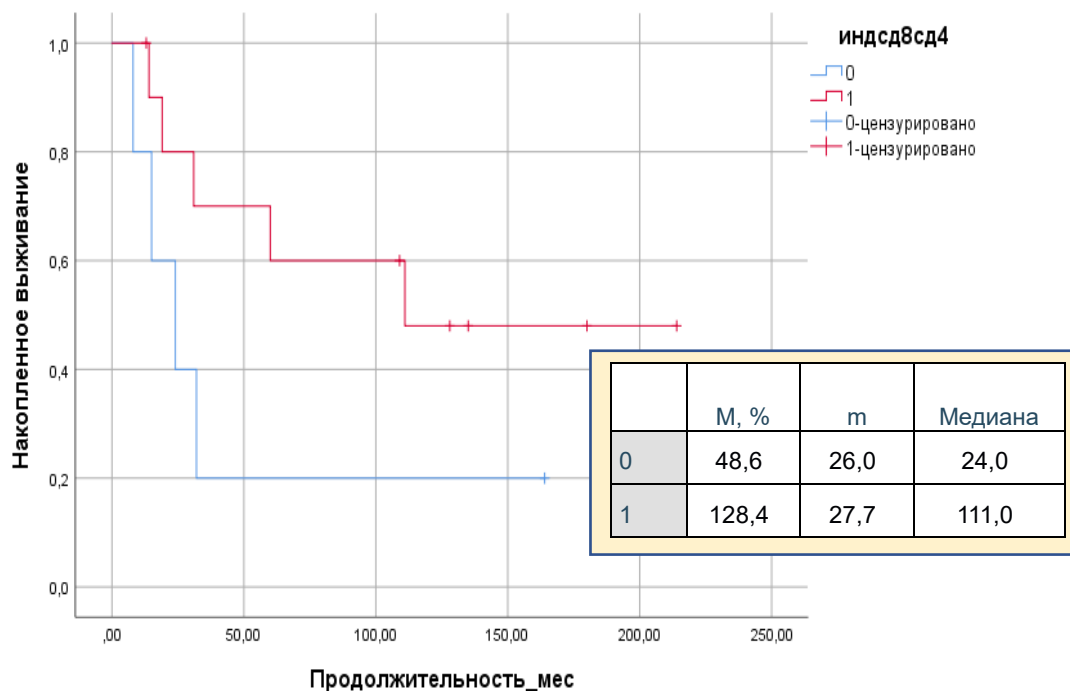


**Рисунок 75** – Выживаемость без прогрессирования больных серозным раком яичников в зависимости от CD56+ инфильтрации опухоли

**Таблица 133** – Показатели выживаемости без прогрессирования больных серозным раком яичников в зависимости от CD56 инфильтрации опухоли

| Тип иммунной реакции           | ОВ, М ± m       |               |                | Кол-во больных |    |
|--------------------------------|-----------------|---------------|----------------|----------------|----|
|                                | 3-летняя        | 5-летняя      | Средняя        | n              | %  |
| CD56 «-» (группа 0)            | 42,9 ± 18,7%    | 14,3 ± 13,2%  | 47,1 ± 21,0% % | 7              | 35 |
|                                | Медиана – 31,0  |               |                |                |    |
| CD56 «+» (группа 1)            | 85,7 ± 9,4%     | 61,4 ± 13,7 % | 133,8 ± 25,9%  | 13             | 65 |
|                                | Медиана – 173,0 |               |                |                |    |
|                                | $\chi^2$        |               |                | p              |    |
| Log Rank (Mantel-Cox)          |                 |               | 3,286          | 0,070          |    |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) |                 |               | 4,072          | 0,044          |    |
| Tarone-Ware                    |                 |               | 3,900          | 0,048          |    |

По данным проточной цитометрии мы также выполнили сравнение показателей ОВ и ВБП. Одной из близких к достоверности оказалась связь ОВ и соотношения CD8/CD4, n = 16 (Рисунок 76).



**Рисунок 76** – Показатели общей выживаемости больных серозным раком яичников в зависимости от CD8/CD4

Резюмируя данный раздел работы, напомним, что оценка инфильтрации опухоли проведена была двумя методами: иммуногистохимическим на криостатных срезах и проточно-цитометрическим. Изучение на криостатных срезах позволяет оценить как паренхиматозную, так и стромальную инфильтрацию опухоли. Изучая клиническую роль интратуморальных иммунных реакций, мы установили, что только CD8<sup>+</sup> паренхиматозная инфильтрация рака яичников была связана с непосредственными результатами лечения: частота умеренного/выраженного характера CD8<sup>+</sup> Т-клеточных реакций паренхимы в группе без прогрессирования составила 80,0% против 20,0%, различия достоверны. Как мы видим, это обстоятельство может рассматриваться как преимущество иммуногистохимического метода. Возможность отдельной оценки стромы и паренхимы опухоли утрачивается при использовании проточно-цитометрического анализа, при котором происходит гомогенизация опухоли, и поэтому анализ оказывается менее информативным.

Далее, важно обратить внимание на тот факт, что в паренхиме повышенный уровень CD8 цитотоксических реакций наблюдался при низкой частоте CD3<sup>+</sup> клеточных реакций и выраженных CD56<sup>+</sup>, что мы наблюдали при анализе непосредственных результатов лечения. Это дало нам основание предположить, что положительный эффект коррелирует с НК-клетками. Подтверждение этому мы обнаружили при анализе выживаемости. Итак, при раке яичников связь установлена не с общелейкоцитарным уровнем интратуморальных реакций, а с пропорцией отдельных популяций эффекторных клеток. В целом, ни интратуморальные CD45<sup>+</sup>

реакции, также как и Т-клеточные реакции не имели связи с показателями ОБ и ВПБ. в отношении НК-клеточных реакций мы получили иные данные, связь с ОБ, причем это прослеживалось на довольно длительном отрезке времени, начиная с 3-летнего срока наблюдения. Более того, это так же наблюдалось в отношении с ВВП. Таким образом, НК-клеточные интрамуральные реакции заслуживают дальнейшего всестороннего изучения при раке яичников.

#### 4.5 Характеристика и взаимосвязь миелокариоцитов с клинико-морфологическими характеристиками рака яичников

Первым этапом выполнена оценка средних значений показателей миелограмм в целом по группе и сопоставление их с нормой. Данные представлены в таблице 134. Среднее количество миелокариоцитов составило 65,0%, что оказалось выше нормы ( $58,5 \pm 8,9$  тыс\мкл). В 33,8% (n = 26) нами отмечено снижение клеточности костного мозга. В остальных случаях (62,3%, n = 48) число миелокариоцитов находилось в пределах нормы или было повышено (3,9%, n = 3).

**Таблица 134** – Средние значения показателей миелограмм при раке яичников

| Показатель                           | N  | Среднее | Ст. ошибка | Ст. отклонение |
|--------------------------------------|----|---------|------------|----------------|
| Миелокариоциты, тыс\мкл              | 63 | 65,079  | 7,3435     | 58,2871        |
| Промиелоциты, %                      | 77 | ,543    | ,0512      | ,4494          |
| Нейтрофильные миелоциты, %           | 78 | 7,967   | ,3403      | 3,0057         |
| Нейтрофильные метамиелоциты, %       | 78 | 6,969   | ,3777      | 3,3355         |
| Палочкоядерные нейтрофилы, %         | 78 | 18,246  | ,6515      | 5,7535         |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %        | 78 | 24,831  | 1,1613     | 10,2560        |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка | 78 | 60,532  | 1,1362     | 10,0349        |
| Индекс созревания нейтрофилов, %     | 78 | ,399    | ,0251      | ,2214          |
| Моноциты, %                          | 78 | 3,118   | ,1794      | 1,5842         |
| Лимфоциты, %                         | 78 | 13,474  | ,6285      | 5,5511         |
| Плазматические клетки, %             | 77 | 1,0831  | ,13988     | 1,22747        |

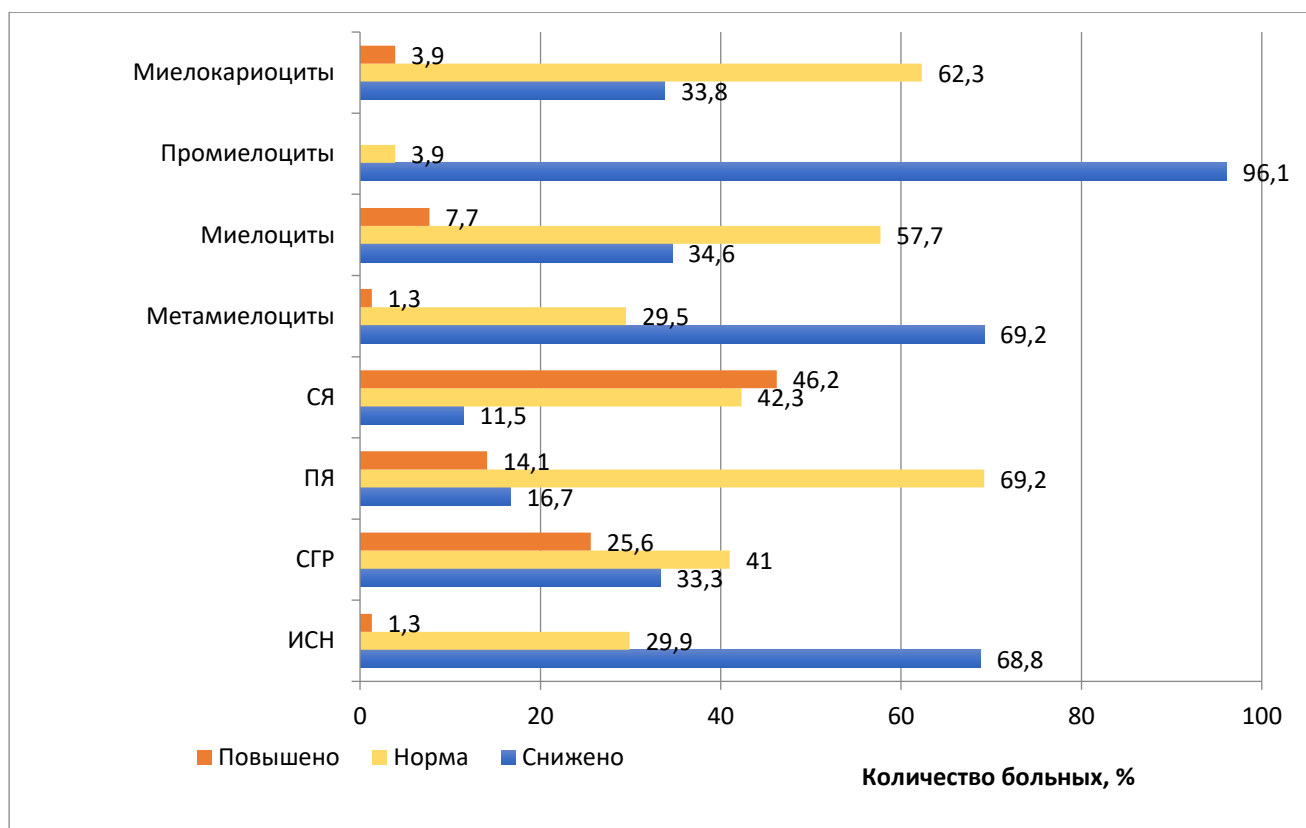


|                                     |    |        |        |         |
|-------------------------------------|----|--------|--------|---------|
| Базофильные нормобласты, %          | 79 | 1,233  | ,1063  | ,9449   |
| Полихроматофильные нормобласты, %   | 79 | 9,481  | ,6072  | 5,3966  |
| Оксифильные нормобласты, %          | 79 | 9,273  | ,6037  | 5,3658  |
| Сумма клеток эритроидного ростка    | 79 | 20,073 | 1,1600 | 10,3100 |
| Индекс созревания эритроцитов       | 79 | ,7791  | ,03953 | ,35134  |
| Лейкоэритробластическое соотношение | 79 | 4,343  | ,2894  | 2,5719  |

Обращало внимание снижение в костном мозге количества миелоидных предшественников: промиелоцитов – 0,5% (при норме 2,5%), миелоцитов – 7,9% (при норме 9,6%), метамиелоцитов – 6,9% (при норме 11,5%) (Рисунок 77). Сниженное число промиелоцитов отмечено в 96,1 % случаев (n = 74), миелоцитов – в 34,6% (n = 27), метамиелоцитов – в 69,2% (n = 54) образцов.

Содержание зрелых форм гранулоцитарного ростка были следующим: палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы составили 18,2% (при норме 18,2%) и 24,8% (при норме 18,6%), соответственно. В большинстве случаев содержание палочкоядерных нейтрофилов было нормальным, что отмечено в 69,2% (n = 54), тогда как в 16,7% (n = 13) образцов – сниженным, а повышенным только в 14,1% (n = 11) случаев (Рисунок 77). Количество сегментоядерных нейтрофилов примерно в равном числе случаев было в норме (56,7%, n = 55) или повышено (42,3%, n = 41). Сниженный уровень мы отметили в 11,5% (n = 9) образцов.

Сумма клеток гранулоцитарного ростка в 41,0% (n=32) случаях была в пределах нормы, в 25,6% (n = 20) наблюдений отмечено ее увеличение, в 33,3% (n = 26) – снижение. Индекс созревания нейтрофилов в 29,9 % (n = 23) наблюдений был в норме, а в 68,8% (n = 53) – снижен.

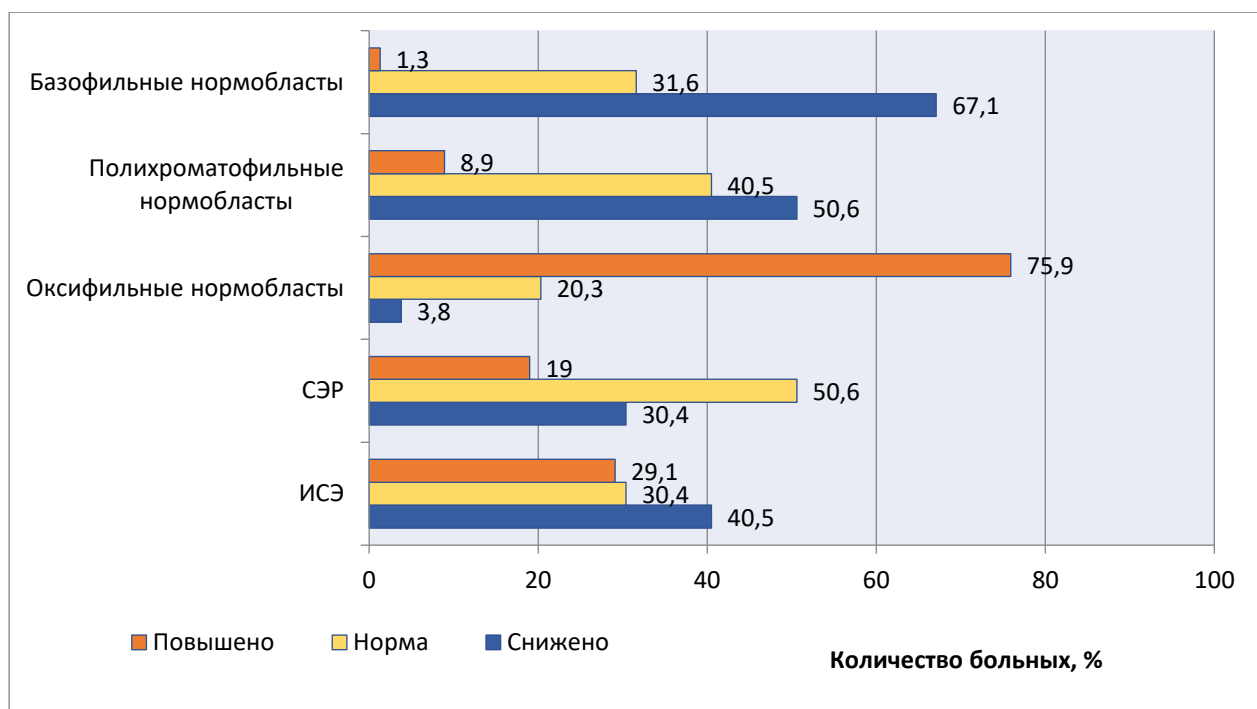


СЯ – ,сегментоядерные нейтрофилы, ПЯ – палочкоядерные нейтрофилы , СГР – сумма клеток гранулоцитарного роста, ИСН – индекс созревания нейтрофилов

**Рисунок 77** – Показатели гранулоцитарного роста при раке яичников

При анализе эритроидного роста в целом по группе получены следующие данные. Количество базофильных и полихроматофильных нормобластов оказались сниженным, составив, соответственно, 1,2% (при норме 3,0%) и 9,4% (при норме 12,9%) (Рисунок 78). Сниженный уровень базофильных нормобластов наблюдался в более чем в половине случаев (67,1%, n = 53), а полихроматофильных – в 50,6% наблюдений (n = 40). В 31,6% (n = 25) образцов уровень базофильных нормобластов находился в пределах нормы. Содержание полихроматофильных было в норме в 40,5% (n= 32) случаев, а ее превышение отмечено в 8,9% (n= 7) образцов.

Уровень оксифильных нормобластов был повышен и составил в среднем 9,2% при норме 3,2%. Повышение их числа мы наблюдали в 75,9% (n = 60) образцов костного мозга. Сумма всех клеток эритроидного роста в 50,6% (n = 40) случаев не выходила за пределы нормы, а в 30,4% (n = 24) наблюдений оказалась сниженной. Среднее значение соответствовало норме (20,5%). Индекс созревания эритроцитов в среднем был понижен (0,7 при норме 0,8), что отмечено в 40,5% (n = 32) образцов.



СЭР – сумма клеток эритроидного роста, ИСЭ – индекс созревания эритроцитов

**Рисунок 78** – Показатели эритроидного роста при раке яичников

Лейкоэритробластическое соотношение почти в равном количестве случаев было либо нормальным (44,9%, n = 35), либо повышенным (38,5%, n = 30) и составило в среднем 4,3.

Моноциты в среднем по группе были повышены и составили 3,1% (при норме 1,9%). Их повышение отмечено в 42,3% (n = 33) случаев, тогда как в 53,8% (n = 42) содержание моноцитов было в норме. Уровень лимфоцитов в половине образцов был в пределах нормы (51,3%, n = 40), и в среднем составил 11,4% (при норме 9,0%). Повышенные уровни лимфоцитов зарегистрированы в 46,2% (n = 36) образцов костного мозга, а в 2 случаях их уровень был снижен. Содержание плазматических клеток в большинстве образцов было нормальным, что отмечено в 82,1% (n = 64). Повышенные уровни наблюдались в 10,3% (n = 8).

Таким образом, в целом по группе отмечено, что в большинстве случаев имелось снижение уровня промиелоцитов, а в 2/3 случаев метамиелоцитов, средние значения зрелых форм гранулоцитарного роста незначительно превышали норму. Мы наблюдали изменение пропорции эритроидных предшественников. Количество базофильных и полихроматофильных нормобластов оказались снижено (более половины случаев), тогда как число оксифильных форм превышало норму втрое. Уровни моноцитов превышали норму, что отмечено в половине образцов. Содержание лимфоцитов в среднем незначительно превышало норму, уровень плазмоцитов был нормальным.

Следующим этапом стало сравнение средних значений показателей миелограмм при

первичном и рецидивном раке яичников (t-критерий для независимых выборок). Результаты представлены в таблице 135.

**Таблица 135 – Показатели миелограмм при первичном и рецидивном раке яичников**

| Показатель                              | Вид рака яичников | n  | M      | Станд. отклонение | m       | P      |
|---|-------------------|----|--------|-------------------|---------|--------|
| Миелокариоциты, тыс\мкл                 | Первичный         | 40 | 56,600 | 49,6567           | 7,8514  | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 22 | 82,091 | 70,3729           | 15,0036 |        |
| Промиелоциты, %                         | Первичный         | 49 | ,518   | ,4471             | ,0639   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | ,593   | ,4657             | ,0896   |        |
| Нейтрофильные миелоциты, %              | Первичный         | 50 | 7,664  | 2,8763            | ,4068   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 8,556  | 3,2564            | ,6267   |        |
| Нейтрофильные метамиелоциты, %          | Первичный         | 50 | 6,680  | 2,7057            | ,3826   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 7,511  | 4,3225            | ,8319   |        |
| Палочкоядерные нейтрофилы, %            | Первичный         | 50 | 18,260 | 5,4935            | ,7769   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 18,578 | 6,1209            | 1,1780  |        |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %           | Первичный         | 50 | 26,356 | 10,2632           | 1,4514  | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 21,407 | 9,2898            | 1,7878  |        |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка, % | Первичный         | 50 | 61,822 | 8,8985            | 1,2584  | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 57,948 | 11,7386           | 2,2591  |        |
| Индекс созревания нейтрофилов           | Первичный         | 50 | ,370   | ,1741             | ,0246   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | ,457   | ,2874             | ,0553   |        |
| Моноциты, %                             | Первичный         | 50 | 3,008  | 1,5486            | ,2190   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 3,311  | 1,6874            | ,3247   |        |
| Лимфоциты, %                            | Первичный         | 50 | 13,156 | 5,6222            | ,7951   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 14,081 | 5,5769            | 1,0733  |        |
| Плазматические клетки, %                | Первичный         | 50 | 1,0800 | ,91518            | ,12943  | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 26 | 1,1231 | 1,70465           | ,33431  |        |
| Базофильные нормобласты, %              | Первичный         | 51 | 1,220  | ,9743             | ,1364   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 1,267  | ,9215             | ,1773   |        |
| Полихроматофильные нормобласты, %       | Первичный         | 51 | 9,365  | 5,4186            | ,7588   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 9,770  | 5,5369            | 1,0656  |        |
| Оксифильные нормобласты, %              | Первичный         | 51 | 8,945  | 4,5540            | ,6377   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 9,919  | 6,7699            | 1,3029  |        |
| Сумма клеток эритроидного ростка, %     | Первичный         | 51 | 19,663 | 9,4626            | 1,3250  | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 20,956 | 12,0515           | 2,3193  |        |
| Индекс созревания эритроцитов           | Первичный         | 51 | ,7706  | ,23689            | ,03317  | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | ,7907  | ,51142            | ,09842  |        |
| Лейкоэритробластическое соотношение     | Первичный         | 51 | 4,584  | 2,8714            | ,4021   | > 0,05 |
|   | Рецидивный        | 27 | 3,870  | 1,9064            | ,3669   |        |

Как видно из таблицы, достоверных различий в уровнях содержания клеток гранулоцитарного ростка, эритроидного ростка, лимфоцитов, моноцитов, плазматических клеток не наблюдалось. Поэтому дальнейший анализ нами выполнялся в пределах всей выборки.

Следующим шагом стало сравнение морфологически выявляемых клеточных типов костного мозга со стадией опухоли, а также степенью ее злокачественности, характером строения опухоли, наличием метастатического поражения большого сальника.

При анализе взаимосвязи показателей миелограмм со стадией опухоли обращало внимание, что при I стадии уровни миелоидных предшественников (промиелоцитов и миелоцитов) повышены в сравнении со II,  $p = 0,005$  и  $p = 0,132$ . Данные представлены в таблице 136. Кроме того, выше при первой стадии оказалась клеточность костного мозга: 116,1 тыс\мкл против 43,1 тыс\мкл, однако различия были маргинальной значимости,  $p = 0,10$ . Индекс созревания нейтрофилов был также повышен,  $p = 0,032$ . Несколько выше был уровень оксифильных нормобластов при I стадии, но недостоверно.

**Таблица 136** – Взаимосвязь показателей миелограмм с I и II стадиями рака яичников

| Показатель                           | Стадия | n | М       | Станд.<br>отклонение | m       | P      |
|--------------------------------------|--------|---|---------|----------------------|---------|--------|
|                                      |        |   |         |                      |         |        |
| Миелокарициты, тыс\мкл               | 1,00   | 8 | 116,125 | 78,7699              | 27,8494 | 0,1    |
|                                      | 2,00   | 4 | 43,125  | 30,4586              | 15,2293 |        |
| Промиелоциты, %                      | 1,00   | 9 | ,756    | ,6146                | ,2049   | > 0,05 |
|                                      | 2,00   | 4 | ,350    | ,1915                | ,0957   |        |
| Нейтрофильные миелоциты, %           | 1,00   | 9 | 9,156   | 1,4380               | ,4793   | 0,005  |
|                                      | 2,00   | 4 | 5,800   | 1,9732               | ,9866   |        |
| Нейтрофильные метамиелоциты, %       | 1,00   | 9 | 8,511   | 1,9419               | ,6473   | 0,1    |
|                                      | 2,00   | 4 | 6,500   | 2,3352               | 1,1676  |        |
| Палочкоядерные нейтрофилы, %         | 1,00   | 9 | 20,333  | 6,4622               | 2,1541  | > 0,05 |
|                                      | 2,00   | 4 | 20,750  | 6,9328               | 3,4664  |        |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %        | 1,00   | 9 | 20,733  | 5,2221               | 1,7407  | > 0,05 |
|                                      | 2,00   | 4 | 26,000  | 12,6396              | 6,3198  |        |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка | 1,00   | 9 | 61,711  | 8,6343               | 2,8781  | > 0,05 |
|                                      | 2,00   | 4 | 53,100  | 18,1824              | 9,0912  |        |
| Индекс созревания нейтрофилов, %     | 1,00   | 9 | ,433    | ,1118                | ,0373   | 0,032  |
|                                      | 2,00   | 4 | ,275    | ,0957                | ,0479   |        |
| Моноциты, %                          | 1,00   | 9 | 3,111   | 1,1879               | ,3960   | > 0,05 |
|                                      | 2,00   | 4 | 2,700   | 1,3115               | ,6557   |        |

|                                     |      |   |        |         |         |        |
|-------------------------------------|------|---|--------|---------|---------|--------|
| Лимфоциты, %                        | 1,00 | 9 | 11,444 | 3,7733  | 1,2578  | > 0,05 |
|                                     | 2,00 | 4 | 13,050 | 4,0344  | 2,0172  |        |
| Плазматические клетки, %            | 1,00 | 9 | ,9333  | ,67823  | ,22608  | > 0,05 |
|                                     | 2,00 | 4 | 2,9000 | 4,13280 | 2,06640 |        |
| Базофильные нормобласты, %          | 1,00 | 9 | ,800   | ,3606   | ,1202   | > 0,05 |
|                                     | 2,00 | 4 | ,800   | ,7118   | ,3559   |        |
| Полихроматофильные нормобласты, %   | 1,00 | 9 | 10,333 | 4,2521  | 1,4174  | > 0,05 |
|                                     | 2,00 | 4 | 10,300 | 7,7451  | 3,8726  |        |
| Оксифильные нормобласты, %          | 1,00 | 9 | 10,533 | 3,2894  | 1,0965  | > 0,05 |
|                                     | 2,00 | 4 | 7,200  | 4,9396  | 2,4698  |        |
| Сумма клеток эритроидного ростка    | 1,00 | 9 | 21,667 | 6,5939  | 2,1980  | > 0,05 |
|                                     | 2,00 | 4 | 18,300 | 12,8276 | 6,4138  |        |
| Индекс созревания эритроцитов       | 1,00 | 9 | ,6556  | ,28771  | ,09590  | > 0,05 |
|                                     | 2,00 | 4 | ,7000  | ,25820  | ,12910  |        |
| Лейкоэритробластическое соотношение | 1,00 | 9 | 3,611  | 1,6617  | ,5539   | > 0,05 |
|                                     | 2,00 | 4 | 4,850  | 2,6514  | 1,3257  |        |

При сравнении показателей миелограмм при I и III стадии установлено, что клеточность костного мозга достоверно ниже при III стадии рака яичников, 59,7 тыс\мкл против 116,1 тыс\мкл,  $p = 0,027$ . Также отмечено более низкое содержание метамиелоцитов 6,3% против 8,5%,  $p = 0,031$ .

Дальнейший анализ показал, что аналогичные различия имели место при сравнении I и IV стадии (Таблица 137).

**Таблица 137 – Взаимосвязь показателей миелограмм с I и IV стадиями рака яичников**

| Показатель                     | Стадия | n  | M       | Станд. отклонение | m       | P      |
|--------------------------------|--------|----|---------|-------------------|---------|--------|
|                                |        |    |         |                   |         |        |
| Миелокарициты, тыс\мкл         | I      | 8  | 116,125 | 78,7699           | 27,8494 | 0,018  |
|                                | IV     | 14 | 55,286  | 31,6481           | 8,4583  |        |
| Промиелоциты, %                | I      | 9  | ,756    | ,6146             | ,2049   | > 0,05 |
|                                | IV     | 16 | ,600    | ,4619             | ,1155   |        |
| Нейтрофильные миелоциты, %     | I      | 9  | 9,156   | 1,4380            | ,4793   | > 0,05 |
|                                | IV     | 16 | 8,100   | 2,6005            | ,6501   |        |
| Нейтрофильные метамиелоциты, % | I      | 9  | 8,511   | 1,9419            | ,6473   | 0,05   |
|                                | IV     | 16 | 6,650   | 2,2949            | ,5737   |        |

|                                      |    |    |        |        |        |        |
|--------------------------------------|----|----|--------|--------|--------|--------|
| Палочкоядерные нейтрофилы, %         | I  | 9  | 20,333 | 6,4622 | 2,1541 | 0,032  |
|                                      | IV | 16 | 15,500 | 4,1338 | 1,0334 |        |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %        | I  | 9  | 20,733 | 5,2221 | 1,7407 | > 0,05 |
|                                      | IV | 16 | 25,700 | 8,2018 | 2,0504 |        |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка | I  | 9  | 61,711 | 8,6343 | 2,8781 | > 0,05 |
|                                      | IV | 16 | 59,088 | 5,5699 | 1,3925 |        |
| Индекс созревания нейтрофилов, %     | I  | 9  | ,433   | ,1118  | ,0373  | > 0,05 |
|                                      | IV | 16 | ,395   | ,1536  | ,0384  |        |
| Моноциты, %                          | I  | 9  | 3,111  | 1,1879 | ,3960  | > 0,05 |
|                                      | IV | 16 | 3,125  | 1,1682 | ,2920  |        |
| Лимфоциты, %                         | I  | 9  | 11,444 | 3,7733 | 1,2578 | 0,07   |
|                                      | IV | 16 | 15,038 | 5,1044 | 1,2761 |        |
| Плазматические клетки, %             | I  | 9  | ,9333  | ,67823 | ,22608 | > 0,05 |
|                                      | IV | 16 | 1,1750 | ,86679 | ,21670 |        |
| Базофильные нормобласты, %           | I  | 9  | ,800   | ,3606  | ,1202  | 0,04   |
|                                      | IV | 16 | 1,438  | ,8302  | ,2075  |        |
| Полихроматофильные нормобласты, %    | I  | 9  | 10,333 | 4,2521 | 1,4174 | > 0,05 |
|                                      | IV | 16 | 9,700  | 4,4344 | 1,1086 |        |
| Оксифильные нормобласты, %           | I  | 9  | 10,533 | 3,2894 | 1,0965 | > 0,05 |
|                                      | IV | 16 | 9,288  | 3,3418 | ,8355  |        |
| Сумма клеток эритроидного ростка     | I  | 9  | 21,667 | 6,5939 | 2,1980 | > 0,05 |
|                                      | IV | 16 | 20,425 | 7,2151 | 1,8038 |        |
| Индекс созревания эритроцитов        | I  | 9  | ,6556  | ,28771 | ,09590 | > 0,05 |
|                                      | IV | 16 | ,7688  | ,22721 | ,05680 |        |
| Лейкоэритробластическое соотношение  | I  | 9  | 3,611  | 1,6617 | ,5539  | > 0,05 |
|                                      | IV | 16 | 3,863  | 1,8875 | ,4719  |        |

Они касались клеточности костного мозга (116,1 тыс\мкл против 55,2 тыс\мкл,  $p = 0,018$ ), уровня метамиелоцитов ( $p = 0,05$ ), палочкоядерных нейтрофилов ( $p = 0,032$ ): их средние значения были больше при начальной стадии рака яичников. А вот уровни базофильных нормобластов оказались повышены при IV стадии,  $p = 0,04$ . Кроме того, мы также отметили несколько повышенное содержание лимфоцитов,  $p = 0,07$ .

Мы решили объединить I и II стадии и провести сравнение показателей миелограмм с таковыми при IV стадии (Таблица 138). Мы отметили, что клеточность костного мозга при начальных стадиях выше ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ), больше содержание палочкоядерных нейтрофилов,  $p = 0,017$ . Но различий в содержании молодых форм гранулоцитарного ростка мы не выявили. Интересно, что различия в количестве миелоцитов мы наблюдали только между I и II стадиями.

Таблица 138 – Взаимосвязь показателей миелограмм с I-II и IV стадиями рака яичников

| Показатель                              | Стадия | n  | M      | Станд.<br>отклонение | m       | P      |
|---|--------|----|--------|----------------------|---------|--------|
|   |        |    |        |                      |         |        |
| Миелокариоциты,<br>тыс\мкл              | I-II   | 12 | 91,792 | 74,1171              | 21,3958 | 0,10   |
|   | IV     | 14 | 55,286 | 31,6481              | 8,4583  |        |
| Промиелоциты, %                         | I-II   | 13 | ,631   | ,5468                | ,1517   | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | ,600   | ,4619                | ,1155   |        |
| Нейтрофильные<br>миелоциты, %           | I-II   | 13 | 8,123  | 2,2249               | ,6171   | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | 8,100  | 2,6005               | ,6501   |        |
| Нейтрофильные<br>метамиелоциты, %       | I-II   | 13 | 7,892  | 2,1933               | ,6083   | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | 6,650  | 2,2949               | ,5737   |        |
| Палочкоядерные<br>нейтрофилы, %         | I-II   | 13 | 20,462 | 6,3163               | 1,7518  | 0,017  |
|   | IV     | 16 | 15,500 | 4,1338               | 1,0334  |        |
| Сегментоядерные<br>Нейтрофилы, %        | I-II   | 13 | 22,354 | 8,0325               | 2,2278  | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | 25,700 | 8,2018               | 2,0504  |        |
| Сумма клеток<br>гранулоцитарного ростка | I-II   | 13 | 59,062 | 12,2255              | 3,3907  | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | 59,088 | 5,5699               | 1,3925  |        |
| Индекс созревания<br>нейтрофилов, %     | I-II   | 13 | ,385   | ,1281                | ,0355   | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | ,395   | ,1536                | ,0384   |        |
| Моноциты, %                             | I-II   | 13 | 2,985  | 1,1873               | ,3293   | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | 3,125  | 1,1682               | ,2920   |        |
| Лимфоциты, %                            | I-II   | 13 | 11,938 | 3,7624               | 1,0435  | 0,08   |
|   | IV     | 16 | 15,038 | 5,1044               | 1,2761  |        |
| Плазматические клетки,<br>%             | I-II   | 13 | 1,5385 | 2,33864              | ,64862  | 0,08   |
|   | IV     | 16 | 1,1750 | ,86679               | ,21670  |        |
| Базофильные<br>нормобласты, %           | I-II   | 13 | ,800   | ,4619                | ,1281   | 0,02   |
|   | IV     | 16 | 1,438  | ,8302                | ,2075   |        |
| Полихроматофильные<br>нормобласты, %    | I-II   | 13 | 10,323 | 5,2010               | 1,4425  | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | 9,700  | 4,4344               | 1,1086  |        |
| Оксифильные<br>нормобласты, %           | I-II   | 13 | 9,508  | 3,9847               | 1,1051  | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | 9,288  | 3,3418               | ,8355   |        |
| Сумма клеток<br>эритроидного ростка     | I-II   | 13 | 20,631 | 8,5287               | 2,3654  | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | 20,425 | 7,2151               | 1,8038  |        |
| Индекс созревания<br>эритроцитов        | I-II   | 13 | ,6692  | ,26890               | ,07458  | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | ,7688  | ,22721               | ,05680  |        |
| Лейкоэритробластическое<br>соотношение  | I-II   | 13 | 3,992  | 1,9881               | ,5514   | > 0,05 |
|   | IV     | 16 | 3,863  | 1,8875               | ,4719   |        |



В рамках данного анализа сохранялись различия маргинальной значимости по содержанию лимфоцитов ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ), базофильных нормобластов ( $p = 0,02$ ). По-видимому, подобные изменения ассоциированы с распространенностью опухоли.

Показатели гранулоцитарного роста более связаны с начальными стадиями, при которых мы наблюдали достоверные различия в содержании миелоцитов.

Дополнительно мы провели анализ по таблицам сопряженности признаков. Сниженные уровни метамиелоцитов отмечены преимущественно на III и IV стадиях опухоли, тогда как на ранних стадиях их содержание достоверно чаще было в пределах нормы,  $p = 0,032$  (Таблица 139).

**Таблица 139** – Взаимосвязь метамиелоцитов со стадией рака яичников

| Стадия |   | Метамиелоциты, $p = 0,032$ |       |        |
|--------|---|----------------------------|-------|--------|
|        |   | Снижены                    | Норма | Всего  |
| I-II   | n | 5                          | 8     | 13     |
|        | % | 38,5%                      | 61,5% | 100,0% |
| III    | n | 37                         | 11    | 48     |
|        | % | 77,1%                      | 22,9% | 100,0% |
| IV     | n | 12                         | 4     | 16     |
|        | % | 75,0%                      | 25,0% | 100,0% |

Итак, необходимо подчеркнуть, что уже при второй стадии снижается клеточность костного мозга, и эта тенденция в дальнейшем сохраняется. Снижение содержания молодых форм миелоидного роста, а именно, миелоцитов и метамиелоцитов, также отмечается уже при II стадии. Таким образом, с увеличением распространенности опухоли изменяются показатели кроветворения, которые мы наблюдаем на примере гранулоцитарного роста, что наиболее отчетливо становится видно при сравнении I и III стадии. При IV мы наблюдаем дополнительно изменения пропорции клеток эритроидного роста, в частности, увеличение доли базофильных нормобластов, при неизменной сумме клеток эритроидного роста.

Анализ в зависимости от морфологической макроструктуры опухоли (кистозная, солидная) не выявил значимых различий.

Степень злокачественности опухоли была взаимосвязана с количеством метамиелоцитов, содержание которых оказалось выше при High grade раке яичников в сравнении с Low grade, 7,0% против 5,1%, различия маргинальной значимости ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). Кроме того, отмечено,

что сумма клеток гранулоцитарного ростка при High grade аденокарциноме больше, 62,6% против 54,7% ( $p = 0,035$ ). Результаты представлены в таблице 140.

**Таблица 140** – Взаимосвязь показателей миелограмм со степенью злокачественности рака яичников

| Показатель                           | G    | n  | M      | Станд.<br>отклонение | m       | p      |
|--------------------------------------|------|----|--------|----------------------|---------|--------|
| Миелокариоциты, тыс\мкл              | high | 36 | 60,306 | 47,0616              | 7,8436  | > 0,05 |
|                                      | low  | 6  | 56,167 | 39,7463              | 16,2264 |        |
| Промиелоциты, %                      | high | 46 | ,574   | ,4333                | ,0639   | > 0,05 |
|                                      | low  | 7  | ,571   | ,6047                | ,2286   |        |
| Нейтрофильные миелоциты, %           | high | 47 | 8,145  | 3,0040               | ,4382   | > 0,05 |
|                                      | low  | 7  | 6,571  | 3,5222               | 1,3313  |        |
| Нейтрофильные метамиелоциты, %       | high | 47 | 7,055  | 2,4362               | ,3554   | 0,07   |
|                                      | low  | 7  | 5,171  | 3,0407               | 1,1493  |        |
| Палочкоядерные нейтрофилы, %         | high | 47 | 17,889 | 5,8795               | ,8576   | > 0,05 |
|                                      | low  | 7  | 17,771 | 3,9420               | 1,4899  |        |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %        | high | 47 | 26,766 | 9,4681               | 1,3811  | > 0,05 |
|                                      | low  | 7  | 21,686 | 9,7426               | 3,6824  |        |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка | high | 47 | 62,664 | 8,6749               | 1,2654  | 0,035  |
|                                      | low  | 7  | 54,743 | 11,2953              | 4,2692  |        |
| Индекс созревания нейтрофилов, %     | high | 47 | ,387   | ,1623                | ,0237   | > 0,05 |
|                                      | low  | 7  | ,343   | ,1618                | ,0612   |        |
| Моноциты, %                          | high | 47 | 2,974  | 1,3562               | ,1978   | > 0,05 |
|                                      | low  | 7  | 3,171  | 1,3388               | ,5060   |        |
| Лимфоциты, %                         | high | 47 | 13,051 | 4,5011               | ,6566   | > 0,05 |
|                                      | low  | 7  | 12,229 | 7,2069               | 2,7239  |        |
| Плазматические клетки, %             | high | 46 | 1,0783 | ,89689               | ,13224  | > 0,05 |
|                                      | low  | 7  | 1,3143 | ,95119               | ,35952  |        |
| Базофильные нормобласты, %           | high | 47 | 1,106  | ,7620                | ,1111   | 0,004  |
|                                      | low  | 7  | 2,200  | 1,5663               | ,5920   |        |
| Полихроматофильные нормобласты, %    | high | 47 | 8,966  | 4,7524               | ,6932   | 0,1    |
|                                      | low  | 7  | 12,343 | 8,6546               | 3,2711  |        |
| Оксифильные нормобласты, %           | high | 47 | 8,872  | 4,1428               | ,6043   | 0,05   |
|                                      | low  | 7  | 13,086 | 10,4804              | 3,9612  |        |
| Сумма клеток эритроидного ростка     | high | 47 | 18,855 | 8,6496               | 1,2617  | 0,038  |
|                                      | low  | 7  | 27,657 | 18,1379              | 6,8555  |        |
| Индекс созревания эритроцитов        | high | 47 | 1,0915 | 2,16211              | ,31538  | > 0,05 |
|                                      | low  | 7  | ,6571  | ,26367               | ,09966  |        |
| Лейкоэритробластическое соотношение  | high | 47 | 4,328  | 2,3225               | ,3388   | 0,14   |
|                                      | low  | 7  | 2,957  | 1,7406               | ,6579   |        |

Мы также отмечаем изменение пропорции клеток эритроидного ростка. Достоверно более высокие уровни содержания базофильных ( $p = 0,004$ ) и оксифильных нормобластов ( $p = 0,05$ ), а также повышенное число полихроматофильных нормобластов маргинальной значимости ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ) нами наблюдались при Low grade аденокарциноме яичников. При этой степени злокачественности сумма клеток эритроидного ростка также была больше ( $p = 0,038$ ). Дополнительно, проведя оценку сопряженности признаков, мы установили, что при Low grade аденокарциноме чаще имело место либо нормальное, либо повышенное содержание базофильных нормобластов (Таблица 141). Сниженное их количество отмечалось в 42,9% против 68,1% при Low grade аденокарциноме,  $p = 0,08$ .

**Таблица 141** – Взаимосвязь базофильных нормобластов со степенью злокачественности рака яичников

| Степень злокачественности |   | Базофильные нормобласты     |       |          | Всего  |
|---------------------------|---|-----------------------------|-------|----------|--------|
|                           |   | Снижены                     | Норма | Повышены |        |
| High                      | n | 32                          | 15    | 0        | 47     |
|                           | % | 68,1%                       | 31,9% | 0,0%     | 100,0% |
| Low                       | n | 3                           | 3     | 1        | 7      |
|                           | % | 42,9%                       | 42,9% | 14,3%    | 100,0% |
| Всего                     | n | 35                          | 18    | 1        | 54     |
|                           | % | 64,8%                       | 33,3% | 1,9%     | 100,0% |
|                           |   | $p = 0,084, \chi^2 = 7,531$ |       |          |        |

Далее выполнено сопоставление показателей миелограмм в зависимости от метастатического поражения большого сальника (Таблица 142).

**Таблица 142** – Взаимосвязь показателей миелограмм с метастатическим поражением большого сальника при раке яичников

| Показатель                     | Мтс | n  | M       | Станд.  | m       | p      |
|--------------------------------|-----|----|---------|---------|---------|--------|
| Миелокарициты, тыс\мкл         | да  | 52 | 56,587  | 44,5721 | 6,1810  | 0,011  |
|                                | нет | 11 | 105,227 | 93,7212 | 28,2580 |        |
| Промиелоциты, %                | да  | 64 | ,553    | ,4588   | ,0573   | > 0,05 |
|                                | нет | 13 | ,492    | ,4132   | ,1146   |        |
| Нейтрофильные миелоциты, %     | да  | 65 | 7,886   | 3,0060  | ,3729   | > 0,05 |
|                                | нет | 13 | 8,369   | 3,0928  | ,8578   |        |
| Нейтрофильные метамиелоциты, % | да  | 65 | 6,606   | 2,6575  | ,3296   | > 0,05 |
|                                | нет | 13 | 7,038   | 2,6399  | ,7322   |        |

|                                      |     |    |        |         |        |        |
|--------------------------------------|-----|----|--------|---------|--------|--------|
| Палочкоядерные нейтрофилы, %         | да  | 65 | 17,615 | 5,5567  | ,6892  | 0,029  |
|                                      | нет | 13 | 21,400 | 5,8992  | 1,6361 |        |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %        | да  | 65 | 25,511 | 10,2668 | 1,2734 | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | 21,431 | 9,8866  | 2,7421 |        |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка | да  | 65 | 60,663 | 9,5147  | 1,1802 | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | 59,877 | 12,7584 | 3,5385 |        |
| Индекс созревания нейтрофилов, %     | да  | 65 | ,390   | ,1841   | ,0228  | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | ,446   | ,3620   | ,1004  |        |
| Моноциты, %                          | да  | 65 | 3,145  | 1,6376  | ,2031  | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | 2,985  | 1,3328  | ,3697  |        |
| Лимфоциты, %                         | да  | 65 | 13,877 | 5,7201  | ,7095  | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | 11,462 | 4,2374  | 1,1753 |        |
| Плазматические клетки, %             | да  | 64 | ,9656  | ,84894  | ,10612 | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | 1,6615 | 2,30707 | ,63987 |        |
| Базофильные нормобласты, %           | да  | 66 | 1,300  | ,9673   | ,1191  | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | 1,000  | ,7572   | ,2100  |        |
| Полихроматофильные нормобласты, %    | да  | 66 | 9,403  | 5,4174  | ,6668  | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | 10,077 | 5,2023  | 1,4428 |        |
| Оксифильные нормобласты, %           | да  | 66 | 9,342  | 5,5651  | ,6850  | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | 9,062  | 4,2500  | 1,1787 |        |
| Сумма клеток эритроидного ростка     | да  | 66 | 19,985 | 10,7976 | 1,3291 | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | 20,138 | 8,5535  | 2,3723 |        |
| Индекс созревания эритроцитов        | да  | 66 | 1,0250 | 1,84537 | ,22715 | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | ,6462  | ,24364  | ,06757 |        |
| Лейкоэритробластическое соотношение  | да  | 66 | 4,162  | 2,3540  | ,2898  | > 0,05 |
|                                      | нет | 13 | 4,069  | 1,9792  | ,5489  |        |

Напомним, что полученные при анализе клинических стадий данные свидетельствовали совершенно четко о снижении клеточности костного мозга при III стадии, соответствующем метастатическому поражению брюшины. То есть распространенность опухоли сопровождалась снижением общего числа миелокарицитов. Наши результаты однозначно подтвердил анализ взаимосвязи показателей миелограмм с метастатическим поражением большого сальника. Мы видим, что при локальном метастатическом процессе действительно состояние костного мозга

ухудшается, его клеточность снижается,  $p = 0,01$ . Мы также отметили сниженное содержание палочкоядерных форм нейтрофилов,  $p = 0,029$ .

Резюмируя данный раздел работы, мы можем однозначно утверждать, что развитие и прогрессирование рака яичников сопряжено с перестройкой гемопоэза. Во-первых, нами выявлены изменения его клеточного состава по сравнению с нормой, которые затрагивали и гранулоцитарный, и эритроидный росток. Во-вторых, установлены взаимосвязи с отдельными клинико-морфологическими параметрами опухоли.

Итак, в целом по группе отмечено, что в большинстве случаев в костном мозге больных раком яичников имелось снижение уровня промиелоцитов, а в 2\3 случаев метамиелоцитов, средние значения зрелых форм гранулоцитарного ростка незначительно превышали норму.

Вместе с тем мы наблюдали изменение пропорции эритроидных предшественников. Количество базофильных и полихроматофильных нормобластов оказались снижено (более половины случаев), тогда как число оксифильных форм превышало норму втрое. Уровни моноцитов превышали норму, что отмечено в половине образцов. Содержание лимфоцитов в среднем незначительно превышало норму, уровень плазмоцитов был нормальным.

Снижение содержания молодых форм миелоидного ростка (миелоцитов, метамиелоцитов,) отмечается уже при II стадии рака яичников. Тогда как при IV стадии мы наблюдаем изменения пропорции клеток эритроидного ростка, в частности, увеличение доли базофильных нормобластов, при неизменной сумме клеток эритроидного ростка. По-видимому, подобные изменения ассоциированы с распространенностью опухоли. Возможно, изменения показателей гранулоцитарного ростка более связаны с начальными стадиями, при которых мы наблюдали достоверные различия в содержании миелоцитов. Необходимо еще раз подчеркнуть, что уже при второй стадии снижается клеточность костного мозга, и эта тенденция в дальнейшем сохраняется. Подтверждает данное утверждение анализ взаимосвязи показателей миелограмм с метастатическим поражением большого сальника. Мы видим, что при локальном метастатическом процессе действительно показатели костного мозга ухудшаются, его клеточность снижается ( $p = 0,01$ ), что сопровождается уменьшением содержания зрелых форм гранулоцитов (палочкоядерных нейтрофилов,  $p = 0,029$ ). Таким образом, с увеличением стадии изменяются показатели кроветворения, которые, в первую очередь, мы наблюдаем на примере гранулоцитарного ростка, что наиболее отчетливо становится видно при сравнении I и III стадии.

Степень злокачественности опухоли была связана изменением пропорции юных форм гранулоцитарного ростка. Количество метамиелоцитов оказалось выше при High grade раке яичников в сравнении с Low grade ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). Кроме того, при этом сумма клеток гранулоцитарного ростка также была больше ( $p = 0,035$ ). Наравне с этим мы установили

изменение пропорции клеток эритроидного ростка. Достоверно более высокие уровни содержания базофильных ( $p = 0,004$ ) и оксифильных нормобластов ( $p = 0,05$ ), а также повышенное число полихроматофильных нормобластов ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ) отмечены при Low grade аденокарциноме яичников. При этой степени злокачественности сумма клеток эритроидного ростка также была больше ( $p = 0,038$ ).

#### 4.6 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций костного мозга с клинико-морфологическими характеристиками рака яичников

Нами изучены зрелые CD3+ Т-клетки, цитотоксические CD8+ Т-клетки, хелперные CD4+ лимфоциты, активированные CD3+HLA-DR+ лимфоциты, CD4+CD25+ клетки, TCR гамма\дельта лимфоциты, а также перфорин/гранзим содержащие популяции CD8+, CD4+, CD27+ Т-клеток, CD19+ В-лимфоциты и их субпопуляция CD19+CD5+ (Таблица 143).

**Таблица 143** – Средние уровни костно-мозговых популяций лимфоцитов у больных раком яичников

| Популяции лимфоцитов  | N  | M, %    | m, %    | Ст. отклонение |
|-----------------------|----|---------|---------|----------------|
| CD45+                 | 37 | 9,2119  | ,79235  | 4,81966        |
| CD8+                  | 5  | 40,7400 | 5,27120 | 11,78677       |
| CD3+                  | 37 | 65,7157 | 2,01415 | 12,25162       |
| CD8+CD3+              | 36 | 32,9222 | 1,72246 | 10,33477       |
| CD4+CD3+              | 37 | 31,8668 | 1,36455 | 8,30024        |
| CD19+                 | 32 | 14,0681 | 1,29455 | 7,32306        |
| CD19+CD5+             | 28 | ,9554   | ,17127  | ,90628         |
| CD8+HLA-DR +          | 5  | 3,0720  | 1,74251 | 3,89637        |
| CD3+HLA-DR +          | 26 | 11,9500 | 1,72570 | 8,79937        |
| CD8+CD3+              | 25 | 44,4668 | 1,99186 | 9,95929        |
| CD4+CD3+              | 25 | 45,2880 | 2,20059 | 11,00293       |
| TCR гамма\дельта+CD3+ | 30 | 5,0503  | ,59779  | 3,27422        |
| CD25+CD4+CD3+         | 19 | 9,0511  | 3,09654 | 13,49749       |
| Perforin+CD45+        | 9  | 1,0889  | ,18759  | ,56277         |
| Perforin+CD3+         | 35 | 20,9946 | 1,70223 | 10,07054       |
| Perforin+CD3-         | 17 | 8,0147  | 2,37888 | 9,80839        |
| Perforin+CD8+         | 6  | 10,3383 | 2,41541 | 5,91652        |
| Perforin+CD8-         | 33 | 8,5842  | 1,37865 | 7,91972        |
| Perforin+CD4+         | 27 | 11,3500 | ,91584  | 4,75885        |
| Perforin+CD4-         | 29 | 2,8628  | ,70099  | 3,77493        |
| Perforin+CD27+        | 29 | 17,6610 | 1,88546 | 10,15349       |
| Perforin+CD27-        | 4  | ,7125   | ,19968  | ,39936         |

|                     |    |         |          |          |
|---------------------|----|---------|----------|----------|
| Granzim+CD45+       | 4  | 24,0525 | 10,21624 | 20,43248 |
| Granzim+CD3+        | 27 | 34,6026 | 2,58018  | 13,40703 |
| Granzim+CD3-        | 12 | 24,5750 | 3,51954  | 12,19203 |
| Granzim+CD8+        | 6  | 12,7267 | 4,73383  | 11,59546 |
| Granzim+CD8-        | 20 | 17,4780 | 2,44010  | 10,91245 |
| Granzim+CD4+        | 19 | 17,0379 | 1,12304  | 4,89522  |
| Granzim+CD4-        | 21 | 5,9757  | 1,74189  | 7,98234  |
| Granzim+Perforin+   | 20 | 30,2360 | 3,24647  | 14,51865 |
| Granzim+ Perforin - | 19 | 18,1453 | 2,38433  | 10,39307 |

В целом по группе установлено, что 70,6% случаев характеризовались повышенным содержанием CD3+ клеток (более 60%). CD8+ клетки в 63,6% превышали 30%, а CD4+лимфоциты – в 57,9% наблюдений. Уровень активированных Т-клеток в основном был ниже 10%, что составило 53,3% случаев. Содержание CD19+ В-клеток оказалось выше 10% в целом по группе у 63,6% больных. Далее выполнено сравнение эффекторных лимфоцитарных популяций при первичном и рецидивном раке яичников. Достоверных различий в содержании тех или иных типов эффекторных клеток мы не выявили ни по одной из анализируемых популяций. Результаты анализа представлены в таблице 144.

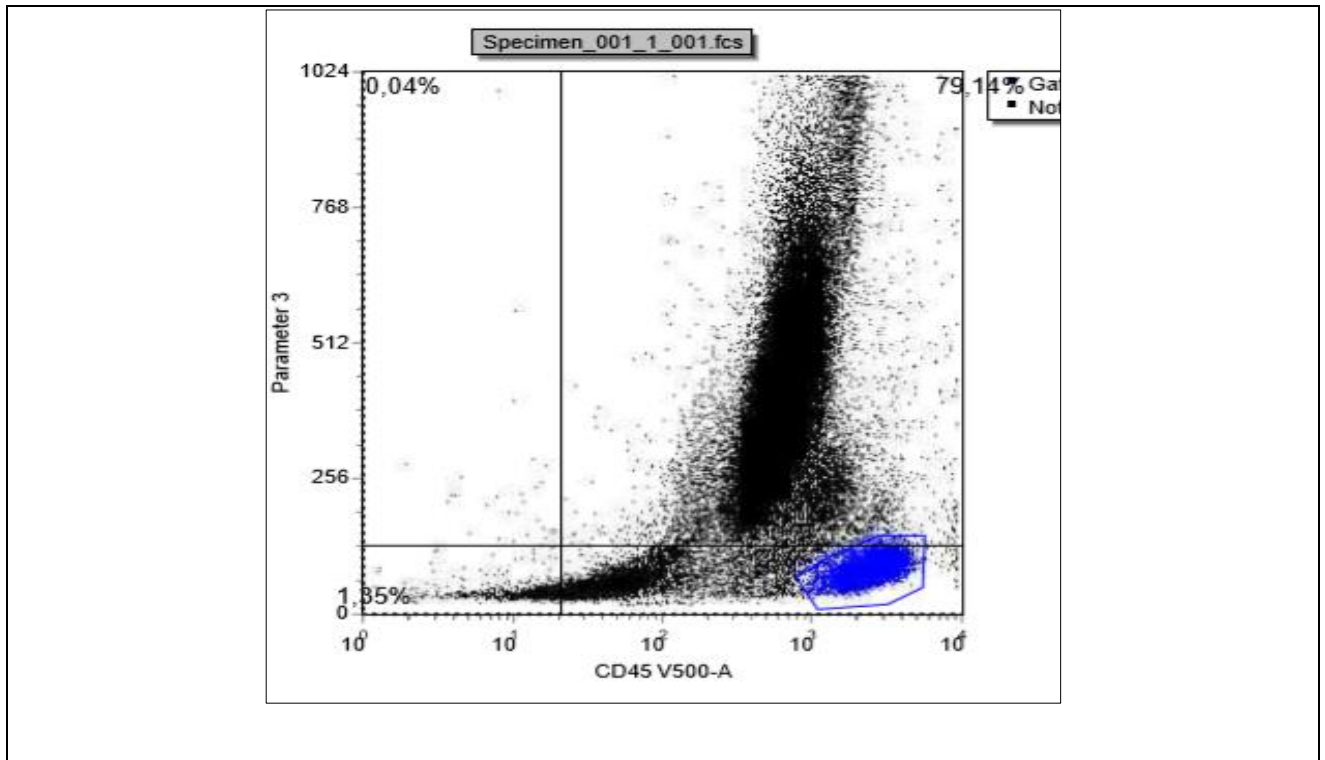
**Таблица 144** – Средние уровни костно-мозговых популяций лимфоцитов при первичном и рецидивном раке яичников

| Популяции лимфоцитов | Вид рака яичников | N  | M, %    | Ст. отклонение | m,%      | p      |
|----------------------|-------------------|----|---------|----------------|----------|--------|
| CD45+                | Первичный         | 25 | 8,4388  | 4,40908        | ,88182   | > 0,05 |
|                      | Рецидивный        | 11 | 10,3609 | 5,43593        | 1,63899  |        |
| CD45+CD8+            | Первичный         | 3  | 42,1000 | 12,24418       | 7,06918  | > 0,05 |
|                      | Рецидивный        | 2  | 38,7000 | 15,55635       | 11,00000 |        |
| CD45+CD3+            | Первичный         | 26 | 65,8762 | 12,65329       | 2,48151  | > 0,05 |
|                      | Рецидивный        | 10 | 64,5700 | 12,17548       | 3,85023  |        |
| CD8+CD3+             | Первичный         | 25 | 34,2120 | 11,10253       | 2,22051  | > 0,05 |
|                      | Рецидивный        | 10 | 30,9600 | 7,74929        | 2,45054  |        |
| CD4+CD3+             | Первичный         | 25 | 31,1000 | 7,39448        | 1,47890  | > 0,05 |
|                      | Рецидивный        | 11 | 31,7336 | 8,52807        | 2,57131  |        |
| CD19+                | Первичный         | 22 | 13,4695 | 7,05634        | 1,50442  | > 0,05 |
|                      | Рецидивный        | 9  | 15,7611 | 8,50631        | 2,83544  |        |
| CD19+5+              | Первичный         | 18 | ,8389   | ,58156         | ,13707   | > 0,05 |
|                      | Рецидивный        | 9  | 1,2911  | 1,33753        | ,44584   | > 0,05 |
| HLA-DR+<br>CD8+      | Первичный         | 2  | 5,5800  | 6,22254        | 4,40000  |        |
|                      | Рецидивный        | 3  | 1,4000  | ,72111         | ,41633   |        |

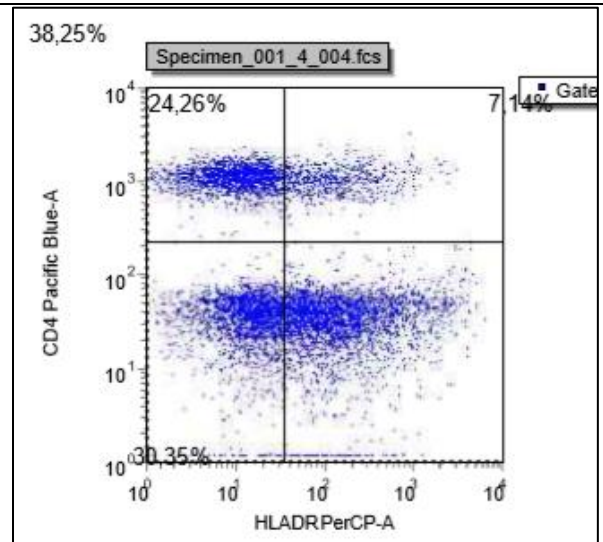
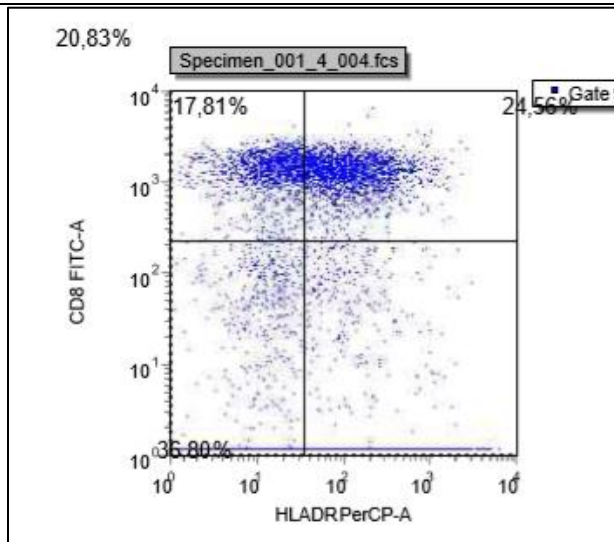
|                          |            |    |         |          |         |        |
|--------------------------|------------|----|---------|----------|---------|--------|
| HLA-DR+<br>CD3+          | Первичный  | 18 | 11,7456 | 9,05395  | 2,13404 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 7  | 13,6714 | 8,66616  | 3,27550 |        |
| CD8+CD3+                 | Первичный  | 17 | 44,2588 | 10,54265 | 2,55697 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 7  | 46,8814 | 7,97831  | 3,01552 |        |
| CD4+CD3+                 | Первичный  | 17 | 42,8235 | 10,58026 | 2,56609 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 7  | 47,9000 | 8,22537  | 3,10890 |        |
| TCRгамма/<br>дельта+CD3+ | Первичный  | 21 | 5,3243  | 3,34596  | ,73015  | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 8  | 4,6913  | 3,29679  | 1,16559 |        |
| CD25+CD4+<br>CD3+        | Первичный  | 13 | 6,7985  | 4,99822  | 1,38626 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 5  | 4,3780  | 2,84735  | 1,27338 |        |
| Perforin+CD3+            | Первичный  | 24 | 22,0529 | 11,19722 | 2,28562 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 10 | 19,6340 | 6,49742  | 2,05466 |        |
| Perforin+CD3-            | Первичный  | 12 | 9,5775  | 11,18998 | 3,23027 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 5  | 4,2640  | 3,94501  | 1,76426 |        |
| Perforin+CD8-            | Первичный  | 21 | 9,5333  | 9,37527  | 2,04585 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 11 | 7,4764  | 3,95975  | 1,19391 |        |
| Perforin+CD4+            | Первичный  | 17 | 11,9247 | 5,62819  | 1,36504 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 9  | 10,4922 | 2,86247  | ,95416  |        |
| Perforin+CD4-            | Первичный  | 21 | 2,8162  | 4,14519  | ,90456  | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 7  | 3,2900  | 2,88606  | 1,09083 |        |
| Perforin+CD27+           | Первичный  | 21 | 18,9486 | 10,76714 | 2,34958 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 7  | 15,2257 | 8,08123  | 3,05442 |        |
| Granzim+CD3+             | Первичный  | 19 | 35,1837 | 13,42784 | 3,08056 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 7  | 34,5686 | 14,74685 | 5,57379 |        |
| Granzim+CD3-             | Первичный  | 10 | 24,9600 | 13,28476 | 4,20101 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 2  | 22,6500 | 6,15183  | 4,35000 |        |
| Granzim+CD8-             | Первичный  | 14 | 18,2879 | 10,73359 | 2,86867 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 5  | 17,3080 | 12,70332 | 5,68110 |        |
| Granzim+CD4+             | Первичный  | 13 | 18,6331 | 4,82190  | 1,33735 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 5  | 12,9180 | 2,93098  | 1,31077 |        |
| Granzim+CD4-             | Первичный  | 15 | 6,9100  | 9,32728  | 2,40829 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 5  | 3,6060  | 1,62160  | ,72520  |        |
| Granzim+<br>Perforin+    | Первичный  | 14 | 32,5071 | 15,30985 | 4,09173 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 5  | 25,9640 | 13,09170 | 5,85478 |        |
| Granzim+<br>Perforin -   | Первичный  | 15 | 18,3767 | 10,70440 | 2,76387 | > 0,05 |
|                          | Рецидивный | 3  | 19,9000 | 11,26410 | 6,50333 |        |



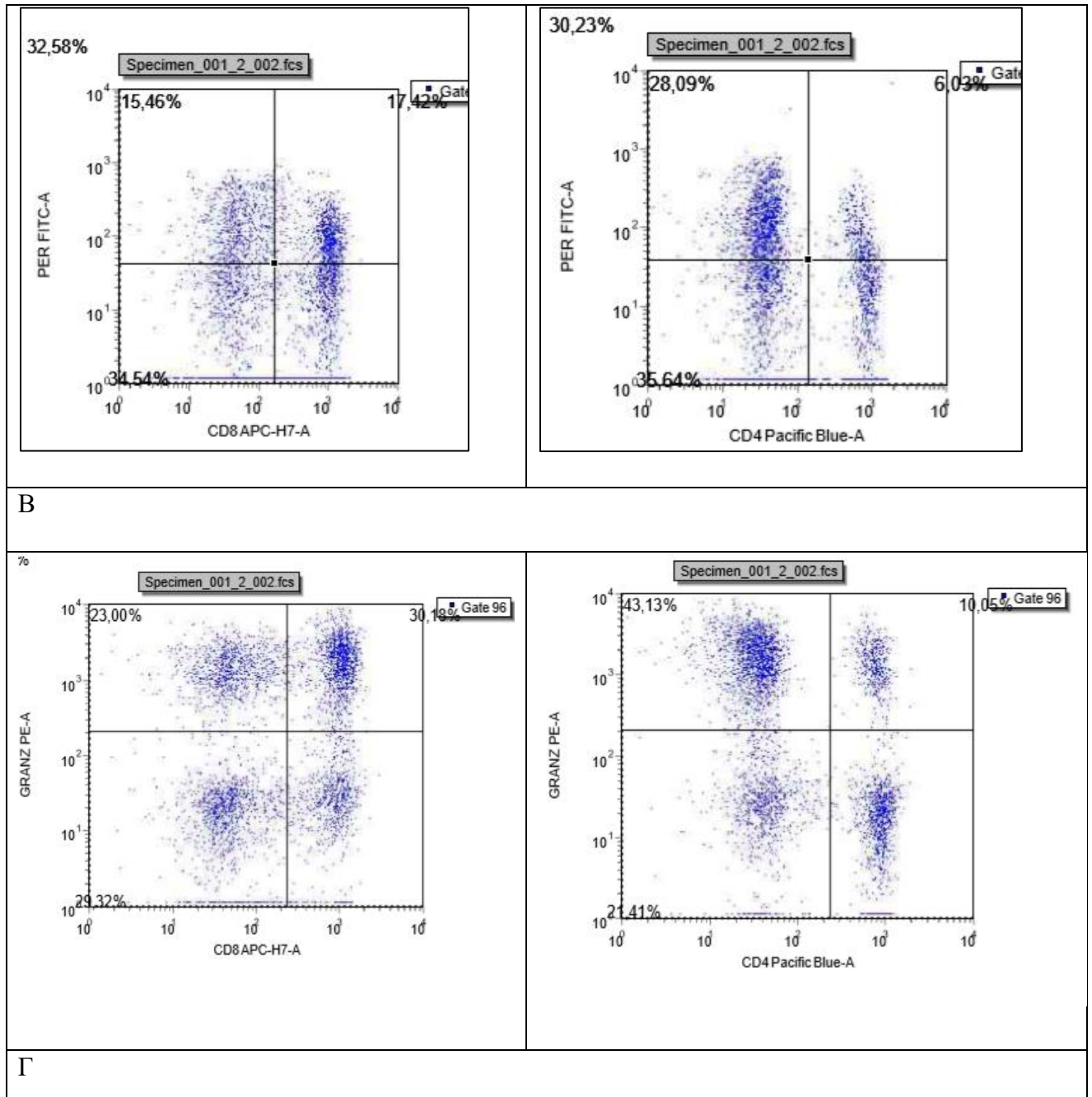
Пример оценки процентного содержания эффекторных лимфоцитарных популяций в костном мозге представлен на рисунке 79.



А



Б



А — в координатах CD45/SSC выделен гейт лимфоцитов (CD45+) — синий цвет; Б — в гейте лимфоцитов оценка HLA-DR+ клеток (CD4+HLA-DR+клетки составляют 7,1%, CD8+HLA-DR+ клетки — 24,5%; В — в гейте лимфоцитов оценка Perforin+ клеток (CD8+ Perforin+ клетки составляют 17,4%, CD4+ Perforin+ клетки составляют 6,0%; Г — в гейте лимфоцитов оценка Granzim+ клеток (CD8+Granzim+ клетки составляют 30,1%, CD4+Granzim+ клетки составляют 10,0%.

**Рисунок 79** – Цитометрический анализ лимфоидных популяций в костном мозге.

Следующим шагом нами проанализировано среднее содержание различных субпопуляций лимфоцитов костного мозга в зависимости от распространенности опухолевого процесса (t- критерий для независимых выборок). Мы провели объединение по стадиям I, II, III, IV. К сожалению, в нашей выборке преобладали больные с III стадией рака яичников. Поэтому,

следует констатировать, что некоторые группы были слишком малочисленны и сравнение не является полноценным. Мы приводим результаты сравнения в таблице 145.

Обращало внимание более высокое содержание CD45+ клеток при первой стадии ( $p = 0,044$ ). Количество CD3+CD4+ клеток было увеличено при III стадии (32,4% против 22,6%  $p = 0,013$ , соответственно). Отметим, что такая же картина наблюдалась в отношении Granzim+CD4+ клеток (18,8% против 12,4,  $p = 0,042$ ). При анализе в пределах гейта CD3+ более высокое содержание наблюдалось CD8+ клеток при первой стадии ( $p = 0,15$ ). Аналогичные данные мы наблюдали при сравнении начальных стадий (I и II) с III стадией.

Дополнительный анализ по таблицам сопряженности признаков позволил подтвердить достоверную связь CD4+ популяции клеток со стадией опухоли (Таблица 146). Как видно из таблицы, при нарастании стадии частота увеличенного числа CD4+ клеток повышалась.

**Таблица 145** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга при I и III стадии рака яичников

| Популяции лимфоцитов | Стадия | N  | M, %    | Ст. отклонение | m,%     | p      |
|----------------------|--------|----|---------|----------------|---------|--------|
| CD45+                | 1      | 4  | 13,8150 | 2,61066        | 1,30533 | 0,04   |
|                      | 3      | 25 | 8,4920  | 4,98572        | ,99714  |        |
| CD45+CD3+            | 1      | 4  | 55,3500 | 15,50795       | 7,75398 | 0,11   |
|                      | 3      | 24 | 66,4958 | 12,26027       | 2,50262 |        |
| CD8+CD3+             | 1      | 4  | 31,1500 | 12,07711       | 6,03856 |        |
|                      | 3      | 23 | 33,2217 | 9,33352        | 1,94617 |        |
| CD4+CD3+             | 1      | 4  | 22,6750 | 4,01860        | 2,00930 | 0,013  |
|                      | 3      | 24 | 32,1238 | 6,86143        | 1,40058 |        |
| CD19+CD45+           | 1      | 3  | 14,7833 | 8,47295        | 4,89186 | > 0,05 |
|                      | 3      | 23 | 14,7209 | 7,57354        | 1,57919 |        |
| CD19+CD5+            | 1      | 3  | 1,1433  | ,91544         | ,52853  | > 0,05 |
|                      | 3      | 21 | ,9700   | ,95147         | ,20763  |        |
| CD8+HLA-DR+          | 1      | 2  | 1,8000  | ,28284         | ,20000  | > 0,05 |
|                      | 3      | 3  | 3,9200  | 5,25612        | 3,03462 |        |
| CD3+ HLA-DR+         | 1      | 3  | 7,5000  | 7,29178        | 4,20991 | > 0,05 |
|                      | 3      | 15 | 12,8720 | 9,49108        | 2,45059 |        |
| CD8+vgCD3            | 1      | 3  | 52,3900 | 7,82888        | 4,52000 | 0,15   |
|                      | 3      | 18 | 44,8611 | 8,07838        | 1,90409 |        |
| CD4+vgCD3            | 1      | 3  | 40,2333 | 5,12087        | 2,95654 | > 0,05 |
|                      | 3      | 18 | 42,9833 | 8,55207        | 2,01574 |        |
| TCRгамма\дельта      | 1      | 3  | 5,6367  | 5,38396        | 3,10843 | > 0,05 |
|                      | 3      | 21 | 5,5267  | 3,67780        | ,80256  |        |
| CD25+CD4+vgCD3       | 1      | 2  | 3,9000  | ,00000         | ,00000  | > 0,05 |
|                      | 3      | 14 | 6,5857  | 4,69562        | 1,25496 |        |

|                |   |    |         |          |          |        |
|----------------|---|----|---------|----------|----------|--------|
| Perforin+CD45+ | 1 | 2  | ,8200   | ,43841   | ,31000   | > 0,05 |
|                | 3 | 6  | 1,1033  | ,69629   | ,28426   |        |
| Perforin+CD3+  | 1 | 4  | 19,8000 | 5,05569  | 2,52784  | > 0,05 |
|                | 3 | 22 | 21,8505 | 11,91349 | 2,53997  |        |
| Perforin+CD8-  | 1 | 4  | 8,3750  | 6,52553  | 3,26276  |        |
|                | 3 | 21 | 9,3757  | 9,59243  | 2,09324  |        |
| Perforin+CD4+  | 1 | 4  | 11,2150 | 2,69089  | 1,34545  | > 0,05 |
|                | 3 | 17 | 11,2641 | 5,26699  | 1,27743  |        |
| Perforin+CD27+ | 1 | 2  | 14,6500 | 1,48492  | 1,05000  | > 0,05 |
|                | 3 | 20 | 18,0950 | 11,37471 | 2,54346  |        |
| Granzim+CD3+   | 1 | 3  | 34,4333 | 20,29195 | 11,71556 | > 0,05 |
|                | 3 | 18 | 35,5094 | 14,08717 | 3,32038  |        |
| Granzim+CD8-   | 1 | 4  | 17,3850 | 14,82092 | 7,41046  | > 0,05 |
|                | 3 | 11 | 16,8573 | 9,81298  | 2,95872  |        |
| Granzim+CD4+   | 1 | 4  | 12,4475 | 2,95269  | 1,47634  | 0,042  |
|                | 3 | 10 | 18,8430 | 5,22295  | 1,65164  |        |
| Granzim+CD4-   | 1 | 2  | 1,7750  | ,71418   | ,50500   | > 0,05 |
|                | 3 | 13 | 7,2531  | 9,84364  | 2,73013  |        |

Таблица 146 – Взаимосвязь CD4+ популяции клеток со стадией рака яичников

| Стадия                         |      | CD4+     |          | Итого  |
|--------------------------------|------|----------|----------|--------|
|                                |      | Ниже 30% | Выше 30% |        |
| I                              | Абс. | 4        | 0        | 4      |
|                                | %    | 100,0%   | 0,0%     | 100,0% |
| II                             | Абс. | 0        | 1        | 1      |
|                                | %    | 0,0%     | 100,0%   | 100,0% |
| III                            | Абс. | 8        | 16       | 24     |
|                                | %    | 33,3%    | 66,7%    | 100,0% |
| IV                             | Абс. | 4        | 5        | 9      |
|                                | %    | 44,4%    | 55,6%    | 100,0% |
| Итого                          | Абс. | 16       | 22       | 38     |
|                                | %    | 42,1%    | 57,9%    | 100,0% |
| $p = 0,032$ , $\chi^2 = 7,005$ |      |          |          |        |

Далее мы провели сравнение начальных стадий и IV стадии (Таблица 147). Получены результаты схожие с предыдущим анализом. Обращало внимание более высокое содержание CD45+ клеток при начальных стадиях ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). При IV стадии имелось увеличение доли CD4+ клеток (в гейте зрелых Т- лимфоцитов), 54,7 % против 40,2% ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ), и

наблюдался более высокий процент Perf+CD3- , Granzim+CD4+, Granzim+CD4- клеток ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

**Таблица 147** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга при I-II и IV стадии рака яичников

| Популяции лимфоцитов | Стадия | N | M, %    | Ст. отклонение | m,%      | p      |
|----------------------|--------|---|---------|----------------|----------|--------|
| CD45+                | 1 и 2  | 4 | 13,8150 | 2,61066        | 1,30533  | 0,08   |
|                      | 4      | 9 | 9,5200  | 4,04386        | 1,34795  |        |
| CD45+CD3+            | 1 и 2  | 5 | 60,8800 | 18,25588       | 8,16428  | > 0,05 |
|                      | 4      | 9 | 66,4756 | 7,73414        | 2,57805  |        |
| CD8+CD3+             | 1 и 2  | 5 | 35,6800 | 14,56012       | 6,51148  | > 0,05 |
|                      | 4      | 9 | 31,3333 | 10,90653       | 3,63551  |        |
| CD4+CD3+             | 1 и 2  | 5 | 27,2400 | 10,78462       | 4,82303  | > 0,05 |
|                      | 4      | 9 | 33,0556 | 10,30814       | 3,43605  |        |
| CD19+CD45+           | 1 и 2  | 4 | 13,0375 | 7,74934        | 3,87467  | > 0,05 |
|                      | 4      | 6 | 11,3083 | 6,20938        | 2,53497  |        |
| CD19+CD5+            | 1 и 2  | 3 | 1,1433  | ,91544         | ,52853   | > 0,05 |
|                      | 4      | 5 | ,6300   | ,76246         | ,34098   |        |
| HLA-DR+CD3+<br>DR_3  | 1 и 2  | 4 | 10,7500 | 8,81457        | 4,40729  | > 0,05 |
|                      | 4      | 7 | 10,6600 | 8,27994        | 3,12952  |        |
| CD8+vgCD3            | 1 и 2  | 3 | 52,3900 | 7,82888        | 4,52000  | > 0,05 |
|                      | 4      | 5 | 38,9400 | 14,27491       | 6,38393  |        |
| CD4+vgCD3            | 1 и 2  | 3 | 40,2333 | 5,12087        | 2,95654  | 0,1    |
|                      | 4      | 5 | 54,7200 | 16,45226       | 7,35768  |        |
| TCRгамма\дельта      | 1 и 2  | 3 | 5,6367  | 5,38396        | 3,10843  | > 0,05 |
|                      | 4      | 7 | 4,4200  | 2,15395        | ,81412   |        |
| CD25+CD4+vgCD3       | 1 и 2  | 2 | 3,9000  | ,00000         | ,00000   | > 0,05 |
|                      | 4      | 4 | 20,8425 | 27,71192       | 13,85596 |        |
| Perforin+CD3+        | 1 и 2  | 5 | 19,1400 | 4,62039        | 2,06630  | > 0,05 |
|                      | 4      | 9 | 21,6667 | 8,57569        | 2,85856  |        |
| Perforin+CD3-        | 1 и 2  | 2 | 1,2200  | ,82024         | ,58000   | 0,09   |
|                      | 4      | 3 | 10,5000 | 5,12933        | 2,96142  |        |
| Perforin+CD8-        | 1 и 2  | 4 | 8,3750  | 6,52553        | 3,26276  | > 0,05 |
|                      | 4      | 9 | 8,1322  | 4,48819        | 1,49606  |        |
| Perforin+CD4+        | 1 и 2  | 4 | 11,2150 | 2,69089        | 1,34545  | > 0,05 |
|                      | 4      | 7 | 12,2429 | 4,75245        | 1,79626  |        |
| Perforin+CD4-        | 1 и 2  | 3 | 1,6367  | 1,38753        | ,80109   | > 0,05 |
|                      | 4      | 7 | 1,6457  | ,72737         | ,27492   |        |
| Perforin+CD27+       | 1 и 2  | 3 | 14,9667 | 1,18462        | ,68394   | > 0,05 |
|                      | 4      | 7 | 19,4671 | 9,59515        | 3,62663  |        |
| Granzim+CD3+         | 1 и 2  | 4 | 33,3500 | 16,70938       | 8,35469  | > 0,05 |
|                      | 4      | 6 | 35,7000 | 12,28202       | 5,01411  |        |

|                    |       |   |         |          |         |        |
|--------------------|-------|---|---------|----------|---------|--------|
| Granzim+CD8-       | 1 и 2 | 4 | 17,3850 | 14,82092 | 7,41046 | > 0,05 |
|                    | 4     | 5 | 18,9180 | 12,50986 | 5,59458 |        |
| Granzim+CD4+       | 1 и 2 | 4 | 12,4475 | 2,95269  | 1,47634 | 0,063  |
|                    | 4     | 5 | 17,1000 | 3,27032  | 1,46253 |        |
| Granzim+CD4-       | 1 и 2 | 3 | 1,5100  | ,68242   | ,39400  | 0,05   |
|                    | 4     | 5 | 5,3340  | 2,62479  | 1,17384 |        |
| Granzim+ Perforin+ | 1 и 2 | 3 | 24,8667 | 6,74710  | 3,89544 | > 0,05 |
|                    | 4     | 5 | 37,7800 | 14,56475 | 6,51356 |        |

Считаем важным привести данные, которые хорошо подчеркивают взаимосвязь пропорции эффекторных клеток костного мозга и распространенности опухоли, на примере наличия асцита (Таблица 148). Это касалось, по крайней мере, двух лимфоидных популяций. Итак, мы наблюдали ассоциацию между асцитом и увеличением доли как Perforin+CD3+ - клеток, (23,0% против 15,4%,  $p = 0,05$ ), так и Perforin+CD27+ клеток (20,1% против 11,3%,  $p = 0,05$ ). Наравне с этим имело место увеличение пропорции CD3-Granzim+ -клеток 28,4% против 16,9%,  $p = 0,12$ , равно как и пропорции Granzim+CD4+ -лимфоцитов 19,1% против 12,0%,  $p = 0,004$ . Вероятно, что такое совпадение по нескольким типам эффекторных популяций может свидетельствовать о повышении уровня цитотоксических реакций при раке яичников распространенных стадий.

Следует обратить внимание, в нашей работе не оценивались НК-клетки, но наличие повышения процента CD3-Granzim+ (а также CD3-Perforin+, хотя и недостоверно), возможно, может косвенно указывать на повышение уровня НК-клеток. Эти данные новые, и, несмотря на небольшое число наблюдений, несомненно, заслуживают внимания.

Справедливо будет отметить, что количество Granzim+Perforin+ лимфоцитов аналогично было увеличено при асците, хотя различия не достигли достоверности ( $p = 0,17$ , 33,1% против 22,4%).

**Таблица 148** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга в зависимости от наличия асцита

| Популяции лимфоцитов | Асцит | N  | M, %    | Ст. отклонение | m,%      | p      |
|----------------------|-------|----|---------|----------------|----------|--------|
| CD45+                | нет   | 8  | 11,4800 | 6,01219        | 2,12563  | > 0,05 |
|                      | есть  | 29 | 8,5862  | 4,35364        | ,80845   |        |
| CD45+CD8+            | нет   | 2  | 38,7000 | 15,55635       | 11,00000 | > 0,05 |
|                      | есть  | 3  | 42,1000 | 12,24418       | 7,06918  |        |
| CD45+CD3+            | нет   | 9  | 63,8889 | 15,11691       | 5,03897  | > 0,05 |
|                      | есть  | 28 | 66,3029 | 11,44362       | 2,16264  |        |

|                    |      |    |         |          |          |        |
|--------------------|------|----|---------|----------|----------|--------|
| CD8+CD3+           | нет  | 8  | 34,5250 | 11,59812 | 4,10056  | 0,18   |
|                    | есть | 28 | 32,4643 | 10,12921 | 1,91424  |        |
| CD4+CD3+           | нет  | 8  | 32,3375 | 11,87277 | 4,19766  | > 0,05 |
|                    | есть | 29 | 31,7369 | 7,29771  | 1,35515  |        |
| CD19+CD45+         | нет  | 8  | 11,8438 | 5,61538  | 1,98534  | > 0,05 |
|                    | есть | 24 | 14,8096 | 7,77102  | 1,58625  |        |
| CD19+CD5+          | нет  | 7  | ,8300   | ,61903   | ,23397   | > 0,05 |
|                    | есть | 21 | ,9971   | ,99324   | ,21674   |        |
| CD8+HLA-DR+        | нет  | 2  | 1,8000  | ,28284   | ,20000   | > 0,05 |
|                    | есть | 3  | 3,9200  | 5,25612  | 3,03462  |        |
| CD3+ HLA-DR+       | нет  | 7  | 11,2714 | 7,38370  | 2,79078  | > 0,05 |
|                    | есть | 19 | 12,2000 | 9,44045  | 2,16579  |        |
| CD8+vgCD3          | нет  | 6  | 45,1617 | 11,22018 | 4,58062  | > 0,05 |
|                    | есть | 19 | 44,2474 | 9,85232  | 2,26028  |        |
| CD4+vgCD3          | нет  | 6  | 42,0500 | 11,30040 | 4,61337  | > 0,05 |
|                    | есть | 19 | 46,3105 | 11,01584 | 2,52721  |        |
| TCRгамма\дельта    | нет  | 5  | 4,8480  | 3,98508  | 1,78218  | > 0,05 |
|                    | есть | 25 | 5,0908  | 3,20888  | ,64178   |        |
| CD25+CD4+vg<br>CD3 | нет  | 4  | 3,9250  | 1,34753  | ,67376   | > 0,05 |
|                    | есть | 15 | 10,4180 | 14,97784 | 3,86726  |        |
| Perforin+CD3+      | нет  | 9  | 15,4300 | 8,28545  | 2,76182  | 0,05   |
|                    | есть | 26 | 23,1008 | 10,04750 | 1,97048  |        |
| Perforin+CD3-      | нет  | 4  | 4,6775  | 7,30165  | 3,65083  | > 0,05 |
|                    | есть | 13 | 9,0415  | 10,49235 | 2,91006  |        |
| Perforin+CD8+      | нет  | 3  | 7,6433  | 6,70154  | 3,86914  | > 0,05 |
|                    | есть | 3  | 13,0333 | 4,56216  | 2,63397  |        |
| Perforin+CD8-      | нет  | 6  | 6,6100  | 5,94715  | 2,42791  | > 0,05 |
|                    | есть | 27 | 9,0230  | 8,32437  | 1,60203  |        |
| Perforin+CD4+      | нет  | 6  | 9,3700  | 3,53937  | 1,44494  | > 0,05 |
|                    | есть | 21 | 11,9157 | 4,97963  | 1,08664  |        |
| Perforin+CD4-      | нет  | 7  | 1,9071  | 2,51312  | ,94987   | > 0,05 |
|                    | есть | 22 | 3,1668  | 4,09810  | ,87372   |        |
| Perforin+CD27+     | нет  | 7  | 11,3657 | 5,68133  | 2,14734  | 0,05   |
|                    | есть | 22 | 20,1641 | 10,52720 | 2,24441  |        |
| Granzim+CD3+       | нет  | 7  | 29,7271 | 15,05956 | 5,69198  | > 0,05 |
|                    | есть | 20 | 36,3090 | 12,74877 | 2,85071  |        |
| Granzim+CD3-       | нет  | 4  | 16,9000 | 10,29336 | 5,14668  | 0,12   |
|                    | есть | 8  | 28,4125 | 11,73401 | 4,14860  |        |
| Granzim+CD8+       | нет  | 4  | 8,1000  | 5,11338  | 2,55669  | > 0,05 |
|                    | есть | 2  | 21,9800 | 18,35649 | 12,98000 |        |

|                       |      |    |         |          |         |        |
|-----------------------|------|----|---------|----------|---------|--------|
| Granzim+CD8-          | нет  | 5  | 17,5080 | 12,83824 | 5,74143 | > 0,05 |
|                       | есть | 15 | 17,4680 | 10,70135 | 2,76308 |        |
| Granzim+CD4+          | нет  | 5  | 12,0580 | 2,70136  | 1,20808 | 0,004  |
|                       | есть | 14 | 19,1164 | 4,24144  | 1,13357 |        |
| Granzim+CD4-          | нет  | 6  | 2,3683  | 2,47423  | 1,01010 | 0,19   |
|                       | есть | 15 | 7,4187  | 9,00172  | 2,32423 |        |
| Granzim+<br>Perforin+ | нет  | 5  | 22,4200 | 9,69211  | 4,33444 | 0,17   |
|                       | есть | 15 | 33,1413 | 15,17050 | 3,91701 |        |
| Granzim+ Perforin-    | нет  | 5  | 12,1500 | 8,34094  | 3,73018 | 0,13   |
|                       | есть | 14 | 20,2864 | 10,45908 | 2,79531 |        |

Анализ среднего содержания популяций лимфоцитов костного мозга в зависимости от поражения большого сальника представлен в таблицах 149, 150. Установлено, что метастатическое поражение большого сальника было ассоциировано с увеличением доли цитотоксических CD3+CD8+ лимфоцитов, 41,3% против 31,8%, ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

Наконец, нельзя не отметить, что мы наблюдали увеличение пропорции CD3+CD4+CD25+ клеток при нарастании распространенности опухоли (IV стадия, асцит, поражение большого сальника), хотя и статистически не значимо.

**Таблица 149** – Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга в зависимости от поражения большого сальника

| Популяции лимфоцитов | Мтс | N  | M, %    | Ст. отклонение | m,%     | p      |
|----------------------|-----|----|---------|----------------|---------|--------|
| CD45+                | да  | 34 | 8,9853  | 4,83466        | ,82914  | > 0,05 |
|                      | нет | 3  | 11,7800 | 4,65717        | 2,68882 |        |
| CD45+CD3+            | да  | 33 | 64,8842 | 12,01460       | 2,09147 | > 0,05 |
|                      | нет | 4  | 72,5750 | 13,82567       | 6,91284 |        |
| CD8+CD3+             | да  | 32 | 31,8656 | 9,77755        | 1,72844 | 0,08   |
|                      | нет | 4  | 41,3750 | 12,28993       | 6,14497 |        |
| CD4+CD3+             | да  | 33 | 31,7839 | 8,30542        | 1,44579 | 0,09   |
|                      | нет | 4  | 32,5500 | 9,49965        | 4,74982 |        |
| CD19+CD45+           | да  | 29 | 14,5493 | 7,48329        | 1,38961 | > 0,05 |
|                      | нет | 3  | 9,4167  | 3,37873        | 1,95071 |        |
| CD19+CD5+            | да  | 25 | 1,0088  | ,94522         | ,18904  | > 0,05 |
|                      | нет | 3  | ,5100   | ,18358         | ,10599  |        |
| CD3+ HLA-DR+         | да  | 22 | 12,1364 | 9,01594        | 1,92220 | > 0,05 |
|                      | нет | 4  | 10,9250 | 8,63573        | 4,31787 |        |



|                    |     |    |         |          |         |        |
|--------------------|-----|----|---------|----------|---------|--------|
| CD8+vgCD3          | да  | 22 | 43,6805 | 10,07877 | 2,14880 | > 0,05 |
|                    | нет | 3  | 50,2333 | 8,18311  | 4,72452 |        |
| CD4+vgCD3          | да  | 22 | 45,6818 | 11,55408 | 2,46334 | > 0,05 |
|                    | нет | 3  | 42,4000 | 6,06960  | 3,50428 |        |
| TCRгамма\дельта    | да  | 27 | 5,0319  | 3,07459  | ,59171  | > 0,05 |
|                    | нет | 3  | 5,2167  | 5,70183  | 3,29195 |        |
| CD25+CD4+<br>vgCD3 | да  | 16 | 10,2425 | 14,43778 | 3,60945 | 0,38   |
|                    | нет | 3  | 2,6967  | 2,08423  | 1,20333 |        |

**Таблица 150** – Перфорин/гранзим содержащие популяции лимфоцитов костного мозга в зависимости от поражения большого сальника

| Популяции лимфоцитов | Мтс | N  | M, %    | Ст. отклонение | m, %    | p      |
|----------------------|-----|----|---------|----------------|---------|--------|
| Perforin+CD45+       | да  | 7  | 1,1657  | ,59938         | ,22655  | > 0,05 |
|                      | нет | 2  | ,8200   | ,43841         | ,31000  |        |
| Perforin+CD3+        | да  | 31 | 21,2197 | 10,59227       | 1,90243 | > 0,05 |
|                      | нет | 4  | 19,2500 | 4,77877        | 2,38939 |        |
| Perforin+CD8-        | да  | 30 | 8,6360  | 8,12898        | 1,48414 | > 0,05 |
|                      | нет | 3  | 8,0667  | 6,70398        | 3,87054 |        |
| Perforin+CD4+        | да  | 24 | 11,2521 | 5,00155        | 1,02094 | > 0,05 |
|                      | нет | 3  | 12,1333 | 2,38607        | 1,37760 |        |
| Perforin+CD27+       | да  | 27 | 17,8100 | 10,52089       | 2,02475 | > 0,05 |
|                      | нет | 2  | 15,6500 | ,07071         | ,05000  |        |
| Granzim+CD3+         | да  | 23 | 34,5378 | 13,43649       | 2,80170 | > 0,05 |
|                      | нет | 4  | 34,9750 | 15,28559       | 7,64279 |        |
| Granzim+CD8-         | да  | 17 | 17,0918 | 10,15239       | 2,46232 | > 0,05 |
|                      | нет | 3  | 19,6667 | 17,27001       | 9,97085 |        |
| Granzim+CD4+         | да  | 16 | 17,3325 | 5,26837        | 1,31709 | > 0,05 |
|                      | нет | 3  | 15,4667 | 1,76163        | 1,01708 |        |
| Granzim+CD4-         | да  | 19 | 6,4863  | 8,24048        | 1,89050 | > 0,05 |
|                      | нет | 2  | 1,1250  | ,20506         | ,14500  |        |

Резюмируя по данному разделу работы, мы считаем целесообразным сделать следующее заключение. Важным, на наш взгляд, тезисом является то, что лимфоцитарные популяции эффекторных клеток костного мозга определенно связаны с распространенность опухолевого процесса. Мы должны признать, что были ограничены в возможности провести полноценный анализ ввиду небольшого числа наблюдений. Однако даже по меркам малой выборки мы обнаружили достоверные различия в количестве эффекторных клеток, как основных, так минорных субпопуляций лимфоцитов костного мозга. Эта касалось, в первую очередь, зрелых

CD3+ клеток и CD3+CD4+ лимфоцитов. Нарастание их количества с увеличением распространенности рака яичников прослеживалось при разных видах анализа в зависимости от клинической стадии, поражения большого сальника, наличия асцита. В этом ключе наши данные хорошо согласуются с результатами анализа интратуморальных реакций.

Однозначно заслуживают внимания минорные популяции лимфоцитов, такие как перфорин/гранзим-содержащие. Мы считаем, что в их отношении получены интересные результаты, которые хорошо подчеркивают взаимосвязь пропорции эффекторных клеток костного мозга и распространенности опухоли. Это касалось, по крайней мере, двух лимфоидных популяций. Мы наблюдали ассоциацию между асцитом и увеличением доли как Perforin+CD3+ -клеток ( $p = 0,05$ ), так и Perforin+CD27+ клеток ( $p = 0,05$ ). Наравне с этим имело место увеличение пропорции CD3-Granzim+ -клеток ( $p = 0,12$ ), равно как и пропорции Granzim+CD4+ -лимфоцитов ( $p = 0,004$ ). Вероятно, что такое совпадение по нескольким типам эффекторных популяций может свидетельствовать о повышении уровня цитотоксических реакций при раке яичников распространенных стадий.

Дополнительно, обратим внимание, что в данной работе не оценивались НК-клетки костного мозга, но наличие при асците повышенного числа CD3-Granzim+ (а также CD3-Perforin+, хотя и недостоверно), возможно, может косвенно указывать на повышение уровня НК-клеток. Эти данные новые, и, несмотря на небольшое число наблюдений, несомненно, заслуживают внимания. Справедливо будет добавить, что было также увеличено количество Granzim+Perforin+ лимфоцитов, хотя статистической значимости различий мы не наблюдали, ( $p = 0,17$ ).

Наконец, нельзя не отметить, что мы наблюдали увеличение пропорции еще одной минорной субпопуляции лимфоцитов при раке яичников. Это CD3+CD4+CD25+ клетки, увеличение числа которых коррелировало, хотя и статистически не значимо, с распространенностью опухолевого процесса (IV стадия, асцит, поражение большого сальника). Поражает, что схожие данные нами получены при изучении интратуморальных лимфоцитов проточно-цитометрическим методом, что описано в соответствующем разделе нашей работы.

Мы не можем игнорировать все эти факты, поскольку это в определенной степени проливает свет на иммунные реакции в костном мозге при раке яичников и, разумеется, требуется продолжить накопление данных в отношении лимфоцитарных популяций костного мозга. По нашему мнению, с учетом полученных результатов, необходимо раскрыть эту тему более подробно и подвергнуть масштабному изучению эти аспекты иммуногенеза при раке яичников.

#### 4.7 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций костного мозга с показателями миелограмм больных раком яичников

На данном этапе работы мы проанализировали эффекторные лимфоцитарные популяции костного мозга во взаимосвязи с показателями гемопоэза у больных раком яичников. Корреляционные связи морфологически выявляемых клеточных типов, а именно общего количества миелокариоцитов, клеток гранулоцитарного ростка, с лимфоцитарными субпопуляциями представлены в таблице 151, 152.

**Таблица 151** – Корреляционные связи лимфоцитарных субпопуляций костного мозга с миелокариоцитами, клетками гранулоцитарного ростка

| Популяции лимфоцитов |   | МКЦ    | ПМЦ    | НМЦ    | НММЦ   | ПЯН    | СЯН    | ИСН    | СГР    |
|----------------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CD45+CD8+            | R | -0,5   | 0,051  | -0,821 | -0,5   | 0,821  | 0,3    | -,900* | 0,3    |
|                      | p | 0,667  | 0,935  | 0,089  | 0,391  | 0,089  | 0,624  | 0,037  | 0,624  |
|                      | N | 3      | 5      | 5      | 5      | 5      | 5      | 5      | 5      |
| CD45+CD3+            | R | -,402* | -0,143 | -0,086 | -0,168 | -0,229 | 0,143  | -0,026 | -0,134 |
|                      | p | 0,046  | 0,404  | 0,613  | 0,32   | 0,172  | 0,398  | 0,878  | 0,428  |
|                      | N | 25     | 36     | 37     | 37     | 37     | 37     | 37     | 37     |
| CD8+CD3+             | R | -0,294 | -0,068 | -0,191 | -0,28  | -0,127 | 0,232  | -0,232 | 0,009  |
|                      | p | 0,154  | 0,697  | 0,263  | 0,098  | 0,462  | 0,173  | 0,173  | 0,959  |
|                      | N | 25     | 35     | 36     | 36     | 36     | 36     | 36     | 36     |
| CD4+CD3+             | R | -0,211 | -,331* | 0,011  | 0,03   | -0,217 | -0,024 | 0,101  | -0,245 |
|                      | p | 0,31   | 0,049  | 0,947  | 0,86   | 0,197  | 0,89   | 0,55   | 0,144  |
|                      | N | 25     | 36     | 37     | 37     | 37     | 37     | 37     | 37     |
| CD19+CD45+           | R | ,461*  | -0,239 | 0,248  | ,390*  | 0,296  | -,446* | 0,307  | -0,083 |
|                      | p | 0,031  | 0,195  | 0,171  | 0,027  | 0,1    | 0,011  | 0,088  | 0,651  |
|                      | N | 22     | 31     | 32     | 32     | 32     | 32     | 32     | 32     |
| CD19+CD5+            | R | 0,375  | -0,085 | 0,084  | 0,24   | 0,366  | -0,285 | 0,14   | 0,076  |
|                      | p | 0,125  | 0,673  | 0,669  | 0,218  | 0,055  | 0,142  | 0,476  | 0,701  |
|                      | N | 18     | 27     | 28     | 28     | 28     | 28     | 28     | 28     |

|                |   |        |        |        |        |        |        |        |        |
|----------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CD3+HLA-DR+    | R | -0,132 | -0,341 | -0,153 | -0,248 | -0,084 | 0,194  | -0,235 | -0,058 |
|                | p | 0,578  | 0,095  | 0,457  | 0,221  | 0,685  | 0,341  | 0,249  | 0,779  |
|                | N | 20     | 25     | 26     | 26     | 26     | 26     | 26     | 26     |
| CD4+vgCD3      | R | 0,062  | -,415* | 0,336  | 0,155  | -0,256 | -0,233 | 0,279  | -,418* |
|                | p | 0,814  | 0,039  | 0,1    | 0,459  | 0,216  | 0,262  | 0,176  | 0,037  |
|                | N | 17     | 25     | 25     | 25     | 25     | 25     | 25     | 25     |
| CD25+CD4+vgCD3 | R | -0,453 | -0,007 | -0,081 | -0,241 | -0,393 | ,488*  | -0,334 | 0,104  |
|                | p | 0,104  | 0,978  | 0,742  | 0,32   | 0,096  | 0,034  | 0,162  | 0,67   |
|                | N | 14     | 19     | 19     | 19     | 19     | 19     | 19     | 19     |

МКЦ – миелокарициты, ПМЦ – промиелоциты, НМЦ – нейтрофильные миелоциты, НММЦ – нейтрофильные метамиелоциты, ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы, СЯН – сегментоядерные нейтрофилы, ИСН- индекс созревания нейтрофилов, СГР – сумма клеток гранулоцитарного ростка

Как видно из таблиц, нами выявлены интересные закономерности, которые в первую очередь касались Т-клеточного звена иммунопоэза. Также нами отмечены корреляции с не Т-клеточными (CD3-) цитотоксическими популяциями клеток. Мы наблюдали, что миелокарициты находились в отрицательной корреляции средней силы со зрелыми Т-клетками (CD3+). Миелоидные предшественники отрицательно коррелировали с CD4+CD3+ лимфоцитами (промиелоциты), а также с эффекторными гранзим/перфорин содержащими популяциями клеток.

**Таблица 152** – Корреляционные связи перфорин/гранзим содержащих лимфоцитарных субпопуляций костного мозга с миелокарицитами, клетками гранулоцитарного ростка

| Популяции лимфоцитов |   | МКЦ    | ПМЦ    | НМЦ    | НММЦ   | ПЯН    | СЯН   | ИСН    | СГР   |
|----------------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|
| Perforin+CD45+       | R | -0,306 | -,675* | -0,15  | -0,25  | -0,633 | 0,367 | -0,275 | -0,25 |
|                      | p | 0,504  | 0,046  | 0,7    | 0,516  | 0,067  | 0,332 | 0,474  | 0,516 |
|                      | N | 7      | 9      | 9      | 9      | 9      | 9     | 9      | 9     |
| Perforin+CD3+        | R | -0,323 | 0,053  | -0,104 | -0,294 | -0,073 | 0,266 | -0,233 | 0,097 |
|                      | p | 0,107  | 0,768  | 0,552  | 0,086  | 0,676  | 0,122 | 0,177  | 0,581 |

|                       |   |        |         |        |         |        |        |        |        |
|-----------------------|---|--------|---------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|
|                       | N | 26     | 34      | 35     | 35      | 35     | 35     | 35     | 35     |
| Perforin+<br>CD8+     | R | 0,543  | 0,353   | 0,638  | 0,543   | -0,029 | 0,029  | 0,648  | ,886*  |
|                       | p | 0,266  | 0,492   | 0,173  | 0,266   | 0,957  | 0,957  | 0,164  | 0,019  |
|                       | N | 6      | 6       | 6      | 6       | 6      | 6      | 6      | 6      |
| Perforin+CD8-         | R | -0,398 | 0,098   | -0,001 | -,515** | -0,273 | 0,264  | -0,265 | -0,127 |
|                       | p | 0,06   | 0,595   | 0,996  | 0,002   | 0,125  | 0,138  | 0,135  | 0,483  |
|                       | N | 23     | 32      | 33     | 33      | 33     | 33     | 33     | 33     |
| Perforin+<br>CD4-     | R | -0,289 | -0,007  | 0,103  | -0,032  | -0,318 | 0,04   | 0,065  | -0,311 |
|                       | p | 0,181  | 0,971   | 0,595  | 0,871   | 0,093  | 0,838  | 0,737  | 0,101  |
|                       | N | 23     | 28      | 29     | 29      | 29     | 29     | 29     | 29     |
| Perforin+<br>CD27+    | R | -0,312 | 0,155   | -0,2   | -,422*  | 0,129  | 0,295  | -,381* | 0,239  |
|                       | p | 0,148  | 0,43    | 0,297  | 0,023   | 0,506  | 0,121  | 0,041  | 0,213  |
|                       | N | 23     | 28      | 29     | 29      | 29     | 29     | 29     | 29     |
| Granzim+<br>CD3+      | R | -0,27  | 0,049   | -0,156 | -0,331  | -0,072 | 0,316  | -0,24  | 0,185  |
|                       | p | 0,278  | 0,811   | 0,438  | 0,091   | 0,721  | 0,108  | 0,228  | 0,356  |
|                       | N | 18     | 26      | 27     | 27      | 27     | 27     | 27     | 27     |
| Granzim+CD8-          | R | -0,441 | 0,007   | -0,267 | -,481*  | -0,341 | 0,373  | -0,399 | -0,138 |
|                       | p | 0,151  | 0,977   | 0,256  | 0,032   | 0,142  | 0,105  | 0,081  | 0,561  |
|                       | N | 12     | 19      | 20     | 20      | 20     | 20     | 20     | 20     |
| Granzim+<br>CD4+      | R | -0,57  | -,706** | -0,356 | -0,246  | -0,246 | ,633** | -0,439 | 0,387  |
|                       | p | 0,053  | 0,001   | 0,135  | 0,309   | 0,31   | 0,004  | 0,06   | 0,102  |
|                       | N | 12     | 18      | 19     | 19      | 19     | 19     | 19     | 19     |
| Granzim+<br>Perforin+ | R | -0,145 | 0,23    | -0,295 | -,568** | 0,105  | ,455*  | -,507* | 0,442  |
|                       | p | 0,607  | 0,343   | 0,207  | 0,009   | 0,658  | 0,044  | 0,023  | 0,051  |
|                       | N | 15     | 19      | 20     | 20      | 20     | 20     | 20     | 20     |

МКЦ – миелокариоциты, ПМЦ – промиелоциты, НМЦ – нейтрофильные миелоциты, НММЦ – нейтрофильные метамиелоциты, ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы, СЯН – сегментоядерные нейтрофилы, ИСН- индекс созревания нейтрофилов, СГР – сумма клеток гранулоцитарного ростка

Связь средней силы отмечена для нейтрофильных метамиелоцитов с популяциями CD8-Perforin+, Perforin+CD27+клеток, CD8-Granzim+, Perforin+Granzim+ - клеток. Отметим, что для CD8-Perforin+ клеток связь была высокой значимости. Зрелые клетки гранулоцитарного ростка

(сегментоядерные нейтрофилы) положительно коррелировали с CD3+CD4+CD25+ клетками и CD8-Granzim+ лимфоцитами (связь средней силы).

Взаимосвязь с моноцитами, лимфоцитами, плазматическими клетками и клетками эритроидного ростка представлены в таблице 153, 154.

Моноциты отрицательно коррелировали с TCR гамма/дельта –Т-лимфоцитами. Умеренно сильная отрицательная связь отмечена между плазматическими клетками и CD4+Perforin+ клетками.

Полихроматофильные нормобласты имели высокодостоверную связь умеренно сильную с CD4+ Granzim+ клетками. Сумма клеток эритроидного ростка аналогично коррелировала с этой популяцией клеток.

Для В-клеточного звена отмечены следующие связи. Нейтрофильные метамиелоциты положительно коррелировали с CD19+лимфоцитами, связь средней силы, тогда как для сегментоядерных нейтрофилов имела место обратная корреляционная сила, высокой значимости. Также мы отметили, что миелокарициты связаны с CD19+лимфоцитами: прямая корреляция средней силы.

**Таблица 153** – Корреляционные связи лимфоцитарных субпопуляций костного мозга с миелокарицитами, клетками эритроидного ростка

| Популяции лимфоцитов    |   | МНЦ    | ЛФЦ   | ПЛЦ    | БЗНБ   | ПХНБ   | ОКНБ   | СЭР    | ЛЭС    |
|-------------------------|---|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CD45+                   | R | -0,057 | ,354* | -0,248 | -0,091 | 0,052  | 0,123  | 0,064  | 0,009  |
|                         | p | 0,735  | 0,029 | 0,134  | 0,588  | 0,757  | 0,463  | 0,701  | 0,955  |
|                         | N | 38     | 38    | 38     | 38     | 38     | 38     | 38     | 38     |
| TCR<br>гамма\<br>дельта | R | -,360* | 0,04  | 0,157  | 0,317  | 0,169  | 0,293  | 0,276  | -0,329 |
|                         | p | 0,047  | 0,832 | 0,399  | 0,083  | 0,365  | 0,109  | 0,133  | 0,07   |
|                         | N | 31     | 31    | 31     | 31     | 31     | 31     | 31     | 31     |
| CD25+ CD4+<br>vgCD3     | R | 0,178  | 0,208 | -0,384 | -0,216 | -0,395 | -0,135 | -0,385 | 0,211  |
|                         | p | 0,453  | 0,38  | 0,094  | 0,36   | 0,085  | 0,57   | 0,094  | 0,371  |
|                         | N | 20     | 20    | 20     | 20     | 20     | 20     | 20     | 20     |

МНЦ – моноциты, ЛФЦ – лимфоциты, ПЛЦ – плазматические клетки, БЗНБ – базофильные нормобласты, ПХНБ – полихроматофильные нормобласты, СЭР – сумма клеток эритроидного ростка, ЛЭС- лейкоэритробластическое соотношение

Считаем необходимым отметить корреляции со значимостью  $0,05 \leq p \leq 0,1$ . Миелоидные предшественники отрицательно коррелировали с эффекторными лимфоцитами (CD8+, CD3+CD8+, CD3+HLA-DR+, CD3+Granzim+).

**Таблица 154** – Корреляционные связи перфорин/гранзим содержащих лимфоцитарных субпопуляций костного мозга с миелокариоцитами, клетками гранулоцитарного ростка

| Популяции лимфоцитов  |   | МНЦ    | ЛФЦ    | ПЛЦ    | БЗНБ   | ПХНБ    | ОКНБ   | СЭР     | ЛЭС    |
|-----------------------|---|--------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|--------|
| Perforin+CD45+        | R | 0,517  | -0,012 | 0,324  | -0,235 | -0,159  | 0,287  | 0,009   | -0,049 |
|                       | p | 0,126  | 0,973  | 0,361  | 0,513  | 0,662   | 0,422  | 0,98    | 0,894  |
|                       | N | 10     | 10     | 10     | 10     | 10      | 10     | 10      | 10     |
| Perforin+CD8+         | R | 0,319  | -0,429 | -,812* | 0,213  | 0,086   | -0,203 | -0,086  | 0,086  |
|                       | p | 0,538  | 0,397  | 0,05   | 0,686  | 0,872   | 0,7    | 0,872   | 0,872  |
|                       | N | 6      | 6      | 6      | 6      | 6       | 6      | 6       | 6      |
| Perforin+CD4+         | R | -0,133 | 0,238  | -0,372 | 0,195  | -0,22   | 0,029  | -0,113  | 0,064  |
|                       | p | 0,5    | 0,223  | 0,051  | 0,32   | 0,261   | 0,884  | 0,566   | 0,745  |
|                       | N | 28     | 28     | 28     | 28     | 28      | 28     | 28      | 28     |
| Perforin+CD4-         | R | -0,014 | 0,186  | -0,034 | -0,015 | 0,234   | 0,219  | 0,301   | -0,283 |
|                       | p | 0,942  | 0,324  | 0,859  | 0,935  | 0,212   | 0,244  | 0,107   | 0,13   |
|                       | N | 30     | 30     | 30     | 30     | 30      | 30     | 30      | 30     |
| Perforin+CD27-        | R | 0,2    | 0,2    | -0,949 | -0,211 | -0,316  | -0,4   | -0,316  | 0,4    |
|                       | p | 0,8    | 0,8    | 0,051  | 0,789  | 0,684   | 0,6    | 0,684   | 0,6    |
|                       | N | 4      | 4      | 4      | 4      | 4       | 4      | 4       | 4      |
| Granzim+CD45+         | R | 0,4    | 0,4    | -0,949 | -0,738 | -0,316  | -0,2   | -0,316  | 0,2    |
|                       | p | 0,6    | 0,6    | 0,051  | 0,262  | 0,684   | 0,8    | 0,684   | 0,8    |
|                       | N | 4      | 4      | 4      | 4      | 4       | 4      | 4       | 4      |
| Granzim+CD8-          | R | 0,423  | 0,22   | 0,052  | 0,012  | -0,098  | -0,046 | -0,088  | 0,078  |
|                       | p | 0,063  | 0,352  | 0,827  | 0,961  | 0,682   | 0,847  | 0,713   | 0,744  |
|                       | N | 20     | 20     | 20     | 20     | 20      | 20     | 20      | 20     |
| Granzim+CD4+          | R | 0,044  | -0,123 | -0,254 | -0,118 | -,743** | -0,107 | -,538*  | ,551*  |
|                       | p | 0,858  | 0,617  | 0,295  | 0,631  | 0,01    | 0,664  | 0,017   | 0,014  |
|                       | N | 19     | 19     | 19     | 19     | 19      | 19     | 19      | 19     |
| Granzim+<br>Perforin+ | R | 0,098  | -0,324 | 0,08   | -0,357 | -0,401  | -,540* | -,566** | ,552*  |
|                       | p | 0,68   | 0,163  | 0,737  | 0,122  | 0,08    | 0,014  | 0,009   | 0,012  |
|                       | N | 20     | 20     | 20     | 20     | 20      | 20     | 20      | 20     |

МНЦ – моноциты, ЛФЦ – лимфоциты, ПЛЦ – плазмоциты, БЗНБ – базофильные нормобласты, ПХНБ – полихроматофильные нормобласты, СЭР – сумма клеток эритроидного ростка, ЛЭС- лейкоэритробластическое соотношение

Корреляция слабая отмечена для CD3+CD8+ и CD3+Granzim+ с нейтрофильными метамиелоцитами, и умеренно-сильная для CD8+ с нейтрофильными миелоцитам и средней силы для CD3+HLA-DR+ с промиелоцитами. Кроме того, имелась обратная связь средней силы миелокариоцитов с CD3+CD4+CD25+, цитотоксическими CD3+Perforin+, CD8-Perforin+ - клетками. Между палочкоядерными нейтрофилами и перфорин-содержащими популяциями клеток (Perforin+CD45+, CD4+Perforin+) отмечена умеренной силы обратная корреляция. Для эритроидных предшественников отмечена положительная связь с TCR гамма/дельта-лимфоцитами, но отрицательная связь средней силы с CD3+CD4+CD25+ клетками. При этом CD3+CD4+CD25+ лимфоциты отрицательно коррелировали с плазматическими клетками.

Отрицательная корреляция умеренно сильная наблюдалась между плазматическими клетками и цитотоксическими клетками Granzim+CD45+. Моноциты были взаимосвязаны с CD8-Granzim+ клетками: отрицательная корреляция средней силы.

Таким образом, на данном этапе работы выявлены важные корреляционные связи морфологически выявляемых клеточных типов костного у больных раком яичников с эффекторными лимфоцитарными популяциями, которые касались как Т-, так и В-клеточного звена.

Миелоидные предшественники находились в отрицательной корреляции средней силы с эффекторными Т- клетками, а также с цитотоксическими популяциями не Т-клеток. Отметим, что для CD8-Perforin+ клеток связь была высокой значимости. Напротив, зрелые нейтрофилы находились в положительной корреляции с Т-лимфоцитами.

Моноциты отрицательно коррелировали с TCR гамма/дельта Т-лимфоцитами. Умеренно сильная отрицательная связь отмечена между плазмоцитами и CD4+Perforin+ клетками.

Эритроидные предшественники имели высокодостоверную, умеренно сильную связь с CD4+Granzim+ клетками.

CD19+лимфоцитарные популяции положительно коррелировали со зрелыми нейтрофилами и метамиелоцитами. Связь была средней силы. С клетками эритроидного ростка корреляций не отмечено.



## ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ

### 5.1 Взаимосвязь иммунофенотипа рака шейки матки с клиническими и морфологическими показателями

Первым этапом работы стало изучение связи иммунофенотипа опухоли с клинико-морфологическими характеристиками рака шейки матки: стадия, размеры первичной опухоли, глубина инвазии, регионарное метастазирование, степень дифференцировки. Рассмотрим результаты анализа по каждому антигену, экспрессия которого была изучена на опухолевых клетках.

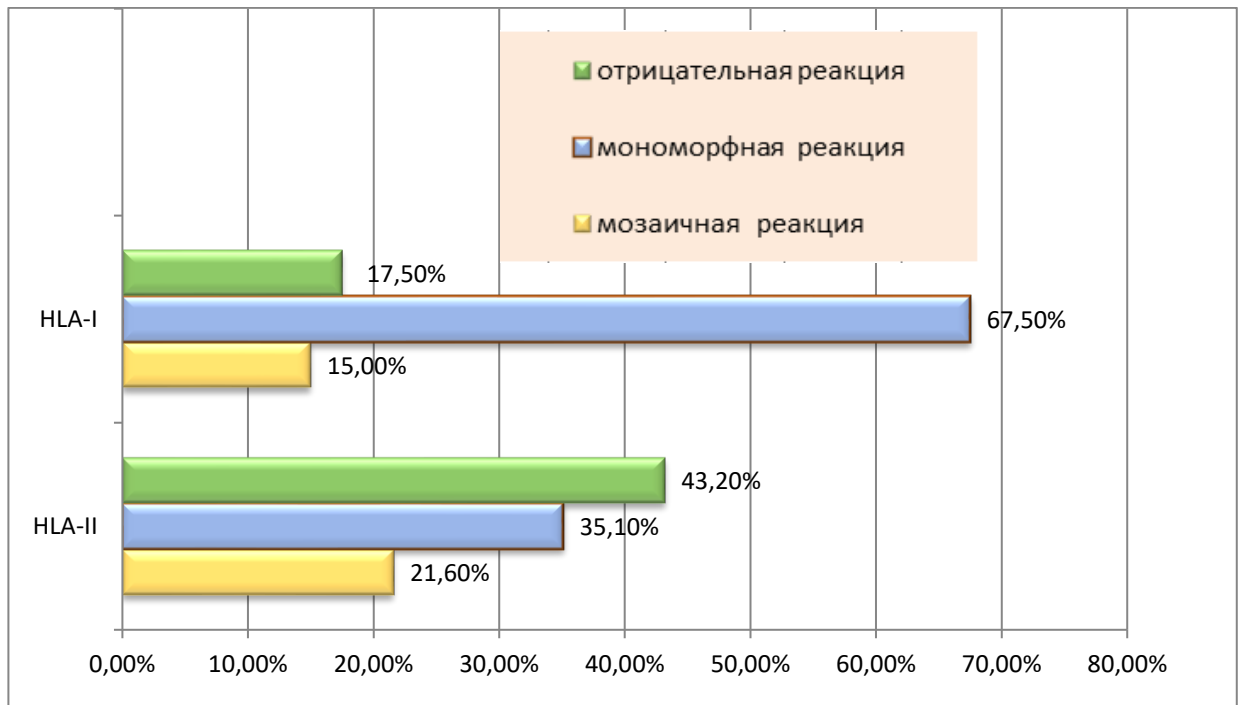
Полученные результаты анализа экспрессии молекул HLA-I и II класса (HLA-DR) клетками рака шейки матки представлены в таблице 155. При изучении экспрессии антигенных детерминант HLA-I класса установлено, что в 17,5% (n = 7) образцов была отрицательная реакция, то есть наблюдалось менее 10% антигенположительных клеток. Мономорфная экспрессия анализируемого маркера выявлена в 67,5% (n = 27) случаев, мозаичный тип реакции отмечен в 15,0% (n = 6), рисунок 80.

**Таблица 155** – Экспрессия опухолевыми клетками молекул HLA-I, HLA-DR

| Оценка экспрессии антигена | Абс. | %     |
|----------------------------|------|-------|
| <b>HLA-I</b>               |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 7    | 17,5  |
| Мозаичная реакция «-/»     | 6    | 15,0  |
| Мономорфная реакция «+»    | 27   | 67,5  |
| Всего                      | 40   | 100,0 |
| <b>HLA-DR</b>              |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 16   | 43,2  |
| Мозаичная реакция «-/»     | 8    | 21,6  |
| Мономорфная реакция «+»    | 13   | 35,1  |
| Всего                      | 37   | 100,0 |

В отношении молекулы HLA-DR наблюдалась следующая картина. Антигены более чем в половине изученных образцов экспрессировались клетками рака, что соответствовало почти 56% (n = 25), из них экспрессия HLA-DR антигена мозаичного характера отмечена в 21,6% опухолевых клеток (n = 8). Мономорфная экспрессия данного антигена опухолевыми клетками установлена в 35,1% (n = 13) образцов.

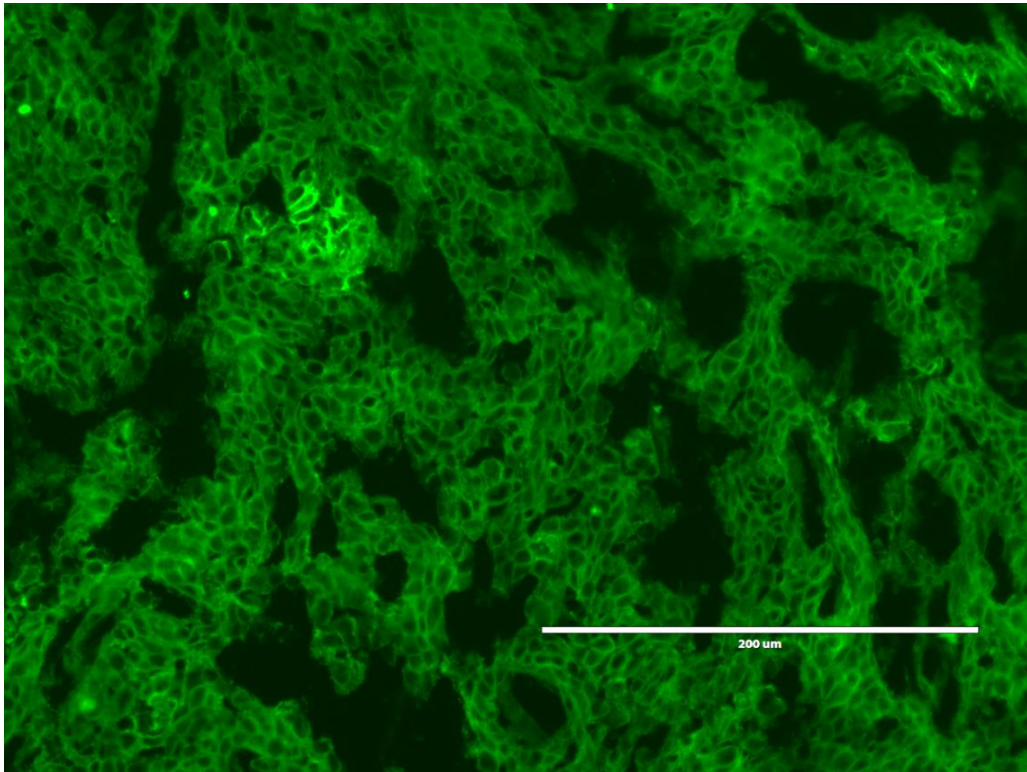
Как видим, частота экспрессии молекул HLA I и II класса несколько различалась. Большинство клеток рака шейки матки экспрессируют оба класса молекул, в два раза чаще отмечено отсутствие экспрессии молекул HLA II класса, а вот мономорфная реакция чаще наблюдалась в отношении антигенов HLA I класса. Пример экспрессии молекул HLA-I класса клетками рака шейки матки представлен на рисунке 81.



**Рисунок 80** – Экспрессия молекул HLA клетками рака шейки матки.

При анализе взаимосвязи экспрессии обеих HLA- детерминант отмечено следующее (Таблица 156). Мономорфная экспрессия обеих детерминант отмечена в 29,2% случаев. В 57,1% образцов наблюдалось отсутствие экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости I и II класса. При HLA-I негативном фенотипе чаще наблюдался мономорфный HLA-DR фенотип, чем мозаичный.

При мозаичном HLA-I фенотипе наблюдался мономорфный тип HLA-DR реакций и отсутствовал мозаичный тип. Мономорфная экспрессия молекул HLA-I в равном числе случаев (29,2%) сопровождалась мозаичным и мономорфным фенотипом по HLA-DR, в 41,7% случаев клетки рака шейки матки не экспрессировали молекулы HLA-DR. Таким образом, в половине случаев HLA-I мономорфный фенотип сопровождался экспрессией молекул HLA II класса.



**Рисунок – 81** Пример экспрессии молекул HLA-I класса клетками рака шейки матки (увеличение x 400) – зеленый цвет

**Таблица 156** – Взаимосвязь экспрессии молекул HLA-I с HLA-DR

| Тип реакции |               |   | HLA-DR        |           |             | Всего  |
|-------------|---------------|---|---------------|-----------|-------------|--------|
|             |               |   | отрицательная | мозаичная | мономорфная |        |
| HLA-I       | отрицательная | n | 4             | 1         | 2           | 7      |
|             |               | % | 57,1%         | 14,3%     | 28,6%       | 100,0% |
|             | мозаичная     | n | 2             | 0         | 4           | 6      |
|             |               | % | 33,3%         | 0,0%      | 66,7%       | 100,0% |
|             | мономорфная   | n | 10            | 7         | 7           | 24     |
|             |               | % | 41,7%         | 29,2%     | 29,2%       | 100,0% |
| $p = 0,240$ |               |   |               |           |             |        |

Мы проанализировали взаимосвязи клинической стадии, размеров первичной опухоли с HLA- иммунофенотипом рака шейки матки. Получены следующие результаты. Не установлено достоверной связи экспрессии молекул HLA I и II класса со стадией опухолевого процесса (Таблица 157). Вместе с тем считаем необходимым отметить следующее. На ранних стадиях (IA1 - IB1) рака шейки матки полное отсутствие экспрессии молекул HLA-I класса наблюдалось только в 7,1%. В 28,6% случаев опухоли лишь частично экспрессировали данный антиген, а мономорфный фенотип наблюдали в 64,3% случаев. При нарастании стадии рака шейки матки мы отметили, что доля опухолей с полной утратой

молекул HLA-I класса увеличилась и достигла 25,0%, в то же время значительно сократилась доля мозаичной экспрессии до 8,3%. При этом большинство опухолей все же стабильно экспрессировали молекулы HLA-I класса.

**Таблица 157 – Взаимосвязь HLA- фенотипа опухоли со стадией**

| Стадия     |   | Иммунофенотип |              |            | Итого   |
|------------|---|---------------|--------------|------------|---------|
|            |   | HLA- I «-»    | HLA- I «+/-» | HLA- I «+» |         |
| IA1 - IB1  | n | 1             | 4            | 9          | 14      |
|            | % | 7,10%         | 28,60%       | 64,30%     | 100,00% |
| IB2 - IIA  | n | 3             | 1            | 8          | 12      |
|            | % | 25,00%        | 8,30%        | 66,70%     | 100,00% |
| IIB - IIIC | n | 3             | 1            | 10         | 14      |
|            | % | 21,40%        | 7,10%        | 71,40%     | 100,00% |
|            |   | HLA-DR «-»    | HLA-DR «+/-» | HLA-DR «+» |         |
| IA1 - IB1  | n | 4             | 3            | 7          | 14      |
|            | % | 28,60%        | 21,40%       | 50,00%     | 100,00% |
| IB2 - IIA  | n | 4             | 3            | 4          | 11      |
|            | % | 36,40%        | 27,30%       | 36,40%     | 100,00% |
| IIB - IIIC | n | 8             | 2            | 2          | 12      |
|            | % | 66,70%        | 16,70%       | 16,70%     | 100,00% |
|            |   | $p > 0,05$    |              |            |         |

В отношении молекул HLA II класса получены несколько иные данные. HLA-DR отрицательный фенотип наблюдался при ранних стадиях — в 28,6% случаев, а при IIB - IIIC — в 66,7% (n = 8). При этом доля мозаичных и мономорфных опухолей уменьшилась: при IIB - IIIC стадии их доля составила по 16,7% против 21,4% и 50,0% при ранних стадиях (IA1 - IB1). Как можно заметить по нашим результатам, с нарастанием стадии случаи негативного HLA-DR фенотипа встречаются чаще, но достоверности не наблюдается.

Установлена достоверная связь экспрессии молекул HLA-I и II класса с размерами первичной опухоли (Таблица 158). Опухоли размером менее 4 см характеризовались почти в 100% случаев экспрессией молекул HLA I класса, тогда как опухоли размером более 4 см, почти в 30% случаев имели негативный HLA-I фенотип,  $p = 0,033$ .

Мономорфная экспрессия молекул HLA II класса при размерах опухоли менее 4 см отмечена в 50,0% образцов, а мозаичная наблюдалась лишь в 21,4% случаев. При размерах опухоли, превышающих 4 см, мы наблюдаем, что доля опухолей с мономорфным HLA-DR

фенотипом достоверно уменьшается, но при этом увеличивается количество HLA-DR негативных опухолей,  $p = 0,036$ .

**Таблица 158** – Взаимосвязь HLA-фенотипа рака шейки матки с размером первичной опухоли

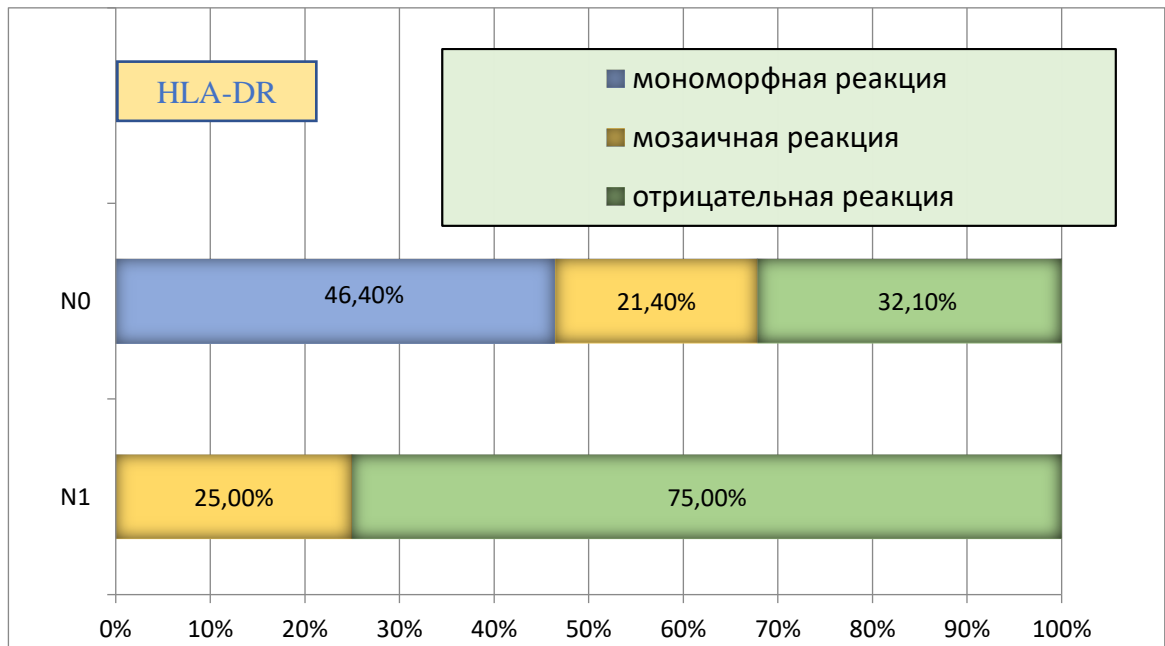
| Размер опухоли |   | Имунофенотип                |              |            | Итого   |
|----------------|---|-----------------------------|--------------|------------|---------|
|                |   | HLA- I «-»                  | HLA- I «+/-» | HLA- I «+» |         |
| меньше 4 см    | n | 1                           | 5            | 12         | 18      |
|                | % | 5,60%                       | 27,80%       | 66,70%     | 100,00% |
| больше 4 см    | n | 6                           | 1            | 15         | 22      |
|                | % | 27,30%                      | 4,50%        | 68,20%     | 100,00% |
|                |   | $p = 0,033, \chi^2 = 6,234$ |              |            |         |
|                |   | HLA-DR «-»                  | HLA-DR «+/-» | HLA-DR «+» |         |
| меньше 4 см    | n | 4                           | 3            | 7          | 14      |
|                | % | 28,60%                      | 21,40%       | 50,00%     | 100,00% |
| больше 4 см    | n | 4                           | 3            | 4          | 11      |
|                | % | 36,40%                      | 27,30%       | 36,40%     | 100,00% |
|                |   | $p = 0,036, \chi^2 = 6,401$ |              |            |         |

Следующим шагом мы оценили взаимосвязи между иммунофенотипом и регионарным метастазированием в лимфатические узлы (Таблица 159). Как видно из таблицы, в отношении молекул HLA I класса достоверных различий не обнаружено.

**Таблица 159** – Взаимосвязь экспрессии молекул HLA со статусом N

| Статус N |   | Имунофенотип               |              |            | Всего  |
|----------|---|----------------------------|--------------|------------|--------|
|          |   | HLA- I «-»                 | HLA- I «+/-» | HLA- I «+» |        |
| N0       | n | 6                          | 5            | 18         | 29     |
|          | % | 20,7%                      | 17,2%        | 62,1%      | 100,0% |
| N1       | n | 1                          | 1            | 8          | 10     |
|          | % | 10,0%                      | 10,0%        | 80,0%      | 100,0% |
|          |   | $p = 0,56$                 |              |            |        |
|          |   | HLA-DR «-»                 | HLA-DR «+/-» | HLA-DR «+» |        |
| N0       | n | 9                          | 6            | 13         | 28     |
|          | % | 32,1%                      | 21,4%        | 46,4%      | 100,0% |
| N1       | n | 6                          | 2            | 0          | 8      |
|          | % | 75,0%                      | 25,0%        | 0,0%       | 100,0% |
|          |   | $p = 0,01, \chi^2 = 6,493$ |              |            |        |

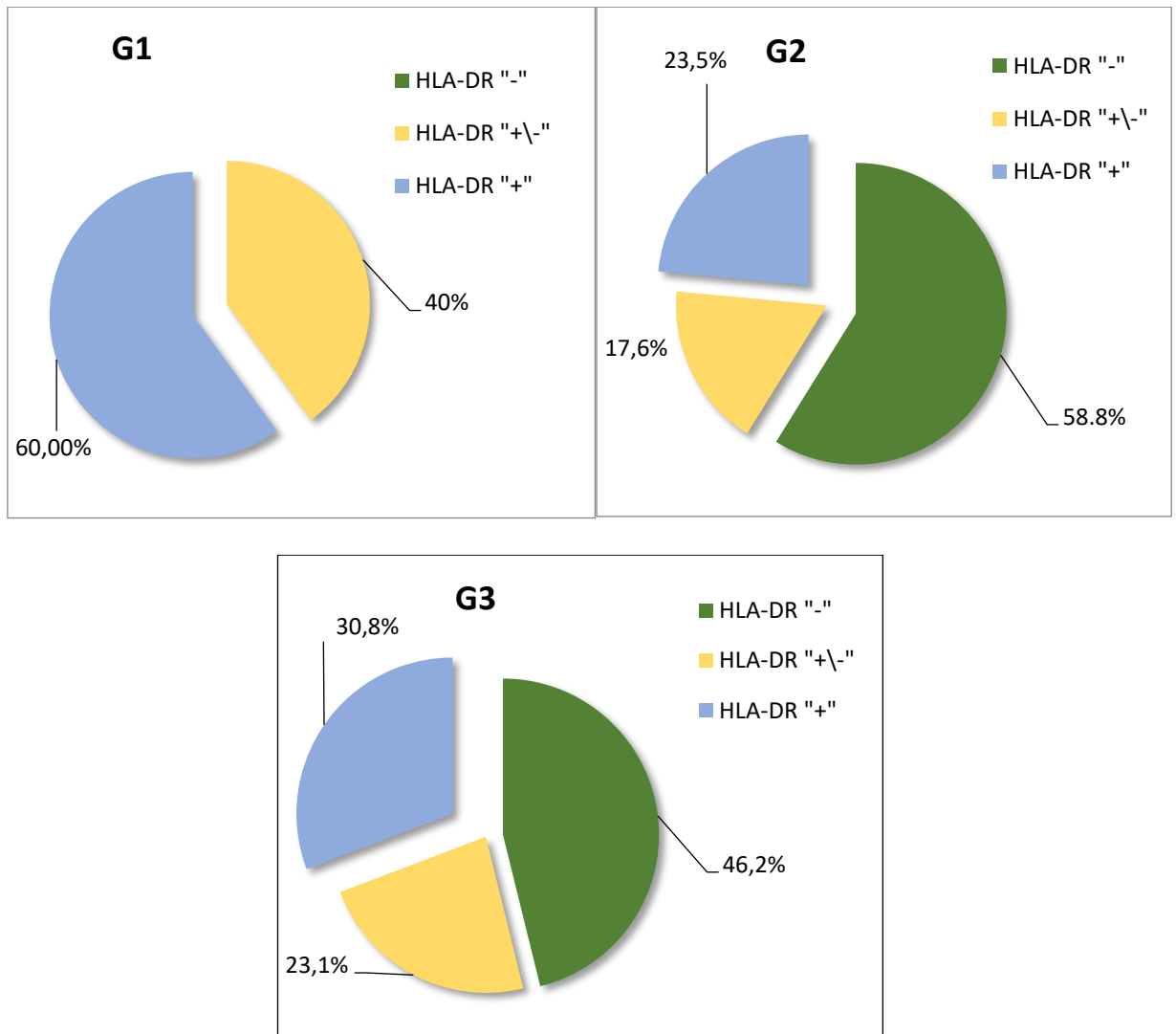
На рисунке 82 представлены результаты оценки взаимосвязи между экспрессией HLA-DR детерминанты и статусом лимфоузлов. Частота мономорфной экспрессии HLA-DR при статусе N0 достигает 46,4%, тогда как при регионарном метастазировании снижается до 0%, уступая место мозаичной экспрессии. При N1 мозаичный HLA-DR фенотип выявляется в 25,0%, связь статистически значимая ( $p = 0,01$ ). В остальных случаях мы видим только HLA-DR негативные опухоли. Дополнительно корреляционный анализ по Спирмену установил отрицательную связь средней силы:  $R = -0,421$ ,  $p = 0,011$ .



**Рисунок 82** – HLA-DR фенотип рака шейки матки в зависимости от статуса лимфоузлов

Оценить характер HLA иммунофенотипа в зависимости от гистологического вида рака шейки матки нам не удалось, поскольку преобладающим было плоскоклеточный рак, а аденокарцинома отмечена только в 3 случаях.

Оценка взаимосвязи HLA иммунофенотипа с дифференцировкой опухоли не выявила статистически значимых различий. Однако обратим внимание, что высоко дифференцированные опухоли (G1) чаще демонстрировали HLA-DR мономорфный фенотип нежели другие: 60,0% против 23,5% при умеренной (G2) и 30,8% при низкой дифференцировке (G3) (Рисунок 83). HLA-DR негативного фенотипа при высоко дифференцированных опухолях нами не наблюдалось. При опухолях умеренно дифференцированных и низкодифференцированных частота такого HLA-DR фенотипа составила 58,8% и 46,3%, соответственно.



**Рисунок 83** – Экспрессия HLA-DR на опухолевых клетках при раке шейки матки разной степени дифференцировки

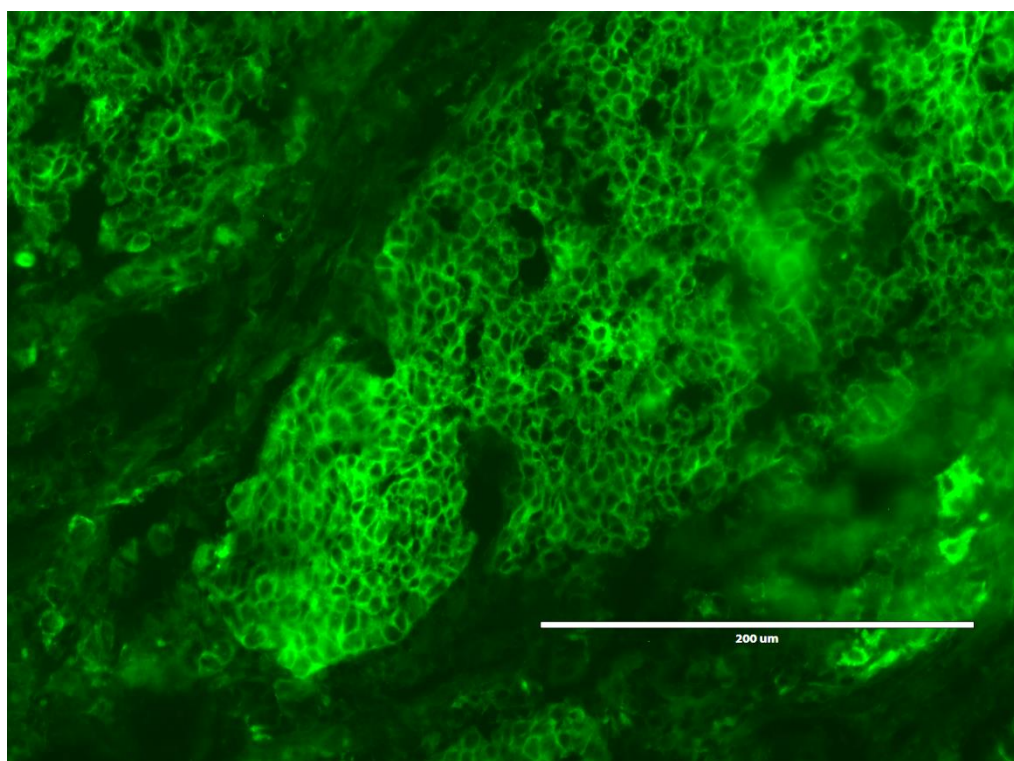
Таким образом, суммируя результаты по данному разделу работы, отметим, что частота экспрессии молекул HLA I и II класса клетками рака шейки матки несколько различалась. Большинство клеток опухоли экспрессируют оба класса молекул. Интересно отметить, что в два раза чаще имело место отсутствие экспрессии молекул HLA II класса клетками рака, а вот мономорфная реакция в опухоли чаще наблюдалась в отношении антигенов HLA I класса. Достоверной взаимосвязи между экспрессией HLA молекул I и II классов не выявлено.

Сравнение с клиническими стадиями установило, что HLA-DR отрицательный фенотип наблюдался при ранних стадиях реже, чем при IIB – IIIC, но различия не достигли статистической значимости. Установлена связь экспрессии молекул HLA-I и II класса с размерами первичной опухоли. Опухоли размером менее 4 см характеризовались почти в 100% случаев экспрессией молекул HLA I класса, тогда как опухоли размером более 4 см,

почти в 30% случаев имели негативный HLA-I фенотип ( $p = 0,033$ ). При размерах превышающих 4 см, мы наблюдаем, что доля опухолей с мономорфным HLA-DR фенотипом достоверно уменьшается ( $p = 0,036$ ).

Регионарное лимфогенное метастазирование рака шейки матки сопровождалось нарастанием доли HLA-DR негативного фенотипа ( $p = 0,01$ ). Оценка взаимосвязи HLA - иммунофенотипа с дифференцировкой опухоли не выявила статистически значимых различий. Вместе с тем необходимо отметить, что высоко дифференцированные опухоли чаще демонстрировали HLA-DR мономорфный фенотип. Указанные результаты, на наш взгляд, могут свидетельствовать о том, что прогрессия рака шейки матки определенно связана с HLA -иммунофенотипом. Еще раз подчеркнем, что HLA-DR негативные опухоли имели больший размер (также как и HLA-I -негативные), были менее дифференцированы и чаще метастазировали в регионарные лимфоузлы.

Перейдем к результатам анализа экспрессии трансферриновых рецепторов клетками рака шейки матки. В половине случаев образцы характеризовались мономорфной экспрессией TfR1 (48,7%,  $n = 19$ ), а в 15,4% ( $n = 6$ ) наблюдений клетки рака мозаично экспрессировали исследуемый антиген. В остальных случаях (35,9%,  $n = 14$ ) отмечен TfR1-негативный фенотип. Пример TfR1-мономорфной экспрессии клетками рака шейки матки представлен на рисунке 84.



**Рисунок 84** – Экспрессия трансферриновых рецепторов (TfR1) клетками рака шейки матки – зеленый цвет. Мономорфная реакция. Увеличение  $\times 400$



Далее мы оценили, есть ли связь между экспрессией клетками рака шейки матки HLA-мономорфных детерминант и экспрессией опухолью трансферриновых рецепторов. Установлена взаимосвязь с экспрессией молекул HLA I класса. Интересно, что TfR1-мономорфный фенотип часто был ассоциирован с HLA-I мономорфной экспрессией, что наблюдалось нами в 84,2% случаев. TfR1- негативный фенотип в равном числе случаев сочетался с HLA-I негативным и мономорфным фенотипом опухоли (Таблица 160). Признаки были достоверно связаны,  $p = 0,03$ .

Любопытно, что в возрасте старше 50 лет частота мономорфного фенотипа встречалась практически в два раза чаще (58,3% против 33,3%),  $p = 0,19$ .

**Таблица 160** – Экспрессии трансферринового рецептора клетками рака шейки матки и ее взаимосвязь с экспрессией молекул HLA-I

| Экспрессия TfR1,<br>вид реакции |   | Вид реакции      |           |             | Итого  |
|---------------------------------|---|------------------|-----------|-------------|--------|
|                                 |   | Отрицательная    | Мозаичная | Мономорфная |        |
|                                 |   | Экспрессия HLA-I |           |             |        |
| Отрицательная                   | n | 5                | 4         | 5           | 14     |
|                                 | % | 35,7%            | 28,6%     | 35,7%       | 100,0% |
| Мозаичная                       | n | 0                | 1         | 5           | 6      |
|                                 | % | 0,0%             | 16,7%     | 83,3%       | 100,0% |
| Мономорфная                     | n | 2                | 1         | 16          | 19     |
|                                 | % | 10,5%            | 5,3%      | 84,2%       | 100,0% |
| $p = 0,025, \chi^2 = 10,115$    |   |                  |           |             |        |

Изучение TfR1 фенотипа рака шейки матки в зависимости от клинической стадии выявило следующие различия (Таблица 161). Как видно из таблицы, при начальных стадиях рака шейки матки 50,0% опухолей демонстрировали TfR1- негативный фенотип, 14,3% случаев были мозаичного фенотипа, а 35,7% – мономорфного фенотипа. При стадиях IB2 - ПА мы наблюдали нарастание доли TfR1- мономорфных опухолей, которая увеличилась более чем в два раза, составив 80,0% случаев. Экспрессия трансферриновых рецепторов на ПВ - IV стадиях была схожа с таковой на начальных стадиях ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

Далее мы проанализировали TfR1 иммунофенотип опухоли в зависимости от регионарного метастазирования рака шейки матки. Установлена связь экспрессии трансферриновых рецепторов со статусом N, что представлено в таблице 162. Интересно, что при отсутствии регионарного метастазирования частота TfR1 мономорфного фенотипа была больше, чем при метастазах в лимфатических узлах, составив, соответственно, 57,1% против 20,0%. Различия были маргинальной значимости, ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

**Таблица 161** – Взаимосвязь TfR1 фенотипа рака шейки матки со стадией

| Статус N                  |   | Иммунофенотип |            |          | Всего  |
|---------------------------|---|---------------|------------|----------|--------|
|                           |   | TfR1 «->»     | TfR1«+/->» | TfR1 «+» |        |
| IA1 - IB1                 | n | 7             | 2          | 5        | 14     |
|                           | % | 50,0%         | 14,3%      | 35,7%    | 100,0% |
| IB2 - IIA                 | n | 1             | 1          | 8        | 10     |
|                           | % | 10,0%         | 10,0%      | 80,0%    | 100,0% |
| IIB - IIC                 | n | 6             | 3          | 5        | 14     |
|                           | % | 42,9%         | 21,4%      | 35,7%    | 100,0% |
| $p = 0,1, \chi^2 = 7,239$ |   |               |            |          |        |

**Таблица 162** – Взаимосвязь TfR1 фенотипа рака шейки матки со статусом N

| Статус N                   |   | Иммунофенотип |            |          | Всего  |
|----------------------------|---|---------------|------------|----------|--------|
|                            |   | TfR1 «->»     | TfR1«+/->» | TfR1 «+» |        |
| N0                         | n | 9             | 3          | 16       | 28     |
|                            | % | 32,1%         | 10,7%      | 57,1%    | 100,0% |
| N1                         | n | 5             | 3          | 2        | 10     |
|                            | % | 50,0%         | 30,0%      | 20,0%    | 100,0% |
| $p = 0,09, \chi^2 = 4,520$ |   |               |            |          |        |

Оценить характер TfR1- иммунофенотипа в зависимости от гистологического вида рака шейки матки нам не удалось, поскольку преобладающим было плоскоклеточный рак, а аденокарцинома отмечена только в 3 случаях.

Не выявлено достоверной взаимосвязи между степенью дифференцировки рака шейки матки и TfR1- фенотипом опухоли. Результаты анализа представлены в таблице 163.

**Таблица 163** – Взаимосвязь TfR1 со степенью дифференцировки рака шейки матки

| Степень дифференцировки опухоли |   | Иммунофенотип |            |          | Всего  |
|---------------------------------|---|---------------|------------|----------|--------|
|                                 |   | TfR1 «->»     | TfR1«+/->» | TfR1 «+» |        |
| G1                              | n | 3             | 0          | 2        | 5      |
|                                 | % | 60,0%         | 0,0%       | 40,0%    | 100,0% |
| G2                              | n | 7             | 3          | 8        | 18     |
|                                 | % | 38,9%         | 16,7%      | 44,4%    | 100,0% |
| G3                              | n | 3             | 3          | 8        | 14     |
|                                 | % | 21,4%         | 21,4%      | 57,1%    | 100,0% |
| $p > 0,05$                      |   |               |            |          |        |

Как видно из таблицы, частота TfR1- мономорфного фенотипа при высоко дифференцированном раке и умеренно дифференцированном раке составила 57,1% и 44,4%, соответственно. При этом в два раза чаще мы отмечали TfR1-негативный фенотип при умеренной дифференцировке опухоли в сравнении с низко дифференцированными опухолями, и в три раза чаще при высоко дифференцированных опухолях (38,9%, 60,0%). Мономорфный фенотип несколько реже встречался при высоко дифференцированном раке в сравнении с умеренно дифференцированными опухолями.

Таким образом, на данном этапе работы установлено, что мономорфной экспрессией TfR1 характеризовалась половина образцов рака шейки матки. TfR1- негативный фенотип опухоли отмечен в 35,9% случаев. Важно отметить, что TfR1- мономорфный фенотип часто был ассоциирован с мономорфной экспрессией молекул HLA I класса клетками рака шейки матки, что отмечено в 84,2% случаев. TfR1- негативный фенотип в равном числе случаев сочетался с HLA-I негативным и мономорфным фенотипом опухоли ( $p = 0,03$ ).

Связи с клинической стадией экспрессии трансферриновых рецепторов опухолевыми клетками не выявлено. При этом на начальных стадиях рака шейки матки 50,0% опухолей демонстрировали TfR1- негативный фенотип. При отсутствии регионарного лимфогенного метастазирования частота TfR1 мономорфного фенотипа опухоли была больше, чем при метастазах в лимфатические узлы ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

Мономорфный TfR1- фенотип опухоли несколько реже встречался при высоко дифференцированном раке в сравнении с низко дифференцированным, чаще наблюдался TfR1- негативный фенотип.

## **5.2 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с клиническими и морфологическими показателями при раке шейки матки**

Изучение интратуморальных реакций нами проводилось отдельно в паренхиме и стромальном компоненте опухоли. В этом разделе мы сразу дадим характеристику и паренхиматозного, и стромального компонентов опухоли, а затем уже приступим к анализу взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций в паренхиме опухоли с клинико-морфологическими показателями.

Итак, рассмотрим результаты оценки лимфоидной инфильтрации в паренхиме опухоли. Первым этапом выполнена оценка выраженности общей лейкоцитарной инфильтрации на основании количества CD45+ лимфоцитов в опухолевых срезах ( $n = 38$ ). В целом паренхима опухоли была слабо инфильтрирована CD45+ клетками, лишь в 7,9% ( $n = 3$ ) случаев инфильтрация в опухоли была умеренной – клетки располагались в виде очагов

(зон) (Таблица 164). В 42,1% случаев в опухоли наблюдались отдельные группы иммунных клеток. В остальных случаях мы наблюдали либо единичные клетки в поле зрения, либо отсутствие реакции.

**Таблица 164** – Лимфоидная инфильтрация первичной опухоли при раке шейки матки

| Вид интрамуральной иммунной реакции       | Количество больных |      |        |      |
|---|--------------------|------|--------|------|
|   | n                  | %    | n      | %    |
| <b>CD45</b>                               | паренхима          |      | строма |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 19                 | 50,0 | 1      | 2,6  |
| отдельные группы клеток                   | 16                 | 42,1 | 11     | 28,9 |
| умеренная инфильтрация                    | 3                  | 7,9  | 13     | 34,2 |
| выраженная инфильтрация                   | -                  | -    | 13     | 34,2 |
| <b>CD38</b>                               |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 31                 | 83,7 | 15     | 40,5 |
| отдельные группы клеток                   | 6                  | 16,3 | 19     | 51,3 |
| умеренная инфильтрация                    | -                  | -    | 3      | 8,2  |
| <b>D11+</b>                               |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 21                 | 55,2 | 4      | 10,2 |
| отдельные группы клеток                   | 13                 | 34,2 | 21     | 55,6 |
| умеренная инфильтрация                    | 4                  | 10,6 | 13     | 34,2 |
| <b>CD3+</b>                               |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 22                 | 57,8 | 8      | 21,0 |
| отдельные группы клеток                   | 15                 | 39,4 | 11     | 29,0 |
| умеренная степень инфильтрации            | 1                  | 2,8  | 11     | 29,0 |
| выраженная инфильтрация                   | -                  | -    | 8      | 21,0 |
| <b>CD4+</b>                               |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 24                 | 63,1 | 7      | 18,4 |
| отдельные группы клеток                   | 13                 | 34,2 | 13     | 34,2 |
| умеренная инфильтрация                    | 1                  | 2,7  | 11     | 29,0 |
| выраженная инфильтрация                   | -                  | -    | 7      | 18,4 |
| <b>CD8+</b>                               |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 31                 | 81,5 | 12     | 31,1 |
| отдельные группы клеток                   | 6                  | 15,7 | 24     | 63,6 |
| умеренная инфильтрация                    | 1                  | 2,8  | 2      | 5,3  |
| <b>CD20+</b>                              |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 36                 | 94,7 | 29     | 76,4 |
| отдельные группы клеток                   | 1                  | 2,6  | 8      | 21,0 |
| умеренная/выраженная степень инфильтрации | 1                  | 2,6  | 1      | 2,6  |

Плазмоцитарной инфильтрации паренхимы в большинстве образцов опухоли (83,7%, n = 31) не отмечалось. Слабая инфильтрация опухоли в виде отдельных групп клеток установлена в 16,3% случаев.

Гистиоциты инфильтрировали паренхиму преимущественно слабо. В 34,2% (n = 13) гистиоцитарная инфильтрация была представлена в виде группы антиген-позитивных клеток, а в 10,6% наблюдений имелись скопления гистиоцитов в виде очагов (зон). В остальных случаях мы наблюдали либо единичные клетки в поле зрения, либо отсутствие реакции.

Изучение популяционного состава инфильтрирующей опухоль лимфоцитов, выявило следующее. Т-клеточные интрамуральные реакции составили 40,0% (n = 16), из них в 39,4 случаев мы наблюдали преимущественно слабый тип реакции – в поле зрения встречались отдельные группы клеток.

Пропорция цитотоксических CD8+ клеток в опухоли составила 28,5%, что вдвое меньше, чем CD4+ клеток. Умеренная инфильтрация CD8+ и CD4+ клетками отмечена нами только в 1 случае. Субпопуляции как хелперных, так и цитотоксических клеток были представлены в виде отдельных антиген-позитивных групп. Мы видим, что уровень цитотоксических реакций в опухоли низкий.

В-клеточной инфильтрации (CD20+) в опухоли не выявлено, либо отмечены единичные клетки. В двух случаях выявлены в опухоли отдельные группы клеток и выраженная инфильтрация.

Рассмотрим теперь интрамуральные реакции стромального компонента опухоли.

В строме в целом наблюдались более выраженные как общелейкоцитарные, так и Т-клеточные реакции. И это хорошо согласуется с данными литературы. Общелейкоцитарные реакции в сумме составили 98,0%, тогда как в паренхиме всего 50,0%. Это совершенно четко свидетельствует о том, что стромальный компонент, по-видимому, играет немаловажную роль в реализации противоопухолевого иммунного ответа. Так, выраженная CD45+ инфильтрация, которой мы не наблюдали в паренхиме, в строме составила 34,2%, а доля умеренной была практически в 4,5 раза больше.

Плазмоцитарная реакция стромы была также более выражена, что отмечено в 59,5% случаев. Умеренная гистиоцитарная инфильтрация в строме составила 34,2%, что в три раза больше, чем в паренхиме.

Частота Т-клеточных реакций умеренного и выраженного типа в строме составила почти 50%, тогда как в паренхиме мы их практически не наблюдали. Хорошо заметны различия в уровне CD4- Т-клеточных стромальных реакций, частота которых в строме была значительно выше по сравнению с паренхимой: 29,0% и 18,4%, соответственно, для умеренных и выраженных. Также увеличен был уровень цитотоксических реакций,

практически в четыре раза: отдельные группы клеток встречались в 63,6 случаев против 15,7% в паренхиме. Кроме того, в строме доля В-клеточных реакций также была больше.

Как мы видим, интратуморальные иммунные реакции в строме и в опухоли качественно различаются.

Интратуморальные иммунные реакции паренхимы опухоли были взаимосвязаны между собой, о чем свидетельствовали результаты корреляционного анализа по Спирмену (Таблица 165). Положительные корреляции средней силы выявлены между общим уровнем лейкоцитарной инфильтрации и Т-клеточными CD3+ реакциями ( $R = 0,426$ ), CD4-, цитотоксическими CD8-клеточными реакциями,  $R = 0,327$  и  $R = 0,339$ , соответственно. Уровень CD3-Т-клеточной инфильтрации был положительно взаимосвязан с числом CD4+ клеток ( $R = 0,896$ ) и CD8+ клеток ( $R = 0,557$ ), а также коррелировал с В-клеточными реакциями (CD20+),  $R = 0,276$ . CD4-интратуморальные реакции имели связь средней силы с выраженностью CD8+, а также с CD20+ инфильтрацией, но маргинальной значимости. Кроме того, уровень общелейкоцитарной инфильтрации положительно коррелировал с количеством гистиоцитов ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

**Таблица 165** – Корреляционные связи интратуморальных иммунных реакций в паренхиме опухоли

| Реакции паренхимы |   | CD45+  | CD3+   | CD4+   | CD8+   | CD20+  | CD38+  | D11+   |
|-------------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CD45+.            | R | 1,000  | ,426** | ,327*  | ,339*  | 0,236  | -0,135 | 0,265  |
|                   | p |        | 0,008  | 0,045  | 0,037  | 0,154  | 0,426  | 0,108  |
|                   | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38     | 37     | 38     |
| CD3+              | R | ,426** | 1,000  | ,896** | ,557** | 0,276  | -0,214 | 0,090  |
|                   | p | 0,008  |        | 0,000  | 0,000  | 0,093  | 0,204  | 0,590  |
|                   | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38     | 37     | 38     |
| CD4+              | R | ,327*  | ,896** | 1,000  | ,341*  | 0,309  | -0,170 | 0,081  |
|                   | p | 0,045  | 0,000  |        | 0,036  | 0,059  | 0,314  | 0,629  |
|                   | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38     | 37     | 38     |
| CD8+              | R | ,339*  | ,557** | ,341*  | 1,000  | -0,112 | -0,194 | -0,018 |
|                   | p | 0,037  | 0,000  | 0,036  |        | 0,503  | 0,251  | 0,915  |
|                   | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38     | 37     | 38     |

Также присутствовали корреляции между стромальными лимфоидными реакциями (Таблица 166). Положительная корреляция средней силы отмечена между общелейкоцитарной реакцией и пропорцией зрелых Т CD3+ клеток,  $R = 0,566$ , а также CD4+, CD8+, CD20+ инфильтрацией, высокой значимости. Кроме того, CD3- Т-клеточные реакции были высокодостоверно взаимосвязаны с выраженностью CD4+ ( $R = 0,738$ , умеренно сильная связь) и CD8+ инфильтрацией стромы ( $R = 0,679$ ). Вместе с тем, положительная связь высокой значимости имела место между Т-клеточными реакциями и гистиоцитами ( $R = 0,610$ ). Гистиоцитарная инфильтрация в свою очередь была связана с цитотоксическими CD8+ реакциями и CD4+ инфильтрацией стромы. Имелась положительная корреляция между CD4+ инфильтрацией и уровнем В-клеточных реакций CD20 ( $R = 0,443$ ).

**Таблица 166** – Корреляционные связи интратуморальных иммунных реакций стромы опухоли

| Реакции стромы |   | CD45+  | CD3+   | CD4+   | CD8+   | CD20+  | CD38+ | D11+   |
|----------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|
| CD45+          | R | 1.000  | ,566** | ,531** | ,513** | ,610** | 0,186 | 0,251  |
|                | p |        | 0,000  | 0,001  | 0,001  | 0,000  | 0,272 | 0,128  |
|                | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38     | 37    | 38     |
| CD3+           | R | ,566** | 1      | ,738** | ,679** | ,377*  | 0,188 | ,610** |
|                | p | 0,000  |        | 0,000  | 0,000  | 0,020  | 0,266 | 0,000  |
|                | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38     | 37    | 38     |
| CD4+           | R | ,531** | ,738** | 1      | ,418** | ,443** | 0,253 | ,538** |
|                | p | 0,001  | 0,000  |        | 0,009  | 0,005  | 0,131 | 0,000  |
|                | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38     | 37    | 38     |
| CD8+           | R | ,513** | ,679** | ,418** | 1      | 0,262  | 0,133 | ,371*  |
|                | p | 0,001  | 0,000  | 0,009  |        | 0,112  | 0,431 | 0,022  |
|                | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38     | 37    | 38     |

Мы видим, что существуют определенные закономерности формирования клеточных иммунных реакций как в опухоли, так и в ее стромальном компоненте, что, безусловно, влияет на характер развития опухоли.

Следующим этапом мы рассмотрим анализ связи лимфоидной инфильтрации паренхимы опухоли и клинико-морфологическими параметрами. Этот анализ позволил выявить ряд интересных закономерностей.

Во-первых, мы отметили, что интенсивность CD3+ местных иммунных реакций была менее выражена при ранних стадиях рака шейки матки, различия были маргинальной значимости (Таблица 167). С увеличением стадии частота CD3+ реакций нарастала: слабая реакция (имелись отдельные группы клеток) отмечена в 26,7 – 33,3% – 40,0% случаев, соответственно, при IA1-IB1 – IB2-IIA – IIB-IIIC стадиях. По-видимому, это было связано с изменением пропорции CD4+ клеток, поскольку мы видим схожие результаты анализа,  $p = 0,02$ . При этом следует обратить внимание, что аналогичная картина наблюдалась в отношении цитотоксических реакций, но недостоверно.

**Таблица 167** – Выраженность CD3+, CD4+ инфильтрации в паренхиме в зависимости от стадии рака шейки матки

| Стадии     |   | Вид интрагуморальной иммунной реакции |              |        |           | Всего |
|------------|---|---------------------------------------|--------------|--------|-----------|-------|
|            |   | Негативная                            | Един. клетки | Слабая | Умеренная |       |
|            |   | CD3, $p = 0,07$ , $\chi^2 = 10,301$   |              |        |           |       |
| IA1 - IB1  | n | 2                                     | 8            | 4      | 0         | 14    |
|            | % | 25,0%                                 | 57,1%        | 26,7%  | 0,0%      | 36,8% |
| IB2 - IIA  | n | 1                                     | 5            | 5      | 0         | 11    |
|            | % | 12,5%                                 | 35,7%        | 33,3%  | 0,0%      | 28,9% |
| IIB - IIIC | n | 5                                     | 1            | 6      | 1         | 13    |
|            | % | 62,5%                                 | 7,1%         | 40,0%  | 100,0%    | 34,2% |
|            |   | CD4, $p = 0,02$ , $\chi^2 = 12,959$   |              |        |           |       |
| IA1 - IB1  | n | 2                                     | 9            | 3      | 0         | 14    |
|            | % | 22,2%                                 | 60,0%        | 23,1%  | 0,0%      | 36,8% |
| IB2 - IIA  | n | 1                                     | 5            | 5      | 0         | 11    |
|            | % | 11,1%                                 | 33,3%        | 38,5%  | 0,0%      | 28,9% |
| IIB - IIIC | n | 6                                     | 1            | 5      | 1         | 13    |
|            | % | 66,7%                                 | 6,7%         | 38,5%  | 100,0%    | 34,2% |

Вместе с тем, важно подчеркнуть, что при укрупненном анализе (сравнение двух групп «негативная/единичные» клетки и «слабая/умеренная») мы видим, что различия между признаками недостоверны, хотя мы наблюдаем увеличение частоты инфильтрации с нарастанием распространенности процесса (Таблица 168).

**Таблица 168** – Взаимосвязь CD3+, CD4+ инфильтрации паренхимы и стадии рака шейки матки

|           |   | CD3+ инфильтрация, $p = 0,392$ |       | Всего  |
|-----------|---|--------------------------------|-------|--------|
| Стадия    |   | нет                            | да    |        |
| IA1 - IB1 | n | 10                             | 4     | 14     |
|           | % | 71,4%                          | 28,6% | 100,0% |



|                               |   |       |       |        |
|-------------------------------|---|-------|-------|--------|
| IB2 - ПА                      | n | 6     | 5     | 11     |
|                               | % | 54,5% | 45,5% | 100,0% |
| IBB - ИИС                     | n | 6     | 7     | 13     |
|                               | % | 46,2% | 53,8% | 100,0% |
| CD4+ инфильтрация, $p = 0,30$ |   |       |       |        |
| IA1 - IB1                     | n | 11    | 3     | 14     |
|                               | % | 78,6% | 21,4% | 100,0% |
| IB2 - ПА                      | n | 6     | 5     | 11     |
|                               | % | 54,5% | 45,5% | 100,0% |
| IBB - ИИС                     | n | 7     | 6     | 13     |
|                               | % | 53,8% | 46,2% | 100,0% |

Во-вторых, мы выявили связь интратуморальных иммунных реакций паренхимы с размером первичной опухоли (Таблица 169). Опухоли размером менее 4 см сопровождалась CD3+ -инфильтрацией единичными клетками, что отмечено в 55,6% случаев, тогда как опухоли размером более 4 см преимущественно имели слабый тип инфильтрации (50,0%),  $p = 0,1$ . Мы видим, что Т-клеточные реакции усиливались. В частности, частота слабых CD4 -реакций наблюдалась в два раза чаще, 22,2% и 45,0%,  $p = 0,05$ . При этом частота цитотоксических реакций, хотя и недостоверно, увеличилась почти в пять раз: 5,6% и 25,5%. Противоположные данные наблюдались для плазмочитарных реакций. Частота слабых реакций была выше при небольших размерах опухоли: 23,5% против 10,0%. Подобные данные мы наблюдали и для гистиоцитарных реакций. Нельзя не подчеркнуть, что в целом результаты схожи с анализом, проведенным для клинических стадий.

**Таблица 169** – Взаимосвязь выраженности интратуморальной иммунной реакции паренхимы с размером первичной опухоли

| Размер опухоли, см                 |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |              |        |           | Всего  |
|------------------------------------|---|---------------------------------------|--------------|--------|-----------|--------|
|                                    |   | Негативная                            | Един. клетки | Слабая | Умеренная |        |
|                                    |   | CD3, $p = 0,10$ , $\chi^2 = 5,648$    |              |        |           |        |
| меньше 4 см                        | n | 3                                     | 10           | 5      | 0         | 18     |
|                                    | % | 16,7%                                 | 55,6%        | 27,8%  | 0,0%      | 100,0% |
| больше 4 см                        | n | 5                                     | 4            | 10     | 1         | 20     |
|                                    | % | 25,0%                                 | 20,0%        | 50,0%  | 5,0%      | 100,0% |
| CD4, $p = 0,05$ , $\chi^2 = 7,104$ |   |                                       |              |        |           |        |
| меньше 4 см                        | n | 3                                     | 11           | 4      | 0         | 18     |
|                                    | % | 16,7%                                 | 61,1%        | 22,2%  | 0,0%      | 100,0% |
| больше 4 см                        | n | 6                                     | 4            | 9      | 1         | 20     |
|                                    | % | 30,0%                                 | 20,0%        | 45,0%  | 5,0%      | 100,0% |

|             |   | CD8, p = 0,21, $\chi^2 = 3,865$  |       |       |      |        |
|-------------|---|----------------------------------|-------|-------|------|--------|
| меньше 4 см | n | 4                                | 12    | 1     | 1    | 18     |
|             | % | 22,2%                            | 66,7% | 5,6%  | 5,6% | 100,0% |
| больше 4 см | n | 5                                | 10    | 5     | 0    | 20     |
|             | % | 25,0%                            | 50,0% | 25,0% | 0,0% | 100,0% |
|             |   | CD38, p = 0,36, $\chi^2 = 2,021$ |       |       |      |        |
| меньше 4 см | n | 10                               | 3     | 4     | -    | 17     |
|             | % | 58,8%                            | 17,6% | 23,5% | -    | 100,0% |
| больше 4 см | n | 16                               | 2     | 2     | -    | 20     |
|             | % | 80,0%                            | 10,0% | 10,0% | -    | 100,0% |

При сравнении двух групп реакций «негативная/единичные клетки» и «слабая/умеренная» мы видим, что частота CD3+ -инфильтрации выше практически в два раза при размерах опухоли более 4 см, различия близки к достоверным (Таблица 170). Схожая картина наблюдается для CD4+ клеточных реакций. CD8+ инфильтрация также чаще в два раза отмечалась при размерах опухоли, превышающих 4 см. Несмотря на отсутствие статистической значимости, данные результаты не стоит игнорировать. Напомним, что в целом в паренхиме иммунные реакции были менее выражены, и, возможно, именно стромальный компонент опухоли имеет ведущее значение.

**Таблица 170** – Взаимосвязь Т-клеточной интратуморальной иммунной реакции паренхимы с размером первичной опухоли

|                    |   | CD3+ инфильтрация, p = 0,08, $\chi^2 = 2,880$ |        | Всего   |
|--------------------|---|---|--------|---------|
| Размер опухоли, см |   | Нет   | Да     |         |
| меньше 4 см        | n | 13  | 5      | 18      |
|                    | % | 72,20%  | 27,80% | 100,00% |
| больше 4 см        | n | 9   | 11     | 20      |
|                    | % | 45,00%  | 55,00% | 100,00% |
|                    |   | CD4+ инфильтрация, p = 0,07, $\chi^2 = 3,142$ |        |         |
| меньше 4 см        | n | 14  | 4      | 18      |
|                    | % | 77,80%  | 22,20% | 100,00% |
| больше 4 см        | n | 10  | 10     | 20      |
|                    | % | 50,00%  | 50,00% | 100,00% |
|                    |   | CD8+ инфильтрация, p = 0,2                    |        |         |
| меньше 4 см        | n | 16  | 2      | 18      |
|                    | % | 88,90%  | 11,10% | 100,00% |
| больше 4 см        | n | 15  | 5      | 20      |
|                    | % | 75,00%  | 25,00% | 100,00% |

В-третьих, нами установлена достоверная связь интратуморальных иммунных реакций с метастазированием в регионарные лимфатические узлы. Данные представлены в таблице 171. Частота местных иммунных реакций при статусе N0 выше, что демонстрирует нам выраженная доля общелейкоцитарной инфильтрации по CD45, но маргинальной значимости. В отношении Т-клеточной инфильтрации так однозначно сказать нельзя. CD4-реакции несколько чаще наблюдались при N0,  $p = 0,015$ , тогда как CD8-реакции – при N1 ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

При регионарном лимфогенном метастазировании полное отсутствие лимфоидной инфильтрации нами отмечалось в 22,2% случаев по CD45, в 44,4% – по CD3, в 55,6% – по CD4 и в 44,4% – по CD8.

**Таблица 171** – Взаимосвязь вида интратуморальной иммунной реакции паренхимы со статусом N

| Статус N                             |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |              |        |           | Всего  |
|--------------------------------------|---|---------------------------------------|--------------|--------|-----------|--------|
|                                      |   | Негативная                            | Един. клетки | Слабая | Умеренная |        |
| CD45, $p = 0,1$ , $\chi^2 = 6,012$   |   |                                       |              |        |           |        |
| N0                                   | n | 1                                     | 11           | 14     | 2         | 28     |
|                                      | % | 3,6%                                  | 39,3%        | 50,0%  | 7,1%      | 100,0% |
| N1                                   | n | 2                                     | 5            | 1      | 1         | 9      |
|                                      | % | 22,2%                                 | 55,6%        | 11,1%  | 11,1%     | 100,0% |
| CD3, $p = 0,04$ , $\chi^2 = 8,285$   |   |                                       |              |        |           |        |
| N0                                   | n | 4                                     | 13           | 11     | 0         | 28     |
|                                      | % | 14,3%                                 | 46,4%        | 39,3%  | 0,0%      | 100,0% |
| N1                                   | n | 4                                     | 1            | 3      | 1         | 9      |
|                                      | % | 44,4%                                 | 11,1%        | 33,3%  | 11,1%     | 100,0% |
| CD4, $p = 0,015$ , $\chi^2 = 10,803$ |   |                                       |              |        |           |        |
| N0                                   | n | 4                                     | 14           | 10     | 0         | 28     |
|                                      | % | 14,3%                                 | 50,0%        | 35,7%  | 0,0%      | 100,0% |
| N1                                   | n | 5                                     | 1            | 2      | 1         | 9      |
|                                      | % | 55,6%                                 | 11,1%        | 22,2%  | 11,1%     | 100,0% |
| CD8, $p = 0,06$ , $\chi^2 = 6,499$   |   |                                       |              |        |           |        |
| N0                                   | n | 5                                     | 19           | 3      | 1         | 28     |
|                                      | % | 17,9%                                 | 67,9%        | 10,7%  | 3,6%      | 100,0% |
| N1                                   | n | 4                                     | 2            | 3      | 0         | 9      |
|                                      | % | 44,4%                                 | 22,2%        | 33,3%  | 0,0%      | 100,0% |

Проведя укрупненный анализ (сравнение двух групп «негативная/единичные клетки» и «слабая/умеренная»), мы обнаружили увеличение достоверности различий по CD45, что представлено в таблице 172. При N0 частота CD45-реакций составила 57,1% против 22,2% при N1,  $p = 0,06$ . Опираясь на полученные результаты в целом, вероятно, можно заключить, что отсутствие метастазов в регионарных лимфатических узлах сопряжено с увеличением

общего уровня иммунных реакций, при низком уровне цитотоксических Т-клеточных реакций паренхимы. Одновременно следует сказать, что инфильтрация CD8+ клетками имела место при метастазировании в регионарные лимфатические узлы, что наблюдали в 33,3%. Последнее согласуется с данными литературы.

**Таблица 172** – Взаимосвязь CD45+ инфильтрации паренхимы опухоли и статуса N при раке шейки матки

| N статус |   | CD45+ инфильтрация, $p = 0,06$ , $\chi^2 = 3,325$ |       | Всего  |
|----------|---|---|-------|--------|
|          |   | Нет   | Да    |        |
| N0       | n | 12  | 16    | 28     |
|          | % | 42,9%   | 57,1% | 100,0% |
| N1       | n | 7   | 2     | 9      |
|          | % | 77,8%   | 22,2% | 100,0% |
| Всего    | n | 30  | 7     | 37     |
|          | % | 81,1%   | 18,9% | 100,0% |

Оценить характер интратуморальных иммунных реакций в зависимости от гистологического вида рака шейки матки нам не удалось, поскольку преобладающим был плоскоклеточный рак, а аденокарцинома отмечена только в 3 случаях.

Анализ взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций со степенью дифференцировки рака шейки матки не выявил статистически значимых различий. Одинаково часто при G1 - G2 - G3 встречалась как негативная реакция, так и позитивная реакция по всем изучаемым маркерам иммунных клеток.

Таким образом, на данном этапе работы установлены взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций паренхимы опухоли с клинико-морфологическими параметрами рака шейки матки, которые заключались в следующем. Увеличение стадии опухоли сопровождалось достоверным увеличением уровня Т-клеточных реакций по CD4,  $p = 0,026$ . При этом нарастала частота слабой реакции: 23%  $\Rightarrow$  38%, соответственно, при IA1- IB1 – IIВ - IIIС стадиях.

Регионарное метастазирование рака шейки матки в лимфатические узлы сопровождалось достоверным снижением уровня интратуморальных иммунных реакций по CD3 ( $p = 0,04$ ), CD4 ( $p = 0,015$ ), CD8 ( $p = 0,06$ ).

Итак, отдельно проанализированы взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами интратуморальных реакций стромального компонента опухоли. Этот анализ позволил выявить следующие закономерности.

Во-первых, мы отметили, что интенсивность CD45+ местных иммунных реакций была менее выражена при ранних стадиях рака шейки матки, различия достоверны (Таблица 173). Частота CD45+ реакций меньше почти в три раза чем при распространенных стадиях.

**Таблица 173** – Общелейкоцитарная инфильтрация опухоли в зависимости от стадии рака шейки матки

| Стадии     |   | CD45+ инфильтрация, $p = 0,004$ , $\chi^2 = 11,084$ |        | Всего   |
|------------|---|---|--------|---------|
|            |   | Нет   | Да     |         |
| IA1 - IB1  | n | 9   | 5      | 14      |
|            | % | 64,30%  | 35,70% | 100,00% |
| IB2 - IIA  | n | 1   | 10     | 11      |
|            | % | 9,10%   | 90,90% | 100,00% |
| IIB - IIIC | n | 2   | 11     | 13      |
|            | % | 15,40%  | 84,60% | 100,00% |

При детальном анализе можно видеть, что при IA1-IB1 стадиях не наблюдается умеренного типа реакций, только выраженного и слабого характера (Таблица 174). При увеличении стадии IB2 - IIA имели место CD45+ реакции и умеренного, и выраженного характера, тогда как слабые отсутствовали вовсе. Частота CD45+ реакций умеренно выраженных при IB2-IIA стадиях составила 54,5% против 0,0% при начальных стадиях. Одинаково часто CD45+ реакции умеренного типа встречались при IB2-IIA и IIB – IIIC стадиях. Частота выраженных CD45+ реакций от стадии к стадии различалась незначительно.

**Таблица 174** – Инфильтрация CD45+, CD20+ клетками при раке шейки матки в зависимости от стадии

| Стадии     |   | Вид интрагуморальной иммунной реакции |        |            |            | Всего  |
|------------|---|---------------------------------------|--------|------------|------------|--------|
|            |   | Един. клетки                          | Слабая | Умеренная  | Выраженная |        |
|            |   | CD45, $p = 0,000$ , $\chi^2 = 20,158$ |        |            |            |        |
| IA1 - IB1  | n | 0                                     | 9      | 0          | 5          | 14     |
|            | % | 0,0%                                  | 64,3%  | 0,0%       | 35,7%      | 100,0% |
| IB2 - IIA  | n | 1                                     | 0      | 6          | 4          | 11     |
|            | % | 9,1%                                  | 0,0%   | 54,5%      | 36,4%      | 100,0% |
| IIB - IIIC | n | 0                                     | 2      | 7          | 4          | 13     |
|            | % | 0,0%                                  | 15,4%  | 53,8%      | 30,8%      | 100,0% |
|            |   | CD20, $p = 0,04$ , $\chi^2 = 6,107$   |        |            |            |        |
|            |   | Негативная                            |        | Позитивная |            |        |
| IA1 - IB1  | n | 9                                     |        | 5          |            | 14     |
|            | % | 64,3%                                 |        | 35,7%      |            | 100,0% |

Продолжение таблицы 174

|          |   |       |       |        |
|----------|---|-------|-------|--------|
| IB2 - ПА | n | 2     | 9     | 11     |
|          | % | 18,2% | 81,8% | 100,0% |
| IBB - ИС | n | 4     | 9     | 13     |
|          | % | 30,8% | 69,2% | 100,0% |

В отношении В-клеточных реакций стромы нами отмечено увеличение доли инфильтрации при нарастании распространенности опухоли. При IA1-IB1 стадиях частота CD20+ реакций составила 35,7% против 81,8% при IB2-ПА и 66,7% при IBB – ИС стадиях.

Анализ в зависимости от размера первичной опухоли показал, что частота общелейкоцитарной реакции по CD45 умеренного и выраженного характера выше при опухолях размером более 4 см: 85,0% против 50,0%,  $p = 0,019$ . Данные представлены в таблице 175. В паренхиме мы не наблюдали такой четкой связи. Наше предположение подтвердилось, именно стромальный компонент опухоли имеет ведущее значение.

Отметим, что результаты схожи с данными, полученными при анализе стромальной инфильтрации в зависимости от клинических стадий.

**Таблица 175** – Инфильтрация CD45+ клетками при раке шейки матки в зависимости от размера первичной опухоли

| Размер опухоли, см |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |                      | Всего  |
|--------------------|---|---------------------------------------|----------------------|--------|
|                    |   | CD45, $p = 0,019$ , $\chi^2 = 5,371$  |                      |        |
|                    |   | Слабая                                | Умеренная/выраженная |        |
| меньше 4 см        | n | 9                                     | 9                    | 18     |
|                    | % | 50,0%                                 | 50,0%                | 100,0% |
| больше 4 см        | n | 3                                     | 17                   | 20     |
|                    | % | 15,0%                                 | 85,0%                | 100,0% |
| Всего              | n | 12                                    | 26                   | 38     |
|                    | % | 31,6%                                 | 68,4%                | 100,0% |

Связи интратуморальных иммунных реакций стромы с метастазированием в регионарные лимфатические узлы рака шейки матки нами не выявлено.

Оценить характер интратуморальных иммунных реакций стромы в зависимости от гистологического вида рака шейки матки нам не удалось, поскольку преобладающим был плоскоклеточный рак, а аденокарцинома отмечена только в 3 случаях.

Далее мы изучили взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций со степенью дифференцировки опухоли. Степень дифференцировки рака шейки матки достоверно коррелировала с выраженностью стромальных иммунных реакций. При низко

дифференцированных опухолях имело место увеличение доли умеренного типа CD45+ общелейкоцитарных интратуморальных реакций: частота при G3 опухолях составила 92,9% против 60,0 при G1 опухолях,  $p = 0,015$  (Таблица 176).

**Таблица 176** – Стромальная инфильтрация CD45+ клетками при раке шейки матки в зависимости от степени дифференцировки опухоли

| Степень дифференцировки опухоли |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |           | Всего  |
|---------------------------------|---|---------------------------------------|-----------|--------|
|                                 |   | CD45, $p = 0,015$ , $\chi^2 = 7,363$  |           |        |
|                                 |   | Слабая                                | Умеренная |        |
| G1                              | n | 2                                     | 3         | 5      |
|                                 | % | 40,0%                                 | 60,0%     | 100,0% |
| G2                              | n | 9                                     | 8         | 17     |
|                                 | % | 52,9%                                 | 47,1%     | 100,0% |
| G3                              | n | 1                                     | 13        | 14     |
|                                 | % | 7,1%                                  | 92,9%     | 100,0% |

T-клеточные интратуморальные реакции были более выражены при опухолях с низкой дифференцировкой (Таблица 177). Частота CD3+ инфильтрации умеренного и выраженного характера составила 0,0% против 28,6%, и 20,0% против 35,7%, соответственно, при G1 и G3,  $p = 0,16$ . Аналогичная картина наблюдалась в отношении CD4+ клеточных реакций: их выраженный характер чаще встречался при низко дифференцированных опухолях,  $p = 0,07$ . Доля умеренных и выраженных CD4- клеточных реакций при низкой дифференцировке опухоли составила 14,3% и 35,7%, тогда как при высокой дифференцировке – 0,0% и 20,0%, соответственно. Цитотоксические реакции в строме были слабыми, но все же чаще отмечены, чем в паренхиме и мы видим из таблицы, что преобладали они при G3 опухолях,  $p = 0,08$

**Таблица 177** – Инфильтрация CD3+, CD4+, CD8+ клетками при раке шейки матки в зависимости от степени дифференцировки опухоли

| Степень дифференцировки опухоли |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |        |           |            | Всего  |
|---------------------------------|---|---------------------------------------|--------|-----------|------------|--------|
|                                 |   | Един. клетки                          | Слабая | Умеренная | Выраженная |        |
|                                 |   | CD3, $p = 0,16$                       |        |           |            |        |
| G1                              | n | 3                                     | 1      | 0         | 1          | 5      |
|                                 | % | 60,0%                                 | 20,0%  | 0,0%      | 20,0%      | 100,0% |
| G2                              | n | 4                                     | 6      | 5         | 2          | 17     |

|               |   |       |       |       |       |        |
|---------------|---|-------|-------|-------|-------|--------|
|               | % | 23,5% | 35,3% | 29,4% | 11,8% | 100,0% |
| G3            | n | 1     | 4     | 4     | 5     | 14     |
|               | % | 7,1%  | 28,6% | 28,6% | 35,7% | 100,0% |
| CD4, p = 0,07 |   |       |       |       |       |        |
| G1            | n | 2     | 2     | 0     | 1     | 5      |
|               | % | 40,0% | 40,0% | 0,0%  | 20,0% | 100,0% |
| G2            | n | 4     | 5     | 7     | 1     | 17     |
|               | % | 23,5% | 29,4% | 41,2% | 5,9%  | 100,0% |
| G3            | n | 1     | 6     | 2     | 5     | 14     |
|               | % | 7,1%  | 42,9% | 14,3% | 35,7% | 100,0% |
| CD8, p = 0,08 |   |       |       |       |       |        |
| G1            | n | 3     | 2     | 0     | -     | 5      |
|               | % | 60,0% | 40,0% | 0,0%  | -     | 100,0% |
| G2            | n | 7     | 8     | 2     | -     | 17     |
|               | % | 41,2% | 47,1% | 11,8% | -     | 100,0% |
| G3            | n | 2     | 12    | 0     | -     | 14     |
|               | % | 14,3% | 85,7% | 0,0%  | -     | 100,0% |

Плазмоцитарные интратуморальные реакции преимущественно отсутствовали при высоко дифференцированном раке (Таблица 178). Напротив, при низко дифференцированном раке шейки матки мы наблюдали CD38- клеточные реакции слабого и даже умеренного характера: 42,9% и 21,4%, соответственно, против 40,0% и 0,0% при высоко дифференцированных опухолях. Различия достоверны,  $p = 0,04$ .

**Таблица 178** – Инфильтрация CD38+ клетками при раке шейки матки в зависимости от степени дифференцировки опухоли

| Степень дифференцировки опухоли |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |              |        |           | Всего  |
|---------------------------------|---|---------------------------------------|--------------|--------|-----------|--------|
|                                 |   | Негативная                            | Един. клетки | Слабая | Умеренная |        |
|                                 |   | CD38, p = 0,04, $\chi^2 = 12,958$     |              |        |           |        |
| G1                              | n | 3                                     | 0            | 2      | 0         | 5      |
|                                 | % | 60,0%                                 | 0,0%         | 40,0%  | 0,0%      | 100,0% |
| G2                              | n | 2                                     | 4            | 10     | 0         | 16     |
|                                 | % | 12,5%                                 | 25,0%        | 62,5%  | 0,0%      | 100,0% |
| G3                              | n | 1                                     | 4            | 6      | 3         | 14     |
|                                 | % | 7,1%                                  | 28,6%        | 42,9%  | 21,4%     | 100,0% |

Таким образом, резюмируя по данному разделу работы, отметим, что стромальные интратуморальные реакции коррелировали с клинической стадией ( $p = 0,000$ ), размерами опухоли ( $p = 0,019$ ). Достоверные различия установлены в отношении CD45 инфильтрации.



Также отметим, что при увеличении стадии рака шейки матки наблюдали увеличение доли В-клеточных реакций стромы ( $p = 0,04$ ). Заметим, что схожие данные получены при анализе паренхиматозного компонента опухоли, но с меньшей статистической значимостью.

Не выявлено связи между стромальной инфильтрацией опухоли и регионарным метастазированием рака шейки матки в лимфатические узлы.

Анализ взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций стромы со степенью дифференцировки рака шейки матки выявил статистически значимые различия. При низко дифференцированных опухолях нами отмечено увеличение доли умеренного типа CD45+ реакций. Их частота при G3 опухолях составила 92,9% против 60,0 при G1 опухолях,  $p = 0,015$ .

Аналогичная картина наблюдалась в отношении CD4+ Т-клеточных интратуморальных реакций. Их выраженный характер чаще отмечен при низко дифференцированных опухолях, ( $p = 0,07$ ), также как и цитотоксических Т-клеточных реакций ( $p = 0,08$ ).

CD38+ плазмочитарные реакции при низко дифференцированном раке наблюдались чаще. Так, частота слабого типа и умеренного типа реакций составила 42,9% и 21,4%, соответственно, против 40,0% и 0,0% при высоко дифференцированных опухолях,  $p = 0,04$ .

Итак, в целом стромальный компонент опухоли преимущественно имеет либо умеренную, либо выраженную степень инфильтрации и таким образом играет важную роль противоопухолевом ответе. Несмотря на то, что по данным отдельных источников, корреляции интратуморальных лимфоцитов стромы не отмечается с клинико-морфологическими характеристиками, другим авторами совершенно четко заявляется о связи инфильтрации с клиническими параметрами опухоли, например, с регионарным метастазированием в лимфоузлы, что сопряжено с наличием CD8- интратуморальных реакций [236]. Эти данные вкуче с нашими результатами определенно подчеркивают правомочность и крайнюю важность углубленных исследований интратуморальных реакций как непосредственно в паренхиме, так и в стромальном компоненте опухоли.

Следующим этапом работы стал анализ корреляционных связей между субпопуляциями стромального и паренхиматозного компонентов опухоли. Напомним, что в целом выявленные нами изменения инфильтрации стромы и паренхимы при анализе с клинико-морфологическими признаками перекликались. Важно, что стромальные иммунные реакции демонстрировали связь с типом дифференцировки опухоли, чего не наблюдалось со стороны паренхиматозного компонента. Поэтому изучение корреляций между особенностями инфильтрации стромы и паренхимы действительно представляло интерес. Результаты корреляционного анализа по Спирмену представлены в таблице 179.

Мы видим, что имеется прямая корреляция между выраженностью общелейкоцитарной инфильтрацией в строме и CD3-T-клеточными интралимфатическими реакциями паренхимы опухоли: связь умеренной силы. Также общелейкоцитарная инфильтрация стромы связана с CD4- клеточными реакциями, CD8+ реакциями паренхимы, мы видим положительную корреляцию средней силы.

**Таблица 179** – Корреляционные связи между инфильтрацией паренхимы и стромы при раке шейки матки

| паренхима<br>stroma |   | CD45+  | CD3+   | CD4+   | CD8+   | CD20+ | CD38+  | D11+  |
|---------------------|---|--------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|
| CD45+               | R | 1      | ,588** | ,508** | ,512** | 0,143 | -0,037 | 0,26  |
|                     | p |        | 0      | 0,001  | 0,001  | 0,393 | 0,828  | 0,115 |
|                     | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38    | 37     | 38    |
| CD3+                | R | ,588** | 1      | ,896** | ,814** | ,350* | 0,105  | 0,192 |
|                     | p | 0      |        | 0      | 0      | 0,031 | 0,536  | 0,248 |
|                     | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38    | 37     | 38    |
| CD4+                | R | ,508** | ,896** | 1      | ,653** | ,382* | 0,176  | 0,088 |
|                     | p | 0,001  | 0      |        | 0      | 0,018 | 0,297  | 0,601 |
|                     | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38    | 37     | 38    |
| CD8+                | R | ,512** | ,814** | ,653** | 1      | 0,035 | -0,046 | 0,052 |
|                     | p | 0,001  | 0      | 0      |        | 0,834 | 0,788  | 0,755 |
|                     | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38    | 37     | 38    |
| CD20+               | R | 0,143  | ,350*  | ,382*  | 0,035  | 1     | -0,074 | 0,096 |
|                     | p | 0,393  | 0,031  | 0,018  | 0,834  |       | 0,662  | 0,568 |
|                     | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38    | 37     | 38    |
| D11+                | R | 0,26   | 0,192  | 0,088  | 0,052  | 0,096 | 0,214  | 1     |
|                     | p | 0,115  | 0,248  | 0,601  | 0,755  | 0,568 | 0,203  |       |
|                     | N | 38     | 38     | 38     | 38     | 38    | 37     | 38    |

В свою очередь CD45+ реакции паренхимы четко коррелируют с T- клеточными цитотоксическими реакциями в строме. Связь положительная, высокодостоверная ( $p = 0,004$ ) т.е. при нарастании уровня общей лимфоидной инфильтрации в паренхиме опухоли увеличивается пропорция T- клеточных реакций стромы, и, соответственно, наоборот. Аналогично для CD4- клеточных реакций.

Выраженность инфильтрации T-лимфоцитами в строме как можно заметить, строго коррелирует с уровнем инфильтрации в паренхиме. Это прослеживается по нескольким T-клеточным маркерам (CD4, CD8). Корреляция положительная умеренно сильная, высокодостоверная.

При внимательном рассмотрении взаимосвязей мы также обнаруживаем, что уровень CD4<sup>+</sup>-Т-клеточных реакций в паренхиме прямо коррелирует с цитотоксическими CD8<sup>+</sup> реакциями в строме опухоли, связь средней силы.

Нельзя не отметить, что CD4<sup>+</sup> инфильтрация паренхимы прямо взаимосвязана с CD20<sup>+</sup> реакциями в стромальном компоненте опухоли ( $p = 0,018$ ), и наоборот CD4<sup>+</sup>реакции стромы прямо коррелируют с В-клеточными реакциями паренхиматозного компонента опухоли.

Таким образом, мы можем утверждать, что по результатам данного анализа имеется очевидная связь интратуморальных иммунных реакций паренхиматозного и стромального компонентов опухоли. Как мы можем заключить, важное значение в противоопухолевом ответе рака шейки матки играют как локация, так и направленность интратуморальных иммунных реакций. Именно поэтому, на наш взгляд, тщательный анализ лимфоидной инфильтрации паренхимы и стромы по отдельности был оправдан и позволил выявить вышеуказанные закономерности.

### **5.3 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипическим портретом рака шейки матки**

Как было указано выше, при раке шейки матки экспрессия опухолевыми клетками на своей поверхности спектра антигенов (молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I и II класса, трансферриновых рецепторов) варьировала в диапазоне разной степени выраженности, а в ряде случаев эти антигены отсутствовали. Интратуморальные иммунные реакции были представлены общелейкоцитарной, Т-, В-клеточной и гистиоцитарной инфильтрацией. Напомним, в паренхиме лимфоидная инфильтрация была слабой, а умеренная и выраженная лимфоидная инфильтрация отмечена в строме и составила в сумме 68,4%. Среди Т-клеточных реакций паренхимы мы отметили преобладание CD4<sup>+</sup> клеточных реакций над цитотоксическими, аналогичным их характер выглядел в строме. Рассмотрим выраженность местных иммунных реакций в зависимости от иммунофенотипа клеток рака шейки матки.

Первым этапом мы оценили связи лимфоидной инфильтрации в паренхиме опухоли экспрессией опухолевыми клетками молекул HLA-I и II класса. Нами не обнаружено достоверной ассоциации экспрессии HLA-I с выраженностью общелейкоцитарной инфильтрации (Таблица 180). При сравнении групп с HLA-I-мономорфным, мозаичным и негативным фенотипом можно отметить, что частота CD45<sup>+</sup> инфильтрации почти не различалась. Уровень Т-клеточных реакций достоверно не различался.

Плазмоклеточные реакции при HLA-I мономорфном фенотипе отмечены в 24,0% случаев, тогда как при других фенотипах не наблюдалось CD38+ клеточных реакций вовсе,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ .

**Таблица 180** – Уровень интратуморальных иммунных реакций паренхимы в зависимости от HLA-I фенотипа опухоли

| Имунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |         |       |
|----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|---------|-------|
|                      |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\ группы клеток | Всего   | p     |
|                      |   | CD45                                  |                          |         |       |
| HLA-I «-»            | n | 4                                     | 3                        | 7       | 0,912 |
|                      | % | 57,10%                                | 42,90%                   | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»          | n | 3                                     | 3                        | 6       |       |
|                      | % | 50,00%                                | 50,00%                   | 100,00% |       |
| HLA-I «+»            | n | 12                                    | 13                       | 25      |       |
|                      | % | 48,00%                                | 52,00%                   | 100,00% |       |
|                      |   | CD3                                   |                          |         |       |
| HLA-I «-»            | n | 3                                     | 4                        | 7       | 0,55  |
|                      | % | 42,90%                                | 57,10%                   | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»          | n | 3                                     | 3                        | 6       |       |
|                      | % | 50,00%                                | 50,00%                   | 100,00% |       |
| HLA-I «+»            | n | 16                                    | 9                        | 25      |       |
|                      | % | 64,00%                                | 36,00%                   | 100,00% |       |
|                      |   | CD4                                   |                          |         |       |
| HLA-I «-»            | n | 3                                     | 4                        | 7       | 0,288 |
|                      | % | 42,90%                                | 57,10%                   | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»          | n | 3                                     | 3                        | 6       |       |
|                      | % | 50,00%                                | 50,00%                   | 100,00% |       |
| HLA-I «+»            | n | 18                                    | 7                        | 25      |       |
|                      | % | 72,00%                                | 28,00%                   | 100,00% |       |
|                      |   | CD8                                   |                          |         |       |
| HLA-I «-»            | n | 6                                     | 1                        | 7       | 0,62  |
|                      | % | 85,70%                                | 14,30%                   | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»          | n | 4                                     | 2                        | 6       |       |
|                      | % | 66,70%                                | 33,30%                   | 100,00% |       |
| HLA-I «+»            | n | 21                                    | 4                        | 25      |       |
|                      | % | 84,00%                                | 16,00%                   | 100,00% |       |

|             |   | CD38    |        |         |      |  |
|-------------|---|---------|--------|---------|------|--|
| HLA-I «-»   | n | 7       | 0      | 7       | 0,07 |  |
|             | % | 100,00% | 0,00%  | 100,00% |      |  |
| HLA-I «+/-» | n | 5       | 0      | 5       | 0,16 |  |
|             | % | 100,00% | 0,00%  | 100,00% |      |  |
| HLA-I «+»   | n | 19      | 6      | 25      |      |  |
|             | % | 76,00%  | 24,00% | 100,00% |      |  |
|             |   | D11     |        |         |      |  |
| HLA-I «-»   | n | 6       | 1      | 7       |      |  |
|             | % | 85,70%  | 14,30% | 100,00% |      |  |
| HLA-I «+/-» | n | 3       | 3      | 6       |      |  |
|             | % | 50,00%  | 50,00% | 100,00% |      |  |
| HLA-I «+»   | n | 12      | 13     | 25      |      |  |
|             | % | 48,00%  | 52,00% | 100,00% |      |  |

Уровень гистиоцитарных реакций при мономорфном и мозаичном фенотипе встречался одинаково часто, но был выше в сравнении с HLA-I негативными опухолями. При сопоставлении двух групп HLA-I негативных и HLA-I позитивных опухолей отчетливо видно, что гистиоцитарная инфильтрация преобладала в случае экспрессии опухолевыми клетками молекул HLA I класса ( $p = 0,05$ ), что представлено в таблице 181.

**Таблица 181** – Уровень гистиоцитарных реакций паренхимы в зависимости от HLA-I фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                             |         |                |
|-----------------------|---|---------------------------------------|-----------------------------|---------|----------------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>Группы клеток | Всего   | p,<br>$\chi^2$ |
|                       |   | D11                                   |                             |         |                |
| HLA-I «-»             | n | 6                                     | 1                           | 7       | 0,05<br>3,218  |
|                       | % | 85,70%                                | 14,30%                      | 100,00% |                |
| HLA-I «+»             | n | 15                                    | 16                          | 31      |                |
|                       | % | 48,40%                                | 51,60%                      | 100,00% |                |

Следующим этапом мы сравнили выраженность интратуморальных иммунных реакций в паренхиме опухоли в зависимости от HLA-DR иммунофенотипа рака шейки матки. При сопоставлении групп с HLA-DR-мономорфным, мозаичным и негативным фенотипом четких различий в характере лимфоидной инфильтрации мы не наблюдали (Таблица 182).

Однако следует отметить, что при сравнении двух групп HLA-DR негативных и HLA-DR-позитивных опухолей мы обратили внимание, что Т клеточные реакции CD4+ чаще наблюдалась при отсутствии экспрессии молекул HLA-DR клетками рака,  $0,05 \leq p \leq 0,1$  Данные представлены в таблице 183. Частота CD4+ инфильтрации при отсутствии экспрессии молекул HLA-DR составила 53,3% против 23,8% при HLA-DR позитивном фенотипе, различия близки к достоверным,  $p = 0,06$

**Таблица 182** – Уровень интратуморальных иммунных реакций паренхимы в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                             |         |      |
|-----------------------|---|---------------------------------------|-----------------------------|---------|------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>группы клеток | Всего   | p    |
|                       |   | CD45                                  |                             |         |      |
| HLA-DR «-»            | n | 7                                     | 8                           | 15      | 0,24 |
|                       | % | 46,70%                                | 53,30%                      | 100,00% |      |
| HLA-DR «+/-»          | n | 6                                     | 2                           | 8       |      |
|                       | % | 75,00%                                | 25,00%                      | 100,00% |      |
| HLA-DR «+»            | n | 5                                     | 8                           | 13      |      |
|                       | % | 38,50%                                | 61,50%                      | 100,00% |      |
|                       |   | CD3                                   |                             |         |      |
| HLA-DR «-»            | n | 7                                     | 8                           | 15      | 0,13 |
|                       | % | 46,70%                                | 53,30%                      | 100,00% |      |
| HLA-DR «+/-»          | n | 7                                     | 1                           | 8       |      |
|                       | % | 87,50%                                | 12,50%                      | 100,00% |      |
| HLA-DR «+»            | n | 8                                     | 5                           | 13      |      |
|                       | % | 61,50%                                | 38,50%                      | 100,00% |      |
|                       |   | CD4                                   |                             |         |      |
| HLA-DR «-»            | n | 7                                     | 8                           | 15      | 0,11 |
|                       | % | 46,70%                                | 53,30%                      | 100,00% |      |
| HLA-DR «+/-»          | n | 7                                     | 1                           | 8       |      |
|                       | % | 87,50%                                | 12,50%                      | 100,00% |      |
| HLA-DR «+»            | n | 9                                     | 4                           | 13      |      |
|                       | % | 69,20%                                | 30,80%                      | 100,00% |      |
|                       |   | CD8                                   |                             |         |      |
| HLA-DR «-»            | n | 11                                    | 4                           | 15      | 0,14 |
|                       | % | 73,30%                                | 26,70%                      | 100,00% |      |
| HLA-DR «+/-»          | n | 8                                     | 0                           | 8       |      |
|                       | % | 100,00%                               | 0,00%                       | 100,00% |      |
| HLA-DR «+»            | n | 11                                    | 2                           | 13      |      |
|                       | % | 84,60%                                | 15,40%                      | 100,00% |      |

|              |   | CD38   |        |         |      |
|--------------|---|--------|--------|---------|------|
| HLA-DR «-»   | n | 12     | 2      | 14      | 0,19 |
|              | % | 85,70% | 14,30% | 100,00% |      |
| HLA-DR «+/-» | n | 6      | 2      | 8       |      |
|              | % | 75,00% | 25,00% | 100,00% |      |
| HLA-DR «+»   | n | 12     | 1      | 13      |      |
|              | % | 92,30% | 7,70%  | 100,00% |      |
|              |   | D11    |        |         |      |
| HLA-DR «-»   | n | 8      | 7      | 15      | 0,12 |
|              | % | 53,30% | 46,70% | 100,00% |      |
| HLA-DR «+/-» | n | 7      | 1      | 8       |      |
|              | % | 87,50% | 12,50% | 100,00% |      |
| HLA-DR «+»   | n | 6      | 7      | 13      |      |
|              | % | 46,20% | 53,80% | 100,00% |      |

**Таблица 183** – Частота CD4+ инфильтрации паренхимы в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Имунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |         | p, $\chi^2$   |
|----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|---------|---------------|
|                      |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\ Группы клеток | Всего   |               |
|                      |   | CD4                                   |                          |         |               |
| HLA-DR «-»           | n | 7                                     | 8                        | 15      | 0,06<br>2,965 |
|                      | % | 46,70%                                | 53,30%                   | 100,00% |               |
| HLA-DR «+»           | n | 16                                    | 5                        | 21      |               |
|                      | % | 76,20%                                | 23,80%                   | 100,00% |               |

Оценка степени выраженности интратуморальных иммунных реакций в зависимости от статуса экспрессии клетками рака шейки матки трансферриновых рецепторов, на первый взгляд, не выявила существенных различий (Таблица 184). При этом обращало внимание, что общий уровень лейкоцитарной инфильтрации в Tfr1- позитивных опухолях все же выше.

Tfr1- позитивные опухоли демонстрировали более выраженные Т-клеточные реакции. Так, CD4+ и CD8+ клеточные реакции при Tfr1-мономорфном фенотипе наблюдались несколько чаще, чем при Tfr1-негативном фенотипе: 30,8% и 15,4% против 42,1% и 21,1%, соответственно.

Для плазмочитарных реакций в паренхиме отмечалась та же тенденция. И действительно при укрупненном анализе мы отчетливо видим, что Tfr1- позитивный

фенотип сопровождается CD38 инфильтрацией в 24,0% случаев, тогда как при Tfr1-негативном фенотипе не наблюдается ни одного случая (Таблица 185). Различия достоверны,  $p = 0,02$ . Гистиоцитарные реакции нами обнаруживались также чаще при Tfr1- позитивном фенотипе: 57,9% против 30,8% при отсутствии трансферриновых рецепторов.

**Таблица 184** – Уровень интратуморальных иммунных реакций в паренхиме в зависимости от Tfr1 фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                         |         |      |
|-----------------------|---|---------------------------------------|-------------------------|---------|------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\группы клеток | Всего   | p    |
|                       |   | CD45                                  |                         |         |      |
| Tfr1 «-»              | n | 7                                     | 6                       | 13      | 0,11 |
|                       | % | 53,80%                                | 46,20%                  | 100,00% |      |
| Tfr1 «+/-»            | n | 5                                     | 1                       | 6       |      |
|                       | % | 83,30%                                | 16,70%                  | 100,00% |      |
| Tfr1 «+»              | n | 7                                     | 12                      | 19      |      |
|                       | % | 36,80%                                | 63,20%                  | 100,00% |      |
|                       |   | CD3                                   |                         |         |      |
| Tfr1 «-»              | n | 9                                     | 4                       | 13      | 0,4  |
|                       | % | 69,20%                                | 30,80%                  | 100,00% |      |
| Tfr1 «+/-»            | n | 4                                     | 2                       | 6       |      |
|                       | % | 66,70%                                | 33,30%                  | 100,00% |      |
| Tfr1 «+»              | n | 9                                     | 10                      | 19      |      |
|                       | % | 47,40%                                | 52,60%                  | 100,00% |      |
|                       |   | CD4                                   |                         |         |      |
| Tfr1 «-»              | n | 9                                     | 4                       | 13      | 0,51 |
|                       | % | 69,20%                                | 30,80%                  | 100,00% |      |
| Tfr1 «+/-»            | n | 4                                     | 2                       | 6       |      |
|                       | % | 66,70%                                | 33,30%                  | 100,00% |      |
| Tfr1 «+»              | n | 11                                    | 8                       | 19      |      |
|                       | % | 57,90%                                | 42,10%                  | 100,00% |      |
|                       |   | CD8                                   |                         |         |      |
| Tfr1 «-»              | n | 11                                    | 2                       | 13      | 0,91 |
|                       | % | 84,60%                                | 15,40%                  | 100,00% |      |
| Tfr1 «+/-»            | n | 5                                     | 1                       | 6       |      |
|                       | % | 83,30%                                | 16,70%                  | 100,00% |      |
| Tfr1 «+»              | n | 15                                    | 4                       | 19      |      |
|                       | % | 78,90%                                | 21,10%                  | 100,00% |      |
|                       |   | CD38                                  |                         |         |      |
| Tfr1 «-»              | n | 12                                    | 0                       | 12      | 0,06 |
|                       | % | 100,00%                               | 0,00%                   | 100,00% |      |



|            |   |        |        |         |      |
|------------|---|--------|--------|---------|------|
| TfR1 «+/-» | n | 5      | 1      | 6       |      |
|            | % | 83,30% | 16,70% | 100,00% |      |
| TfR1 «+»   | n | 14     | 5      | 19      |      |
|            | % | 73,70% | 26,30% | 100,00% |      |
| D11        |   |        |        |         |      |
| TfR1 «->»  | n | 9      | 4      | 13      | 0,25 |
|            | % | 69,20% | 30,80% | 100,00% |      |
| TfR1 «+/-» | n | 4      | 2      | 6       |      |
|            | % | 66,70% | 33,30% | 100,00% |      |
| TfR1 «+»   | n | 8      | 11     | 19      |      |
|            | % | 42,10% | 57,90% | 100,00% |      |

**Таблица 185** – Уровень CD38 интратуморальных реакций паренхимы в зависимости от TfR1 фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |         | p, $\chi^2$   |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|---------|---------------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\ Группы клеток | Всего   |               |
| CD38                  |   |                                       |                          |         |               |
| TfR1 «->»             | n | 12                                    | 0                        | 12      | 0,02<br>3,437 |
|                       | % | 100,00%                               | 0,00%                    | 100,00% |               |
| TfR1 «+»              | n | 19                                    | 6                        | 25      |               |
|                       | % | 76,00%                                | 24,00%                   | 100,00% |               |

Рассмотрим теперь выраженность иммунных реакций в строме зависимости от иммунофенотипа клеток рака шейки матки.

Первым этапом мы оценили связи лимфоидной инфильтрации с экспрессией опухолевыми клетками молекул HLA-I класса, что представлено в таблице 186.

Как мы видим, общелейкоцитарная инфильтрация опухоли чаще наблюдалась при HLA-I мономорфном фенотипе в сравнении с мозаичным и негативным фенотипом: 80,0% - 33,3% - 57,1%, соответственно ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ).

Плазмочитарные реакции были достоверно выражены при HLA-I мономорфном фенотипе, составив 76,0% против 40,0% и 14,3%, соответственно, при мозаичном и негативном фенотипе,  $p = 0,007$ .

В отношении В-клеточных реакций нами отмечена схожая картина, при HLA-I мономорфном фенотипе они были более выраженными, чем при отсутствии экспрессии данных антигенов, однако различия не достигли достоверности.

**Таблица 186** – Уровень интратуморальных иммунных реакций стромы в зависимости от HLA-I фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                             |         |       |
|-----------------------|---|---------------------------------------|-----------------------------|---------|-------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\выраженная        | Всего   | p     |
|                       |   | CD45                                  |                             |         |       |
| HLA-I «-»             | n | 3                                     | 4                           | 7       | 0,07  |
|                       | % | 42,90%                                | 57,10%                      | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»           | n | 4                                     | 2                           | 6       |       |
|                       | % | 66,70%                                | 33,30%                      | 100,00% |       |
| HLA-I «+»             | n | 5                                     | 20                          | 25      |       |
|                       | % | 20,00%                                | 80,00%                      | 100,00% |       |
|                       |   | CD3                                   |                             |         |       |
| HLA-I «-»             | n | 3                                     | 4                           | 7       | 0,65  |
|                       | % | 42,90%                                | 57,10%                      | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»           | n | 4                                     | 2                           | 6       |       |
|                       | % | 66,70%                                | 33,30%                      | 100,00% |       |
| HLA-I «+»             | n | 12                                    | 13                          | 25      |       |
|                       | % | 48,00%                                | 52,00%                      | 100,00% |       |
|                       |   | CD4                                   |                             |         |       |
| HLA-I «-»             | n | 3                                     | 4                           | 7       | 0,68  |
|                       | % | 42,90%                                | 57,10%                      | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»           | n | 4                                     | 2                           | 6       |       |
|                       | % | 66,70%                                | 33,30%                      | 100,00% |       |
| HLA-I «+»             | n | 13                                    | 12                          | 25      |       |
|                       | % | 52,00%                                | 48,00%                      | 100,00% |       |
|                       |   | CD8                                   |                             |         |       |
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>группы клеток |         |       |
| HLA-I «-»             | n | 3                                     | 4                           | 7       | 0,75  |
|                       | % | 42,90%                                | 57,10%                      | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»           | n | 2                                     | 4                           | 6       |       |
|                       | % | 33,30%                                | 66,70%                      | 100,00% |       |
| HLA-I «+»             | n | 7                                     | 18                          | 25      |       |
|                       | % | 28,00%                                | 72,00%                      | 100,00% |       |
|                       |   | CD38                                  |                             |         |       |
| HLA-I «-»             | n | 6                                     | 1                           | 7       | 0,007 |
|                       | % | 85,70%                                | 14,30%                      | 100,00% |       |
| HLA-I «+/-»           | n | 3                                     | 2                           | 5       |       |
|                       | % | 60,00%                                | 40,00%                      | 100,00% |       |
| HLA-I «+»             | n | 6                                     | 19                          | 25      |       |
|                       | % | 24,00%                                | 76,00%                      | 100,00% |       |

|             |   | D11    |        |         |      |
|-------------|---|--------|--------|---------|------|
| HLA-I «-»   | n | 3      | 4      | 7       | 0,37 |
|             | % | 42,90% | 57,10% | 100,00% |      |
| HLA-I «+/-» | n | 4      | 2      | 6       |      |
|             | % | 66,70% | 33,30% | 100,00% |      |
| HLA-I «+»   | n | 18     | 7      | 25      |      |
|             | % | 72,00% | 28,00% | 100,00% |      |
|             |   | CD20   |        |         |      |
| HLA-I «-»   | n | 4      | 3      | 7       | 0,12 |
|             | % | 57,10% | 42,90% | 100,00% |      |
| HLA-I «+/-» | n | 4      | 2      | 6       |      |
|             | % | 66,70% | 33,30% | 100,00% |      |
| HLA-I «+»   | n | 7      | 18     | 25      |      |
|             | % | 28,00% | 72,00% | 100,00% |      |

При сравнении HLA-I негативного фенотипа и HLA-I позитивного мы отметили, что частота Т-клеточных реакции также была выше при экспрессии молекул HLA I класса (Таблица 187). Достоверная ассоциация отмечена в отношении CD4-клеточных реакций стромы, которые преобладали в HLA-I позитивных опухолях, при  $p = 0,04$ .

**Таблица 187** – Уровень CD3+, CD4+ клеточных реакций стромы в зависимости от HLA-I фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |               |           |            | Всего  |
|-----------------------|---|---------------------------------------|---------------|-----------|------------|--------|
|                       |   | CD3, $p = 0,07$ , $\chi^2 = 5,185$    |               |           |            |        |
|                       |   | Слабая                                | Группы клеток | Умеренная | Выраженная |        |
| HLA-I «-»             | n | 3                                     | 0             | 3         | 1          | 7      |
|                       | % | 42,9%                                 | 0,0%          | 42,9%     | 14,3%      | 100,0% |
| HLA-I «+»             | n | 5                                     | 11            | 8         | 7          | 31     |
|                       | % | 16,1%                                 | 35,5%         | 25,8%     | 22,6%      | 100,0% |
|                       |   | CD4, $p = 0,04$ , $\chi^2 = 6,370$    |               |           |            |        |
| HLA-I «-»             | n | 3                                     | 0             | 3         | 1          | 7      |
|                       | % | 42,9%                                 | 0,0%          | 42,9%     | 14,3%      | 100,0% |
| HLA-I «+»             | n | 4                                     | 13            | 8         | 6          | 31     |
|                       | % | 12,9%                                 | 41,9%         | 25,8%     | 19,4%      | 100,0% |

HLA-DR мономорфный фенотип опухоли также как и HLA-I мономорфный сопровождался более высокой частотой интратуморальных стромальных реакций. Данные анализа приведены в таблице 188. Мы наблюдали, что общий уровень лейкоцитарной инфильтрации умеренной и выраженной степени в HLA-DR-мономорфных опухолях был

выше, составив 76,9% против 53,3% при негативном фенотипе,  $p = 0,31$ . Это прослеживалось по уровню Т-клеточных реакций (CD3+, CD8+, CD4+), доля которых при HLA-DR мономорфном фенотипе превышала таковую при негативном фенотипе. Достоверные различия мы наблюдали в отношении цитотоксических CD8+ клеточных реакций,  $p = 0,016$ .

**Таблица 188**– Уровень интратуморальных иммунных реакций стромы в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Имунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                         |         |                            |
|----------------------|---|---------------------------------------|-------------------------|---------|----------------------------|
|                      |   | Слабая                                | Умеренная\выраженная    | Всего   | p                          |
|                      |   | CD45                                  |                         |         |                            |
| HLA-DR «-»           | n | 7                                     | 8                       | 15      | 0,35                       |
|                      | % | 46,70%                                | 53,30%                  | 100,00% |                            |
| HLA-DR «+/-»         | n | 2                                     | 6                       | 8       |                            |
|                      | % | 25,00%                                | 75,00%                  | 100,00% |                            |
| HLA-DR «+»           | n | 3                                     | 10                      | 13      |                            |
|                      | % | 23,10%                                | 76,90%                  | 100,00% |                            |
|                      |   | CD3                                   |                         |         |                            |
| HLA-DR «-»           | n | 8                                     | 7                       | 15      | 0,25                       |
|                      | % | 53,30%                                | 46,70%                  | 100,00% |                            |
| HLA-DR «+/-»         | n | 6                                     | 2                       | 8       |                            |
|                      | % | 75,00%                                | 25,00%                  | 100,00% |                            |
| HLA-DR «+»           | n | 5                                     | 8                       | 13      |                            |
|                      | % | 38,50%                                | 61,50%                  | 100,00% |                            |
|                      |   | CD4                                   |                         |         |                            |
| HLA-DR «-»           | n | 8                                     | 7                       | 15      | 0,76                       |
|                      | % | 53,30%                                | 46,70%                  | 100,00% |                            |
| HLA-DR «+/-»         | n | 5                                     | 3                       | 8       |                            |
|                      | % | 62,50%                                | 37,50%                  | 100,00% |                            |
| HLA-DR «+»           | n | 6                                     | 7                       | 13      |                            |
|                      | % | 46,20%                                | 53,80%                  | 100,00% |                            |
|                      |   | CD8                                   |                         |         |                            |
| HLA-DR «-»           | n | 4                                     | 11                      | 15      | 0,016,<br>$\chi^2 = 8,435$ |
|                      | % | 26,70%                                | 73,30%                  | 100,00% |                            |
| HLA-DR «+/-»         | n | 6                                     | 2                       | 8       |                            |
|                      | % | 75,00%                                | 25,00%                  | 100,00% |                            |
| HLA-DR «+»           | n | 2                                     | 11                      | 13      |                            |
|                      | % | 15,40%                                | 84,60%                  | 100,00% |                            |
|                      |   | CD38                                  |                         |         |                            |
|                      |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\группы клеток |         | 0,13                       |

|              |   |        |        |         |      |
|--------------|---|--------|--------|---------|------|
| HLA-DR «-»   | n | 6      | 8      | 14      | 0,25 |
|              | % | 42,90% | 57,10% | 100,00% |      |
| HLA-DR «+/-» | n | 1      | 7      | 8       |      |
|              | % | 12,50% | 87,50% | 100,00% |      |
| HLA-DR «+»   | n | 7      | 6      | 13      |      |
|              | % | 53,80% | 46,20% | 100,00% |      |
| D11          |   |        |        |         |      |
| HLA-DR «-»   | n | 10     | 5      | 15      |      |
|              | % | 66,70% | 33,30% | 100,00% |      |
| HLA-DR «+/-» | n | 7      | 1      | 8       |      |
|              | % | 87,50% | 12,50% | 100,00% |      |
| HLA-DR «+»   | n | 7      | 6      | 13      |      |
|              | % | 53,80% | 46,20% | 100,00% |      |

Также более выраженной выглядела плазмочитарная и гистиоцитарная инфильтрация в опухолях, экспрессирующих HLA-DR ( $p = 0,05$ ,  $p = 0,04$ ), что представлено в таблице 189.

**Таблица 189** – Уровень гистиоцитарных и плазмочитарных реакций стромы в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |        |               |           |        |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------|---------------|-----------|--------|
|                       |   | D11, $p = 0,05$ , $\chi^2 = 4,800$    |        |               |           |        |
|                       |   | Негативная                            | Слабая | Группы клеток | Умеренная | Всего  |
| HLA-DR «-»            | n | -                                     | 3      | 7             | 5         | 15     |
|                       | % | -                                     | 20,0%  | 46,7%         | 33,3%     | 100,0% |
| HLA-DR «+»            | n | -                                     | 0      | 14            | 7         | 21     |
|                       | % | -                                     | 0,0%   | 66,7%         | 33,3%     | 100,0% |
|                       |   | CD38, $p = 0,04$ , $\chi^2 = 6,958$   |        |               |           |        |
| HLA-I «-»             | n | 1                                     | 5      | 8             | 0         | 14     |
|                       | % | 7,1%                                  | 35,7%  | 57,1%         | 0,0%      | 100,0% |
| HLA-I «+»             | n | 6                                     | 2      | 10            | 3         | 21     |
|                       | % | 28,6%                                 | 9,5%   | 47,6%         | 14,3%     | 100,0% |

Далее мы сравнили выраженность интратуморальных реакций стромы в зависимости от экспрессии клетками рака шейки матки трансферриновых рецепторов (Таблица 190). Сразу отметим, что мы получили схожие результаты с таковыми, полученными при анализе опухолю-пенетрирующих лимфоцитов. Преимущественно слабый тип иммунных реакций встречался в TfR1-негативных опухолях, в то время как TfR1- позитивные опухоли отличались более выраженным типом инфильтрации.

**Таблица 190** – Уровень интратуморальных иммунных реакций стромы в зависимости от Tfr1 фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                         |         |                           |
|-----------------------|---|---------------------------------------|-------------------------|---------|---------------------------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\группы клеток | Всего   | p                         |
|                       |   | CD45                                  |                         |         |                           |
| Tfr1 «-»              | n | 8                                     | 5                       | 13      | 0,008<br>$\chi^2 = 9,306$ |
|                       | % | 61,50%                                | 38,50%                  | 100,00% |                           |
| Tfr1 «+/-»            | n | 2                                     | 4                       | 6       |                           |
|                       | % | 33,30%                                | 66,70%                  | 100,00% |                           |
| Tfr1 «+»              | n | 2                                     | 17                      | 19      |                           |
|                       | % | 10,50%                                | 89,50%                  | 100,00% |                           |
|                       |   | CD3                                   |                         |         |                           |
| Tfr1 «-»              | n | 9                                     | 4                       | 13      | 0,19                      |
|                       | % | 69,20%                                | 30,80%                  | 100,00% |                           |
| Tfr1 «+/-»            | n | 3                                     | 3                       | 6       |                           |
|                       | % | 50,00%                                | 50,00%                  | 100,00% |                           |
| Tfr1 «+»              | n | 7                                     | 12                      | 19      |                           |
|                       | % | 36,80%                                | 63,20%                  | 100,00% |                           |
|                       |   | CD4                                   |                         |         |                           |
| Tfr1 «-»              | n | 9                                     | 4                       | 13      | 0,1<br>$\chi^2 = 3,811$   |
|                       | % | 69,20%                                | 30,80%                  | 100,00% |                           |
| Tfr1 «+/-»            | n | 4                                     | 2                       | 6       |                           |
|                       | % | 66,70%                                | 33,30%                  | 100,00% |                           |
| Tfr1 «+»              | n | 7                                     | 12                      | 19      |                           |
|                       | % | 36,80%                                | 63,20%                  | 100,00% |                           |
|                       |   | CD8                                   |                         |         |                           |
| Tfr1 «-»              | n | 7                                     | 6                       | 13      | 0,01<br>$\chi^2 = 7,823$  |
|                       | % | 53,80%                                | 46,20%                  | 100,00% |                           |
| Tfr1 «+/-»            | n | 3                                     | 3                       | 6       |                           |
|                       | % | 50,00%                                | 50,00%                  | 100,00% |                           |
| Tfr1 «+»              | n | 2                                     | 17                      | 19      |                           |
|                       | % | 10,50%                                | 89,50%                  | 100,00% |                           |
|                       |   | CD38                                  |                         |         |                           |
| Tfr1 «-»              | n | 8                                     | 4                       | 12      | 0,06                      |
|                       | % | 66,70%                                | 33,30%                  | 100,00% |                           |
| Tfr1 «+/-»            | n | 1                                     | 5                       | 6       |                           |
|                       | % | 16,70%                                | 83,30%                  | 100,00% |                           |
| Tfr1 «+»              | n | 6                                     | 13                      | 19      |                           |
|                       | % | 31,60%                                | 68,40%                  | 100,00% |                           |

|            |   | CD20   |        |         |                                |
|------------|---|--------|--------|---------|--------------------------------|
|            | n | 10     | 3      | 13      | 0,0001<br>$\chi^2 =$<br>14,573 |
| TfR1 «-»   | % | 76,90% | 23,10% | 100,00% |                                |
|            | n | 3      | 3      | 6       |                                |
| TfR1 «+/-» | % | 50,00% | 50,00% | 100,00% |                                |
|            | n | 2      | 17     | 19      |                                |
| TfR1 «+»   | % | 10,50% | 89,50% | 100,00% |                                |
|            |   | D11    |        |         |                                |
|            | n | 9      | 4      | 13      | 0,68                           |
| TfR1 «-»   | % | 69,20% | 30,80% | 100,00% |                                |
|            | n | 3      | 3      | 6       |                                |
| TfR1 «+/-» | % | 50,00% | 50,00% | 100,00% |                                |
|            | n | 13     | 6      | 19      |                                |
| TfR1 «+»   | % | 68,40% | 31,60% | 100,00% |                                |

Во-первых, мономорфная экспрессия трансферриновых рецепторов клетками рака шейки матки сопровождалась высокой частотой CD45- клеточных реакций, что отмечено в 89,5% наблюдений против 38,5%,  $p=0,008$ . Во-вторых, уровень Т-клеточных реакций также был выше в опухолях с мономорфной экспрессией TfR1. Так, CD4- клеточные реакции наблюдались в 63,2%, CD8- клеточные реакции отмечены в 89,5%, то есть практически в два раза чаще, чем при отсутствии на клетках опухоли TfR1. Для цитотоксических реакций различия достоверны,  $p = 0,01$ . Хорошо видно при укрупненном анализе, что Т-клеточные реакции были более выражены в опухолях с мономорфной экспрессией TfR1: различия маргинальной значимости получены для CD3,  $p = 0,08$  (Таблица 191).

**Таблица 191** – Уровень CD3-, CD8-, CD38- интратуморальных реакций стромы в зависимости от TfR1 фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                         |         | p<br>$\chi^2$  |
|-----------------------|---|---------------------------------------|-------------------------|---------|----------------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\группы клеток | Всего   |                |
|                       |   | CD3                                   |                         |         |                |
| TfR1 «-»              | n | 9                                     | 4                       | 13      | 0,08<br>2,923  |
|                       | % | 69,20%                                | 30,80%                  | 100,00% |                |
| TfR1 «+»              | n | 10                                    | 15                      | 25      |                |
|                       | % | 40,00%                                | 60,00%                  | 100,00% |                |
|                       |   | CD8                                   |                         |         |                |
| TfR1 «-»              | n | 7                                     | 6                       | 13      | 0,035<br>4,535 |
|                       | % | 53,80%                                | 46,20%                  | 100,00% |                |

|          |   |        |        |         |               |
|----------|---|--------|--------|---------|---------------|
| TfR1 «+» | n | 5      | 20     | 25      |               |
|          | % | 20,00% | 80,00% | 100,00% |               |
| CD38     |   |        |        |         |               |
| TfR1 «-» | n | 8      | 4      | 12      | 0,02<br>5,553 |
|          | % | 66,70% | 33,30% | 100,00% |               |
| TfR1 «+» | n | 7      | 18     | 25      |               |
|          | % | 28,00% | 72,00% | 100,00% |               |

В-клеточные реакции в строме оказались несколько более выраженными, также как и плазмочитарные. Их уровень значительно выше при мономорфной экспрессии трансферриновых рецепторов клетками опухоли, различия достоверны. CD20 реакции умеренного типа/группы клеток отмечены в 89,5% при мономорфном TfR1 фенотипе против 50,0% и 23,1% при мозаичном и негативном фенотипах,  $p = 0,0001$ ,  $\chi^2 = 14,573$ . Частота CD38- инфильтрации стромы составила 72,0% и 33,3%, соответственно, при TfR1- позитивном и TfR1-негативном фенотипах,  $p = 0,02$ .

Таким образом, анализ взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипом рака шейки матки позволил выявить целый ряд достоверных связей, которые преимущественно касались стромального компонента опухоли, характеризующегося более выраженными интратуморальными иммунными реакциями.

В паренхиме опухоли мы отметили, что различия носили маргинальной характерности. Так, имело место преобладание плазмочелочных и гистиоцитарных реакций при экспрессии опухолью молекул HLA I класса мономорфно ( $0,05 \leq p \leq 0,1$ ). При сравнении HLA-DR негативных и HLA-DR- позитивных опухолей CD4+ инфильтрация чаще наблюдалась при отсутствии экспрессии молекул HLA-DR,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ .

Оценка степени выраженности интратуморальных иммунных реакций паренхимы в зависимости от экспрессии клетками рака шейки матки рецепторов трансферрина, на первый взгляд, не выявила существенных различий. Однако общий уровень лейкоцитарной инфильтрации в TfR1- позитивных опухолях был выше, также как и уровень Т-клеточных реакций. CD4+ и CD8+ инфильтрация при TfR1-мономорфном фенотипе наблюдалась чаще, чем при негативном (30,8% и 15,4% против 42,1% и 21,1%). TfR1- позитивный фенотип чаще сопровождался CD38 инфильтрацией,  $p = 0,02$ . Схожая картина отмечена в отношении гистиоцитарных реакций.

В строме общелейкоцитарная инфильтрация опухоли чаще наблюдалась при HLA-I мономорфном фенотипе в сравнении с мозаичным и негативным фенотипом,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ : (80,0% - 33,3% - 57,1%).



Высокая частота Т-клеточных реакции коррелировала с экспрессией молекул HLA I класса клетками опухоли. Достоверная связь отмечена в отношении CD4-клеточных реакций стромы,  $p = 0,04$ . Плазмочитарные реакции были достоверно более выражены при HLA-I мономорфном фенотипе опухоли,  $p = 0,007$ . В отношении В-клеточных реакций нами отмечена схожая картина, но не достоверно.

При HLA-DR мономорфном фенотипе общий уровень лейкоцитарной инфильтрации, также как и уровни Т-клеточных реакций (CD3+, CD8+, CD4+) в строме были более выражены. В отношении цитотоксических клеточных реакций различия достоверны,  $p = 0,016$ . Аналогично более выраженной выглядела плазмочитарная и гистиоцитарная инфильтрация в опухолях, экспрессирующих HLA-DR ( $p = 0,05$ ,  $p = 0,04$ ).

Мономорфная экспрессия трансферриновых рецепторов клетками рака шейки матки сопровождалась высокой частотой CD45-клеточных реакций, что отмечено в 89,5% наблюдений против 38,5%,  $p = 0,008$ . Уровень Т-клеточных реакций также был выше в опухолях с мономорфной экспрессией TfR1, при этом для цитотоксических CD8+ реакций различия достоверны,  $p = 0,01$ . В-клеточные реакции, также как и плазмочитарные, с высокой частотой отмечены при мономорфной экспрессии трансферриновых рецепторов клетками опухоли, различия достоверны.

Как мы видим, иммунофенотипические признаки рака шейки матки определенно связаны со степенью интратуморальных иммунных реакций. Причем ведущую роль, вероятно, при раке шейки матки играет стромальный компонент. Экспрессия молекул HLA-DR, также как и молекул HLA I класса клетками опухоли сопровождалась более выраженными интратуморальными реакциями стромы, и что особенно важно, высокой частотой цитотоксических и плазмочитарных реакций. Аналогичная картина проявилась в отношении рецепторов трансферрина, экспрессия которых, по-видимому, могла бы рассматриваться как благоприятный признак, ведь уровень CD45-клеточных реакций, а также Т- и В-клеточных был выше при мономорфном TfR1-фенотипе рака шейки матки.

#### **5.4 Характеристика и взаимосвязь миелокариоцитов с клинико-морфологическими характеристиками рака шейки матки**

Первым этапом выполнена оценка средних значений показателей миелограмм в целом по группе и сопоставление их с нормой. Данные представлены в таблице 192. Среднее количество миелокариоцитов составило 48,7%, что оказалось ниже нормы ( $58,5 \pm 8,9$  тыс\мкл). Количество миелокариоцитов находилось в пределах нормы в большинстве

случаев (61,19%, n = 11). В остальных случаях (38,9%, n = 7) нами отмечено снижение клеточности костного мозга.

В первую очередь мы отметили изменения в гранулоцитарном ростке костного мозга. Обращало внимание снижение количества миелоидных предшественников. Их средние показатели составили: для промиелоцитов – 0,13% (при норме 2,5%), для миелоцитов – 6,7% (при норме 9,6%), для метамиелоцитов – 7,8% (при норме 11,5%).

**Таблица 192** – Средние значения показателей миелограмм при раке шейки матки

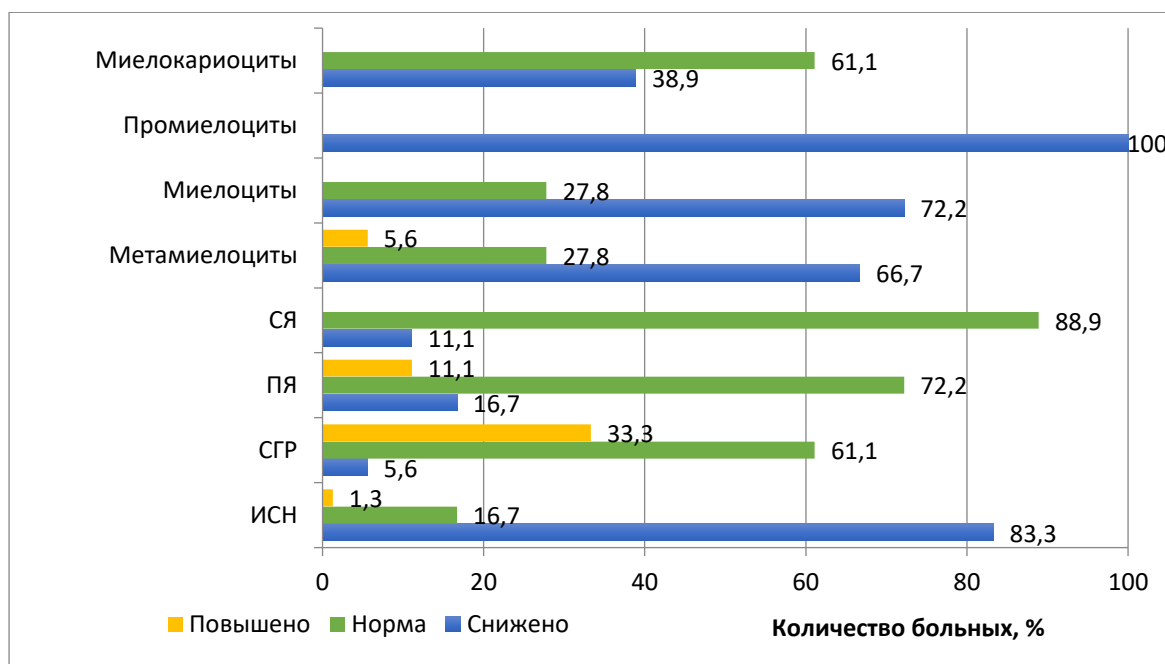
| Показатель                           | N  | M      | m     | Ст. отклонение |
|--------------------------------------|----|--------|-------|----------------|
| Миелокарициты, тыс\мкл               | 18 | 48,722 | 7,863 | 33,363         |
| Промиелоциты, %                      | 18 | ,133   | ,048  | ,205           |
| Нейтрофильные миелоциты, %           | 18 | 6,755  | ,522  | 2,217          |
| Нейтрофильные метамиелоциты, %       | 18 | 7,844  | 1,191 | 5,056          |
| Палочкоядерные нейтрофилы, %         | 18 | 16,833 | 1,284 | 5,450          |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %        | 18 | 31,844 | 2,036 | 8,638          |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка | 18 | 64,477 | 1,132 | 4,805          |
| Индекс созревания нейтрофилов, %     | 18 | ,3111  | ,038  | ,16410         |
| Моноциты, %                          | 18 | 4,344  | ,606  | 2,57299        |
| Лимфоциты, %                         | 18 | 14,155 | 1,117 | 4,74208        |
| Плазматические клетки, %             | 18 | ,6111  | ,143  | ,607           |
| Базофильные нормобласты, %           | 18 | ,711   | ,098  | ,418           |
| Полихроматофильные нормобласты, %    | 18 | 8,388  | ,941  | 3,996          |
| Оксифильные нормобласты, %           | 18 | 6,466  | ,534  | 2,268          |
| Сумма клеток эритроидного ростка     | 18 | 15,566 | 1,365 | 5,795          |
| Индекс созревания эритроцитов        | 18 | ,9722  | ,010  | ,046           |
| Лейкоэритробластическое соотношение  | 18 | 5,361  | ,537  | 2,282          |

Снижение уровня промиелоцитов отмечено в 100% случаев ( $n = 18$ ), миелоцитов – в 72,2% ( $n = 13$ ). В 27,8% образцов содержание миелоцитов было в пределах нормальных значений. Метамиелоциты оказались были снижены в 2/3 образцов костного мозга (66,7%,  $n = 12$ ), тогда как в 27,8% оставались их уровни оставались нормальными (Рисунок 85).

Содержание зрелых форм гранулоцитарного ростка были следующим: палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы составили 16,8% (при норме 18,2%) и 31,8% (при норме 18,6%), соответственно. В большинстве случаев содержание палочкоядерных нейтрофилов было нормальным, что отмечено в 72,2% ( $n = 13$ ), тогда как в 16,7% ( $n = 3$ ) образцов – сниженным, а повышенным только в 11,1% ( $n = 2$ ) случаев.

Количество сегментоядерных нейтрофилов было в норме в 11,1%,  $n = 2$ , а в остальных образцах повышено (88,3%,  $n = 16$ ).

Сумма клеток гранулоцитарного ростка в среднем составила 64,4%. В 61,1% ( $n = 11$ ) случаях ее показатель был в пределах нормы, в 33,3% ( $n = 6$ ) наблюдений отмечено его увеличение, в 5,6% ( $n = 1$ ) – снижение. Индекс созревания нейтрофилов в 16,7% ( $n = 3$ ) наблюдений не выходил за рамки нормы, а в 83,3% ( $n = 15$ ) оказался снижен.



СЯ – сегментоядерные нейтрофилы, ПЯ – палочкоядерные нейтрофилы, СГР – сумма клеток гранулоцитарного ростка, ИСН – индекс созревания нейтрофилов

**Рисунок 85** – Показатели гранулоцитарного роста при раке шейки матки

При анализе эритроидного роста в целом по группе получены следующие данные. Количество базофильных и полихроматофильных нормобластов по сравнению с нормой было снижено, составив 0,7% (при норме 3,0%) и 8,3% (при норме 12,9%), соответственно,

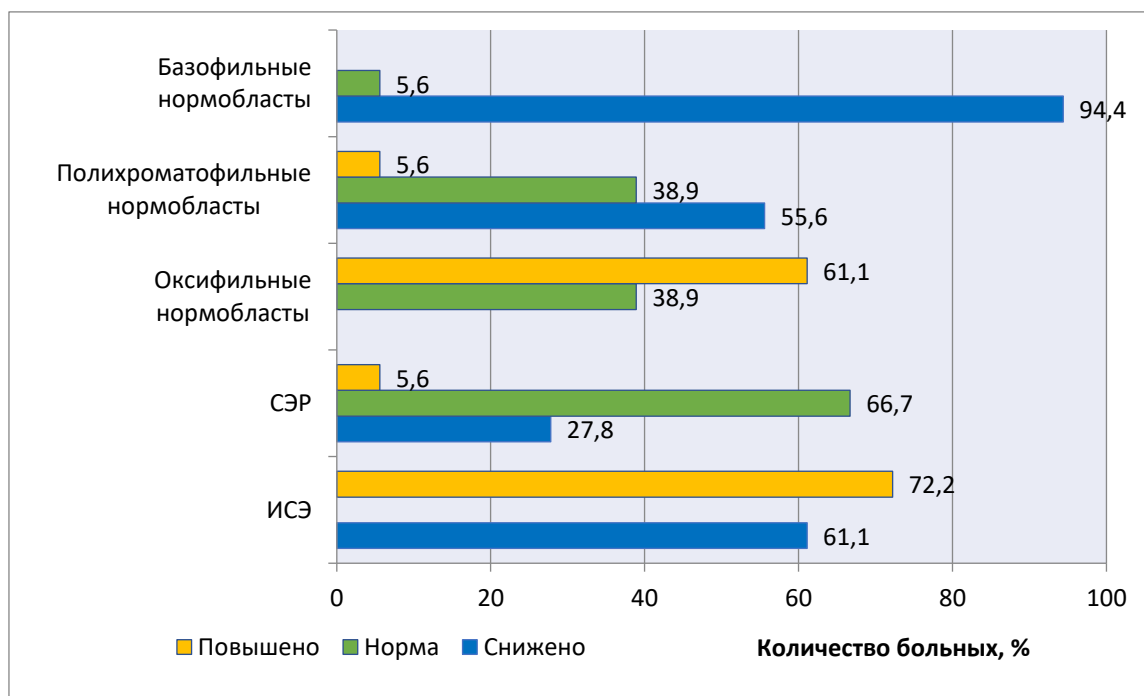
что представлено на рисунке 86. Сниженное содержание базофильных нормобластов выявлено в 94,4% случаев,  $n = 17$ , а полихроматофильных – в 55,6% наблюдений ( $n = 10$ ). В одном случае уровень базофильных нормобластов находился в пределах нормы. Содержание полихроматофильных колебалось в пределах нормальных значений в 38,9% ( $n = 7$ ) случаев, а его превышение отмечено в одном образце.

Уровень содержания оксифильных нормобластов был повышен и составил в среднем 6,4% при норме 3,2%. Увеличение их количества мы наблюдали в 61,1% ( $n = 11$ ) образцов костного мозга. В остальных случаях содержание оксифильных нормобластов находилось в пределах нормы.

Сумма всех клеток эритроидного ростка в 66,6% ( $n = 12$ ) случаев не выходила за пределы нормы, а в 27,8% ( $n = 5$ ) наблюдений оказалась сниженной. Среднее значение соответствовало 15,5% (при норме 20,5%). Индекс созревания эритроцитов в среднем был повышен (0,9 при норме 0,8), что отмечено в 72,2% ( $n = 13$ ) образцов.

Лейко-эритробластическое соотношение было либо нормальным (61,1%,  $n = 11$ ), либо повышенным (38,9%,  $n = 7$ ) и составило в среднем 5,3.

Моноциты в среднем по группе были повышены и составили в среднем 4,3% (при норме 1,9%). Их повышенное содержание отмечено в 44,4% ( $n = 8$ ) случаев, тогда как в 55,6% ( $n = 10$ ) количество моноцитов было в норме.



СЭР – сумма клеток эритроидного ростка, ИСЭ – индекс созревания эритроцитов

**Рисунок 86** – Показатели эритроидного ростка при раке шейки матки

Уровень лимфоцитов в половине образцов находился в пределах нормы (55,6%, n = 10), и в среднем составил 14,41 (при норме 9,0%). Повышенные уровни лимфоцитов зарегистрированы в 44,4% (n = 8) образцов костного мозга.

Содержание плазматических клеток в большинстве образцов отставало нормальным, что отмечено в 83,3% (n = 15). Повышенный уровень лимфоцитов наблюдался в одном случае, также как и пониженный.

Таким образом, в целом по группе при раке шейки матки в большинстве случаев имелось снижение уровня промиелоцитов, а в 2/3 случаев метамиелоцитов, при этом отмечались нормальные уровни зрелых форм гранулоцитарного ростка.

Мы наблюдали изменение пропорции эритроидных предшественников. Количество базофильных и полихроматофильных нормобластов оказались снижено, тогда как число оксифильных форм вдвое превышало норму. Уровни моноцитов также превышали норму, что отмечено в половине образцов костного мозга. Содержание лимфоцитов в среднем оказалось несколько выше нормы, а уровень плазмоцитов был нормальным.

Следует констатировать, что выборка больных была небольшой и поэтому нам не удалось провести полноценный анализ по всем клинико-морфологическим параметрам опухоли. Нами выполнено сравнение средних значений показателей миелограмм при ранних и распространенных стадиях рака шейки матки. Клинические стадии полностью отражали размеры опухоли. Стадии IA1, IA2, IB1 включали в себя опухоли размером меньше 4 см, IB2, IB, IB – опухоли больше 4 см. Результаты представлены в таблице 193.

**Таблица 193** – Показатели миелограмм в зависимости от стадии рака шейки матки

| Показатель                        | Стадии        | n  | M       | Станд.<br>отклонение | m        | p      |
|-----------------------------------|---------------|----|---------|----------------------|----------|--------|
| Миелокарициты,<br>тыс\мкл         | IA1, IA2, IB1 | 11 | 51,8182 | 39,85177             | 12,01576 | > 0,05 |
|                                   | IB2, IB, IB   | 7  | 43,8571 | 21,48975             | 8,12236  |        |
| Промиелоциты, %                   | IA1, IA2, IB1 | 11 | ,1636   | ,23355               | ,07042   | > 0,05 |
|                                   | IB2, IB, IB   | 7  | ,0857   | ,15736               | ,05948   |        |
| Нейтрофильные<br>миелоциты, %     | IA1, IA2, IB1 | 11 | 6,7636  | 1,91795              | ,57828   | > 0,05 |
|                                   | IB2, IB, IB   | 7  | 6,7429  | 2,79217              | 1,05534  |        |
| Нейтрофильные<br>метамиелоциты, % | IA1, IA2, IB1 | 11 | 9,3636  | 5,75418              | 1,73495  | 0,1    |
|                                   | IB2, IB, IB   | 7  | 5,4571  | 2,52643              | ,95490   |        |
| Палочкоядерные<br>нейтрофилы, %   | IA1, IA2, IB1 | 11 | 18,0000 | 5,97528              | 1,80162  | > 0,05 |
|                                   | IB2, IB, IB   | 7  | 15,0000 | 4,27239              | 1,61481  |        |
| Сегментоядерные<br>Нейтрофилы, %  | IA1, IA2, IB1 | 11 | 31,7091 | 7,64950              | 2,30641  | > 0,05 |
|                                   | IB2, IB, IB   | 7  | 32,0571 | 10,66815             | 4,03218  |        |

|   |               |    |         |         |         |        |
|---|---------------|----|---------|---------|---------|--------|
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка, % | IA1, IA2, IB1 | 11 | 66,5455 | 2,84266 | ,85709  | 0,01   |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | 61,2286 | 5,63966 | 2,13159 |        |
| Индекс созревания нейтрофилов           | IA1, IA2, IB1 | 11 | ,3273   | ,11037  | ,03328  | > 0,05 |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | ,2857   | ,23401  | ,08845  |        |
| Моноциты, %                             | IA1, IA2, IB1 | 11 | 4,1818  | 2,70178 | ,81462  | > 0,05 |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | 4,6000  | 2,54296 | ,96115  |        |
| Лимфоциты, %                            | IA1, IA2, IB1 | 11 | 13,8182 | 5,42620 | 1,63606 | > 0,05 |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | 14,6857 | 3,75563 | 1,41949 |        |
| Плазматические клетки, %                | IA1, IA2, IB1 | 11 | ,5636   | ,69753  | ,21031  | > 0,05 |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | ,6857   | ,47409  | ,17919  |        |
| Базофильные нормобласты, %              | IA1, IA2, IB1 | 11 | ,6364   | ,45447  | ,13703  | > 0,05 |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | ,8286   | ,35456  | ,13401  |        |
| Полихроматофильные нормобласты, %       | IA1, IA2, IB1 | 11 | 7,4727  | 2,86953 | ,86519  | > 0,05 |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | 9,8286  | 5,25031 | 1,98443 |        |
| Оксифильные нормобласты, %              | IA1, IA2, IB1 | 11 | 6,1091  | 1,84036 | ,55489  | > 0,05 |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | 7,0286  | 2,88774 | 1,09146 |        |
| Сумма клеток эритроидного ростка,       | IA1, IA2, IB1 | 11 | 14,2182 | 3,80363 | 1,14684 | > 0,05 |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | 17,6857 | 7,90347 | 2,98723 |        |
| Индекс созревания эритроцитов           | IA1, IA2, IB1 | 11 | ,9727   | ,04671  | ,01408  | > 0,05 |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | ,9714   | ,04880  | ,01844  |        |
| Лейкоэритробластическое соотношение     | IA1, IA2, IB1 | 11 | 5,6273  | 2,27380 | ,68558  | > 0,05 |
|   | IB2, IB3, IB4 | 7  | 4,9429  | 2,40960 | ,91074  |        |

Как видно из таблицы, достоверных различий в уровнях содержания клеток гранулоцитарного ростка, эритроидного ростка, лимфоцитов, моноцитов, плазматических клеток не наблюдалось. Единственно сумма клеток гранулоцитарного ростка была достоверно больше при ранних стадиях (66,5% против 61,2%,  $p = 0,01$ ). Отметим также более высокое содержание метамиелоцитов (9,3% против 5,4%,  $p = 0,1$ ), и количества миелокарицитов при ранних стадиях. Но в целом, как мы видим, принципиальных различий нет.

Также мы сравнили две группы рака шейки матки разной степени дифференцировки (Таблица 194). Как видно из таблицы, низкодифференцированные опухоли характеризовались более высоким содержанием миелокарицитов (62,2 тыс\мкл против 36,4 тыс\мкл, различия близки к достоверным,  $p = 0,07$ ). Кроме того, обнаружено изменение пропорции клеток гранулоцитарного ростка костного мозга.

**Таблица 194** – Показатели миелограмм в зависимости от степени дифференцировки рака шейки матки

| Показатель                              | G  | n | M       | Ст. откл. | m        | P,     |
|---|----|---|---------|-----------|----------|--------|
| Миелокарициты, тыс\мкл                  | G2 | 5 | 36,4000 | 25,70603  | 11,49609 | 0,07   |
|   | G3 | 5 | 62,2000 | 12,63725  | 5,65155  |        |
| Промиелоциты, %                         | G2 | 5 | ,0800   | ,17889    | ,08000   | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | ,1600   | ,21909    | ,09798   |        |
| Нейтрофильные миелоциты, %              | G2 | 5 | 7,1600  | 2,80143   | 1,25284  | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | 7,3600  | 1,82428   | ,81584   |        |
| Нейтрофильные метамиелоциты, %          | G2 | 5 | 7,2400  | 2,48757   | 1,11247  | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | 10,4000 | 8,07837   | 3,61276  |        |
| Палочкоядерные нейтрофилы, %            | G2 | 5 | 12,3600 | 2,59384   | 1,16000  | 0,001  |
|   | G3 | 5 | 20,5600 | 2,41413   | 1,07963  |        |
| Сегментоядерные Нейтрофилы, %           | G2 | 5 | 31,1200 | 10,37169  | 4,63836  | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | 30,0000 | 5,03786   | 2,25300  |        |
| Сумма клеток гранулоцитарного ростка, % | G2 | 5 | 60,0800 | 4,08069   | 1,82494  | 0,03   |
|   | G3 | 5 | 67,2000 | 4,66262   | 2,08519  |        |
| Индекс созревания нейтрофилов           | G2 | 5 | ,3800   | ,24900    | ,11136   | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | ,3000   | ,12247    | ,05477   |        |
| Моноциты, %                             | G2 | 5 | 4,5200  | 1,56589   | ,70029   | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | 4,8000  | 3,74433   | 1,67451  |        |
| Лимфоциты, %                            | G2 | 5 | 18,0800 | 3,72451   | 1,66565  | 0,02   |
|   | G3 | 5 | 12,1200 | 3,26680   | 1,46096  |        |
| Плазматические клетки, %                | G2 | 5 | ,4400   | ,35777    | ,16000   | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | ,6800   | ,52154    | ,23324   |        |
| Базофильные нормобласты, %              | G2 | 5 | ,5600   | ,38471    | ,17205   | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | ,9200   | ,22804    | ,10198   |        |
| Полихроматофильные нормобласты, %       | G2 | 5 | 7,9600  | 4,16749   | 1,86376  | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | 8,3600  | 2,53535   | 1,13384  |        |
| Оксифильные нормобласты, %              | G2 | 5 | 7,1600  | 2,34691   | 1,04957  | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | 5,9200  | 2,28298   | 1,02098  |        |
| Сумма клеток эритроидного ростка, %     | G2 | 5 | 15,6800 | 6,64319   | 2,97093  | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | 15,2000 | 3,78682   | 1,69352  |        |
| Индекс созревания эритроцитов           | G2 | 5 | 1,0000  | ,00000    | ,00000   | 0,004  |
|   | G3 | 5 | ,9200   | ,04472    | ,02000   |        |
| Лейкоэритробластическое соотношение     | G2 | 5 | 5,2800  | 2,08974   | ,93456   | > 0,05 |
|   | G3 | 5 | 5,1200  | 1,83358   | ,82000   |        |

Мы отметили увеличение доли зрелых форм гранулоцитарного ряда, а именно, палочкоядерных нейтрофилов (20,5% против 12,3%,  $p = 0,001$ ), что отразилось на сумме клеток гранулоцитарного ростка, различия носили достоверный характер,  $p = 0,03$ . При этом

важно отметить, что имело место снижение количества лимфоцитов (12,1% против 18,0%,  $p = 0,02$ ). Также внимание привлекло изменение индекса созревания эритроцитов,  $p = 0,004$ . Эти факты новые и требуют дальнейшего осмысления и изучения в большей когорте больных.

Резюмируя данный раздел работы, мы можем однозначно утверждать, что при раке шейки матки имеют место изменения клеточного состава костного мозга по сравнению с нормой. Эти изменения касаются как гранулоцитарного, так и эритроидного ростка костного мозга. В целом по группе отмечено, что в большинстве случаев снижены уровни промиелоцитов, а в 2/3 случаев – метамиелоцитов, при нормальном содержании зрелых форм гранулоцитарного ростка. Кроме того, выявлено изменение пропорции эритроидных предшественников. Количество базофильных и полихроматофильных нормобластов оказались снижено, тогда как число оксифильных форм вдвое превышало норму.

Уровни моноцитов оказались повышены в половине образцов костного мозга. Содержание лимфоцитов в среднем несколько превышало норму, а количество плазматических клеток не выходило за пределы нормальных значений.

При анализе взаимосвязей со стадией и размерами опухоли отмечено, что в целом клеточность костного мозга при ранних стадиях (IA1, IA2, IB1) была выше, а при стадиях, соответствующих размерам опухоли больше 4 см (IB2, IIB, IIIB), снижалась, но статистической значимости не достигнуто. При этом имело место снижение суммы клеток гранулоцитарного ростка при увеличении стадии ( $p = 0,01$ ). Отметим также более высокое содержание метамиелоцитов ( $p = 0,1$ ) при ранних стадиях, тогда как на распространенных стадиях их содержание было снижено.

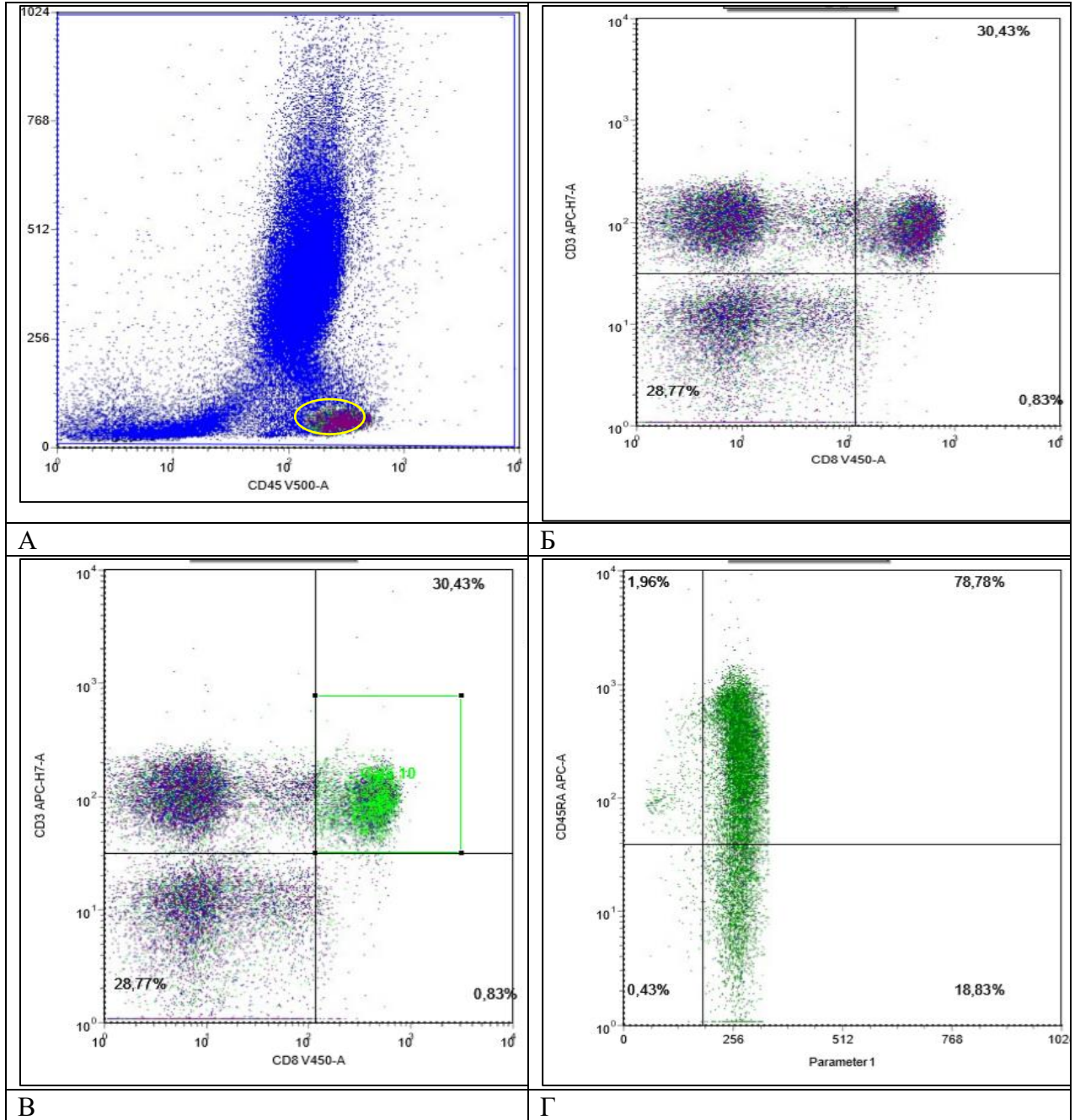
Низкодифференцированные опухоли демонстрировали более высокое количество миелокариоцитов ( $p = 0,07$ ), увеличение содержания палочкоядерных форм ( $p = 0,001$ ), что отразилось на сумме клеток гранулоцитарного ростка,  $p = 0,03$ . При этом наблюдались сниженное количество лимфоцитов ( $p = 0,02$ ) и уменьшение индекса созревания эритроцитов,  $p = 0,004$ .

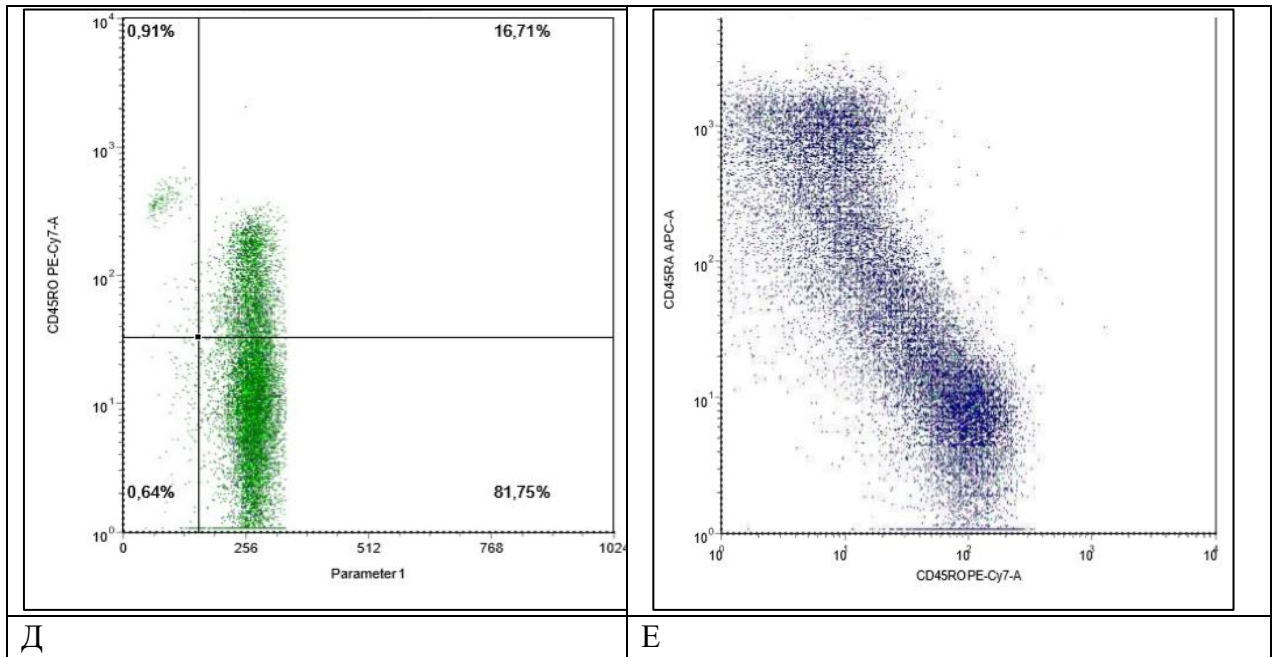
### **5.5 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций костного мозга с клинико-морфологическими характеристиками рака шейки матки**

Нами изучены CD3+, CD7+, CD2+, CD5+, CD28, CD45RO+, CD45RA+ Т-клетки, цитотоксические CD8+ Т-клетки, хелперные CD4+ лимфоциты, активированные CD3+HLADR+ лимфоциты, CD4+CD25+ клетки, TCR гамма\дельта лимфоциты, а также перфорин/гранзим содержащие популяции Т-клеток, CD20+ В-лимфоциты. Пример оценки



процентного содержания различных лимфоцитарных популяций в костном мозге представлен на рисунке 87.





А — в координатах CD45/SSC выделен гейт лимфоцитов (CD45+), Б — в гейте лимфоцитов в CD8+CD3+ составляют 30,4%; В — выделен гейт CD8+ клеток; Г – в гейте CD8+ Т -клетки с экспрессией CD45RA составляют 78,7%; Д — в гейте CD8+ Т-клетки с экспрессией CD45RO составляют 16,7%; Е — пример экспрессии CD45RA и CD45RO в гейте CD8+.

**Рисунок 87** – Цитометрический анализ лимфоидных популяций в костном мозге.

Средние значения лимфоидных популяций костного мозга при раке шейки матки представлены в таблице 195. В целом по группе установлено, что 94,6% случаев характеризовались повышенным содержанием CD3+ клеток костного мозга (более 60%). Количество цитотоксических CD8+ клеток в 68,4% образцов костного мозга превышало 30%. Содержание CD4+CD3+ лимфоцитов в 94,7% наблюдений также было увеличено (более 30%). Уровень активированных Т-клеток HLA-DR+CD3+ костного мозга в основном был ниже 10%, что составило 73,7% случаев и только в двух наблюдениях их содержание не выходило за пределы костно-мозговой нормы. Содержание CD20+ В-клеток в костном мозге у больных раком шейки матки оказалось повышено. Высокие уровни содержания В-клеток, а именно более 10% наблюдались в большинстве случаев - 72,2% образцов.

**Таблица 195** – Средние уровни костно-мозговых популяций лимфоцитов при раке шейки матки

| Популяции лимфоцитов | n  | M, %    | m       | Ст.отклонение |
|----------------------|----|---------|---------|---------------|
| CD20+CD45+           | 19 | 15,1574 | 1,82571 | 7,95806       |
| CD8+CD3+             | 19 | 37,4274 | 2,51513 | 10,96320      |

|                      |    |         |         |          |
|----------------------|----|---------|---------|----------|
| CD2+CD3+             | 18 | 88,9144 | 2,17908 | 9,24503  |
| CD5+CD3+             | 19 | 84,5084 | 2,63628 | 11,49126 |
| CD3+CD45+            | 19 | 75,1811 | 2,26195 | 9,85963  |
| CD4+CD3+             | 19 | 52,3784 | 2,49430 | 10,87241 |
| CD27+CD8+            | 18 | 63,0422 | 4,43968 | 18,83598 |
| Perforin+CD3+        | 19 | 4,0658  | 1,16341 | 5,07119  |
| Granzim+CD3+         | 19 | 30,4426 | 3,45958 | 15,07996 |
| HLA-DR+ CD3+         | 18 | 5,1261  | ,97016  | 4,11605  |
| CD7+CD3+             | 19 | 86,9484 | 1,67357 | 7,29491  |
| CD25+CD4+            | 19 | 6,8837  | 1,51350 | 6,59718  |
| TCRгамма\дельта      | 19 | 4,7105  | ,67917  | 2,96045  |
| CD45RO+CD3+          | 17 | 50,0588 | 3,39403 | 13,99393 |
| CD45RA+CD3+          | 17 | 44,4294 | 2,40557 | 9,91840  |
| CD28+CD3+            | 17 | 62,2476 | 5,31355 | 21,90831 |
| CD45RO+CD45+CD3+CD8+ | 17 | 47,0306 | 2,34895 | 9,68495  |
| CD45RA+CD45+CD3+CD8+ | 17 | 51,6194 | 2,18549 | 9,01099  |

Далее выполнено сравнение эффекторных лимфоцитарных популяций в зависимости от стадии рака шейки матки (Таблица 196). Достоверных различий в содержании тех или иных типов эффекторных клеток мы не выявили ни по одной из анализируемых популяций, за исключением зрелых Т-клеток. Как мы видим, количество CD5+CD3+ клеток на IB2, IIB, IIIB стадиях рака шейки матки было выше, чем на начальных стадиях опухоли (IA1, IA2, IB1), составив 92,2% и 79,8%, соответственно,  $p = 0,025$ . При IB2, IIB, IIIB стадиях мы видим недостоверно увеличение числа цитотоксических клеток CD27+CD8+.

Корреляционный анализ по Спирмену показал наличие положительной связи средней силы со стадией для CD5+CD3+ Т-клеток:  $R = 0,538$ ,  $n = 18$ ,  $p = 0,021$ .

**Таблица 196** – Средние уровни костно-мозговых популяций лимфоцитов в зависимости от стадии рака шейки матки

| Популяции лимфоцитов | Стадии       | n  | M, %    | Ст. отклонение | m       | p      |
|----------------------|--------------|----|---------|----------------|---------|--------|
| CD20+CD45+           | IA1-IA2-IB1  | 11 | 17,4218 | 9,66348        | 2,91365 | 0,12   |
|                      | IB2-IIB-IIIB | 7  | 11,2586 | 2,50462        | ,94666  |        |
| CD8+CD3+             | IA1-IA2-IB1  | 11 | 36,6218 | 10,04007       | 3,02720 | > 0,05 |
|                      | IB2-IIB-IIIB | 7  | 39,6771 | 13,32553       | 5,03658 |        |
| CD2+CD3+             | IA1-IA2-IB1  | 11 | 87,0509 | 10,69658       | 3,22514 | > 0,05 |
|                      | IB2-IIB-IIIB | 6  | 92,6450 | 6,05935        | 2,47372 |        |
| CD5+CD3+             | IA1-IA2-IB1  | 11 | 79,8300 | 12,27497       | 3,70104 | 0,025  |
|                      | IB2-IIB-IIIB | 7  | 92,2086 | 5,89318        | 2,22741 |        |

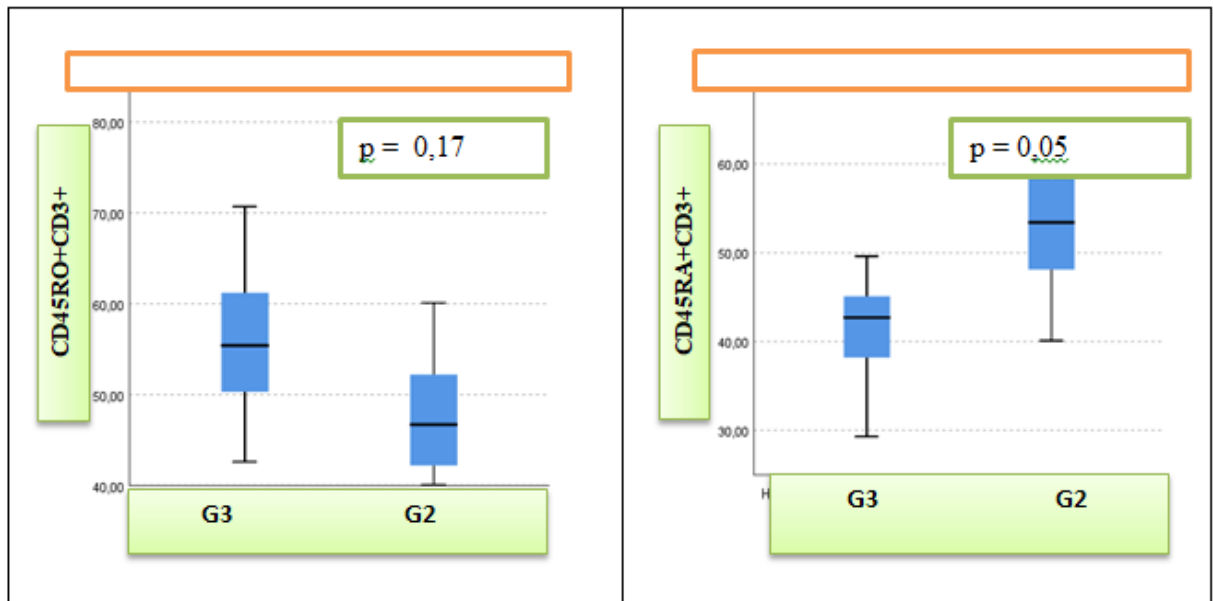
|                          |             |    |         |          |         |        |
|--------------------------|-------------|----|---------|----------|---------|--------|
| CD3+CD45+                | IA1-IA2-IB1 | 11 | 74,5055 | 12,43526 | 3,38867 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 7  | 76,7971 | 5,24564  | 3,33851 |        |
| CD4+CD3+                 | IA1-IA2-IB1 | 11 | 51,6100 | 9,68177  | 2,91414 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 7  | 54,2714 | 13,75861 | 4,87670 |        |
| CD27+CD8+                | IA1-IA2-IB1 | 11 | 61,5582 | 23,82351 | 7,18306 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 6  | 66,2300 | 7,25054  | 2,96002 |        |
| Perforin+CD3+            | IA1-IA2-IB1 | 11 | 4,3864  | 5,72373  | 1,72577 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 7  | 3,2857  | 4,58554  | 1,73317 |        |
| Granzim+CD3+             | IA1-IA2-IB1 | 11 | 31,6445 | 17,94221 | 5,40978 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 7  | 25,6600 | 6,92454  | 2,61723 |        |
| HLA-DR+ CD3+             | IA1-IA2-IB1 | 11 | 5,3491  | 4,50432  | 1,35810 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 6  | 4,9133  | 4,07238  | 1,66254 |        |
| CD7+CD3+                 | IA1-IA2-IB1 | 11 | 87,8136 | 7,64165  | 2,30404 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 7  | 85,6529 | 7,67844  | 2,90218 |        |
| CD25+CD4+                | IA1-IA2-IB1 | 11 | 6,4082  | 5,31990  | 1,60401 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 7  | 4,5857  | 1,04561  | ,39520  |        |
| TCRгамма\дельта          | IA1-IA2-IB1 | 11 | 5,1355  | 2,91992  | ,88039  | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 7  | 4,4300  | 3,23042  | 1,22098 |        |
| CD45RO+CD3+              | IA1-IA2-IB1 | 10 | 49,8300 | 16,60549 | 5,25112 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 6  | 49,7167 | 8,06062  | 3,29074 |        |
| CD45RA+CD3+              | IA1-IA2-IB1 | 10 | 43,3333 | 10,92543 | 3,64181 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 6  | 48,5000 | 8,78021  | 3,58450 |        |
| CD28+CD3+                | IA1-IA2-IB1 | 10 | 62,2630 | 23,64276 | 7,47650 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 6  | 68,1467 | 15,33841 | 6,26188 |        |
| CD45RO+CD45+<br>CD3+CD8+ | IA1-IA2-IB1 | 10 | 44,2500 | 10,87385 | 3,43861 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 6  | 47,1983 | 9,52851  | 3,89000 |        |
| CD45RA+CD45+<br>CD3+CD8+ | IA1-IA2-IB1 | 10 | 52,8400 | 8,65964  | 2,73842 | > 0,05 |
|                          | IB2-IBB-IBB | 6  | 52,6883 | 9,66733  | 3,94667 |        |

Также мы сравнили эффекторные лимфоцитарные популяции костного мозга в зависимости от степени дифференцировки рака шейки матки. Поскольку группа высокодифференцированных опухолей составила лишь два случая, поэтому сопоставление с ней не проводилось. Сравнение было выполнено между группой умереннодифференцированных опухолей (G2) и низкодифференцированных (G3) опухолей (Таблица 197). Как мы видим, по большинству популяций лимфоцитов костного мозга различий не наблюдалось. При рассмотрении минорных популяций обнаружены весьма любопытные факты, которые касались Т-клеток памяти, а также в некоторой степени цитотоксических клеток.

**Таблица 197** – Средние уровни костно-мозговых популяций лимфоцитов в зависимости от степени дифференцировки рака шейки матки

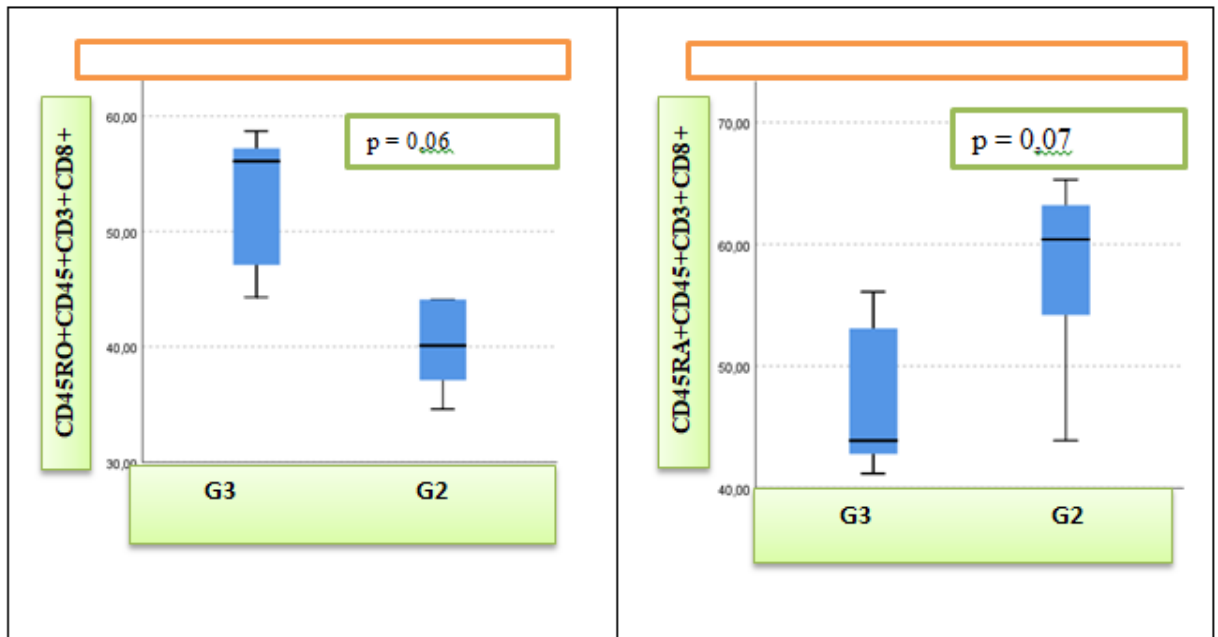
| Популяции лимфоцитов     | G  | N | M, %    | Ст. отклонение | m        | p      |
|--------------------------|----|---|---------|----------------|----------|--------|
| CD20+CD45+               | G3 | 5 | 14,4500 | 5,68181        | 2,54098  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 15,5983 | 11,68219       | 4,76924  |        |
| CD8+CD3+                 | G3 | 5 | 40,2900 | 8,84014        | 3,95343  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 40,9117 | 6,49180        | 2,65027  |        |
| CD2+CD3+                 | G3 | 4 | 94,1950 | 3,98143        | 1,99071  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 88,7850 | 10,35845       | 4,22882  |        |
| CD5+CD3+                 | G3 | 5 | 88,0680 | 2,66554        | 1,19207  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 87,2083 | 9,57103        | 3,90736  |        |
| CD3+CD45+                | G3 | 5 | 77,5740 | 6,13690        | 2,74450  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 71,4600 | 7,88974        | 3,22097  |        |
| CD4+CD3+                 | G3 | 5 | 49,8940 | 8,62001        | 3,85499  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 50,3167 | 8,00059        | 3,26623  |        |
| CD27+CD8+                | G3 | 4 | 69,7200 | 11,83039       | 5,91520  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 53,0333 | 26,36579       | 10,76379 |        |
| Perforin+CD3+            | G3 | 5 | 2,1920  | 1,19746        | ,53552   | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 3,9267  | 5,14050        | 2,09860  |        |
| Granzim+CD3+             | G3 | 5 | 28,5280 | 10,77899       | 4,82051  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 32,4717 | 20,28349       | 8,28070  |        |
| HLA-DR+ CD3+             | G3 | 4 | 3,2150  | 3,20850        | 1,60425  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 6,4867  | 4,13434        | 1,68784  |        |
| CD7+CD3+                 | G3 | 5 | 84,5800 | 9,46481        | 4,23279  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 85,0900 | 5,02323        | 2,05073  |        |
| CD25+CD4+                | G3 | 5 | 7,0780  | 5,50896        | 2,46368  | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 6,7383  | 4,93460        | 2,01454  |        |
| TCR гамма\дельта         | G3 | 5 | 4,9160  | 1,38157        | ,61786   | > 0,05 |
|                          | G2 | 6 | 4,0883  | 3,27899        | 1,33864  |        |
| CD45RO+CD3+              | G3 | 5 | 56,0400 | 10,67160       | 4,77248  | > 0,05 |
|                          | G2 | 5 | 48,2600 | 8,08474        | 3,61561  |        |
| CD45RA+CD3+              | G3 | 5 | 40,9800 | 7,71991        | 3,45245  | 0,05   |
|                          | G2 | 5 | 52,6400 | 8,98794        | 4,01953  |        |
| CD28+CD3+                | G3 | 5 | 64,1220 | 16,81709       | 7,52083  | > 0,05 |
|                          | G2 | 5 | 73,5180 | 5,37045        | 2,40174  |        |
| CD45RO+CD45+<br>CD3+CD8+ | G3 | 5 | 52,6780 | 6,51267        | 2,91256  | 0,06   |
|                          | G2 | 5 | 42,3800 | 8,39744        | 3,75545  |        |
| CD45RA+CD45+<br>CD3+CD8+ | G3 | 5 | 47,4200 | 6,70873        | 3,00023  | 0,07   |
|                          | G2 | 5 | 57,4000 | 8,62467        | 3,85707  |        |

Обращало внимание, что низкодифференцированные опухоли характеризовались более высоким содержанием Т- CD45RO+CD3+ клеток памяти (Рисунок 88). Количество клеток этой популяции составило 56,0%, тогда как при умеренно дифференцированных опухолях их средние значения составили 48,2%, хотя различия недостоверны. Также мы видим это на примере популяции цитотоксических клеток CD27+CD8+, число которых также больше (69,7% против 53,0%), но статистической значимости не достигнуто.



**Рисунок 88** – Результаты сравнения количества CD45RO+CD3+, CD45RA+CD3+ лимфоцитов в костном мозге в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Напротив, количество наивных Т-клеток (CD45RA+CD3+) при низкодифференцированных (G3) опухолях было меньше, чем при умереннодифференцированных (40,9% против 52,6%),  $p = 0,05$ . Это нашло отражение в пропорции наивных цитотоксических CD45RA+CD45+CD3+CD8+ клеток, которая была меньше при G3 опухолях: 47,4% против 57,4% при G2,  $p = 0,07$  (Рисунок 89). Доля же цитотоксических клеток памяти CD45RO+CD45+CD3+CD8+ при низкодифференцированном раке (G3) составила 52,6% против 42,3% при G2, что значительно больше,  $p = 0,07$ .



**Рисунок 89** – Результаты сравнения количества CD45RO+CD45+CD3+CD8+, CD45RA+CD45+CD3+CD8+ лимфоцитов в костном мозге в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Следует согласиться, что ввиду малого числа наблюдений полноценного анализа провести нам не удалось. Несмотря на это, тот характер изменений, который мы отметили, а также его совпадение по нескольким популяциям, приводит к мысли, что эта линия различий неслучайна и целесообразно продолжить накопление данных для полноценного исследования.

Таким образом, подводя итог по данному разделу работы, мы считаем необходимым сделать как минимум два заключения. Первое – лимфоцитарные популяции эффекторных клеток костного мозга определенно связаны с прогрессированием опухолевого процесса, и второе – не исключена взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций со степенью дифференцировки рака шейки матки.

Безусловно, мы должны признать, что были ограничены в возможности провести полноценный анализ ввиду небольшого числа наблюдений, но, несмотря на эти ограничения, ряд обнаруженных изменений мы не можем игнорировать. Это касалось в первую очередь общего содержания Т-клеток при раке шейки матки, которое было повышено практически во всех образцах.

При подробном анализе субпопуляций цитотоксических и хелперных лимфоцитов мы нашли тому подтверждение в виде увеличения доли CD8+CD3+ эффекторных клеток. На первый взгляд это обстоятельство должно быть воспринято позитивно, поскольку могло бы свидетельствовать о выраженном противоопухолевом ответе. Однако сниженное содержание

активированных Т-лимфоцитов несколько изменило представление об этом. Практически в 80% случаев их количество было ниже костно-мозговой нормы.

Далее, следует обратить внимание на изменение доли Т-клеток в зависимости от стадии. Популяция Т-клеток (CD3+CD5+) была выше при распространенных стадиях опухоли, чем при ранних стадиях рака шейки матки ( $p = 0,025$ ). Эти результаты могли бы свидетельствовать о нарастании иммунных реакций в костном мозге при прогрессировании опухоли. Косвенно на это указывало некоторое увеличение доли CD27+CD8+ -клеток. Интересно, что субпопуляции Т-клеток памяти могут экспрессировать помимо CD27 разные антигены, в числе которых перфорины, гранзимы. Последнее обстоятельство тем больше побуждает продолжить изучение этих эффекторных популяций Т-клеток костного мозга. Здесь уместно отметить, что подробное изучение минорных популяций Т-клеток, в том числе перфорин-содержащих, проводилось при раке легкого, при котором выявлены их взаимосвязи с гистологическим диагнозом [8].

Любопытные результаты получены при анализе эффекторных лимфоцитарных популяций в зависимости от степени дифференцировки рака шейки матки. Низкодифференцированные опухоли характеризовались высоким содержанием Т-CD45RO+CD3+ клеток памяти. Иная картина получена в отношении наивных Т-клеток (CD45RA+CD3+): при низкодифференцированных опухолях их содержание было меньше, чем при умереннодифференцированных,  $p = 0,05$ .

По-видимому, это происходило за счет доли CD45RA+CD45+CD3+CD8+ клеток ( $p = 0,07$ ). Не можем не отметить, что при этом доля цитотоксических клеток памяти CD45RO+CD45+CD3+CD8+ при низкодифференцированном раке (G3) составила 52,6% против 42,3% при G2, что значительно больше,  $p = 0,07$ . Это привлекло наше внимание, поскольку такое совпадение по нескольким видам популяций, приводит к мысли, что эта линия различий неслучайна, и целесообразно изучить этот характер изменений более подробно.

Дополнительно, обратим внимание, что в данной работе не оценивались субпопуляции В-клеток костного мозга, но необходимо отметить, что в целом по группе их содержание было выше костно-мозговой нормы. Несомненно, этот факт в сумме с результатами, полученными в отношении Т-клеточного звена, а также литературными данными о роли В-клеток в противоопухолевой защите, может служить опорной точкой для последующих более детальных исследований костного мозга при раке шейки матки.



### 5.6 Взаимосвязь эффекторных лимфоцитарных популяций костного мозга с показателями миелограмм больных раком шейки матки

На данном этапе работы мы проанализировали эффекторные лимфоцитарные популяции костного мозга во взаимосвязи с показателями гемопоэза у больных раком шейки матки. Корреляционные связи морфологически выявляемых клеточных типов, а именно общего количества миелокариоцитов, клеток гранулоцитарного ростка, с лимфоцитарными субпопуляциями представлены в таблице 198.

**Таблица 198** – Корреляционные связи лимфоцитарных субпопуляций костного мозга с миелокариоцитами, клетками гранулоцитарного ростка

| Популяции лимфоцитов костного мозга |   | МКЦ     | ПМЦ    | НМЦ    | НММЦ   | ПЯН    | СЯН     | ИСН    | СГР    |
|-------------------------------------|---|---------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|
| CD20+<br>CD45+                      | R | 0,468   | 0,191  | 0,431  | 0,424  | 0,468  | -,647** | -0,021 | ,589*  |
|                                     | p | 0,058   | 0,463  | 0,084  | 0,09   | 0,058  | 0,005   | 0,937  | 0,013  |
|                                     | N | 17      | 17     | 17     | 17     | 17     | 17      | 17     | 17     |
| CD8+CD3+                            | R | 0,188   | -,526* | 0,076  | 0,092  | 0,203  | -0,235  | -0,157 | -0,077 |
|                                     | p | 0,471   | 0,03   | 0,772  | 0,726  | 0,434  | 0,363   | 0,547  | 0,77   |
|                                     | N | 17      | 17     | 17     | 17     | 17     | 17      | 17     | 17     |
| CD4+CD3+                            | R | -0,354  | 0,438  | -0,368 | -0,321 | -0,248 | 0,363   | -0,031 | -0,193 |
|                                     | p | 0,163   | 0,079  | 0,146  | 0,209  | 0,338  | 0,152   | 0,907  | 0,457  |
|                                     | N | 17      | 17     | 17     | 17     | 17     | 17      | 17     | 17     |
| Perforin+<br>CD3+                   | R | -,618** | -0,263 | -0,061 | -0,053 | -0,424 | ,516*   | 0,174  | -0,131 |
|                                     | p | 0,008   | 0,307  | 0,815  | 0,841  | 0,09   | 0,034   | 0,504  | 0,617  |
|                                     | N | 17      | 17     | 17     | 17     | 17     | 17      | 17     | 17     |
| CD7+CD3+                            | R | 0,223   | -0,366 | -0,028 | 0,419  | 0,314  | -0,316  | -0,072 | 0,361  |
|                                     | p | 0,389   | 0,149  | 0,914  | 0,094  | 0,22   | 0,216   | 0,782  | 0,155  |
|                                     | N | 17      | 17     | 17     | 17     | 17     | 17      | 17     | 17     |
| TCR гамма/<br>дельта                | R | 0,48    | 0,081  | 0,389  | 0,311  | 0,269  | -0,411  | -0,015 | 0,415  |
|                                     | p | 0,051   | 0,757  | 0,123  | 0,224  | 0,297  | 0,101   | 0,953  | 0,098  |
|                                     | N | 17      | 17     | 17     | 17     | 17     | 17      | 17     | 17     |

МКЦ – миелокариоциты, ПМЦ – промиелоциты, НМЦ – нейтрофильные миелоциты, НММЦ – нейтрофильные метамиелоциты, ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы, СЯН – сегментоядерные нейтрофилы, ИСН- индекс созревания нейтрофилов, СГР – сумма клеток гранулоцитарного ростка



|                   |   |        |        |        |         |         |        |         |        |        |
|-------------------|---|--------|--------|--------|---------|---------|--------|---------|--------|--------|
| CD27+<br>CD8+     | R | 0,14   | -,508* | -0,038 | 0,442   | 0,338   | -0,136 | 0,221   | -0,47  | -0,143 |
|                   | p | 0,605  | 0,045  | 0,889  | 0,087   | 0,2     | 0,616  | 0,411   | 0,066  | 0,598  |
|                   | N | 16     | 16     | 16     | 16      | 16      | 16     | 16      | 16     | 16     |
| CD5+<br>CD3+      | R | 0,31   | 0,448  | -0,257 | -0,146  | -0,373  | 0,065  | -0,225  | 0,053  | 0,32   |
|                   | p | 0,226  | 0,072  | 0,318  | 0,575   | 0,141   | 0,804  | 0,386   | 0,841  | 0,21   |
|                   | N | 17     | 17     | 17     | 17      | 17      | 17     | 17      | 17     | 17     |
| CD3+<br>CD45+     | R | -0,1   | -0,006 | ,547*  | 0,355   | -0,128  | -0,152 | -0,092  | -0,475 | -0,017 |
|                   | p | 0,703  | 0,981  | 0,023  | 0,162   | 0,625   | 0,56   | 0,727   | 0,054  | 0,948  |
|                   | N | 17     | 17     | 17     | 17      | 17      | 17     | 17      | 17     | 17     |
| CD4+<br>CD3+      | R | 0,473  | -0,091 | -,541* | -0,138  | 0,177   | 0,041  | 0,177   | 0,158  | -0,128 |
|                   | p | 0,055  | 0,729  | 0,025  | 0,598   | 0,498   | 0,877  | 0,498   | 0,544  | 0,626  |
|                   | N | 17     | 17     | 17     | 17      | 17      | 17     | 17      | 17     | 17     |
| Perforin+<br>CD3+ | R | 0,473  | 0,407  | -0,467 | -,679** | -,667** | -0,347 | -,676** | 0,316  | ,709** |
|                   | p | 0,055  | 0,105  | 0,059  | 0,003   | 0,003   | 0,173  | 0,003   | 0,216  | 0,001  |
|                   | N | 17     | 17     | 17     | 17      | 17      | 17     | 17      | 17     | 17     |
| Granzim+<br>CD3+  | R | 0,097  | ,681** | 0,124  | -0,333  | -,759** | -0,415 | -,741** | 0      | ,648** |
|                   | p | 0,711  | 0,003  | 0,634  | 0,192   | 0       | 0,098  | 0,001   | 1      | 0,005  |
|                   | N | 17     | 17     | 17     | 17      | 17      | 17     | 17      | 17     | 17     |
| CD25+C<br>D4+     | R | -0,277 | 0,093  | 0,436  | 0,071   | -0,293  | -0,14  | -0,242  | -0,105 | 0,216  |
|                   | p | 0,283  | 0,722  | 0,08   | 0,787   | 0,254   | 0,591  | 0,35    | 0,687  | 0,405  |
|                   | N | 17     | 17     | 17     | 17      | 17      | 17     | 17      | 17     | 17     |
| CD45RA<br>+ CD3+  | R | 0,322  | -0,128 | -,555* | -0,215  | 0,277   | 0,267  | 0,274   | 0,249  | -0,052 |
|                   | p | 0,224  | 0,637  | 0,026  | 0,424   | 0,3     | 0,318  | 0,305   | 0,353  | 0,85   |
|                   | N | 16     | 16     | 16     | 16      | 16      | 16     | 16      | 16     | 16     |

МНЦ – моноциты, ЛФЦ – лимфоциты, ПЛЦ – плазмоциты, БЗНБ – базофильные нормобласты, ПХНБ – полихроматофильные нормобласты, СЭР – сумма клеток эритроидного ростка, ИСЭ – индекс созревания эритроцитов, ЛЭС – лейкоэритробластическое соотношение

Таким образом, на данном этапе работы выявлены важные корреляционные связи морфологически выявляемых клеточных типов костного с эффекторными лимфоцитарными популяциями, которые касались как Т-, так и В-клеточного звена.

Миелоидные предшественники находились в отрицательной корреляции средней силы с эффекторными Т- клетками. Напротив, зрелые клетки гранулоцитарного ростка (сегментоядерные нейтрофилы) положительно коррелировали с Т-лимфоцитами (перфорин содержащие популяции).

Эритроидные предшественники находились в реципрокных отношениях с гранзим/перфорин содержащими популяциями Т-лимфоцитов, отметим, что связь высокодостоверная. При этом CD27+CD8+ клетки положительно коррелировали с базофильными нормобластами, связь средней силы.

Моноциты отрицательно коррелировали с TCR гамма/дельта Т-лимфоцитами. При этом CD4+CD3+, CD45RA+CD3+лимфоциты обратно коррелировали с плазмочитами.

Для В-клеток отмечена отрицательная связь средней силы со зрелыми клетками гранулоцитарного ростка. Маргинальной значимости была прямая связь В-клеток с миелоидными предшественниками. С эритроидными предшественниками В-лимфоциты находились в положительной корреляции.

## ГЛАВА 6. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ РАКЕ ТЕЛА МАТКИ

### 6.1 Взаимосвязь иммунофенотипа рака тела матки с клиническими и морфологическими показателями

Первым этапом работы стало изучение связи иммунофенотипа опухоли с клинико-морфологическими характеристиками рака тела матки: стадия, размеры первичной опухоли, глубина инвазии, регионарное метастазирование, степень дифференцировки. Рассмотрим результаты анализа по каждому антигену, экспрессия которого была изучена на опухолевых клетках.

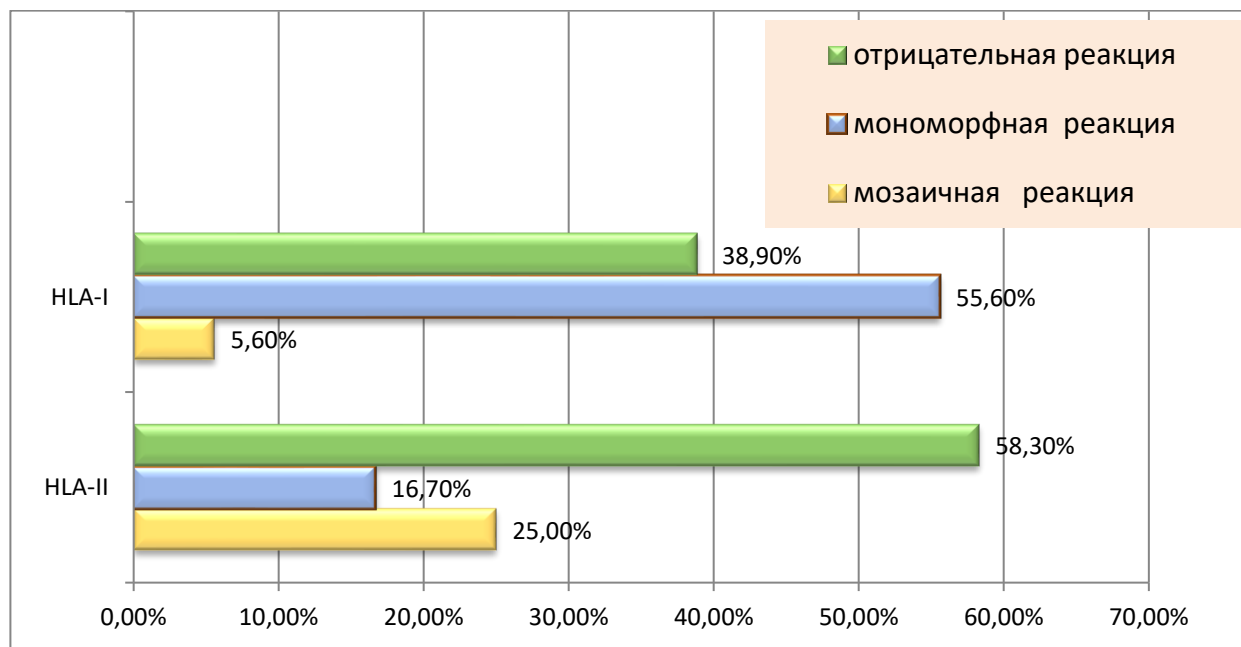
Полученные результаты анализа экспрессии молекул HLA-I и II класса (HLA-DR) клетками рака шейки матки представлены в таблице 200. При изучении экспрессии мономорфных детерминант HLA-I класса установлено, что в 38,9% (n = 14) образцов была отрицательная реакция, то есть наблюдалось менее 10% антигенположительных клеток. Мономорфная экспрессия анализируемого маркера выявлена в 55,6% (n = 24) случаев, мозаичный тип реакции отмечен в 5,6% (n = 2), рисунок 90.

В отношении молекулы HLA-DR наблюдалась следующая картина. Антигены в 41,7% изученных образцов экспрессировались клетками рака (n = 15), из них экспрессия HLA-DR антигена мозаичного характера отмечена в 25,0% опухолевых клеток (n = 9). Мономорфная экспрессия данного антигена опухолевыми клетками установлена в 16,7% (n = 6) образцов.

**Таблица 200** – Экспрессия опухолевыми клетками молекул HLA-I, HLA-DR

| Оценка экспрессии антигена | Абс. | %     |
|----------------------------|------|-------|
| HLA-I                      |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 14   | 38,9  |
| Мозаичная реакция «-/»     | 2    | 5,6   |
| Мономорфная реакция «+»    | 20   | 55,6  |
| Всего                      | 36   | 100,0 |
| HLA-DR                     |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 21   | 58,3  |
| Мозаичная реакция «-/»     | 9    | 25,0  |
| Мономорфная реакция «+»    | 6    | 16,7  |
| Всего                      | 37   | 100,0 |

Как мы видим, частота экспрессии мономорфных HLA детерминант различалась. Большинство клеток рака тела матки экспрессируют молекулы HLA I класса, тогда как экспрессия молекул HLA II класса наблюдалась реже. Мономорфная реакция значительно чаще отмечена в отношении антигенов HLA I класса. Сохранность антигенных детерминант I класса может свидетельствовать о высокой дифференцировке опухоли.



**Рисунок 90** – Экспрессия молекул HLA клетками рака тела матки

Анализ взаимосвязи между экспрессией HLA- мономорфных детерминант I и II класса представлен в таблице 201.

**Таблица 201** – Взаимосвязь экспрессии молекул HLA-I с HLA-DR

| Тип реакции |               |   | HLA-DR, $p = 0,14$ |           |             | Всего  |
|-------------|---------------|---|--------------------|-----------|-------------|--------|
|             |               |   | отрицательная      | мозаичная | мономорфная |        |
| HLA-I       | отрицательная | n | 11                 | 2         | 1           | 14     |
|             |               | % | 78,6%              | 14,3%     | 7,1%        | 100,0% |
|             | мозаичная     | n | 0                  | 1         | 1           | 2      |
|             |               | % | 0,0%               | 50,0%     | 50,0%       | 100,0% |
|             | мономорфная   | n | 10                 | 6         | 4           | 20     |
|             |               | % | 50,0%              | 30,0%     | 20,0%       | 100,0% |

Мономорфная экспрессия обеих детерминант отмечена в 20,0% случаев. В 78,6% образцов наблюдалось отсутствие экспрессии обеих молекул главного комплекса гистосовместимости клетками рака. В 30,0% случаев мономорфная экспрессия молекул HLA-I класса сопровождалась HLA-DR мозаичным фенотипом, а в 50% образцов – негативным

фенотипом. При отсутствии экспрессии молекул HLA I класса в 14,3% случаев отмечен мозаичный HLA-DR фенотип опухоли.

Далее мы проанализировали взаимосвязи клинической стадии, размеров первичной опухоли (Т категория) с HLA- иммунофенотипом рака тела матки. Не установлено достоверной связи экспрессии молекул HLA I и II класса со стадией опухолевого процесса, а также с категорией Т. Отметим, что HLA-I мономорфный фенотип при стадии IA – II наблюдался в 64,3% случаев против 28,6% при распространенных стадиях, но достоверной значимости не достигнуто,  $p = 0,15$  (Таблица 202). При сравнении в более крупных группах, а именно в пределах HLA-I позитивного и негативного фенотипов, данная тенденция в различиях сохранялась,  $p = 0,05$ .

Опухоли T1 чаще демонстрировали HLA-I мономорфный фенотип, но поскольку выборка по T2-3 стадии была невелика достоверно судить об этом невозможно,  $p = 0,09$ .

**Таблица 202 – Взаимосвязь HLA- I фенотипа со стадией рака тела матки**

| Стадия   |   | Иммунофенотип |               |            | Итого   |
|----------|---|---------------|---------------|------------|---------|
|          |   | HLA- I «->»   | HLA- I «+/->» | HLA- I «+» |         |
| I - II   | n | 9             | 1             | 18         | 28      |
|          | % | 32,10%        | 3,60%         | 64,30%     | 100,00% |
| III - IV | n | 5             | 0             | 2          | 7       |
|          | % | 71,40%        | 0,00%         | 28,60%     | 100,00% |
|          |   | $p = 0,15$    |               |            |         |
| Стадия   |   | HLA-DR «->»   | HLA-DR «+/->» | HLA-DR «+» | Итого   |
|          |   |               |               |            |         |
| I - II   | n | 17            | 7             | 4          | 28      |
|          | % | 60,70%        | 25,00%        | 14,30%     | 100,00% |
| III - IV | n | 4             | 2             | 1          | 7       |
|          | % | 57,10%        | 28,60%        | 14,30%     | 100,00% |
|          |   | $p = 0,98$    |               |            |         |

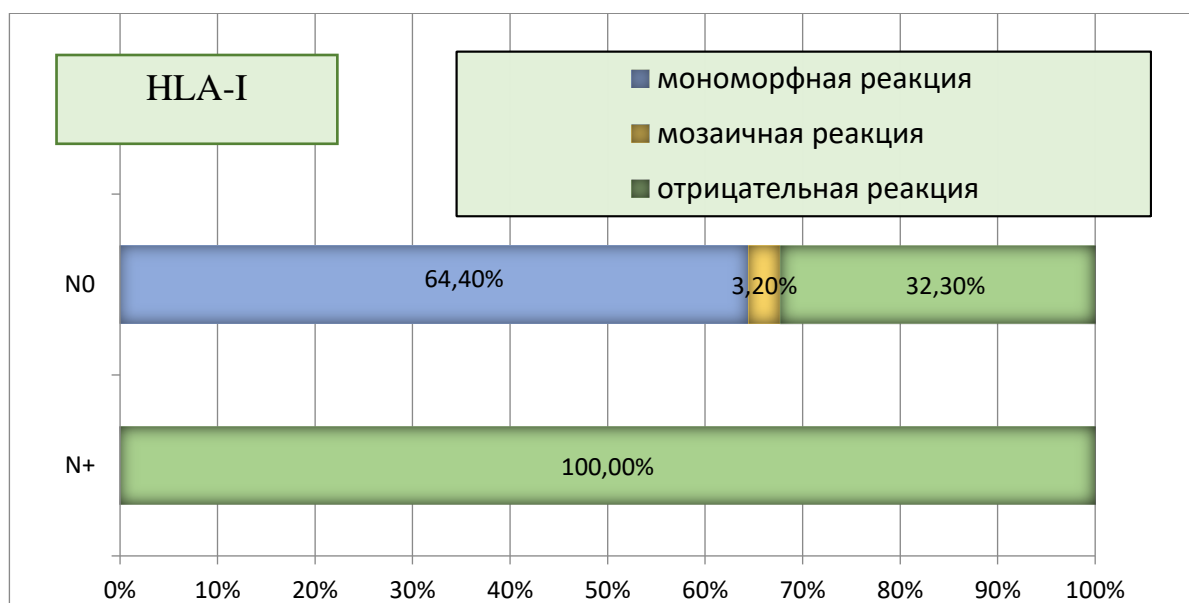
Следующим шагом мы оценили взаимосвязи между HLA иммунофенотипом рака тела матки и регионарным метастазированием (Таблица 203). Как видно из таблицы, в отношении молекул HLA II класса достоверных различий не обнаружено. При этом в отношении антигенов HLA I класса мы наблюдали, что частота мономорфной экспрессии этих антигенов при отсутствии метастазов в регионарных лимфатических узлах (статусе N0) составила 64,5%, тогда как при метастазировании (группа N+) таких случаев не отмечено,  $p = 0,017$ .

Однако, следует обратить внимание, что группа N+ составила всего четыре случая, поэтому делать какие-либо заключения затруднительно. Вместе с тем это наблюдение требует дальнейшего прояснения.

**Таблица 203** – Взаимосвязь HLA- фенотипа со статусом N

| Статус N                    |   | Имунофенотип |               |              | Всего  |
|-----------------------------|---|--------------|---------------|--------------|--------|
|                             |   | HLA- I «->»  | HLA- I «+/->» | HLA- I «+>>» |        |
| N0                          | n | 10           | 1             | 20           | 31     |
|                             | % | 32,3%        | 3,2%          | 64,5%        | 100,0% |
| N+                          | n | 4            | 0             | 0            | 4      |
|                             | % | 100,0%       | 0,0%          | 0,0%         | 100,0% |
| $p = 0,017, \chi^2 = 6,774$ |   |              |               |              |        |
| Статус N                    |   | HLA-DR «->»  | HLA-DR «+/->» | HLA-DR «+>>» | Всего  |
|                             |   |              |               |              |        |
| N0                          | n | 20           | 7             | 4            | 31     |
|                             | % | 64,5%        | 22,6%         | 12,9%        | 100,0% |
| N+                          | n | 1            | 2             | 1            | 4      |
|                             | % | 25,0%        | 50,0%         | 25,0%        | 100,0% |
| $p = 0,31$                  |   |              |               |              |        |

На рисунке 91 представлены результаты оценки взаимосвязи между экспрессией HLA-I детерминанты и статусом лимфоузлов.



**Рисунок 91** – HLA-I фенотип рака тела матки в зависимости от статуса лимфоузлов



Оценить характер HLA-I иммунофенотипа в зависимости от гистологического вида рака тела матки нам не удалось, поскольку преобладающим была эндометриоидная аденокарцинома, а серозная аденокарцинома отмечена только в 2 случаях.

Оценка взаимосвязи HLA-I иммунофенотипа с дифференцировкой опухоли не выявила статистически значимых различий. Высоко- и умеренно дифференцированные опухоли несколько чаще демонстрировали HLA-I мономорфный фенотип нежели низкодифференцированные: 60,0% против 44,4%, но различия не достоверны,  $p = 0,47$ .

Также мы оценили фенотип опухоли в зависимости от степени инвазии в миометрий. Достоверных связей нами не выявлено. При этом отметим, что при инвазии рака менее половины толщины миометрия мономорфно экспрессирующие молекулы HLA I класса опухоли, наблюдались несколько чаще: 64,7% против 50,0% при инвазии более половины толщины миометрия,  $p = 0,31$ . В 50,0% случаев при инвазии более чем  $\frac{1}{2}$  миометрия отмечен HLA-I негативный фенотип опухоли.

Таким образом, суммируя по данному разделу работы, отметим, что частота экспрессии молекул HLA I и II класса клетками рака тела матки несколько различалась. Большинство клеток рака тела матки экспрессируют молекулы HLA I класса, тогда как экспрессия молекул HLA II класса наблюдалась реже. Мономорфная реакция значительно чаще отмечена в отношении антигенов HLA I класса. Достоверной взаимосвязи между экспрессией HLA молекул I и II классов не выявлено.

Сравнение с клиническими стадиями установило, HLA-I мономорфный фенотип при стадии IA – II наблюдался в 64,3% случаев против 28,6% при распространенных стадиях, но достоверной значимости не достигнуто,  $p = 0,15$ .

Оценка взаимосвязи между HLA иммунофенотипом и регионарным метастазированием показала, что частота мономорфной экспрессии при статусе N0 составила 64,5%, тогда как при регионарном метастазировании такового не наблюдалось,  $p = 0,017$ . Вместе с тем следует отметить, что количество случаев в группе N+ было невелико, поэтому затруднительно трактовать данные результаты.

Оценка взаимосвязи HLA -иммунофенотипа с дифференцировкой опухоли не выявила статистически значимых различий. Высоко- и умеренно дифференцированные опухоли несколько чаще демонстрировали HLA-I мономорфный фенотип нежели низкодифференцированные.

Указанные результаты, на наш взгляд, вероятно, могут указывать на наличие связи между HLA- иммунофенотипом и распространенностью опухоли, но ввиду небольшого количества случаев с поздними стадиями однозначно утверждать об этом несколько

затруднительно. Безусловно, требуется продолжить накопление данных для проверки предполагаемых взаимосвязей.

В результате анализа экспрессии трансферриновых рецепторов клетками рака тела матки установлены следующие данные (Таблица 204). Почти в половине случаев образцы характеризовались мономорфной экспрессией TfR1 (48,4%,  $n = 16$ ), а в 11,1% ( $n = 4$ ) наблюдений клетки рака мозаично экспрессировали исследуемый антиген. В остальных случаях (44,4%,  $n = 16$ ) отмечен TfR1- негативный фенотип.

**Таблица 204** – Экспрессия TfR1 клетками рака тела матки

| Оценка экспрессии антигена | Абс. | %     |
|----------------------------|------|-------|
| TfR1                       |      |       |
| Отрицательная реакция «-»  | 16   | 44,4  |
| Мозаичная реакция «-/+»    | 4    | 11,1  |
| Мономорфная реакция «+»    | 16   | 44,4  |
| Всего                      | 36   | 100,0 |

Далее мы оценили, есть ли связь между экспрессией клетками рака тела матки HLA-мономорфных детерминант и экспрессией опухолью трансферриновых рецепторов. Надо сказать, что результаты данного анализа перекликались с результатами, полученными нами при изучении опухолей других локализаций, описанными в соответствующих главах.

Интересно, что TfR1- мономорфный фенотип часто был ассоциирован с HLA-I мономорфной экспрессией, что наблюдалось нами в 75,0% случаев. TfR1- негативный фенотип почти в равном числе случаев сочетался с HLA-I негативным и мономорфным фенотипом опухоли (Таблица 205). Различия близки к достоверным,  $p = 0,08$ .

**Таблица 205** – Экспрессии трансферринового рецептора клетками рака тела матки и ее взаимосвязь с экспрессией молекул HLA-I

| Экспрессия TfR1,<br>вид реакции |   | Вид реакции      |           |             | Итого  |
|---------------------------------|---|------------------|-----------|-------------|--------|
|                                 |   | Отрицательная    | Мозаичная | Мономорфная |        |
|                                 |   | Экспрессия HLA-I |           |             |        |
| Отрицательная                   | n | 6                | 1         | 8           | 15     |
|                                 | % | 40,0%            | 6,7%      | 53,3%       | 100,0% |
| Мозаичная                       | n | 0                | 0         | 4           | 4      |

|             |   |       |      |        |        |
|-------------|---|-------|------|--------|--------|
|             | % | 0,0%  | 0,0% | 100,0% | 100,0% |
| Мономорфная | n | 4     | 0    | 12     | 16     |
|             | % | 25,0% | 0,0% | 75,0%  | 100,0% |
| p = 0,08    |   |       |      |        |        |

Изучение TfR1 фенотипа рака тела матки в зависимости от клинической стадии заболевания не выявило различий (Таблица 206). Как можно заметить из таблицы, TfR1 мономорфный фенотип опухоли, также как и мозаичный фенотип, встречался примерно с одинаковой частотой как при ранних, так и при распространенных стадиях рака тела матки.

**Таблица 206** – Взаимосвязь TfR1 фенотипа со стадией рака тела матки

| Стадия   |   | Иммунофенотип |           |          | Всего  |
|----------|---|---------------|-----------|----------|--------|
|          |   | TfR1 «-»      | TfR1«+/-» | TfR1 «+» |        |
| I - II   | n | 12            | 3         | 13       | 28     |
|          | % | 42,9%         | 10,7%     | 46,4%    | 100,0% |
| III - IV | n | 3             | 1         | 3        | 7      |
|          | % | 42,9%         | 14,3%     | 42,9%    | 100,0% |
| p = 0,96 |   |               |           |          |        |

Далее мы проанализировали TfR1 иммунофенотип опухоли в зависимости от регионарного метастазирования рака тела матки (Таблица 207). Не выявлено связи экспрессии трансферриновых рецепторов со статусом N. Интересно, что при отсутствии метастазов в лимфатических узлах частота TfR1 мономорфного фенотипа была меньше, чем при наличии таковых, составив 41,9% против 75,0%, соответственно.

**Таблица 207** – Взаимосвязь TfR1 фенотипа рака тела матки со статусом N

| Статус N |   | Иммунофенотип |           |          | Всего  |
|----------|---|---------------|-----------|----------|--------|
|          |   | TfR1 «-»      | TfR1«+/-» | TfR1 «+» |        |
| N0       | n | 14            | 4         | 13       | 31     |
|          | % | 45,2%         | 12,9%     | 41,9%    | 100,0% |
| N1       | n | 1             | 0         | 3        | 4      |
|          | % | 25,0%         | 0,0%      | 75,0%    | 100,0% |
| p= 0,35  |   |               |           |          |        |

Оценить характер TfR1 иммунофенотипа в зависимости от гистологического вида рака тела матки нам не удалось, поскольку преобладающим была эндометриоидная аденокарцинома, а серозная аденокарцинома отмечена только в 2 случаях.

Также мы оценили фенотип опухоли в зависимости от степени инвазии в миометрий. Достоверных связей нами не выявлено.

Не выявлено достоверной взаимосвязи между степенью дифференцировки рака тела матки и TfR1- фенотипом опухоли. Результаты анализа представлены в таблице 208. При высокодифференцированных опухолях частота мономорфной экспрессии трансферриновых рецепторов клетками рака составила 41,7%, при низкодифференцированных она была 37,5%. Мозаичная экспрессия TfR1 встречалась несколько чаще при раке с низкой дифференцировкой, составив 12,5%.

**Таблица 208** – Взаимосвязь TfR1 со степенью дифференцировки рака шейки матки

| Степень дифференцировки опухоли |   | Иммунофенотип |            |          | Всего  |
|---------------------------------|---|---------------|------------|----------|--------|
|                                 |   | TfR1 «-»      | TfR1 «+/-» | TfR1 «+» |        |
| G1                              | n | 6             | 1          | 5        | 12     |
|                                 | % | 50,0%         | 8,3%       | 41,7%    | 100,0% |
| G2                              | n | 5             | 1          | 8        | 14     |
|                                 | % | 35,7%         | 7,1%       | 57,1%    | 100,0% |
| G3                              | n | 4             | 1          | 3        | 8      |
|                                 | % | 50,0%         | 12,5%      | 37,5%    | 100,0% |
| p = 0,89                        |   |               |            |          |        |

Таким образом, на данном этапе работы установлено, что мономорфной экспрессией TfR1 характеризовалась половина образцов рака тела матки. TfR1- негативный фенотип опухоли отмечен в 35,9% случаев. Важно отметить, что TfR1- мономорфный фенотип часто был ассоциирован с мономорфной экспрессией молекул HLA I класса клетками рака тела матки, что отмечено в 75,0% случаев.

## **6.2 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с клиническими и морфологическими показателями рака тела матки**

Изучение интратуморальных реакций нами проводилось отдельно в паренхиме и стромальном компоненте опухоли. В этом разделе мы сразу дадим характеристику и

паренхиматозного, и стромального компонентов опухоли, а затем уже приступим к анализу взаимосвязи интралимфоцитарных иммунных реакций в паренхиме опухоли с клинико-морфологическими показателями.

Итак, рассмотрим результаты оценки лимфоидной инфильтрации паренхимы опухоли. Первым этапом выполнена оценка выраженности общей лейкоцитарной инфильтрации на основании количества CD45+ лимфоцитов в опухолевых срезах (n = 45) (Таблица 209).

**Таблица 209** – Лимфоидная инфильтрация первичной опухоли при раке тела матки

| Вид интралимфоцитарной иммунной реакции   | Количество больных |      |        |      |
|---|--------------------|------|--------|------|
|   | n                  | %    | n      | %    |
| <b>CD45</b>                               | паренхима          |      | строма |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 24                 | 53,3 | 6      | 17,1 |
| отдельные группы клеток                   | 14                 | 31,1 | 21     | 60,0 |
| умеренная инфильтрация                    | 3                  | 6,7  | 6      | 17,1 |
| выраженная инфильтрация                   | 4                  | 8,9  | 2      | 5,7  |
| <b>CD38</b>                               |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 34                 | 94,4 | 30     | 83,3 |
| отдельные группы клеток                   | 2                  | 5,6  | 6      | 16,7 |
| умеренная инфильтрация                    | -                  | -    | -      | -    |
| <b>D11+</b>                               |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 30                 | 83,3 | 9      | 25,0 |
| отдельные группы клеток                   | 6                  | 16,7 | 27     | 75,0 |
| умеренная инфильтрация                    | -                  | -    | -      | -    |
| <b>CD3+</b>                               |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 26                 | 57,8 | 12     | 33,3 |
| отдельные группы клеток                   | 12                 | 26,7 | 17     | 47,2 |
| умеренная степень инфильтрации            | 2                  | 4,4  | 7      | 19,4 |
| выраженная инфильтрация                   | 5                  | 11,1 | -      | -    |
| <b>CD4+</b>                               |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 26                 | 57,8 | 12     | 33,3 |
| отдельные группы клеток                   | 11                 | 24,4 | 17     | 47,2 |
| умеренная инфильтрация                    | 5                  | 11,1 | 7      | 19,4 |
| выраженная инфильтрация                   | 3                  | 6,7  | -      | -    |
| <b>CD8+</b>                               |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 29                 | 64,4 | 19     | 52,8 |
| отдельные группы клеток                   | 11                 | 24,4 | 16     | 44,4 |
| умеренная инфильтрация                    | 2                  | 4,4  | 1      | 2,8  |
| выраженная инфильтрация                   | 3                  | 6,7  | -      | -    |
| <b>CD20+</b>                              |                    |      |        |      |
| отсутствуют / единичные клетки            | 36                 | 80,0 | 32     | 88,9 |
| отдельные группы клеток                   | 4                  | 8,9  | 4      | 11,1 |
| умеренная/выраженная степень инфильтрации | 5                  | 11,1 | -      | -    |

В целом паренхима опухоли была слабо инфильтрирована CD45+ клетками, лишь в 6,7% (n = 3) случаев инфильтрация в опухоли была умеренной – клетки располагались в виде очагов (зон), а в 8,9% (n = 4) отмечен выраженный тип реакции. В 31,1% случаев в опухоли наблюдались отдельные группы иммунных клеток. В остальных случаях мы наблюдали либо единичные клетки в поле зрения, либо отсутствие реакции.

Плазмоцитарной инфильтрации паренхимы в большинстве образцов опухоли (94,4%, n = 34) не отмечалось. Слабая инфильтрация опухоли в виде отдельных групп клеток установлена в двух случаях.

Гистиоцитарная инфильтрация была слабой. В 16,7% (n = 6) гистиоцитарная инфильтрация была представлена в виде групп антиген-позитивных клеток. В остальных случаях мы наблюдали либо единичные клетки в поле зрения, либо отсутствие реакции.

Изучение популяционного состава инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, выявило следующее. Т-клеточные интратуморальные реакции составили 42,2% (n = 19), из них в 26,7% случаев мы наблюдали преимущественно слабый тип реакции – в поле зрения встречались отдельные группы клеток, в 11,1% (n = 5) наблюдений отмечена выраженная реакция и в двух случаях – умеренная.

Пропорция цитотоксических CD8+ клеток в опухоли составила в сумме 35,5%, а CD4+ клеток – 42,4%. Субпопуляция как хелперных, так и цитотоксических клеток чаще были представлены в виде отдельных антиген-позитивных групп. Мы видим, что уровень цитотоксических реакций в опухоли низкий: реакции умеренного/выраженного типа отмечены только в 11,1% наблюдений. Немного чаще эти типы реакций наблюдались в отношении CD4+ инфильтрации, составив 17,8%

В-клеточной инфильтрации (CD20+) в опухоли в большинстве случаев не выявлено, либо отмечены единичные клетки. Реакции умеренного/выраженного типа отмечены только в 11,1% наблюдений (n = 5). В четырех случаях выявлены в опухоли отдельные группы клеток.

Рассмотрим теперь интратуморальные реакции стромального компонента опухоли. В строме в целом наблюдались более выраженные как общелейкоцитарные, так и Т-клеточные реакции. И это хорошо согласуется с данными литературы. Общелейкоцитарные реакции в сумме составили 82,8%, тогда как в паренхиме всего 46,7%. Это совершенно четко свидетельствует о том, что стромальный компонент, по-видимому, играет немаловажную роль в реализации противоопухолевого иммунного ответа. Так, выраженный/умеренный тип CD45+ инфильтрации в строме составил 22,8%, что в полтора раза больше, чем в паренхиме.

Плазмоцитарная реакция стромы была несколько более выражена, что отмечено в 16,7% случаев. Гистиоцитарная инфильтрация в строме была представлена преимущественно группами клеток и составила 75,0%, что значительно больше, чем в паренхиме.

Частота CD3+ Т- клеточных реакций умеренного типа в строме составила 19,4%. Чаще мы наблюдали отдельные группы клеток (47,2%). Аналогичная картина имела место при CD4+ инфильтрации. CD8+ Т-клеточные стромальные реакции, частота которых в строме составила в сумме 47,2%, преимущественно были представлены группами клеток. В целом, инфильтрация стромы Т-клетками наблюдалась чаще.

Доля В- клеточных реакций была невелика, составив всего 11,1%.

Как мы видим, интратуморальные иммунные реакции в строме и в опухоли качественно различаются. Интратуморальные иммунные реакции паренхимы опухоли были взаимосвязаны между собой, о чем свидетельствовали результаты корреляционного анализа по Спирмену (Таблица 210). Положительные корреляции средней силы выявлены между общим уровнем лейкоцитарной инфильтрации и Т- клеточными CD3+ реакциями, CD4+, цитотоксическими CD8- клеточными реакциями: связь умеренно сильная, высокодостоверная. Уровень CD3+ Т-клеточной инфильтрации был положительно взаимосвязан с числом CD4+ клеток ( $R = 0,993$ ) и CD8+ клеток ( $R = 0,878$ ), а также коррелировал с В-клеточными реакциями (CD20+) и CD38+ клеточными реакциями. CD4+ интратуморальные реакции высокодостоверно коррелировали с уровнем цитотоксических, В-клеточных и гистиоцитарных клеточных реакций.

**Таблица 210** – Корреляционные связи интратуморальных иммунных реакций паренхимы опухоли при раке тела матки

| Реакции паренхимы |   | CD45   | CD3    | CD4    | CD8    | CD20   | CD38   | D11    |
|-------------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CD45              | R | 1,000  | ,783** | ,778** | ,669** | ,649** | ,396*  | ,625** |
|                   | p |        | 0,000  | 0,000  | 0,000  | 0,000  | 0,017  | 0,000  |
|                   | N | 45     | 45     | 45     | 45     | 45     | 36     | 36     |
| CD3               | R | ,783** | 1,000  | ,993** | ,878** | ,710** | ,507** | ,399*  |
|                   | p | 0,000  |        | 0,000  | 0,000  | 0,000  | 0,002  | 0,016  |
|                   | N | 45     | 45     | 45     | 45     | 45     | 36     | 36     |
| CD4               | R | ,778** | ,993** | 1,000  | ,871** | ,688** | ,507** | ,399*  |
|                   | p | 0,000  | 0,000  |        | 0,000  | 0,000  | 0,002  | 0,016  |
|                   | N | 45     | 45     | 45     | 45     | 45     | 36     | 36     |
| CD8               | R | ,669** | ,878** | ,871** | 1,000  | ,761** | 0,187  | ,345*  |
|                   | p | 0,000  | 0,000  | 0,000  |        | 0,000  | 0,274  | 0,039  |
|                   | N | 45     | 45     | 45     | 45     | 45     | 36     | 36     |

Отмечена положительная связь CD3+ интратуморальных реакций с гистиоцитарной инфильтрацией. Уровень общелейкоцитарной инфильтрации также положительно коррелировал с количеством гистиоцитов.

Также присутствовали корреляции между стромальными лимфоидными реакциями (Таблица 211). Положительная корреляция отмечена между общелейкоцитарной реакцией и пропорцией зрелых CD3+ Т-клеток, а также CD4+, CD8+ инфильтрацией, высокой значимости. Кроме того, имела место положительная связь средней силы CD45 инфильтрации с плазмоцитарными реакциями и гистиоцитами стромы.

CD3+ Т-клеточные реакции были высокодостоверно взаимосвязаны с выраженностью CD8+ ( $R = 0,745$ , умеренно сильная связь) инфильтрацией стромы ( $R = 0,745$ ). Вместе с тем, положительная связь высокой значимости имела место между Т-клеточными реакциями и плазмоцитарной инфильтрацией ( $R = 0,397$ ). Положительная корреляция отмечена между CD4- инфильтрацией и уровнем плазмоцитарных реакций ( $R = 0,397$ ).

**Таблица 211** – Корреляционные связи интратуморальных иммунных реакций стромы опухоли при раке тела матки

| Реакции стромы |   | CD45   | CD3     | CD4     | CD8    | CD20   | CD38   | D11    |
|----------------|---|--------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|
| CD45           | R | 1,000  | ,784**  | ,784**  | ,645** | ,450** | ,478** | ,463** |
|                | p |        | 0,000   | 0,000   | 0,000  | 0,007  | 0,004  | 0,005  |
|                | N | 35     | 35      | 35      | 35     | 35     | 35     | 35     |
| CD3            | R | ,784** | 1,000   | 1,000** | ,745** | 0,314  | ,397*  | 0,254  |
|                | p | 0,000  |         |         | 0,000  | 0,063  | 0,017  | 0,134  |
|                | N | 35     | 36      | 36      | 36     | 36     | 36     | 36     |
| CD4            | R | ,784** | 1,000** | 1,000   | ,745** | 0,314  | ,397*  | 0,254  |
|                | p | 0,000  |         |         | 0,000  | 0,063  | 0,017  | 0,134  |
|                | N | 35     | 36      | 36      | 36     | 36     | 36     | 36     |
| CD8            | R | ,645** | ,745**  | ,745**  | 1,000  | 0,180  | 0,299  | 0,293  |
|                | p | 0,000  | 0,000   | 0,000   |        | 0,294  | 0,076  | 0,083  |
|                | N | 35     | 36      | 36      | 36     | 36     | 36     | 36     |

Мы видим, что существуют определенные закономерности формирования клеточных иммунных реакций как в опухоли, так и в ее стромальном компоненте, что, безусловно, влияет на характер развития опухоли.



Следующим этапом мы рассмотрим взаимосвязи лимфоидной инфильтрации паренхимы опухоли и клинико-морфологических параметров при раке тела матки. Интенсивность общелейкоцитарной инфильтрации в паренхиме опухоли представлена в таблице 212. Как видно из таблицы, при III - IV стадии частота умеренных реакций составила 30,0%, тогда как при ранних стадиях 9,1%,  $p = 0,25$ . Также мы наблюдали, что цитотоксические и CD4+ реакции умеренного/выраженного типа несколько чаще наблюдались при распространенных стадиях. Однако различия не достигли достоверности. В отношении В-клеточных и гистиоцитарных реакций в паренхиме опухоли мы не выявили особенностей.

**Таблица 212** – Интратуморальные иммунные реакции в паренхиме в зависимости от стадии рака тела матки

| Стадии   |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |        |                       | Всего  |
|----------|---|---------------------------------------|--------|-----------------------|--------|
|          |   | Негативная                            | Слабая | Умеренная /Выраженная |        |
|          |   | CD45, $p = 0,25$                      |        |                       |        |
| I - II   | n | 18                                    | 12     | 3                     | 33     |
|          | % | 54,5%                                 | 36,4%  | 9,1%                  | 100,0% |
| III - IV | n | 5                                     | 2      | 3                     | 10     |
|          | % | 50,0%                                 | 20,0%  | 30,0%                 | 100,0% |
|          |   | CD8, $p = 0,23$                       |        |                       |        |
| I - II   | n | 21                                    | 10     | 2                     | 33     |
|          | % | 63,6%                                 | 30,3%  | 6,1%                  | 100,0% |
| III - IV | n | 7                                     | 1      | 2                     | 10     |
|          | % | 70,0%                                 | 10,0%  | 20,0%                 | 100,0% |
|          |   | CD4, $p = 0,24$                       |        |                       |        |
| I - II   | n | 19                                    | 10     | 4                     | 33     |
|          | % | 57,6%                                 | 30,3%  | 12,1%                 | 100,0% |
| III - IV | n | 6                                     | 1      | 3                     | 10     |
|          | % | 60,0%                                 | 10,0%  | 30,0%                 | 100,0% |

Опухоли T3 стадии чаще демонстрировали умеренный и выраженный тип общелейкоцитарной инфильтрации (Таблица 213). Однако следует отметить, что, поскольку выборка по T2-3 стадии была невелика, уверенно судить об этом затруднительно, хотя различия статистически значимы,  $p = 0,049$ . Отражение данных результатов мы наблюдали в характере Т- клеточных реакций. При T3 стадии частота CD4 реакций была выше. Схожая картина отмечалась в отношении цитотоксических реакций паренхимы: при T1 умеренный и выраженный тип инфильтрации наблюдали в 36,1% случаев, а при T3 - в 50,0% образцов.

Далее мы оценили взаимосвязь инфильтрации паренхимы опухоли с регионарным метастазированием (Таблица 214). Достоверных различий в характере инфильтрации нами не

обнаружено. При этом мы наблюдали, что при статусе N1 частота умеренного/выраженного характера интратуморальных иммунных реакций по CD45 составила 50,0%, тогда как при отсутствии метастазов в регионарных лимфатических узлах (статус N0) она была в пределах 10,5%,  $p = 0,09$ . Схожие данные получены в отношении CD8+ цитотоксических реакций, различия близки к достоверным. Учитывая эти результаты, а также данные, полученные в отношении стадии, T категории, вероятно, что увеличение распространенности опухолевого процесса сопровождается усилением иммунных реакций в паренхиме опухоли.

**Таблица 213** – Интратуморальные иммунные реакции в паренхиме зависимости от T-категории рака тела матки

| T категория                        |   | CD45, $p = 0,049$ , $\chi^2 = 5,031$ |                      | Всего  |
|------------------------------------|---|--------------------------------------|----------------------|--------|
|                                    |   | Негативная/слабая                    | Умеренная/выраженная |        |
| T1                                 | n | 20                                   | 16                   | 36     |
|                                    | % | 55,6%                                | 44,4%                | 100,0% |
| T2                                 | n | 2                                    | 0                    | 2      |
|                                    | % | 100,0%                               | 0,0%                 | 100,0% |
| T3                                 | n | 1                                    | 5                    | 6      |
|                                    | % | 16,7%                                | 83,3%                | 100,0% |
| CD4, $p = 0,16$ , $\chi^2 = 2,902$ |   |                                      |                      |        |
| T1                                 | n | 21                                   | 15                   | 36     |
|                                    | % | 58,3%                                | 41,7%                | 100,0% |
| T2                                 | n | 2                                    | 0                    | 2      |
|                                    | % | 100,0%                               | 0,0%                 | 100,0% |
| T3                                 | n | 2                                    | 4                    | 6      |
|                                    | % | 33,3%                                | 66,7%                | 100,0% |

**Таблица 214** – Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций в паренхиме опухоли со статусом N

| Статус N                      |   | CD45, вид реакции |        |                       | Всего  |
|-------------------------------|---|-------------------|--------|-----------------------|--------|
|                               |   | Негативная        | Слабая | Умеренная /Выраженная |        |
| N0                            | n | 21                | 13     | 4                     | 38     |
|                               | % | 55,3%             | 34,2%  | 10,5%                 | 100,0% |
| N1                            | n | 2                 | 1      | 3                     | 6      |
|                               | % | 33,3%             | 16,7%  | 50,0%                 | 100,0% |
| $p = 0,09$ , $\chi^2 = 6,053$ |   |                   |        |                       |        |
| CD8, вид реакции              |   |                   |        |                       |        |
| N0                            | n | 24                | 11     | 3                     | 38     |
|                               | % | 63,2%             | 28,9%  | 7,9%                  | 100,0% |
| N1                            | n | 4                 | 0      | 2                     | 6      |
|                               | % | 66,7%             | 0,0%   | 33,3%                 | 100,0% |
| $p = 0,06$ , $\chi^2 = 4,698$ |   |                   |        |                       |        |

Оценить характер интратуморальных иммунных реакций в зависимости от гистологического вида рака тела матки нам не удалось, поскольку преобладающим была эндометриоидная аденокарцинома, а серозная аденокарцинома отмечена только в 2 случаях.

Далее выполнен анализ взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций со степенью дифференцировки рака тела матки (Таблица 215).

**Таблица 215** – Итратуморальные иммунные реакции в паренхиме в зависимости от степени дифференцировки опухоли

| Степень дифференцировки опухоли |   | Вид интратуморальной иммунной реакции |        |                       | Всего  |
|---------------------------------|---|---------------------------------------|--------|-----------------------|--------|
|                                 |   | CD3, $p = 0,06$ , $\chi^2 = 4,223$    |        |                       |        |
|                                 |   | Негативная                            | Слабая | Умеренная /Выраженная |        |
| Низкая                          | n | 6                                     | 4      | 0                     | 10     |
|                                 | % | 60,0%                                 | 40,0%  | 0,0%                  | 100,0% |
| Умеренная/ высокая              | n | 19                                    | 5      | 7                     | 31     |
|                                 | % | 61,3%                                 | 16,1%  | 22,6%                 | 100,0% |
|                                 |   | CD4, $p = 0,03$ , $\chi^2 = 5,428$    |        |                       |        |
| Низкая                          | n | 6                                     | 4      | 0                     | 10     |
|                                 | % | 60,0%                                 | 40,0%  | 0,0%                  | 100,0% |
| Умеренная/ высокая              | n | 19                                    | 4      | 8                     | 31     |
|                                 | % | 61,3%                                 | 12,9%  | 25,8%                 | 100,0% |

Высоко- и умеренно дифференцированные опухоли несколько чаще были инфильтрированы иммунными клетками. Это наблюдалось в отношении CD3- клеточных реакций паренхимы: умеренный характер инфильтрации отмечен в 22,6% при более дифференцированных опухолях против 0% при менее дифференцированных. Это нашло отражение в CD4+ Т-клеточных реакциях, частота которых при опухолях с умеренной/высокой дифференцировкой составила 25,8%,  $p = 0,032$ . По CD8 значимых различий не наблюдали.

Гистиоцитарные и В-клеточные реакции паренхимы несколько более выражены были при более дифференцированном раке, но различия не значимы.

Также мы оценили фенотип опухоли в зависимости от степени инвазии в миометрий, но достоверных связей нами не выявлено.

Таким образом, на данном этапе работы установлены некоторые взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций паренхимы опухоли с клинико-морфологическими параметрами рака тела матки, которые заключались в следующем.

Увеличение стадии опухоли сопровождалось недостоверным увеличением уровня Т-клеточных реакций по CD4 и CD8: умеренный и выраженный их характер отмечался чаще. При этом опухоли T3 чаще демонстрировали умеренный и выраженный тип общелейкоцитарной инфильтрации,  $p = 0,049$ .

Регионарное метастазирование рака тела матки сопровождалось недостоверным увеличением частоты цитотоксических иммунных реакций в паренхиме ( $p = 0,06$ ). Высоко- и умеренно дифференцированные опухоли чаще были инфильтрированы иммунными клетками. Это наблюдалось в отношении CD4 клеточных реакций, частота которых при опухолях с умеренной/высокой дифференцировкой была выше ( $p = 0,03$ ). Необходимо помнить, что в нашем исследовании преобладали ранние стадии и поэтому группы сравнения невелики, поэтому накопление данных позволит в дальнейшем провести более детальный анализ и проверить наличие обсуждаемых взаимосвязей.

Итак, перейдем к оценке взаимосвязей стромального компонента опухоли с клинико-морфологическими параметрами интратуморальных реакций (Таблица 216).

**Таблица 216** - Интратуморальные иммунные реакции в строме в зависимости от стадии рака тела матки

| Стадия   |   | CD45, $p = 0,9$   |                      | Всего  |
|----------|---|-------------------|----------------------|--------|
|          |   | Негативная/слабая | Умеренная/выраженная |        |
| I - II   | n | 4                 | 23                   | 27     |
|          | % | 14,8%             | 85,2%                | 100,0% |
| III - IV | n | 1                 | 6                    | 7      |
|          | % | 14,3%             | 85,7%                | 100,0% |
|          |   | CD4, $p = 0,24$   |                      |        |
| I - II   | n | 10                | 18                   | 28     |
|          | % | 35,7%             | 64,3%                | 100,0% |
| III - IV | n | 1                 | 6                    | 7      |
|          | % | 14,3%             | 85,7%                | 100,0% |
|          |   | CD8, $p = 0,66$   |                      |        |
| I - II   | n | 15                | 13                   | 28     |
|          | % | 53,6%             | 46,4%                | 100,0% |
| III - IV | n | 3                 | 4                    | 7      |
|          | % | 42,9%             | 57,1%                | 100,0% |
|          |   | CD20, $p = 0,14$  |                      |        |
| I - II   | n | 26                | 2                    | 28     |
|          | % | 92,9%             | 7,1%                 | 100,0% |
| III - IV | n | 5                 | 2                    | 7      |
|          | % | 71,4%             | 28,6%                | 100,0% |

Сравнение со стадией рака тела матки уровня интратуморальных иммунных реакций в строме не выявило существенных различий. Как можно видеть из таблицы, обращало внимание некоторое повышение частоты CD4+ и CD8+ цитотоксических Т-клеточных реакций умеренного и выраженного характера, а также В-клеточной инфильтрации.

При T2-3 опухолях несколько чаще наблюдался умеренный и выраженный тип общелейкоцитарной, Т-клеточной инфильтрации в строме, но достоверности различий не достигнуто. Данные представлены в таблице 217. Обращало внимание увеличение доли В-клеточных реакций стромального компонента ( $p = 0,04$ ), равно как и плазмочитарных при T3 стадии, различия близки к достоверным,  $p = 0,09$ .

**Таблица 217** – Интратуморальные иммунные реакции в строме при раке тела матки в зависимости от Т-категории

| Т категория |   | CD45, $p = 0,42$  |                      | Всего  |
|-------------|---|-------------------|----------------------|--------|
|             |   | Негативная/слабая | Умеренная/выраженная |        |
| T1          | n | 5                 | 24                   | 29     |
|             | % | 17,2%             | 82,8%                | 100,0% |
| T2          | n | 0                 | 2                    | 2      |
|             | % | 0,0%              | 100,0%               | 100,0% |
| T3          | n | 0                 | 3                    | 3      |
|             | % | 0,0%              | 100,0%               | 100,0% |
|             |   | CD4, $p = 0,12$   |                      |        |
| T1          | n | 11                | 19                   | 30     |
|             | % | 36,7%             | 63,3%                | 100,0% |
| T2          | n | 0                 | 2                    | 2      |
|             | % | 0,0%              | 100,0%               | 100,0% |
| T3          | n | 0                 | 3                    | 3      |
|             | % | 0,0%              | 100,0%               | 100,0% |
|             |   | CD20, $p = 0,04$  |                      |        |
| T1          | n | 28                | 2                    | 30     |
|             | % | 93,3%             | 6,7%                 | 100,0% |
| T2          | n | 2                 | 0                    | 2      |
|             | % | 100,0%            | 0,0%                 | 100,0% |
| T3          | n | 1                 | 2                    | 3      |
|             | % | 33,3%             | 66,7%                | 100,0% |
|             |   | CD38, $p = 0,09$  |                      |        |
| T1          | n | 26                | 4                    | 30     |
|             | % | 86,7%             | 13,3%                | 100,0% |
| T2          | n | 2                 | 0                    | 2      |
|             | % | 100,0%            | 0,0%                 | 100,0% |
| T3          | n | 1                 | 2                    | 3      |
|             | % | 33,3%             | 66,7%                | 100,0% |

Далее мы оценили взаимосвязь инфильтрации паренхимы опухоли с регионарным метастазированием (Таблица 218). Как видно из таблицы, достоверные различия обнаружены в отношении В-клеточных реакций стромы. Мы наблюдали, что при статусе N1 частота умеренного/выраженного характера интратуморальных реакций по CD20 была 50,0%, тогда как при N0 она составляла 6,5%,  $p = 0,03$ . Схожие данные получены в отношении цитоплазматических реакций, различия близки к достоверным. Учитывая эти результаты, а также данные, полученные в отношении стадии, T категории, вероятно, увеличение распространенности опухолевого процесса сопровождается усилением В-клеточных реакций в строме опухоли.

**Таблица 218** – Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций в строме опухоли со статусом N

| Статус N                           |   | CD20, $p = 0,03$ , $\chi^2 = 6,638$ |                       | Всего  |
|------------------------------------|---|-------------------------------------|-----------------------|--------|
|                                    |   | Негативная/слабая                   | Умеренная /Выраженная |        |
| N0                                 | n | 29                                  | 2                     | 38     |
|                                    | % | 93,5%                               | 6,5%                  | 100,0% |
| N1                                 | n | 2                                   | 2                     | 6      |
|                                    | % | 50,0%                               | 50,0%                 | 100,0% |
| CD38, $p = 0,1$ , $\chi^2 = 3,433$ |   |                                     |                       |        |
| N0                                 | n | 27                                  | 4                     | 31     |
|                                    | % | 87,1%                               | 12,9%                 | 100,0% |
| N1                                 | n | 2                                   | 2                     | 4      |
|                                    | % | 50,0%                               | 50,0%                 | 100,0% |

Оценить характер интратуморальных иммунных реакций стромального компонента в зависимости от гистологического вида рака тела матки нам не удалось, поскольку преобладающим была эндометриоидная аденокарцинома, а серозная аденокарцинома отмечена только в 2 случаях. Анализ взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций стромы с дифференцировкой рака тела матки не выявил значимых различий.

Также мы оценили интратуморальные иммунные реакции в зависимости от степени инвазии в миометрий, но достоверных связей нами не выявлено. Обращало внимание, что гистиоцитарные реакции при инвазии более половины толщины миометрия наблюдались чаще, 92,9% против 70,6%,  $p = 0,1$ . Также несколько чаще отмечены цитотоксические реакции в строме: 57,1% против 41,2%, но различия недостоверны ( $p = 0,37$ )

Таким образом, на данном этапе работы установлены некоторые взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций стромы с клиничко-морфологическими параметрами рака тела матки. Так, увеличение стадии опухоли сопровождалось недостоверным увеличением уровня В-клеточных реакций стромы. При анализе частоты инфильтрации в

зависимости от Т категории отмечено, что В-клеточные реакции чаще умеренного и выраженного типа чаще наблюдались при Т3 стадии ( $p = 0,04$ ). Такая же тенденция отмечена для плазмочитарных реакций ( $p = 0,09$ ).

Вероятно, распространенные стадии опухоли сопровождаются нарастанием интратуморальных реакций В-клеточного типа. Это находило подтверждение при изучении характера инфильтрации в зависимости от N статуса. Мы наблюдали, что при статусе N1 частота умеренного/выраженного характера интратуморальных реакций по CD20 составила 50,0% против 6,5% при N0,  $p = 0,03$ . Схожие данные получены и в отношении цитоплазматических реакций, различия близки к достоверным. Конечно, следует признать, в нашем исследовании преобладали ранние стадии и поэтому группы сравнения невелики, поэтому требуется продолжить накопление данных для более полноценного анализа.

Следующим этапом работы стал анализ корреляционных связей между субпопуляциями стромального и паренхиматозного компонента рака тела матки. Напомним, что в целом выявленные нами изменения инфильтрации стромы и паренхимы при анализе с клинико-морфологическими признаками перекликались. Отметим, что иммунные реакции паренхимы демонстрировали связь с типом дифференцировки опухоли, чего не наблюдалось со стороны стромального компонента. В строме отмечен более часто наблюдались В-клеточные и плазмочитарные реакции. Поэтому изучение корреляций между особенностями инфильтрации стромы и паренхимы действительно представляло интерес. Результаты корреляционного анализа по Спирмену представлены в таблице 219.

Мы видим, что имеется прямая корреляция между выраженностью общелейкоцитарной инфильтрацией в строме и CD8-Т-клеточными интратуморальными реакциями паренхимы опухоли: связь средней силы.

**Таблица 219** – Корреляционные связи между инфильтрацией паренхимы и стромы при раке тела матки

| паренхима<br>строма |   |  | CD45+ | CD3+  | CD4+  | CD8+   | CD20+ | CD38+  | D11+  |
|---------------------|---|--|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|
|                     |   |  |       |       |       |        |       |        |       |
| CD45+               | R |  | 0,247 | 0,255 | 0,255 | ,559** | 0,318 | 0,028  | ,363* |
|                     | p |  | 0,153 | 0,140 | 0,140 | 0,000  | 0,062 | 0,874  | 0,032 |
|                     | N |  | 35    | 35    | 35    | 35     | 35    | 35     | 35    |
| CD3+                | R |  | 0,189 | 0,325 | 0,325 | ,568** | 0,044 | -0,120 | 0,171 |
|                     | p |  | 0,270 | 0,053 | 0,053 | 0,000  | 0,798 | 0,485  | 0,318 |
|                     | N |  | 36    | 36    | 36    | 36     | 36    | 36     | 36    |

|       |   |        |        |        |        |        |        |       |
|-------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|
| CD4+  | R | 0,189  | 0,325  | 0,325  | ,568** | 0,044  | -0,120 | 0,171 |
|       | p | 0,270  | 0,053  | 0,053  | 0,000  | 0,798  | 0,485  | 0,318 |
|       | N | 36     | 36     | 36     | 36     | 36     | 36     | 36    |
| CD8+  | R | 0,177  | 0,298  | 0,298  | ,552** | 0,167  | 0,007  | 0,156 |
|       | p | 0,303  | 0,077  | 0,077  | 0,000  | 0,329  | 0,969  | 0,364 |
|       | N | 36     | 36     | 36     | 36     | 36     | 36     | 36    |
| CD20+ | R | ,515** | ,397*  | ,397*  | 0,273  | ,478** | 0,300  | 0,316 |
|       | p | 0,001  | 0,017  | 0,017  | 0,107  | 0,003  | 0,075  | 0,060 |
|       | N | 36     | 36     | 36     | 36     | 36     | 36     | 36    |
| D11+  | R | 0,105  | -0,083 | -0,083 | 0,122  | 0,098  | -0,140 | 0,086 |
|       | p | 0,544  | 0,631  | 0,631  | 0,480  | 0,571  | 0,415  | 0,618 |
|       | N | 36     | 36     | 36     | 36     | 36     | 36     | 36    |

Также обещелейкоцитарная инфильтрация стромы связана с CD20- клеточными реакциями паренхимы, мы видим положительную корреляцию средней силы. В свою очередь CD45+ реакции паренхимы высокодостоверно коррелируют с В- клеточными реакциями в строме. Связь положительная. Выраженность инфильтрации Т-лимфоцитами в строме как можно заметить, строго коррелирует с уровнем инфильтрации в паренхиме. Это прослеживается по нескольким Т-клеточным маркерам (CD4, CD8). Корреляция положительная средне сильная, высокодостоверная.

При внимательном рассмотрении взаимосвязей мы также обнаруживаем, что уровень CD4+ Т-клеточных реакций в строме прямо коррелирует с цитотоксическими CD8+ реакциями в паренхиме опухоли, связь средней силы. Обратим внимание, что CD3+ инфильтрация паренхимы прямо взаимосвязана с CD20+ реакциями в стромальном компоненте опухоли ( $p = 0,017$ ), при этом CD4+ реакции стромы прямо коррелируют с CD8-клеточными реакциями паренхиматозного компонента опухоли.

Таким образом, мы можем утверждать, что по результатам данного анализа имеется очевидная связь интратуморальных иммунных реакций паренхиматозного и стромального компонентов опухоли. Как мы можем заключить, важное значение в противоопухолевом ответе рака тела матки играют как локация, так и направленность интратуморальных иммунных реакций. Именно поэтому, на наш взгляд, анализ лимфоидной инфильтрации паренхимы и стромы по отдельности был оправдан и позволил выявить вышеуказанные закономерности.



### 6.3 Взаимосвязь интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипическим портретом рака тела матки

Как было указано выше, экспрессия опухолевыми клетками на своей поверхности спектра антигенов (молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I и II класса, трансферриновых рецепторов) варьировала в диапазоне разной степени выраженности, а в ряде случаев эти антигены отсутствовали. Интратуморальные иммунные реакции были представлены общелейкоцитарной, Т-, В- клеточной и гистиоцитарной инфильтрацией. Напомним, в паренхиме лимфоидная инфильтрация была слабее, чем в строме, среди Т-клеточных реакций паренхимы мы отметили некоторое преобладание CD4+ клеточных реакций над цитотоксическими, аналогичным их характер выглядел в строме. Первым этапом мы рассмотрим выраженность местных иммунных реакций в паренхиме в зависимости от иммунофенотипа клеток рака тела матки.

Мы оценили связи лимфоидной инфильтрации в паренхиме с экспрессией опухолевыми клетками молекул HLA-I и II класса. Нами не обнаружено достоверной ассоциации экспрессии HLA-I с выраженностью общелейкоцитарной инфильтрации. Данные анализа представлены в таблице 220. Как видно из таблицы, общий уровень Т-клеточных реакций также достоверно не различался. Однако при анализе вида Т-клеточных реакций установлено, что цитотоксические CD8+ клеточные реакции достоверно чаще наблюдались при HLA-I мономорфном фенотипе опухоли. Частота цитотоксических реакций CD8+ составила 35,0%, тогда как при других фенотипах не наблюдалось CD8+ инфильтрации вовсе, признаки достоверно связаны,  $p = 0,008$ . Дополнительно корреляционный анализ по Спирмену установил положительную связь средней силы:  $R = 0,431$ ,  $p = 0,009$ .

**Таблица 220** – Уровень интратуморальных иммунных реакций паренхимы в зависимости от HLA-I фенотипа опухоли

| Имунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |        | p    |
|----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|--------|------|
|                      |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>Выраженная | Всего  |      |
|                      |   | CD45                                  |                          |        |      |
| HLA-I «-»            | n | 8                                     | 6                        | 14     | 0,32 |
|                      | % | 57,1%                                 | 42,9%                    | 100,0% |      |
| HLA-I «+/-»          | n | 2                                     | 0                        | 2      |      |
|                      | % | 100,0%                                | 0,0%                     | 100,0% |      |
| HLA-I «+»            | n | 14                                    | 6                        | 20     |      |
|                      | % | 70,0%                                 | 30,0%                    | 100,0% |      |

|             |   | CD3    |       |        |                           |
|-------------|---|--------|-------|--------|---------------------------|
| HLA-I «-»   | n | 12     | 2     | 14     | 0,12                      |
|             | % | 85,7%  | 14,3% | 100,0% |                           |
| HLA-I «+/-» | n | 2      | 0     | 2      |                           |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                           |
| HLA-I «+»   | n | 12     | 8     | 20     |                           |
|             | % | 60,0%  | 40,0% | 100,0% |                           |
|             |   | CD4    |       |        |                           |
| HLA-I «-»   | n | 12     | 2     | 14     | 0,12                      |
|             | % | 85,7%  | 14,3% | 100,0% |                           |
| HLA-I «+/-» | n | 2      | 0     | 2      |                           |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                           |
| HLA-I «+»   | n | 12     | 8     | 20     |                           |
|             | % | 60,0%  | 40,0% | 100,0% |                           |
|             |   | CD8    |       |        |                           |
| HLA-I «-»   | n | 14     | 0     | 14     | 0,008<br>$\chi^2 = 6,952$ |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                           |
| HLA-I «+/-» | n | 2      | 0     | 2      |                           |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                           |
| HLA-I «+»   | n | 13     | 7     | 20     |                           |
|             | % | 65,0%  | 35,0% | 100,0% |                           |
|             |   | CD38   |       |        |                           |
| HLA-I «-»   | n | 14     | 0     | 14     | 0,29                      |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                           |
| HLA-I «+/-» | n | 2      | 0     | 2      |                           |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                           |
| HLA-I «+»   | n | 18     | 2     | 20     |                           |
|             | % | 90,0%  | 10,0% | 100,0% |                           |
|             |   | CD20   |       |        |                           |
| HLA-I «-»   | n | 14     | 0     | 14     | 0,54                      |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                           |
| HLA-I «+/-» | n | 2      | 0     | 2      |                           |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                           |
| HLA-I «+»   | n | 19     | 1     | 20     |                           |
|             | % | 95,0%  | 5,0%  | 100,0% |                           |
|             |   | D11    |       |        |                           |
| HLA-I «-»   | n | 11     | 3     | 14     | 0,61                      |
|             | % | 78,6%  | 21,4% | 100,0% |                           |
| HLA-I «+/-» | n | 2      | 0     | 2      |                           |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                           |
| HLA-I «+»   | n | 17     | 3     | 20     |                           |
|             | % | 85,0%  | 15,0% | 100,0% |                           |

При сравнении групп с HLA-DR-мономорфным, мозаичным и негативным фенотипом мы отметили, что в целом уровень общелейкоцитарной инфильтрации был выше при экспрессии молекул HLA-DR (Таблица 221). Общий уровень Т-клеточных реакций по CD3 выглядел аналогично,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ . Достоверно более выражены были цитотоксические CD8+ клеточные реакции паренхимы, частота которых при мозаичном и мономорфном HLA-DR фенотипе составила 44,45% и 33,3%, соответственно,  $p = 0,02$ . Дополнительно корреляционный анализ по Спирмену установил положительную связь средней силы:  $R = 0,401$ ,  $p = 0,015$ . При сравнении HLA-DR негативных и HLA-DR- позитивных опухолей эти различия видны более отчетливо. Частота Т-клеточных реакций, CD4+ и CD8+ инфильтрации была выше при HLA-DR позитивном фенотипе рака тела матки (Таблица 222).

**Таблица 221** – Уровень интратуморальных иммунных реакций в паренхиме в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |        | p                        |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>Выраженная | Всего  |                          |
|                       |   | CD45                                  |                          |        |                          |
| HLA-DR «-»            | n | 15                                    | 6                        | 21     | 0,7                      |
|                       | % | 71,4%                                 | 28,6%                    | 100,0% |                          |
| HLA-DR «+/-»          | n | 5                                     | 4                        | 9      |                          |
|                       | % | 55,6%                                 | 44,4%                    | 100,0% |                          |
| HLA-DR «+»            | n | 4                                     | 2                        | 6      |                          |
|                       | % | 66,7%                                 | 33,3%                    | 100,0% |                          |
|                       |   | CD3                                   |                          |        |                          |
| HLA-DR «-»            | n | 18                                    | 3                        | 21     | 0,07                     |
|                       | % | 85,7%                                 | 14,3%                    | 100,0% |                          |
| HLA-DR «+/-»          | n | 4                                     | 5                        | 9      |                          |
|                       | % | 44,4%                                 | 55,6%                    | 100,0% |                          |
| HLA-DR «+»            | n | 4                                     | 2                        | 6      |                          |
|                       | % | 66,7%                                 | 33,3%                    | 100,0% |                          |
|                       |   | CD4                                   |                          |        |                          |
| HLA-DR «-»            | n | 18                                    | 3                        | 21     | 0,07                     |
|                       | % | 85,7%                                 | 14,3%                    | 100,0% |                          |
| HLA-DR «+/-»          | n | 4                                     | 5                        | 9      |                          |
|                       | % | 44,4%                                 | 55,6%                    | 100,0% |                          |
| HLA-DR «+»            | n | 4                                     | 2                        | 6      |                          |
|                       | % | 66,7%                                 | 33,3%                    | 100,0% |                          |
|                       |   | CD8                                   |                          |        |                          |
| HLA-DR «-»            | n | 20                                    | 1                        | 21     | 0,02<br>$\chi^2 = 7,220$ |
|                       | % | 95,2%                                 | 4,8%                     | 100,0% |                          |
| HLA-DR «+/-»          | n | 5                                     | 4                        | 9      |                          |
|                       | % | 55,6%                                 | 44,4%                    | 100,0% |                          |

|               |   |        |       |        |      |
|---------------|---|--------|-------|--------|------|
| HLA-DR «+»    | n | 4      | 2     | 6      |      |
|               | % | 66,7%  | 33,3% | 100,0% |      |
| CD38          |   |        |       |        |      |
| HLA-DR «->»   | n | 19     | 2     | 21     | 0,32 |
|               | % | 90,5%  | 9,5%  | 100,0% |      |
| HLA-DR «+/->» | n | 9      | 0     | 9      |      |
|               | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |      |
| HLA-DR «+»    | n | 6      | 0     | 6      |      |
|               | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |      |
| CD20          |   |        |       |        |      |
| HLA-DR «->»   | n | 20     | 1     | 21     | 0,54 |
|               | % | 95,2%  | 4,8%  | 100,0% |      |
| HLA-DR «+/->» | n | 9      | 0     | 9      |      |
|               | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |      |
| HLA-DR «+»    | n | 6      | 0     | 6      |      |
|               | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |      |
| D11           |   |        |       |        |      |
| HLA-DR «->»   | n | 11     | 3     | 14     | 0,61 |
|               | % | 78,6%  | 21,4% | 100,0% |      |
| HLA-DR «+/->» | n | 2      | 0     | 2      |      |
|               | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |      |
| HLA-DR «+»    | n | 17     | 3     | 20     |      |
|               | % | 85,0%  | 15,0% | 100,0% |      |

**Таблица 222** – Частота CD3+, CD4+, CD8+ инфильтрации в паренхиме в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |        |                  |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|--------|------------------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>Выраженная | Всего  | p                |
| CD3                   |   |                                       |                          |        |                  |
| HLA-DR «->»           | n | 18                                    | 3                        | 21     | 0,022            |
|                       | % | 85,7%                                 | 14,3%                    | 100,0% |                  |
| HLA-DR «+»            | n | 7                                     | 7                        | 14     | 5,250            |
|                       | % | 50,0%                                 | 50,0%                    | 100,0% |                  |
| CD4                   |   |                                       |                          |        |                  |
| HLA-DR «->»           | n | 18                                    | 3                        | 21     | 0,022            |
|                       | % | 85,7%                                 | 14,3%                    | 100,0% |                  |
| HLA-DR «+»            | n | 7                                     | 7                        | 14     | 5,250            |
|                       | % | 50,0%                                 | 50,0%                    | 100,0% |                  |
| CD8                   |   |                                       |                          |        |                  |
| HLA-DR «->»           | n | 20                                    | 1                        | 21     | 0,005            |
|                       | % | 95,2%                                 | 4,8%                     | 100,0% |                  |
| HLA-DR «+»            | n | 8                                     | 6                        | 14     | $\chi^2 = 7,619$ |
|                       | % | 57,1%                                 | 42,9%                    | 100,0% |                  |

Оценка степени выраженности интратуморальных иммунных реакций в зависимости от статуса экспрессии клетками рака тела матки трансферриновых рецепторов представлена в таблице 223. Как видим, общий уровень лейкоцитарной инфильтрации в Tfr1- позитивных опухолях выше, но при этом мозаичный фенотип отличался большей частотой лимфоидной инфильтрации,  $p = 0,003$ .

Tfr1- позитивные опухоли демонстрировали более выраженные Т-клеточные реакции. Так, CD4+ и CD8+ клеточные реакции при Tfr1-мономорфном фенотипе наблюдались чаще, чем при Tfr1-негативном фенотипе: 37,5% и 6,3% против 18,8% и 6,3%, соответственно. Различия достоверны. При укрупненном анализе, сравнении Tfr1-позитивного и негативного фенотипов мы отчетливо видим, что Tfr1- позитивный фенотип сопровождается более выраженной CD4 инфильтрацией паренхимы, которая преобладает над CD8+ цитотоксическими реакциями (Таблица 224). Дополнительно корреляционный анализ по Спирмену установил положительную связь средней силы:  $R = 0,430$ ,  $p = 0,009$ .

**Таблица 223** – Уровень интратуморальных иммунных реакций в паренхиме в зависимости от Tfr1 фенотипа опухоли

| Имунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |        |                               |
|----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|--------|-------------------------------|
|                      |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>Выраженная | Всего  | p                             |
|                      |   | CD45                                  |                          |        |                               |
| Tfr1 «-»             | n | 15                                    | 1                        | 16     | 0,003<br>$\chi^2 =$<br>10,406 |
|                      | % | 93,8%                                 | 6,3%                     | 100,0% |                               |
| Tfr1 «+/-»           | n | 1                                     | 3                        | 4      |                               |
|                      | % | 25,0%                                 | 75,0%                    | 100,0% |                               |
| Tfr1 «+»             | n | 8                                     | 8                        | 16     |                               |
|                      | % | 50,0%                                 | 50,0%                    | 100,0% |                               |
|                      |   | CD3                                   |                          |        |                               |
| Tfr1 «-»             | n | 15                                    | 1                        | 16     | 0,009<br>$\chi^2 =$<br>8,896  |
|                      | % | 93,8%                                 | 6,3%                     | 100,0% |                               |
| Tfr1 «+/-»           | n | 1                                     | 3                        | 4      |                               |
|                      | % | 25,0%                                 | 75,0%                    | 100,0% |                               |
| Tfr1 «+»             | n | 10                                    | 6                        | 16     |                               |
|                      | % | 62,5%                                 | 37,5%                    | 100,0% |                               |
|                      |   | CD4                                   |                          |        |                               |
| Tfr1 «-»             | n | 15                                    | 1                        | 16     | 0,009<br>$\chi^2 =$<br>8,896  |
|                      | % | 93,8%                                 | 6,3%                     | 100,0% |                               |
| Tfr1 «+/-»           | n | 1                                     | 3                        | 4      |                               |
|                      | % | 25,0%                                 | 75,0%                    | 100,0% |                               |
| Tfr1 «+»             | n | 10                                    | 6                        | 16     |                               |
|                      | % | 62,5%                                 | 37,5%                    | 100,0% |                               |

|            |   | CD8    |       |        |                              |      |
|------------|---|--------|-------|--------|------------------------------|------|
| TfR1 «-»   | n | 15     | 1     | 16     | 0,018<br>$\chi^2 =$<br>9,665 |      |
|            | % | 93,8%  | 6,3%  | 100,0% |                              |      |
| TfR1 «+/-» | n | 1      | 3     | 4      |                              |      |
|            | % | 25,0%  | 75,0% | 100,0% |                              |      |
| TfR1 «+»   | n | 13     | 3     | 16     |                              |      |
|            | % | 81,3%  | 18,8% | 100,0% |                              |      |
|            |   | CD38   |       |        |                              |      |
| TfR1 «-»   | n | 16     | 0     | 16     | 0,17                         |      |
|            | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                              |      |
| TfR1 «+/-» | n | 3      | 1     | 4      | 0,09                         |      |
|            | % | 75,0%  | 25,0% | 100,0% |                              |      |
| TfR1 «+»   | n | 15     | 1     | 16     |                              |      |
|            | % | 93,8%  | 6,3%  | 100,0% |                              |      |
|            |   | CD20   |       |        |                              |      |
| TfR1 «-»   | n | 16     | 0     | 16     |                              | 0,09 |
|            | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                              |      |
| TfR1 «+/-» | n | 3      | 1     | 4      |                              |      |
|            | % | 75,0%  | 25,0% | 100,0% |                              |      |
| TfR1 «+»   | n | 16     | 0     | 16     |                              |      |
|            | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |                              |      |
|            |   | D11    |       |        |                              |      |
| TfR1 «-»   | n | 15     | 1     | 16     | 0,13                         |      |
|            | % | 93,8%  | 6,3%  | 100,0% |                              |      |
| TfR1 «+/-» | n | 2      | 2     | 4      |                              |      |
|            | % | 50,0%  | 50,0% | 100,0% |                              |      |
| TfR1 «+»   | n | 13     | 3     | 16     |                              |      |
|            | % | 81,3%  | 18,8% | 100,0% |                              |      |

**Таблица 224** – Уровень CD4+, CD8 + интратуморальных реакций в паренхиме в зависимости от TfR1 фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |        | P<br>$\chi^2$  |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|--------|----------------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>Выраженная | Всего  |                |
|                       |   | CD4                                   |                          |        |                |
| TfR1 «-»              | n | 15                                    | 1                        | 16     | 0,006<br>6,653 |
|                       | % | 93,8%                                 | 6,3%                     | 100,0% |                |
| TfR1 «+»              | n | 11                                    | 9                        | 20     |                |
|                       | % | 55,0%                                 | 45,0%                    | 100,0% |                |
|                       |   | CD8                                   |                          |        |                |
| TfR1 «-»              | n | 15                                    | 1                        | 16     | 0,05<br>3,201  |
|                       | % | 93,8%                                 | 6,3%                     | 100,0% |                |
| TfR1 «+»              | n | 14                                    | 6                        | 20     |                |
|                       | % | 70,0%                                 | 30,0%                    | 100,0% |                |

Перейдем к рассмотрению выраженности стромальных иммунных реакций в зависимости от иммунофенотипа клеток рака тела матки.

Первым этапом мы оценили связи лимфоидной инфильтрации с экспрессией опухолевыми клетками молекул HLA-I и II класса, что представлено в таблице 225. Как видим, общелейкоцитарная инфильтрация опухоли чаще наблюдалась при HLA-I мономорфном фенотипе в сравнении с мозаичным и негативным фенотипом,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ . При сравнении HLA-I негативного фенотипа и HLA-I позитивного CD45 инфильтрация, соответственно, составила 71,4% против 95,0%,  $p = 0,05$ .

Частота Т-клеточных реакций стромы также была выше при экспрессии молекул HLA I класса,  $p = 0,03$ . Достоверные различия отмечены в отношении CD4- клеточных реакций стромы, которые преобладали в HLA-I позитивных опухолях, при  $p = 0,03$ .

**Таблица 225** – Уровень интрастурморальных иммунных реакций стромы в зависимости от HLA-I фенотипа опухоли

| Имунофенотип опухоли |   | Вид интрастурморальных иммунных реакций |                          |        |               |
|----------------------|---|---|--------------------------|--------|---------------|
|                      |   | Слабая/негативная                       | Умеренная\<br>Выраженная | Всего  | p             |
|                      |   | CD45                                    |                          |        |               |
| HLA-I «-»            | n | 4                                       | 10                       | 14     | 0,09          |
|                      | % | 28,6%                                   | 71,4%                    | 100,0% |               |
| HLA-I «+/-»          | n | 1                                       | 1                        | 2      |               |
|                      | % | 50,0%                                   | 50,0%                    | 100,0% |               |
| HLA-I «+»            | n | 1                                       | 18                       | 19     |               |
|                      | % | 5,3%                                    | 94,7%                    | 100,0% |               |
|                      |   | Слабая/негативная                       | Умеренная                |        |               |
|                      |   | CD3                                     |                          |        |               |
|                      | n | 6                                       | 8                        | 14     | 0,03<br>6,171 |
|                      | % | 42,9%                                   | 57,1%                    | 100,0% |               |
| HLA-I «+/-»          | n | 2                                       | 0                        | 2      |               |
|                      | % | 100,0%                                  | 0,0%                     | 100,0% |               |
| HLA-I «+»            | n | 4                                       | 16                       | 20     |               |
|                      | % | 20,0%                                   | 80,0%                    | 100,0% |               |
|                      |   | CD4                                     |                          |        |               |
| HLA-I «-»            | n | 6                                       | 8                        | 14     | 0,03<br>6,171 |
|                      | % | 42,9%                                   | 57,1%                    | 100,0% |               |
| HLA-I «+/-»          | n | 2                                       | 0                        | 2      |               |
|                      | % | 100,0%                                  | 0,0%                     | 100,0% |               |
| HLA-I «+»            | n | 4                                       | 16                       | 20     |               |
|                      | % | 20,0%                                   | 80,0%                    | 100,0% |               |

|             |   | CD8    |       |        |      |
|-------------|---|--------|-------|--------|------|
| HLA-I «-»   | n | 9      | 5     | 14     | 0,09 |
|             | % | 64,3%  | 35,7% | 100,0% |      |
| HLA-I «+/-» | n | 2      | 0     | 2      |      |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |      |
| HLA-I «+»   | n | 8      | 12    | 20     |      |
|             | % | 40,0%  | 60,0% | 100,0% |      |
|             |   | CD38   |       |        |      |
| HLA-I «-»   | n | 12     | 2     | 14     | 0,6  |
|             | % | 85,7%  | 14,3% | 100,0% |      |
| HLA-I «+/-» | n | 2      | 0     | 2      |      |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |      |
| HLA-I «+»   | n | 16     | 4     | 20     |      |
|             | % | 80,0%  | 20,0% | 100,0% |      |
|             |   | D11    |       |        |      |
| HLA-I «-»   | n | 3      | 11    | 14     | 0,71 |
|             | % | 21,4%  | 78,6% | 100,0% |      |
| HLA-I «+/-» | n | 1      | 1     | 2      |      |
|             | % | 50,0%  | 50,0% | 100,0% |      |
| HLA-I «+»   | n | 5      | 15    | 20     |      |
|             | % | 25,0%  | 75,0% | 100,0% |      |
|             |   | CD20   |       |        |      |
| HLA-I «-»   | n | 12     | 2     | 14     | 0,73 |
|             | % | 85,7%  | 14,3% | 100,0% |      |
| HLA-I «+/-» | n | 2      | 0     | 2      |      |
|             | % | 100,0% | 0,0%  | 100,0% |      |
| HLA-I «+»   | n | 18     | 2     | 20     |      |
|             | % | 90,0%  | 10,0% | 100,0% |      |

При сравнении HLA-DR мономорфного, мозаичного и негативного фенотипов опухоли мы не выявили достоверных связей с характером инфильтрации, за исключением плазмочитарных реакций (Таблица 224). Их частота при мозаичном и мономорфном фенотипе составила 22,2% - 50,0% против 4,8% при негативном; по Спирмену установлена положительная связь средней силы,  $R = 0,426$ ,  $p = 0,01$ . При этом обращал внимание более высокий процент В-клеточных реакций стромы при экспрессии молекул HLA-DR опухолевыми клетками.

В отношении Т-клеточных реакций стромы мы наблюдали увеличение их доли при экспрессии клетками рака молекул HLA-DR. При мономорфной экспрессии частота CD4, CD8 инфильтрации была выше, чем при негативном фенотипе опухоли, но различия не



достигли достоверности (Таблица 226). При сравнении HLA-DR негативного и позитивного фенотипов уровень общелейкоцитарной инфильтрации был отчетливо выше при экспрессии опухолью молекул HLA-DR,  $p = 0,02$  (Таблица 227). Схожие результаты получены при анализе CD4 и CD8 Т-клеточных реакций.

**Таблица 226** – Уровень интратуморальных иммунных реакций стромы в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |        | p    |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|--------|------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>выраженная | Всего  |      |
|                       |   | CD45                                  |                          |        |      |
| HLA-DR «-»            | n | 5                                     | 16                       | 21     | 0,16 |
|                       | % | 23,8%                                 | 76,2%                    | 100,0% |      |
| HLA-DR «+/-»          | n | 0                                     | 8                        | 8      |      |
|                       | % | 0,0%                                  | 100,0%                   | 100,0% |      |
| HLA-DR «+»            | n | 1                                     | 5                        | 6      |      |
|                       | % | 16,7%                                 | 83,3%                    | 100,0% |      |
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная                |        |      |
|                       |   | CD3                                   |                          |        |      |
| HLA-DR «-»            | n | 9                                     | 12                       | 21     | 0,33 |
|                       | % | 42,9%                                 | 57,1%                    | 100,0% |      |
| HLA-DR «+/-»          | n | 2                                     | 7                        | 9      |      |
|                       | % | 22,2%                                 | 77,8%                    | 100,0% |      |
| HLA-DR «+»            | n | 1                                     | 5                        | 6      |      |
|                       | % | 16,7%                                 | 83,3%                    | 100,0% |      |
|                       |   | CD4                                   |                          |        |      |
| HLA-DR «-»            | n | 9                                     | 12                       | 21     | 0,33 |
|                       | % | 42,9%                                 | 57,1%                    | 100,0% |      |
| HLA-DR «+/-»          | n | 2                                     | 7                        | 9      |      |
|                       | % | 22,2%                                 | 77,8%                    | 100,0% |      |
| HLA-DR «+»            | n | 1                                     | 5                        | 6      |      |
|                       | % | 16,7%                                 | 83,3%                    | 100,0% |      |
|                       |   | CD8                                   |                          |        |      |
| HLA-DR «-»            | n | 14                                    | 7                        | 21     | 0,13 |
|                       | % | 66,7%                                 | 33,3%                    | 100,0% |      |
| HLA-DR «+/-»          | n | 3                                     | 6                        | 9      |      |
|                       | % | 33,3%                                 | 66,7%                    | 100,0% |      |
| HLA-DR «+»            | n | 2                                     | 4                        | 6      |      |
|                       | % | 33,3%                                 | 66,7%                    | 100,0% |      |
|                       |   | CD38                                  |                          |        |      |
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная                |        | 0,03 |
| HLA-DR «-»            | n | 20                                    | 1                        | 21     |      |
|                       | % | 95,2%                                 | 4,8%                     | 100,0% |      |

|              |   |       |       |        |      |
|--------------|---|-------|-------|--------|------|
| HLA-DR «+/-» | n | 7     | 2     | 9      |      |
|              | % | 77,8% | 22,2% | 100,0% |      |
| HLA-DR «+»   | n | 3     | 3     | 6      |      |
|              | % | 50,0% | 50,0% | 100,0% |      |
| D11          |   |       |       |        |      |
| HLA-DR «->»  | n | 6     | 15    | 21     | 0,81 |
|              | % | 28,6% | 71,4% | 100,0% |      |
| HLA-DR «+/-» | n | 2     | 7     | 9      |      |
|              | % | 22,2% | 77,8% | 100,0% |      |
| HLA-DR «+»   | n | 1     | 5     | 6      |      |
|              | % | 16,7% | 83,3% | 100,0% |      |
| CD20         |   |       |       |        |      |
| HLA-DR «->»  | n | 20    | 1     | 21     | 0,34 |
|              | % | 95,2% | 4,8%  | 100,0% |      |
| HLA-DR «+/-» | n | 7     | 2     | 9      |      |
|              | % | 77,8% | 22,2% | 100,0% |      |
| HLA-DR «+»   | n | 5     | 1     | 6      |      |
|              | % | 83,3% | 16,7% | 100,0% |      |

**Таблица 227** – Уровень CD45+ интратуморальных реакций стромы в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |        |               |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|--------|---------------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>Выраженная | Всего  | P<br>$\chi^2$ |
| CD45                  |   |                                       |                          |        |               |
| HLA-DR «->»           | n | 5                                     | 16                       | 21     | 0,02<br>3,629 |
|                       | % | 23,8%                                 | 76,2%                    | 100,0% |               |
| HLA-DR «+»            | n | 0                                     | 13                       | 13     |               |
|                       | % | 0,0%                                  | 100,0%                   | 100,0% |               |

Частота CD4+ инфильтрации при позитивном HLA-DR фенотипе в 1,5 раза превышала таковую при негативном, а частота CD8+ инфильтрации – в два раза (Таблица 228). Дополнительно корреляционный анализ по Спирмену установил положительную связь средней силы для CD8+ клеточных реакций:  $R = 0,373$ ,  $p = 0,02$ .

**Таблица 228** – Уровень CD4+, CD8+ интратуморальных реакций стромы в зависимости от HLA-DR фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |           |        |               |
|-----------------------|---|---------------------------------------|-----------|--------|---------------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная | Всего  | P             |
| CD4                   |   |                                       |           |        |               |
| HLA-DR «->»           | n | 9                                     | 12        | 21     | 0,06<br>3,182 |
|                       | % | 42,9%                                 | 57,1%     | 100,0% |               |

|            |   |       |       |        |               |
|------------|---|-------|-------|--------|---------------|
| HLA-DR «+» | n | 2     | 12    | 14     |               |
|            | % | 14,3% | 85,7% | 100,0% |               |
| CD8        |   |       |       |        |               |
| HLA-DR «-» | n | 14    | 7     | 21     | 0,02<br>4,880 |
|            | % | 66,7% | 33,3% | 100,0% |               |
| HLA-DR «+» | n | 4     | 10    | 14     |               |
|            | % | 28,6% | 71,4% | 100,0% |               |

Далее мы сравнили выраженность интратуморальных реакций стромы в зависимости от экспрессии клетками рака тела матки трансферриновых рецепторов (Таблица 229). Сразу отметим, что мы получили схожие результаты, которые установлены при анализе паренхимы опухоли. Преимущественно слабый тип иммунных реакций встречался в Tfr1-негативных опухолях, в то время как Tfr1- позитивные опухоли отличались более выраженным типом инфильтрации. Как видно из таблицы, общейлейкоцитарный уровень инфильтрации при Tfr1 фенотипах достоверно не различался. При этом более детальный анализ показал, что в Tfr1- позитивных опухолях имели место случаи выраженной CD45+ реакции, чего не наблюдалось при Tfr1-негативном фенотипе (42,1% против 0%,  $p = 0,002$ ).

**Таблица 229** – Уровень интратуморальных иммунных реакций стромы в зависимости от Tfr1 фенотипа опухоли

| Имунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |                          |        |                             |
|----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------|--------|-----------------------------|
|                      |   | Слабая/негативная                     | Умеренная\<br>Выраженная | Всего  | p                           |
| CD45                 |   |                                       |                          |        |                             |
| Tfr1 «-»             | n | 3                                     | 13                       | 16     | 0,55                        |
|                      | % | 18,8%                                 | 81,3%                    | 100,0% |                             |
| Tfr1 «+/-»           | n | 0                                     | 3                        | 3      |                             |
|                      | % | 0,0%                                  | 100,0%                   | 100,0% |                             |
| Tfr1 «+»             | n | 3                                     | 13                       | 16     |                             |
|                      | % | 18,8%                                 | 81,3%                    | 100,0% |                             |
| CD3                  |   |                                       |                          |        |                             |
| Tfr1 «-»             | n | 9                                     | 7                        | 16     | 0,01<br>$\chi^2 =$<br>7,313 |
|                      | % | 56,3%                                 | 43,8%                    | 100,0% |                             |
| Tfr1 «+/-»           | n | 0                                     | 4                        | 4      |                             |
|                      | % | 0,0%                                  | 100,0%                   | 100,0% |                             |
| Tfr1 «+»             | n | 3                                     | 13                       | 16     |                             |
|                      | % | 18,8%                                 | 81,3%                    | 100,0% |                             |
| CD4                  |   |                                       |                          |        |                             |

|            |   |        |        |        |                             |
|------------|---|--------|--------|--------|-----------------------------|
| TfR1 «-»   | n | 9      | 7      | 16     | 0,01<br>$\chi^2 =$<br>7,313 |
|            | % | 56,3%  | 43,8%  | 100,0% |                             |
| TfR1 «+/-» | n | 0      | 4      | 4      |                             |
|            | % | 0,0%   | 100,0% | 100,0% |                             |
| TfR1 «+»   | n | 3      | 13     | 16     |                             |
|            | % | 18,8%  | 81,3%  | 100,0% |                             |
| CD8        |   |        |        |        |                             |
| TfR1 «-»   | n | 12     | 4      | 16     | 0,04<br>$\chi^2 =$<br>5,907 |
|            | % | 75,0%  | 25,0%  | 100,0% |                             |
| TfR1 «+/-» | n | 1      | 3      | 4      |                             |
|            | % | 25,0%  | 75,0%  | 100,0% |                             |
| TfR1 «+»   | n | 6      | 10     | 16     |                             |
|            | % | 37,5%  | 62,5%  | 100,0% |                             |
| CD38       |   |        |        |        |                             |
| TfR1 «-»   | n | 16     | 0      | 16     | 0,01<br>$\chi^2 =$<br>7,200 |
|            | % | 100,0% | 0,0%   | 100,0% |                             |
| TfR1 «+/-» | n | 2      | 2      | 4      |                             |
|            | % | 50,0%  | 50,0%  | 100,0% |                             |
| TfR1 «+»   | n | 12     | 4      | 16     |                             |
|            | % | 75,0%  | 25,0%  | 100,0% |                             |
| D11        |   |        |        |        |                             |
| TfR1 «-»   | n | 3      | 13     | 16     | 0,71                        |
|            | % | 18,8%  | 81,3%  | 100,0% |                             |
| TfR1 «+/-» | n | 1      | 3      | 4      |                             |
|            | % | 25,0%  | 75,0%  | 100,0% |                             |
| TfR1 «+»   | n | 5      | 11     | 16     |                             |
|            | % | 31,3%  | 68,8%  | 100,0% |                             |
| CD20       |   |        |        |        |                             |
| TfR1 «-»   | n | 16     | 0      | 16     | 0,07<br>$\chi^2 =$<br>3,727 |
|            | % | 100,0% | 0,0%   | 100,0% |                             |
| TfR1 «+/-» | n | 3      | 1      | 4      |                             |
|            | % | 75,0%  | 25,0%  | 100,0% |                             |
| TfR1 «+»   | n | 13     | 3      | 16     |                             |
|            | % | 81,3%  | 18,8%  | 100,0% |                             |

T-клеточные реакции стромы также были более выражены при мономорфной и мозаичной экспрессии TfR1. Так, CD4-клеточные реакции наблюдались в 81,3% случаев, что в два раза чаще, чем при отсутствии на клетках опухоли трансферриновых рецепторов,  $p = 0,01$ . Для цитотоксических реакций наблюдалась та же картина, различия достоверны,  $p = 0,04$ .

Это хорошо видно при укрупненном анализе: Т-клеточные реакции по CD4 и CD8 были более выражены в опухолях Tfr1-позитивных по сравнению с негативными: различия высокодостоверны (Таблица 230). Корреляционный анализ по Спирмену выявил положительный характер связи средней силы: для CD4+  $R = 0,0435$ ,  $p = 0,008$ , для CD8+  $R = 0,398$ ,  $p = 0,016$ .

**Таблица 230** – Уровень Т-клеточных и CD38- интратуморальных реакций стромы в зависимости от Tfr1 фенотипа опухоли

| Иммунофенотип опухоли |   | Вид интратуморальных иммунных реакций |           |        |                |
|-----------------------|---|---------------------------------------|-----------|--------|----------------|
|                       |   | Слабая/негативная                     | Умеренная | Всего  | P              |
|                       |   | CD3                                   |           |        |                |
| Tfr1 «-»              | n | 9                                     | 7         | 16     | 0,008<br>6,806 |
|                       | % | 56,3%                                 | 43,8%     | 100,0% |                |
| Tfr1 «+»              | n | 3                                     | 17        | 20     |                |
|                       | % | 15,0%                                 | 85,0%     | 100,0% |                |
|                       |   | CD4                                   |           |        |                |
| Tfr1 «-»              | n | 9                                     | 7         | 16     | 0,008<br>6,806 |
|                       | % | 56,3%                                 | 43,8%     | 100,0% |                |
| Tfr1 «+»              | n | 3                                     | 17        | 20     |                |
|                       | % | 15,0%                                 | 85,0%     | 100,0% |                |
|                       |   | CD8                                   |           |        |                |
| Tfr1 «-»              | n | 12                                    | 4         | 16     | 0,015<br>5,707 |
|                       | % | 75,0%                                 | 25,0%     | 100,0% |                |
| Tfr1 «+»              | n | 7                                     | 13        | 20     |                |
|                       | % | 35,0%                                 | 65,0%     | 100,0% |                |
|                       |   | CD38                                  |           |        |                |
| Tfr1 «-»              | n | 16                                    | 0         | 16     | 0,005<br>5,760 |
|                       | % | 100,0%                                | 0,0%      | 100,0% |                |
| Tfr1 «+»              | n | 14                                    | 6         | 20     |                |
|                       | % | 70,0%                                 | 30,0%     | 100,0% |                |

В-клеточные реакции в строме оказались несколько более выраженными, также как и плазмочитарные. Их уровень значительно выше при мозаичной и мономорфной экспрессии трансферриновых рецепторов клетками опухоли в сравнении с негативным фенотипом,  $0,05 \leq p \leq 0,1$ . При сравнении Tfr1 негативного и позитивного фенотипов мы отметили достоверные различия в отношении CD38+ плазмочитарных реакций,  $p = 0,005$ . Корреляционный анализ по Спирмену установил связь положительную средней силы  $R =$

0,400,  $p = 0,01$ . Частота CD38+ инфильтрации стромы составила 30,0% и 0%, соответственно, при Tfr1- позитивном и Tfr1-негативном фенотипах.

Таким образом, анализ взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипом рака тела матки позволил выявить целый ряд достоверных связей. В паренхиме опухоли имело место преобладание цитотоксических CD8+ клеточных реакций при HLA-I мономорфном фенотипе, тогда как при других фенотипах не наблюдалось CD8+ клеточных реакций вовсе,  $p = 0,008$ . Аналогично HLA-DR мономорфный фенотип сопровождался более выраженными Т-клеточными реакциями: CD8+ инфильтрация наблюдалась чаще. В целом HLA-DR позитивные опухоли имели большую частоту Т-клеточных реакций в паренхиме. И как мы установили, CD4+ инфильтрация преобладала над CD8+.

Оценка степени выраженности интратуморальных иммунных реакций паренхимы в зависимости от экспрессии клетками рака тела матки рецепторов трансферрина выявила, между ними четкую взаимосвязь. Общий уровень лейкоцитарной инфильтрации достоверно коррелировал с Tfr1- позитивным фенотипом опухоли: при мозаичной и мономорфной экспрессии Tfr1 CD45+ инфильтрация наблюдалась чаще,  $p = 0,003$ . Как видим, это происходило за счет Т-лимфоидной реакции: доля CD8+, CD4+ клеточных реакций была выше в случаях экспрессии клетками рака трансферриновых рецепторов ( $p = 0,018$ ,  $p = 0,009$ ).

Частота CD45+ клеточных реакций стромального компонента чаще наблюдалась при HLA-I позитивном фенотипе опухоли, составив 71,4% против 95,0%,  $p = 0,05$ . Этот уровень был повышен за счет CD4+ Т-клеточных реакций, которые преобладали в HLA-I мономорфных опухолях,  $p = 0,03$ . Схожая картина отмечена и для CD8+ клеточных реакций стромы. Экспрессия клетками рака тела матки молекул HLA-DR сопровождалась достоверно большей частотой CD45+ инфильтрацией стромы ( $p = 0,02$ ), за счет CD8+ Т-клеточных реакций ( $p = 0,02$ ), положительная корреляция средней силы. Отметим, что CD4+ стромальная инфильтрация преобладала над CD8+ инфильтрацией также как и в паренхиме. Кроме того, подчеркнем, что в целом стромальные реакции были более выражены, что особенно отчетливо проявлялось при сравнении HLA-DR позитивных и негативных фенотипов.

Аналогично более выраженной выглядела плазмоцитарная инфильтрация стромы в опухолях, экспрессирующих HLA-DR ( $p = 0,03$ ), что мы не наблюдали при оценке паренхиматозного компонента опухоли. Имела место положительная корреляция по Спирмену средней силы.

В Tfr1- позитивных опухолях имели место случаи выраженной CD45+ реакции стромы, чего не наблюдалось при Tfr1-негативном фенотипе ( $p = 0,002$ ). Как видно, имеется

схожесть с уровнем TfR1 -реакций паренхимы. Выраженность CD45+ реакции стромы наблюдалась за счет Т-лимфоидных реакций, которые были более выражены при мономорфной и мозаичной экспрессии TfR1. В целом TfR1-позитивные опухоли характеризовались высокой частотой CD8+, CD4+ клеточных реакций ( $p = 0,008$ ,  $p = 0,015$ ). Кроме того, они сопровождалась достоверным увеличением доли плазмоцитарных реакций, имела места положительная корреляция средней силы.

Как мы видим, иммунофенотипические признаки рака тела матки имеют очевидную связь со степенью интратуморальных иммунных реакций. Причем ведущую роль, играют Т-клеточные реакции. В частности, мы отметили преобладание CD4+ инфильтрации. При этом стромальные реакции выглядели более выраженными, что отчетливо заметно на примере плазмоцитарных реакций стромы. В целом складывается впечатление, что экспрессия молекул HLA-DR, также как и молекул HLA I класса клетками опухоли сопровождалась более выраженными интратуморальными реакциями стромы. Нельзя не отметить, что при этом имела место более высокая частота цитотоксических и плазмоцитарных реакций. Та же картина имела место в отношении рецепторов трансферрина, экспрессия которых, сопровождалась достоверным увеличением как Т-клеточных, так и плазмоцитарных реакций стромы.

## ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ

Стремительное развитие технологий в области иммунодиагностики рака, накопление данных фундаментальных исследований, опыт в интерпретации полученных результатов раскрыли целую область возможностей для прогнозирования его течения, оценки эффективности лечения, а, соответственно, и разработки новых направлений лечебных подходов. К настоящему времени накоплено достаточно данных, позволяющих однозначно утверждать, что самым мощным и действенным направлением является изучение взаимодействия опухоли и системы иммунитета организма больного. Интерес к этому направлению укреплялся все больше с пониманием того, что опухоли отличаются фенотипическим разнообразием. Исследованию этого уникального иммунологического феномена при опухолях женской репродуктивной системы посвящено немало трудов. Мы можем назвать целый ряд таких работ за последние десятилетия, которые выполнены отечественными авторами. Исследования Артамоновой Е.В., Субботиной А.А., Енгай Д.А. касались рака молочной железы, Зуевой Е.В. - рака яичников, и обратили внимание научной общественности на важность иммунологического фенотипирования первичной опухоли [26, 31, 238]. В работе Артамоновой Е.В. показано, что при раке молочной железы характер иммунных реакций в опухоли взаимосвязан с ее HLA-фенотипом, а также аргументирована целесообразность иммуногистохимического исследования не только первичной опухоли, но и регионарных лимфатических узлов [26].

На сегодняшний день хорошо известно, что молекулы главного комплекса гистосовместимости существенным образом влияют на формирование противоопухолевого иммунного ответа. Открытие феномена HLA - рестрикции Цинкернагелем и Догерти в 1974 позволило пролить свет на то, каким образом эффекторные Т-клетки могут распознавать чужеродные антигены, в том числе антигены опухолевых клеток. Это распознавание в комплексе с молекулами HLA является одним из условий дальнейшего цитотоксического действия эффекторных Т-клеток в отношении опухолевых клеток-мишеней.

Изучению взаимосвязи интратуморальных иммунных реакций с иммунофенотипическими характеристиками опухолей женской репродуктивной системы посвящен первый раздел нашей работы. Наравне с этим важным разделом работы стало принципиально новое направление исследований – изучение иммунной системы костного мозга, роль которой до недавнего времени недооценивалась. Костный мозг, являясь центральным органом гемопоэза и иммунопоэза, играет важную роль в канцерогенезе, и, в частности, гематогенном метастазировании опухолей. Поэтому изучение взаимосвязей



эффекторных лимфоцитарных популяций в первичном очаге поражения и костном мозге явилось одним из интригующих событий в нашем исследовании.

Первоначально мы изучили иммунофенотипы опухолей женской репродуктивной системы. Начнем с HLA фенотипа опухоли. На данном этапе работы установлены как некоторые сходства, так и различия в корреляции молекул HLA с клинико-морфологическими признаками изучаемых опухолей. В отношении HLA-I экспрессии обнаружены следующие взаимосвязи. При раке шейки матки опухоли размером менее 4 см характеризовались почти в 100% случаев экспрессией молекул HLA I класса, тогда как опухоли размером более 4 см, почти в 30% случаев имели негативный HLA-I фенотип. Местное распространение опухоли характеризовалось достоверным уменьшением уровня экспрессии HLA-I класса. Схожие данные нами получены при изучении рака тела матки. HLA-I мономорфный фенотип при стадии IA – II наблюдался в 64,3% случаев против 28,6% при распространенных стадиях ( $p = 0,15$ ). В своем исследовании Yakabe K и соавт. указывают на наличие взаимосвязи между экспрессией молекул HLA I класса и распространенностью опухолевого процесса при раке эндометрия [149]. HLA-I негативный фенотип при III-IV стадии авторы наблюдали чаще. Это хорошо согласуется с нашими результатами, хотя статистической значимости не наблюдалось, что, по-видимому, связано с преобладанием ранних стадий в нашем исследовании. Обратим внимание, что Yakabe K. и соавт. также отмечают четкую корреляцию регионарного метастазирования с негативным HLA-I статусом опухоли. И действительно, по нашим данным, при статусе N0 экспрессия молекул HLA I класса составила 64,5%, тогда как при регионарном метастазировании таковой не наблюдалось,  $p = 0,017$ . Наши данные не противоречат результатам японских исследователей. Оценка взаимосвязи HLA -иммунофенотипа с дифференцировкой рака тела матки показала, что высоко- и умеренно дифференцированные опухоли несколько чаще демонстрировали HLA-I мономорфный фенотип нежели низкодифференцированные. Хотя и не наблюдалось высокой значимости в различиях наши результаты подтверждаются литературными данными. В работе de Jong RA и соавт. выполнено аналогичное сравнение и обнаружена связь дифференцировки эндометриальной аденокарциомы с HLA-I статусом опухоли: отсутствие экспрессии молекул HLA-I чаще наблюдалось при низкодифференцированном раке [143].

Экспрессия молекул HLA-DR достоверна была связана с распространенностью опухолевого процесса при раке молочной железы и раке шейки матки. Увеличение стадии и размера первичной опухоли, метастазы в лимфатические узлы чаще сопровождалась HLA-DR негативным фенотипом рака молочной железы, что совпадает с результатами большинства исследователей [47, 238, 147, 148].

Регионарное метастазирование рака шейки матки также коррелировало с нарастанием доли HLA-DR негативного фенотипа ( $p = 0,01$ ). В своей работе Ferns DM и соавт, получили аналогичные нашим результаты [144]. Кроме того, по нашим данным опухоли с HLA-DR негативным фенотипом имели больше размер, были менее дифференцированы. Высоко дифференцированный рак шейки матки чаще демонстрировал HLA-DR мономорфный фенотип. Известно, что большинство нормальных эпителиоцитов не экспрессируют молекул, их индукция происходит в результате патологических состояний (например, гиперпластические, воспалительные процессы). Например, повышенная экспрессия HLA детерминант II класса на эпителиальных клетках обнаружена на различных стадиях дисплазии [139]. Учитывая роль молекул HLA-DR в регуляции иммунных ответов путем представления антигенных пептидов Т-клеткам CD4+ и контроля дифференцировки В-лимфоцитов в антител-продуцирующие клетки, полученные результаты в нашей работе убедительно демонстрируют, что отсутствие их экспрессии ведет к нарушению опосредования такого взаимодействия и неэффективному иммунному ответу. В исследовании Sanne Samuels и соавт., сообщают, что HLA-DR негативные опухоли ассоциированы со снижением выживаемости больных раком шейки матки [155].

Любопытно, что в целом частота экспрессии молекул HLA-DR при разных видах рака варьирует от 25% до 80%: так при папиллярном раке щитовидной железы она составляет 50%, при меланоме – 60%, при раке молочной железы – 50% [239]. Не менее примечательно, что прогностическая роль экспрессии молекул HLA-DR носит разнонаправленный характер. Одни авторы демонстрируют их положительное влияние на течение болезни (например, при раке молочной железы), другие считают экспрессию молекул HLA-DR проявлением опухолевой прогрессии. Мы также столкнулись с двойственной картиной в отношении фенотипа HLA-DR. При раке яичников с нарастанием стадии опухоли частота положительного HLA-DR фенотипа отмечена чаще, иными словами, прогрессирование рака яичников ассоциировалось с экспрессией молекул HLA-DR. Rangel L. B. A. и соавт. в своем исследовании установили, что при раке яичников наблюдается наиболее высокая экспрессия гена HLA-DRA, который кодирует  $\alpha$ -цепь HLA-DR [161]. Авторы предполагают, что экспрессия молекул HLA-DR- $\alpha$  может представлять собой особенность злокачественных клеток рака яичников. HLA-DR- $\beta$  редко экспрессируется на уровне белка, что приводит к отсутствию зрелых молекул HLA-DR. Поэтому, хотя клетки рака яичников экспрессируют HLA-DR- $\alpha$ , что возможно в результате присутствия цитокинов в микроокружении опухоли, эти же клетки могут избегать отображения функциональных рецепторов HLA-DR на своей клеточной поверхности из-за отсутствия HLA-DR- $\beta$  цепи, что сопрягается с неэффективным иммунным ответом и прогрессией опухоли [239]. Подтверждением тому является работа

Daltoé RD и соавт., в которой установлено, что клетки рака яичников экспрессировали HLA-DR- $\alpha$  в 42,0% случаев, и это коррелировало с более агрессивным течением, что проявлялось в виде низкой чувствительности к платиносодержащей химиотерапии [160]. В этом контексте наши результаты могут свидетельствовать о том, что экспрессия молекул HLA-DR клетками рака яичников сопряжена с неэффективностью противоопухолевого иммунного ответа, возможно анергией Т-клеточного клона, ввиду неспособности полноценного процессинга HLA-DR молекул на клетках опухоли.

Весьма интригующим фактом стало обнаружение корреляции экспрессии HLA-DR с молекулярным подтипом рака молочной железы. Отметим, что разделение на биологические подтипы рака молочной железы ввиду ретроспективного характера анализа проводилось только на основании экспрессии рецепторов стероидных гормонов. При люминальном подтипе рака молочной железы (по РЭ) антиген HLA-DR экспрессировался чаще, чем при нелюминальном подтипе. Возможно, что такое различие могло бы быть обусловлено преобладанием при нелюминальном подтипе менее дифференцированных опухолей поскольку в литературе встречаются сведения о том, что при нарастании степени злокачественности рака молочной железы экспрессия анализируемого антигена наблюдалась реже [152, 153].

При биологических подтипах рака молочной железы экспрессия молекул HLA-I класса тоже может различаться [148, 147]. В своей работе Sinn B.V. и соавт. отмечают, что у больных при трижды негативном раке по сравнению с другими подтипами выше частота экспрессии молекул HLA-I класса. Кроме того, экспрессия данного антигена чаще наблюдалась у пациентов с поражением лимфоузлов и в опухолях с низкой дифференцировкой (G3) [148]. Дополнительно авторы указывают, что экспрессия молекул HLA-I класса связана с лучшим ответом на химиотерапию гормон-позитивного рака молочной железы.

Интересным фактом стало обнаружение различий в экспрессии трансферриновых рецепторов TfR1 при молекулярных подтипах рака молочной железы. TfR1 экспрессия достоверно чаще наблюдалась при люминальном подтипе рака молочной железы по сравнению с нелюминальным подтипом (по РЭ и РП). Тип реакции преимущественно мономорфный. По данным литературы, гиперэкспрессия трансферриновых рецепторов при люминальном раке ассоциируется с выраженной пролиферативной активностью опухоли, более низкой экспрессией стероидных гормонов, экспрессией Her2/neu, а также с плохим прогнозом [171]. Сопоставляя эти сведения с нашими результатами, нельзя исключить, что в анализируемой нами выборке немалую долю, возможно, составляет В-люминальный подтип рака молочной железы.

Важно отметить, что часто TfR1 мономорфный фенотип был достоверно связан с мономорфной экспрессией молекул HLA-I. Связь TfR1 и HLA-I фенотипов прослеживалась как при изучении рака молочной железы, так и рака тела матки, а также рака шейки матки. Картина частоты фенотипов при данных опухолях примерно совпадала. Единственное, при раке молочной железы процент мономорфных реакций по обоим фенотипам был несколько ниже (44,2%). Иные данные нами получены при раке яичников: TfR1-мозаичный фенотип часто был ассоциирован с HLA-DR экспрессией, что обсуждается нами далее в контексте интратуморальных иммунных реакций. Кроме того, мы обратили внимание, что при раке яичников имелась связь TfR1 фенотипа с экспрессией молекул интегринов CD29. При TfR1 отрицательном фенотипе часто наблюдался именно мономорфный CD29 фенотип (78,6%). Доля мозаичных и негативных опухолей при этом составляла лишь 14,3% и 7,1%, соответственно. При TfR1-положительных опухолях доля мономорфно-экспрессирующих CD29 клеток была в два раза меньше (36,8%). Как мы видим, как TfR1- положительные, так и TfR1- негативные опухоли экспрессируют молекулы  $\beta$ 1-интегринов CD29. Известно, что гиперэкспрессия трансферриновых рецепторов ассоциируется с выраженной пролиферативной активностью опухоли, при этом наблюдается усиление экспрессии матриксных металлопротеаз и синтеза интерлейкина 6, что способствует инвазии и метастазированию клеток рака [170, 174]. В свете этих данных экспрессия молекул интегринов TfR1- положительными опухолями, вероятно, может указывать, что происходит эпителиально-мезенхимальный переход, который влечет за собой ослабление межклеточных контактов, отщепление клеток от первичной опухоли с последующей адгезией к местам вторичного метастазирования. И действительно, среди опухолей мономорфно экспрессирующих молекулы  $\beta$ 1-интегринов в 33,3% случаев мы наблюдали метастатическое поражение большого сальника, что хорошо согласуется с литературными данными [201, 205, 206]. Вместе с тем, есть работы, сообщающие TfR1- негативные опухоли также могут обладать преимуществом в развитии, что продемонстрировали Ohkuma M. и соавт. на примере клеточной линии рака желудка, а также Wang Y. и соавт. при раке молочной железы [179, 183]. С учетом этих данных, становится понятным наличие экспрессии молекул  $\beta$ 1-интегринов TfR1- негативными клетками рака. Дополнительно нельзя не отметить слабый тип Т-клеточной инфильтрации, который имел место в опухолях с TfR1-негативным фенотипом. Кроме того, мономорфная экспрессия молекул  $\beta$ 1-интегринов клетками рака яичников в 66,7% сопровождалась аналогично слабым характером местных иммунных Т-клеточных реакций. Похожие результаты в своем исследовании получили Dötzer K. и соавт.: при серозном раке яичников в опухолях с гиперэкспрессией молекул  $\beta$ 1-интегринов также наблюдали слабый тип Т-клеточной инфильтрации [202]. Последнее обстоятельство, не мешает предположить, что

вероятнее всего TfR1- негативный рак яичников, с преимущественно мономорфной экспрессией молекул  $\beta$ 1- интегринов, слабым характером местных Т-клеточных реакций может представлять собой особый опухолевый клон, обладающий не меньшим метастатическим потенциалом, чем опухоли с экспрессией трансферриновых рецепторов. Если исходить из этого предположения, то такая преобладающая клеточная популяция, по-видимому, могла бы в дальнейшем иметь преимущество в выживании, преодолевая лекарственное воздействие. В частности, в публикации Wantoch von Rekowski К. продемонстрирована связь  $\beta$ 1-интегринов с развитием резистентности к платине при раке яичников [240]. Механизмы этого эффекта до сих пор неясны. Активность связывания интегринов не только регулирует физическое встраивание клетки в экстрацеллюлярный матрикс, но также активирует специфические сигнальные пути. Внутриклеточная передача сигналов, инициируемая связыванием с экстрацеллюлярным матриксом, по всей вероятности, имеет основополагающее значение для лекарственной устойчивости, опосредованной клеточной адгезией. Baltes F. и соавт. сообщают, что  $\beta$ 1-интегрины играли решающую роль в клеточных линиях рака молочной железы и меланомы, формируя состояние устойчивости к цитостатическим препаратам, когда клетки связывались с компонентами экстрацеллюлярного матрикса [241].

При анализе экспрессии молекул интегринов CD29 в зависимости от суррогатных подтипов рака молочной железы оказалось, что имела место достоверная связь. При разделении на подтипы на основании экспрессии рецепторов эстрогенов выявлено, что клетки нелюминального рака молочной железы достоверно чаще экспресировали молекулы CD29, чем люминального подтипа, хотя разница невелика: мономорфно в 55,0% и 45,5%, мозаично в 45,0% и 37,3%, соответственно ( $p = 0,031$ ). Полного отсутствия экспрессии молекул интегринов CD29 клетками опухоли при нелюминальном подтипе рака молочной железы не наблюдалось, что могло бы дополнительно характеризовать биологические его особенности. Хорошо известно, что экспрессия молекул интегринов CD29 на опухолевых клетках свидетельствует о нарушении их адгезивных свойств (как с клетками, так и с матриксом), что сопровождается повышением их подвижности и миграционных свойств [203]. Эти данные могли бы косвенно указывать, что высокая частота мономорфной экспрессии молекул интегринов CD29 при люминальном раке наблюдается за счет люминального В-подтипа рака молочной железы, которому присуще более агрессивное течение по сравнению с люминальным А-подтипом.

Хотелось бы отметить, что при дальнейшем анализе мы установили связь фенотипа CD29 с общелейкоцитарной реакцией. При экспрессии молекул интегринов CD29 клетками рака молочной железы CD45+ инфильтрации при мономорфном и мозаичном фенотипе

составила 31,3% и 67,1%, соответственно. Это отражал выраженный характер CD3+ клеточных реакций. Аналогичным образом наблюдали связь экспрессии молекул адгезии CD54 с более выраженным характером общелейкоцитарной реакции. Учитывая связь нелюминального подтипа рака молочной железы с экспрессией молекул CD29, было вполне ожидаемо обнаружение того факта, что нелюминальный подтип рака молочной железы сопровождался более выраженным характером интратуморальных иммунных реакций, чем люминальный. При этом справедливо будет отметить, что при мономорфной экспрессии CD29 частота CD45+ инфильтрации все же была слабее, чем в опухолях с мозаичным типом реакции.

Таким образом, на примере экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости, трансферриновых рецепторов, молекул адгезии становится очевидным, что опухоли женской репродуктивной системы на ранних этапах своего развития изменяют свой иммунофенотипический репертуар, что позволяет им, преобразуя свое микроокружение, эволюционировать [242, 243].

При изучении интратуморальных иммунных реакций опухолей женской репродуктивной системы мы выявили ряд очень важных закономерностей, подтверждающих значимую роль эффекторных звеньев иммунопоэза в развитии опухолей, неразрывную их связь с иммунофенотипическими характеристиками. При этом установлены как схожие черты, так и различия.

Во-первых, интратуморальные Т-клеточные реакции преимущественно являлись ведущими, причем их выраженность была ассоциирована с ранними стадиями рака. Это совершенно четко наблюдалось при раке молочной железы (уровень CD45+, CD8+ инфильтрации достоверно отрицательно коррелировал с величиной первичной опухоли), а также при раке яичников. Ранние стадии рака яичников сопровождалась высокой частотой как Т-клеточных, так и НК-клеточных интратуморальных реакций при выраженном общем уровне местных иммунных реакций, но слабой инфильтрацией CD8+ клетками. При раке шейки матки имел место выраженный уровень CD20-интратуморальных реакций стромы, который коррелировал с более распространенной клинической стадией ( $p = 0,04$ ). Считаем целесообразным обратить внимание, что факт слабой инфильтрации CD8+ клетками, при выраженном характере НК-клеточных интратуморальных реакций при выявленной нами делеции молекул главного комплекса гистосовместимости вполне логичен и это согласуется с канонами классической иммунологии. В соответствии с ними Т-клетки распознают антигены в контексте молекул HLA, тогда как натуральные киллеры нацеливаются на клетки с нарушенной HLA экспрессией.

Во-вторых, метастазирование в регионарные лимфоузлы (N1) сопровождалось снижением уровня интратуморальных иммунных реакций в первичной опухоли по Т-клеточному звену и нарастанию выраженности В-клеточных реакций. В целом, эта тенденция прослеживалась по-разному. На примере рака молочной железы мы наблюдали снижение CD45+ инфильтрации, увеличение частоты плазмочитарных реакций (CD38+) при увеличении индекса N. При раке шейки матки – уменьшение доли CD3+, CD4+, CD8+ клеточных реакций в паренхиме. Полученные нами результаты хорошо согласуются с данными литературы [47, 34, 244,]. Piersma S. J. и соавт. показали, что выраженная инфильтрация CD8+ клетками связана с низким уровнем лимфогенной диссеминации рака шейки матки на ранних стадиях [34]. При раке тела матки обращало внимание увеличение доли В-клеточных реакций стромального компонента, равно как и плазмочитарных: при статусе N1 частота умеренного/выраженного характера интратуморальных реакций по CD20 составила 50,0%, тогда как при N0 – 6,5%,  $p = 0,03$ . Вероятно, что сдерживающие механизмы Т-клеточного звена перестают играть роль при нарастании распространенности опухоли, что сопровождается усилением реакций врожденного иммунитета, и появлением антителпродуцентов.

В-третьих, выраженность интратуморальных иммунных реакций была взаимосвязана с иммунофенотипом опухолей женской репродуктивной системы. Эта закономерность была правомочна для экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости, трансферриновых рецепторов, молекул адгезии. Итак, при отсутствии экспрессии молекул HLA-I и II класса наблюдалось снижение уровня инфильтрации. Выявленная инфильтрация CD4+ Т-клетками встречалась в HLA-I-положительной группе рака молочной железы в 4 раза чаще. При раке тела матки более дифференцированные опухоли чаще были HLA-I мономорфными, что нашло отражение в более выраженной CD4+ клеточной реакции ( $p = 0,03$ ). HLA-DR позитивные опухоли также довольно часто ассоциировались с Т-клеточными реакциями. Например, при раке молочной железы выраженная степень CD8+ инфильтрации преобладала при мономорфном HLA-DR фенотипе. Более того, установлено увеличение плазмочитарной инфильтрации. Это отчетливо наблюдалось как при раке молочной железы, так и при раке шейки и раке тела матки. Наши результаты совпадают с данными большинства исследователей, сообщающих о взаимосвязи лимфоидной инфильтрации с HLA-иммунофенотипом опухоли [47, 148, 156, 143]. Так, в своем исследовании Sinn и соавт. сообщают, что выраженная экспрессия молекул HLA-I была ассоциирована с лимфоидной инфильтрацией рака молочной железы. Такая взаимосвязь установлена авторами также в пределах гормон-позитивного Her2/neu - негативного рака молочной железы. De Groot A.F. и соавт. в своей работе указывают, что преимущество лимфоидной инфильтрации проявляется

именно в случаях экспрессии клетками рака молекул HLA-I класса (при неoadъювантной химиотерапии в таких опухолях чаще наблюдался полный патоморфологический ответ [20]. В совокупности все эти результаты подтверждают современные воззрения на роль иммунофенотипа опухоли в развитии местных иммунных реакций, и подчеркивают значимость этой взаимосвязи именно в области практических интересов, что побуждает ученых более настойчиво рассматривать возможности индукции молекул HLA на клетках рака с целью достижения наилучшего эффекта от лекарственного лечения.

При раке молочной железы также отмечена связь интратуморальных иммунных реакций с CD29, CD54 фенотипом опухоли. Как мы указывали выше, CD29 позитивный фенотип был связан с выраженным характером CD3+ клеточных реакций. Аналогичным образом наблюдали связь с лимфоидной инфильтрацией экспрессии молекул адгезии CD54.

Крайне важным аспектом явилось установление достоверных различий в уровне интратуморальных иммунных реакций между суррогатными подтипами рака молочной железы. Эти данные получены при разделении на подтипы по РЭ, равно как и по РП/РЭ. Напомним, что, по литературным данным, при разных суррогатных подтипах рака молочной железы могут наблюдаться различия в экспрессии молекул HLA, поэтому ожидаемо, что и характер интратуморальных реакций будет также различаться. Полным подтверждением этому стали результаты нашего анализа. Нелюминальный подтип характеризовался более выраженным уровнем CD45+, Т-клеточных CD3+, CD8+, В-клеточных CD20+, а также плазмоцитарных CD38+ реакций. Наши данные не противоречат результатам других исследователей. Выраженная инфильтрация опухоли лимфоцитами наблюдается при трижды негативном раке молочной железы, который, по последним научным данным, характеризуется более частыми экспрессией PDL-1 и ответом на иммунотерапию [9]. Иной характер иммунных реакций отмечен при люминальном раке молочной железы, который среди других суррогатных подтипов характеризуется более слабой лимфоидной инфильтрацией, а кроме того, низкой экспрессией PD-L1, что ассоциируется с резистентностью к иммунотерапии [38, 123, 245,]. Таким образом, литературные данные в совокупности с результатами нашего исследования не исключают того, что комплексное изучение взаимосвязей местных иммунных реакций и фенотипа опухоли может дополнять картину суррогатного подтипа рака молочной железы. Следовательно, это могло бы позволить стратифицировать больных на определенные группы с целью изучения иммунотерапии. Например, в некоторых публикациях указывается, что высокую вероятность ответа на анти-PD-1/анти-PD-L1 терапию может предсказывать экспрессия молекул HLA-DR клетками рака [246, 247, 248, 249]. Напомним, что Т-клеточный иммунитет требует распознавания антигенов в контексте молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-



I класса и HLA-DR (CD8+ и CD4+ Т-клетками, соответственно). PD-1 – рецептор, экспрессируемый на мембране активированных зрелых Т-клеток, NK- клеток и др. В своем исследовании Rodig S.J и соавт. изучили экспрессию HLA I и HLA-DR на опухолевых клетках пациентов с меланомой, ранее не получавших лечения, и сопоставили результаты с транскрипционным и геномным анализом, а также с ответом на анти-PD-1 и анти-CTLA-4 терапию. В 78 из 181 случаев (43%) отмечены, либо частичная, либо полная утрата молекул HLA I класса, что было связано с репрессией транскрипции HLA-A, HLA-B, HLA-C и B2M. Это позволило исследователям прогнозировать резистентность к анти-CTLA-4 терапии, но не анти-PD-1. Экспрессия молекул HLA-DR наблюдалась в 55 из 181 случая (30%), и была связана с интерфероном- $\gamma$  и генными сигнатурами (опосредованными IFN- $\gamma$ ), и предсказывала ответ на анти-PD-1 терапию. Авторы полагают, что первичный ответ на анти-PD-1 терапию связан с ранее существовавшей IFN- $\gamma$ -опосредованной опухолеспецифической экспрессией молекул HLA-DR и компонентов врожденного иммунитета при нарушении экспрессии HLA-I [249]. Иными словами, индукция молекул HLA-DR на клетках опухоли в условиях PD-1 блокады способствует реализации противоопухолевого иммунного ответа. Экспрессия молекул HLA-DR способствует переключению CD4+Т-клеток в активированные, а также регуляции активности В-клеток, макрофагов [136].

Не менее интересные данные установлены в отношении TfR1 - фенотипа опухолей и выраженности интратуморальных иммунных реакций. TfR1-позитивные опухоли женской репродуктивной системы демонстрировали более выраженный характер лимфоидной инфильтрации. Так, при раке молочной железы мы наблюдали нарастание CD3+ Т-клеточных реакций. При раке тела и шейки матки мономорфная экспрессия рецепторов трансферрина сопровождалась более выраженным уровнем общелейкоцитарных реакций стромы: цитотоксических CD8+, В-клеточных (CD20+, CD38+). При раке яичников наблюдалась аналогичная картина. TfR1-позитивные опухоли демонстрировали более выраженные Т-клеточные (CD7+, CD3+) реакции. Негативный TfR1- фенотип рака яичников чаще отличался слабой инфильтрацией стромы ( $p = 0,006$ ). Умеренная и выраженная Т-клеточная инфильтрация (CD8+) достоверно чаще наблюдалась при TfR1-позитивном фенотипе рака яичников ( $p = 0,009$ ). Таким образом, экспрессия трансферриновых рецепторов при раке яичников не только связана с HLA-DR положительным фенотипом, но и оказывает существенное влияние на структуру и выраженность интратуморальных иммунных реакций. Трактовка эти данных может быть двоякой.

С одной стороны, такие TfR1-позитивные опухоли обладают достаточным уровнем метаболизма, чтобы полноценно экспрессировать антигены и таким образом быть распознанными системой противоопухолевого иммунитета. Экспрессия молекул HLA-DR,

которую мы наблюдали, видимо, и объясняет выраженный уровень интратуморальных иммунных реакций. В первом приближении этот факт должен расцениваться позитивно, поскольку таким образом опосредуется взаимодействие опухоли и иммунной системы, достигается контроль над опухолевыми клетками и выше шанс их уничтожения эффекторными Т-лимфоцитами [250].

С другой стороны, экспрессия TfR1 фактически определяет ростовые преимущества опухоли, тем самым способствуя повышенной распространенности рака. Указанное обстоятельство в купе с корреляцией экспрессии TfR1 с HLA-DR положительным фенотипом, частота которого при нарастании стадии рака яичников была выше, позволяет сделать предположение, что при раке яичников, по всей вероятности, нарушается механизм опосредования иммунного ответа. Как мы указывали выше, подтверждением тому является работа Rangel LB, в которой установлено, что клетки рака яичников экспрессируют только  $\alpha$ -цепь HLA-DR [161]. Авторы предполагают, что экспрессия молекул HLA-DR- $\alpha$  может представлять собой особенность злокачественных клеток рака яичников. Дополнительно, Daltoé RD и соавт. выявлено, что экспрессия HLA-DR - $\alpha$  была связана с более агрессивным течением рака яичников, что проявлялось низкой чувствительностью к химиотерапии [160]. В этом контексте наши результаты могли бы свидетельствовать о том, что экспрессия молекул HLA-DR клетками рака яичников сопряжена с неэффективностью противоопухолевого иммунного ответа, возможно анергией Т-клеточного клона, ввиду неполноценной экспрессии HLA-DR молекул на клетках опухоли. В этой связи существует интригующая, но пока недостаточно изученная гипотеза: индукция молекул HLA класса I-II может вызывать активацию иммуно-ингибирующих молекул на опухоль-инфильтрирующих лимфоцитах, таких как ген 3 активации лимфоцитов LAG-3, который связывает HLA класса II и отрицательно регулирует клеточную пролиферацию, активацию Т-клеток. Это явление поддерживает функцию регуляторных Т-клеток, создавая толерантную микросреду для роста и прогрессии опухоли, что может подтверждаться гиперэкспрессией трансферриновых рецепторов опухолевыми клетками [163].

Одним из ключевых моментов исследования стало обнаружение того факта, что интратуморальные иммунные реакции в строме и в паренхиме опухолей качественно различались. Напомним, что иммуногистохимический анализ интратуморальных иммунных реакций на криостатных срезах опухолевой ткани позволяет выделять 2 основных типа интратуморальных лимфоцитов: тумор-пенетрирующие лимфоциты, то есть клетки, проникающие непосредственно в зоны сплошного опухолевого роста, и лимфоциты, находящиеся в строме опухоли [29]. Тупицыным Н.Н. предложены методы количественной характеристики и оценки активации этих клеток. Выше мы уже указывали, что изучение

инфильтрации отдельно в строме и в опухоли нами проводилось при раке яичников, раке шейки и тела матки, и получены весьма интересные данные. Так, В-клеточные реакции были представлены преимущественно в строме. При раке яичников оказались более выражены НК-клеточные реакции в паренхиме. При раке шейки и тела матки – Т-клеточные реакции в строме. Результаты нашего исследования находят подтверждения в работах зарубежных исследователей [7, 34, 251].

Обратим внимание, что при раке яичников в паренхиме преимущественно наблюдалась CD8<sup>+</sup> инфильтрация, однако количество Т-лимфоцитов, с экспрессией маркера (CD3) было значительно ниже, чем с экспрессией обще-Т-клеточных маркеров (CD7, CD5). Эти данные в сочетании с высокими уровнями CD56<sup>+</sup> клеточных реакций указывали на то, что в паренхиме опухоли доминирующими являлись НК-клеточные реакции. Стромальный компонент опухоли характеризовался преимущественно зрелыми Т-клеточными и В-клеточными реакциями.

В нашем исследовании также оценивалась инфильтрация рака яичников методом проточной цитометрии, по результатам которой мы наблюдали следующие факты. Во-первых, количество CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов коррелировало с клинической стадией опухоли: их доля увеличивалась с нарастанием стадии заболевания (I-II — 13,1 ± 9,8%, III — 22,3 ± 5,22%, а при IV — 40,1 ± 2,3%). Не исключено, что это могло быть связано с возрастанием доли CD25<sup>+</sup> Т-клеток, которое было отмечено, хотя и недостоверно. Во-вторых, тип интратуморальных реакций различался при разной степени распространенности рака яичников, в частности, метастатического поражения кишечника. Это касалось CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> популяций клеток. По-видимому, прогрессирование опухоли связано с увеличением пропорции CD25<sup>+</sup>Т- клеток. Дополнительно, отметим, что метастатическое поражение брюшины, хотя и не было достоверно связано с CD8<sup>+</sup>Т-клеточными реакциями ( $p = 0,16$ ), тем не менее некоторое увеличение доли CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> -клеток имело место. Интересно, что эти данные согласуются с результатами иммуногистохимического исследования на криостатных срезах, при котором мы обнаружили ассоциацию метастатического поражения брюшины с достоверным увеличением частоты цитотоксических CD8<sup>+</sup>Т- клеточных реакций умеренного и выраженного типа.

Поскольку исследование проточно-цитометрическим методом возможно только в суспензии клеток, это исключает возможность анализа интратуморальных иммунных реакций паренхимы и стромы отдельно. Проточно-цитометрический метод, несмотря на возможность оценки в параллели нескольких маркеров иммунокомпетентных клеток, позволил получить нам общую картину инфильтрации опухоли при раке яичников. Последнее обстоятельство лишает нас возможности иметь четкое представление об

истинных иммунных процессах в паренхиме, а именно они играют важную роль. Например, по данным нашего исследования, и в том числе более ранних работ лаборатории, оказалось, что CD8-интратуморальные реакции паренхимы были связаны с непосредственными результатами лечения, в частности, их высокий уровень ассоциировался с низкой частотой прогрессирования рака яичников, что не противоречит данным других исследователей [31].

Несколько иная картина лимфоидной инфильтрации получена при раке тела и раке шейки матки. Мы отметили преобладание стромальных интратуморальных реакций, корреляция которых наблюдалась с клинической стадией, а при раке шейки матки и с размерами первичной опухоли. Интересно, что при раке шейки матки высокие уровни цитотоксических реакций в паренхиме были ассоциированы с отсутствием регионарного метастазирования, что подтверждает данные литературы [34, 251]. Важно отметить, что выраженный уровень стромальной инфильтрации коррелирует с лучшим ответом на лекарственное лечение (выше частота полных патоморфологических ответов), как указывают в своей работе Palaia I и соавт. [252]. Интратуморальные иммунные реакции в строме при раке тела матки чаще наблюдались при нарастании стадии опухоли ( $p = 0,04$ ), при регионарном метастазировании ( $p = 0,03$ ), что происходило за счет увеличения доли В-клеточных реакций. Схожие данные получены и в отношении плазмоцитарных реакций. Конечно, следует признать, в нашем исследовании преобладали ранние стадии и поэтому группы сравнения невелики. Однако в контексте литературных данных полученные результаты мы не можем игнорировать, и это позволяетшний раз убедиться, что значимость стромального и паренхиматозного компонентов опухолей может различаться, что, вне всяких сомнений, может быть определяющим при различных видах лекарственного лечения. На примере рака шейки матки, D'Alessandris N. и соавт. наблюдали значительную корреляцию между выраженностью лимфоидной инфильтрации в строме и экспрессией PD-L1 на иммунных клетках и степенью патоморфоза после неoadъювантной химиотерапии [7]. Авторы полагают, что рак шейки матки может быть хорошей мишенью для иммунотерапии, в том числе и в неoadъювантном режиме. Как указывают исследователи, экспрессия PD-L1 была в значительной степени связана со стромальными лимфоцитами.

Перейдем теперь к результатам оценки клинической значимости иммунофенотипа и интратуморальных иммунных реакций опухолей женской репродуктивной системы. Интригующим фактом стало обнаружение двойной роли экспрессии молекул HLA-DR в клиническом течении заболевания. При раке молочной железы HLA-DR позитивный фенотип опухолей наблюдался более высоких показателях выживаемости. Интересно отметить, в отношении фенотипа HLA-I этого не отмечено. Не менее любопытно, что при люминальном подтипе рака молочной железы при ухудшении показателей выживаемости имело место

отсутствие молекул HLA-DR на клетках опухоли. Учитывая доказанную роль этих молекул в опосредовании характера местных иммунных реакций в опухоли это факт дополнительно характеризует особенности данного суррогатного подтипа. Это наблюдение заслуживает внимания и требует дальнейшего изучения в более однородных группах. При этом справедливо будет отметить, что, возможно, положительная корреляция HLA-DR со стадией рака молочной железы объясняет эти результаты. При раке яичников нами получены иные данные относительно экспрессии молекул HLA-DR. Напомним, что нами установлена корреляция экспрессии TfR1 с HLA-DR положительным фенотипом, частота которого при нарастании стадии рака яичников была выше. Это позволило сделать предположение, что при раке яичников, по всей вероятности, нарушаются механизмы противоопухолевого иммунного ответа, и экспрессия указанных антигенов скорее всего могла бы рассматриваться как признак нарастания распространенности опухоли. При анализе выживаемости больных серозным раком яичников мы отметили, что при ухудшении ее показателей наблюдалась экспрессия молекулы HLA-DR клетками опухоли. Аналогичные результаты в своей работе получены другой группой исследователей: Daltoé RD сообщает, что экспрессия молекул HLA-DR была ассоциирована с более агрессивным течением рака яичников, что проявлялось резистентностью к платиносодержащей химиотерапии, ухудшением выживаемости больных [160].

Вторым маркером, который мы оценили был TfR1. Экспрессия трансферриновых рецепторов при раке связывают с прогрессированием опухоли, и это показано в работе Артамоновой при ранних стадиях рака молочной железы [253]. В нашем исследовании ухудшение показателей выживаемости при экспрессии опухолью трансферриновых рецепторов мы отметили при раке молочной железы и при раке яичников. Выживаемость больных раком молочной железы в случаях отсутствия экспрессии опухолью трансферриновых рецепторов (TfR1- негативная группа) превышала таковую при их экспрессии клетками рака (TfR1- позитивная группа). Это касалось и 5-, и 10- летней общей выживаемости. Этот факт весьма любопытный и требует дальнейших подробных исследований и обсуждений. Принимая во внимание те данные, что именно при люминальном подтипе рака молочной железы отсутствие молекул HLA-DR также сопровождалось ухудшением выживаемости больных, можно предположить, что полученные результаты при дальнейшем изучении в однородных и больших выборках могли бы, по крайней мере, дополнить и расширить наши представления о биологических особенностях люминального рака молочной железы.

Третьим не менее интересным для изучения стал маркер молекул  $\beta$ 1-интегринов CD29. Мы наблюдали, что при раке яичников его экспрессия была преимущественно либо

мозаичной, либо мономорфной. Обнаруженные различия в показателях выживаемости между мономорфным и мозаичным фенотипами опухолей явились неожиданным и интересным фактом, что, разумеется, требует размышлений и дальнейших исследований. Полученные в нашей работе данные, показали, что серозный рак яичников с мономорфной экспрессией молекул  $\beta 1$ -интегринов CD29 был ассоциирован с более высокими показателями выживаемости. Трактовать подобные результаты весьма затруднительно по нескольким причинам. Во-первых, небольшие выборки, во-вторых, отсутствие группы с CD29-негативным фенотипом опухолей, в-третьих, вариативность лечения. Тем не менее, обратим внимание, на несколько важных фактов. Первый факт - мономорфный CD29 фенотип в большинстве случаев (78,6%) встречался именно при TfR1 отрицательном фенотипе, тогда как мозаичный тип реакции CD29, наблюдался в основном (63,2%), при TfR1- позитивном фенотипе опухолей, различия были достоверны. Дополнительно отметим, именно при мономорфном CD29 фенотипе в 33,3% случаев мы наблюдали метастатическое поражение большого сальника, что не противоречит представлениям о роли молекул интегринов в онкогенезе. Как известно, эпителиально-мезенхимальный сопровождается увеличением экспрессии молекул  $\beta 1$ - интегринов, ослаблением межклеточных контактов, отщеплением клеток от первичной опухоли, а затем адгезией клеток рака яичников к местам вторичного метастазирования. Второй факт - при анализе типа лекарственного лечения мы обратили внимание, что при опухолях с мозаичным CD29 фенотипом в 61,5% случаев применялись платиносодержащие схемы, тогда как в группе с мономорфным фенотипом в 66,7% это были схемы с включением таксанов. Zhu L.C. и соавт. в своем исследовании отметили, что экспрессия молекул  $\beta 1$ - интегринов клетками рака яичников ассоциировалась с развитием химиорезистентности, аналогичная связь  $\beta 1$ - интегринов с развитием устойчивости к препаратам платины установлена учеными из университета Бонна и Мюнхена [201, 202, 240]. Если исходить из этих и вышеуказанных данных, то возможное объяснение различий в выживаемости представляется следующим. Опухоли с мозаичной экспрессией молекулы  $\beta 1$ -интегринов, имея преимущественно TfR1 позитивный фенотип, который, как известно, ассоциируется с выраженной пролиферативной активностью клеток рака, оказались платинорезистентными. Напротив, опухоли с мономорфным CD29 фенотипом, преимущественно не экспрессировали трансферриновые рецепторы TfR1, а применение препаратов платины в этой группе было лишь в трети случаев, тогда как в остальных случаях применялись таксансодержащие схемы. Как мы указывали выше, отсутствие экспрессии трансферриновых рецепторов рассматривается как благоприятный признак клинического течения опухолей [47, 182, 184]. Наравне с этим необходимо привести публикацию, в которой сообщается, что использование мицеллярного паклитаксела способствовало селективной

элиминации  $\alpha\beta 1$ -позитивных клеток опухоли в модели рака молочной железы более эффективно в сравнении с обычным паклитакселом [254]. В этом контексте результаты нашей работы не только дополняют и расширяют представления о CD29-позитивных опухолях, но и открывают перспективы исследования возможных опций лечения.

Считаем необходимым отметить, что наблюдалась ассоциация CD56 фенотипа опухолей с показателями выживаемости при раке яичников. Принимая во внимание, что, по данным литературы, положительный фенотип CD56 часто связан с большей распространенностью опухоли, этот факт мы не можем игнорировать. По литературным данным, экспрессия опухолью молекул CD56 при многих злокачественных новообразованиях рассматривается как неблагоприятный признак.

MUC1 – еще один маркер, экспрессия которого, преимущественно мономорфная установлена, при раке молочной железы. Именно мономорфный MUC1 иммунофенотип был ассоциирован с ухудшением показателей общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования в целом по группе.

Таким образом, иммунофенотипические признаки клеток опухолей женской репродуктивной системы предоставляют дополнительную информацию и расширяют наше знание об их биологических особенностях. По данным литературы, эти признаки могли бы быть полезны при будущих исследованиях для потенциально дополнительных опций в лечении [183, 253]. Остановимся кратко на довольно интересных исследованиях по данному вопросу.

На сегодняшний день созданы препараты, включая хелаторы железа и конъюгаты цитотоксических препаратов, для селективной элиминации TfR1-позитивных клеток рака, которые рассматриваются как перспективные в клинической практике [183, 170]. По результатам своего исследования Basuli D. и соавт. установили, что при раке яичников имеет место изменение метаболизма железа, что особенно выражено при высокой степени злокачественности опухоли [170]. Повышенная экспрессия TfR1 сочеталась со снижением ферропортина, необходимого для оттока железа из клетки. Аналогичный профиль снижения ферропортина и повышения экспрессии TfR1 наблюдается и в генетической модели клеток, инициирующих рак яичников. Как отмечают в своей работе Wang, Y. и соавт, низкая экспрессия ферропортина при раке молочной железы связана с плохим прогнозом, тогда как высокая экспрессия ферропортина в сочетании с высоким уровнем гепсидина может улучшить выживаемость без отдаленных метастазов [183]. Снижение импорта клеточного железа за счет ингибирования трансферрина и увеличение экспорта клеточного железа за счет сверхэкспрессии ферропортина подавляет рост опухоли [183]. В этой связи, лечение рака агентами, вызывающими железозависимую гибель клеток (ферроптоз) представляет

собой перспективную стратегию превращения избытка железа, присутствующего в клетках опухоли, в преимущество.

MUC1 - позитивный фенотип опухоли также рассматривается как мишень для лекарственной терапии. Установлено, что MUC1 функционирует как онкопротеин, и это стало основанием для разработки препаратов, блокирующих функцию MUC1. На моделях ксенотрансплантата *in vitro* показана гибель клеток рака молочной железы под воздействием ингибиторов MUC1. На основании этих результатов ингибитор MUC1-С вошел в фазу I клинических испытаний в качестве потенциального средства для лечения больных раком молочной железы, экспрессирующего данный онкопротеин [187, 255]. Кроме того, установлено, что MUC1-цитоплазматический домен ускоряет развитие резистентности к трастузумабу, сайленсинг протоонкогена MUC1-С повышает чувствительность Her2/neu+ клеток к индуцированным трастузумабом ингибиторам роста. В этом контексте расширяется пул больных раком молочной железы, которые могли бы получить пользу от использования нового ингибитора MUC1 [256].

Перейдем теперь к результатам изучения клинической значимости интратуморальных иммунных реакций. По литературным данным, высокие уровни инфильтрации опухоли цитотоксическими Т-лимфоцитами (CD8+) являются важным фактором благоприятного прогноза, в особенности, у пациенток, не имеющих метастазов в регионарные лимфатические узлы - N0 [47, 81]. Оценка интратуморальных иммунных реакций при раке молочной железы в нашей работе показала, что CD45+ интратуморальные реакции в целом не имели ассоциации с показателями выживаемости, также как и Т-клеточные реакции. Вместе с тем эти данные позволяют вспомнить довольно очевидный тезис: степень CD45+ инфильтрация опухоли взаимосвязана с суррогатным подтипом рака молочной железы, что хорошо известно по данным литературы. Выраженные CD45+ реакции наблюдаются преимущественно при трижды негативном раке молочной железы [48-51]. Считаем необходимым указать, что хотя нам и не удалось выявить четкой корреляции CD45+ интратуморальных реакций с выживаемостью, тем не менее, выраженный уровень CD45+ инфильтрации достоверно был связан с распространенностью опухолевого процесса и регионарным метастазированием, что продемонстрировано в соответствующей главе нашей работы. Также отметим аналогичную связь Т-клеточных CD3+, CD8+ реакций со стадией и размерами первичной опухоли. Как мы установили, на ранних стадиях рака преимущественно преобладали Т-клеточные реакции, тогда как на более поздних стадиях мы наблюдали В-клеточные типы интратуморальных реакций. Именно для них нам удалось обнаружить корреляцию с общей выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования.



Важным наблюдением, на наш взгляд, и совершенно неожиданным стала ассоциация В-клеточных и плазмочитарных интратуморальных реакций с показателями выживаемости больных раком молочной железы с люминальным подтипом: слабый тип как CD20+, так и CD38+ клеточных реакций наблюдался при более высокой выживаемости. Последнее обстоятельство, с одной стороны, подталкивает к мысли, что нарастание В-клеточной и плазмочитарной инфильтрации, возможно дополнительно иммунологически характеризует эту опухоль. С другой стороны, это дает основание для дальнейших исследований В-клеточных реакций для более детального анализа каждого из суррогатных подтипов. В доступной нам литературе описаны результаты схожие с нашими данными [118, 122, 257]. Справедливо отметить, что также имели место и исследования с противоположными результатами. Последние отражают ассоциацию выраженной В-клеточной инфильтрации с хорошим прогнозом [119, 258]. Однако здесь присутствуют некоторые затруднения в сопоставлении результатов разных исследователей. Причина в том, что выборки различаются по клиническим данным, кроме того, в некоторых исследованиях оценивается роль CD20+ В-клеточной инфильтрации в комплексе с CD8+, а также с CD4+ инфильтрацией [121]. Указывается, что CD20+ инфильтрация в сочетании с CD8+ клетками была ассоциирована с хорошим прогнозом. Необходимо отметить, что уровни как CD20+, так и CD38+ интратуморальных реакций в нашем исследовании коррелировали с Т-клеточными CD8+ клеточными реакциями. Однако мы не наблюдали подобной ассоциации. Сравнивая наши данные с литературными, мы еще раз подчеркнем, что довольно проблемными представляются ситуации, при которых иммунофенотипирование опухоли выполнено при разных суррогатных подтипах рака молочной железы. Трактовка в таких случаях и сравнение с литературными данными затруднительны.

При раке яичников, по мнению большинства авторов, высокая степень инфильтрации опухолевой ткани CD8+клетками играет благоприятную прогностическую роль [21, 259]. Мы также провели сравнение показателей выживаемости в зависимости от выраженности интратуморальных иммунных реакций. В нашем исследовании ни интратуморальные CD45+ реакции в целом, также как и Т-клеточные реакции не имели связи с показателями общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования при серозном раке яичников. Ассоциацию мы наблюдали в отношении NK- клеточных реакций, выраженный уровень которых наблюдался при более высоких показателях, причем это прослеживалось на довольно длительном отрезке времени, начиная с 3-летнего срока наблюдения. Аналогичную связь NK- клеточных реакций отметили с выживаемостью без прогрессирования. На наш взгляд, не стоит игнорировать этот факт, возможно целесообразны более масштабные исследования NK-клеточных интратуморальных реакций при данном виде опухоли.

Обратимся теперь к разделу работы, посвященному исследованию костного мозга при опухолях женской репродуктивной системы. Первым этапом выполнялось морфологическое исследование. Следует признать, что практически не уделяется внимания морфологическому анализу костного мозга при солидных опухолях, и это можно считать упущением. В ходе работы над данным разделом нами установлены определенные закономерности, и мы можем однозначно утверждать, что развитие и прогрессирование опухолей женской репродуктивной системы сопряжено с перестройкой гемопоэза. Во-первых, нами выявлены изменения клеточного состава костного мозга по сравнению с нормой. Эти изменения касались как гранулоцитарного, так и эритроидного ростка костного мозга. В целом в большинстве случаев наблюдалось снижение уровня промиелоцитов, а в 2/3 случаев – метамиелоцитов. Отмечено изменение пропорции эритроидных предшественников: нарастание терминальных форм эритробластической дифференцировки, при этом количество базофильных и полихроматофильных нормобластов оказались снижены. Число оксифильных форм эритроидного ростка превышало норму вдове, а при раке яичников – втрое. Отметим, что в норме содержание оксифильных нормобластов более низкое, преобладают полихроматофильные формы. Полученные нами результаты согласуются с результатами более ранних наших исследований и подтверждают данные литературы [226]. В частности, Мкртчян В.А. и соавт. установили, что эритроблостограмма при раке молочной железы имела особенности, которые заключались в изменении пропорции эритроидных предшественников: базофильные и полихроматофильные нормобласты были снижены более чем в половине случаев, при этом содержание оксифильных форм превышало норму. В своей работе Крохина О.В. и соавт. указали, что сниженное содержание миелоидных предшественников при нарастании зрелых форм гранулоцитов сочеталось с повышенным уровнем лимфоцитов и моноцитов, что в совокупности свидетельствовало о наличии поражения костного мозга, которое было установлено при морфологическом исследовании [260]. В настоящей работе при микроскопии каждого пунктата костного мозга врачами-морфологами метастатического поражения не выявлено, а содержание лимфоцитов не превышало нормальных значений.

Во-вторых, нами установлены взаимосвязи показателей миелограмм с отдельными клинико-морфологическими параметрами опухолей женской репродуктивной системы. При нарастании стадии отмечено снижение клеточности костного мозга, а также содержания молодых форм миелоидного ростка (миелоцитов, метамиелоцитов). Аналогичная корреляция молодых форм гранулоцитов установлена и другими исследователями при раке молочной железы [226]. Необходимо подчеркнуть, что уже при второй стадии снижается клеточность костного мозга, и эта тенденция в дальнейшем сохраняется, что наиболее отчетливо прослеживается при раке яичников. Подтверждает данное утверждение анализ взаимосвязи

показателей миелограмм с метастатическим поражением большого сальника. Мы видим, что при локальном метастатическом процессе действительно состояние костного мозга изменяется, его клеточность снижается ( $p = 0,01$ ), сопровождается это уменьшением содержания зрелых форм гранулоцитов (палочкоядерных нейтрофилов,  $p = 0,029$ ). С увеличением стадии рака яичников изменяются показатели кроветворения, которые мы наблюдаем на примере гранулоцитарного ростка, что наиболее отчетливо становится заметно при сравнении I и III стадии. При раке шейки матки также имело место снижение клеточности костного мозга при стадиях, соответствующих размерам опухоли больше 4 см (IB2, IIB, IIIB), при этом сумма клеток гранулоцитарного ростка уменьшалась ( $p = 0,01$ ).

И наконец, важным наблюдением, по наш взгляд, стало обнаружение взаимосвязи степени злокачественности опухоли с показателями гемопоэза. Изменялась пропорция клеток гранулоцитарного ростка. Количество метамиелоцитов оказалось выше при High grade раке яичников в сравнении с Low grade. Кроме того, при этом сумма клеток гранулоцитарного ростка также была больше ( $p = 0,035$ ). Схожие изменения мы наблюдали при низкодифференцированном раке шейки матки: увеличение содержания палочкоядерных форм ( $p = 0,001$ ), что отразилось на сумме клеток гранулоцитарного ростка,  $p = 0,03$ . Наравне с этим мы установили изменение пропорции клеток эритроидного ростка при раке яичников. Достоверно более высокие уровни содержания базофильных ( $p = 0,004$ ) и оксифильных нормобластов ( $p = 0,05$ ), а также повышенное число полихроматофильных нормобластов отмечены при Low grade аденокарциноме яичников. При этой степени злокачественности сумма клеток эритроидного ростка также была больше ( $p = 0,038$ ).

Интересные данные получены при сравнении молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы. При трижды негативном подтипе в сравнении с Her2/neu++ подтипом было увеличено количество миелокариоцитов. Кроме того, при трижды негативном раке молочной железы отмечено нарастание уровня полихроматофильных и оксифильных нормобластов, и увеличение суммы клеток эритроидного ростка, что нашло отражение в изменении лейко-эритробластического соотношения.

Результаты морфологического исследования костного мозга у больных могли бы свидетельствовать об угнетении гранулоцитарного ростка костного мозга, что, возможно, происходит вследствие продукции опухолью биологически активных факторов, которые могут опосредованно подавлять выработку гранулоцитарно-макрофагального колонестимулирующего фактора клетками микроокружения костного мозга. Что же касается изменений в отношении эритроидного ростка, что в литературе имеются сведения, что особенности гемопоэза, связанные с накоплением оксифильных нормобластов, являлись фактором, препятствующим развитию анемии при ряде лимфом [261, 262, 263]. Установлено,

что повышение уровня оксифильных нормобластов костного мозга связано с более низкими уровнями гемоглобина и повышением суммарного содержания эритрокариоцитов в костном мозге в сравнении с группой больных, не имевших увеличения оксифильных форм [261]. Не исключено, что в нашей работе выявленное нарастание терминальных форм эритробластической дифференцировки у больных опухолями женской репродуктивной системы, может являться компенсаторным механизмом, препятствующим развитию анемии у больных с солидными опухолями. Это требует детального изучения, в особенности по той причине, что пациенты получают миелотоксичные режимы лекарственной терапии, которые вызывают угнетение как эритроцитарного, так и гранулоцитарного ростков.

Среди доступных публикаций нам встретились отдельные работы по иммунологическому изучению костного мозга, а именно его лимфоидных популяций. Надо отметить, что эта область пока малоизучена. Согласно полученным в этих работах результатам, наблюдается изменение пропорции эффекторных клеток костного мозга по сравнению со здоровыми донорами [18, 19, 16]. Так, E. F. Solomayer et al. сравнили субпопуляционный состав лимфоцитов костного мозга доноров и больных раком молочной железы: оказалось, что количество Т-клеток (CD3+) у больных снижено в сравнении с нормой (30,6% против 40,8 %) [16]. В другой работе у больных раком молочной железы установлено наличие выраженной популяции костно-мозговых НК-клеток (CD3-CD16+) [220]. Различия субпопуляционного состава лимфоидных клеток костного мозга по сравнению с нормой выявлены при саркомах у детей [263].

Следует констатировать, что в ходе иммунологического анализа костного мозга нами установлены весьма любопытные факты в отношении эффекторных популяций костного мозга. Были выявлены как общие черты, так и некоторые различия при опухолях женской репродуктивной системы. Первое, что мы отметили, это повышенное содержание CD3+Т-лимфоцитов (более 60%), что наблюдалось практически во всех образцах или в большинстве случаев. Как и следовало предположить с точки зрения формирования противоопухолевого иммунного ответа, увеличение доли зрелых Т-лимфоцитов происходило за счет цитотоксических клеток. И именно это мы обнаружили при дальнейшем детальном анализе субпопуляций цитотоксических и хелперных лимфоцитов: уровни содержания CD8+CD3+ эффекторных клеток превышали 30%. Это оказалось справедливым и для рака молочной железы, и для рака яичников, а также для рака шейки матки. На первый взгляд это обстоятельство должно быть воспринято позитивно, поскольку могло бы свидетельствовать о выраженном противоопухолевом иммунном ответе. Основным механизмом реализации данного ответа являются цитотоксические Т-лимфоциты, специфически активированные различными опухолеассоциированными антигенами, и их ведущая роль отмечена при многих

видах опухолей в иммунном инфильтрате. И действительно, наши результаты показали, что интратуморальные реакции были преимущественно представлены Т-клеточными популяциями. Однако, уверенность в том, что реализация противоопухолевого ответа эффективна, рассеялась при обнаружении низкого уровня активированных CD8<sup>+</sup> Т-клеток. Практически в большинстве случаев нами установлено, что содержание активированных цитотоксических CD8<sup>+</sup> Т-клеток в основном было ниже 10%. Следует обратить внимание, что именно активированные Т-лимфоциты способны к осуществлению лизиса опухолевых клеток. Таким образом, справедливо заключить, что формирование Т-клеточного ответа является неполноценным и это отчетливо прослеживалось при каждом изучаемом виде рака. Что же касается гуморального звена иммунитета, то в целом по группе нами отмечено увеличенное содержание CD19<sup>+</sup> В-клеток, и это также наблюдалось в большинстве случаев. И это крайне интересный факт, ведь В-клетки вносят значительный вклад в реализацию противоопухолевого иммунного ответа, так как являются источником защитных врожденных и адаптивных антител. Особенный интерес представляют В1-лимфоциты, которые экспрессируют антиген CD5, осуществляют тимуснезависимый ответ на патогены, способны к продукции иммуноглобулинов класса М, которые обеспечивают распознавание опухолеассоциированных гликанов и транспортировку в опухолевые клетки липидов, приводя к апоптозу опухолевой клетки [110, 111, 112, 113]. Увеличение пропорции В-клеток, установленное в нашей работе однозначно трактовать сложно, но нужно отметить, что именно костно-мозговые В1-клетки продуцируют значительно большее количество пентамерных антител класса М [114]. Вероятно, полученные результаты могли бы свидетельствовать о напряжении гуморального звена иммунитета. Не следует забывать, что В-1 клетки могут продуцировать интерлейкин-10, выполняя регуляторную функцию, а кроме того, они находятся в тесной кооперации с Т-клетками [115].

Второе, на что мы обратили внимание, это связь лимфоцитарных популяций костного мозга со стадией опухоли, ее размером, регионарным метастазированием, степенью ее дифференцировки. При этом различия в Т-клеточных реакциях преимущественно касаются I и III стадий: достоверное преобладание зрелых Т-клеток за счет доли CD4<sup>+</sup> клеток отмечено при третьей стадии рака молочной железы. Нарастание доли CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> клеток с увеличением стадии опухоли прослеживалось также при раке яичников. Исключением не стал и рак шейки матки, при котором общее количество зрелых Т-клеток было выше при распространенных стадиях. Увеличение доли костно-мозговых CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> лимфоцитов мы наблюдали при раке яичников в случаях отсутствия метастазов в большой сальник, что свидетельствует о преобладании цитотоксических Т-клеточных реакций на ранних стадиях. В этом ключе наши данные хорошо согласуются с результатами анализа интратуморальных

реакций. Эти результаты в совокупности с данными, полученными при анализе иммунофенотипа опухолей, по-всей видимости, указывают на то, что с нарастанием стадии иммунный контроль ослабевает. Это хорошо отражает более выраженный тип иммунной воспалительной реакцией в опухоли в контексте экспрессии молекул HLA, который наблюдался при ранних стадиях опухолевого процесса.

В-клеточные реакции имели различия между более ранними стадиями рака молочной железы (I и II): количество CD19+CD5+, CD19+CD10+ клеток при II стадии было выше практически в два раза. Принимая во внимание данные анализа интратуморальных реакций, мы предполагаем, что продвинутые стадии характеризуются чаще гуморальными реакциями. Интересно отметить, что при исследовании субпопуляций лимфоцитов костного мозга при раке легкого плоскоклеточный рак характеризовался в большей степени T- и NK-клеточными проявлениями иммунитета, а аденокарцинома – гуморального иммунитета [8]. Вышеуказанные данные не позволяют исключить, что полученные нами результаты аналогично могли бы быть связаны с гистологическим типом рака. Для прояснения этого факта продолжение исследований в этом ключе является, безусловно, интересным и не только с теоретической, но и с практической точки зрения.

Любопытные данные получены при сопоставлении иммунных реакций костного мозга и интратуморальной инфильтрации. При раке молочной железы мы установили, что костномозговые лимфоидные популяции находились в отрицательной корреляционной связи с иммунокомпетентными клетками, инфильтрирующими опухоль. CD38+ клетки коррелировали с уровнем NK-клеток костного мозга; CD4+ клетки были связаны с уровнем В-предшественников (CD19+CD10+); CD3+, CD8+ клетки аналогично имели связь с уровнем В-предшественников. Отрицательная корреляция CD8+ клеток отмечена с уровнем В1-лимфоцитов (CD19+CD5+). Это не исключает регуляторного влияния соответствующих клеток с цитотоксическим потенциалом, а также клеток врожденного иммунитета на иммунные интратуморальные реакции. На наш взгляд, случайность подобного рода ассоциаций, вероятно, может быть исключена. Предпосылкой может служить наблюдение, демонстрирующее выраженную пропорцию NK-клеток в костном мозге больных раком молочной железы по результатам исследования Мкртчян В.А. и соавт [220]. Авторы установили, что более высокие уровни изученных субпопуляций NK-клеток (CD16+CD3-, CD56+CD3-) наблюдались при опухолях с низким индексом пролиферативной активности (Ki-67+ менее 20%). Не вдаваясь в детали, обозначим, что в ходе нашего анализа пропорция NK-клеток (CD16+CD3-, CD56+CD3-) при люминальном А подтипе рака молочной железы была более выражена. Поэтому целесообразны дальнейшие исследования и, возможно, стоит не ограничиваться основными популяциями лимфоидных клеток, а включить и минорные

субпопуляции, которые мало изучены. В недавней работе, посвященной изучению популяций костного мозга больных раком легкого, выявлена связь минорных популяций цитотоксических CD4<sup>+</sup> лимфоцитов и CD27<sup>+</sup> лимфоцитов, содержащих перфорин, с гистологическим типом опухоли [8].

Далее не менее интригующим событием стало обнаружение различий между суррогатными подтипами рака молочной железы. Во-первых, имеется четкая связь экспрессионного подтипа опухоли (по рецепторам РЭ, а также РП) с В-клеточным звеном иммунопоэза. И эти различия прослеживаются при нескольких вариантах анализа. Опухоли, не экспрессирующие соответствующих рецепторов, характеризовались повышенными уровнями CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>В-клеток, относящихся к врожденному иммунитету. Отметим, что при этом нелюминальный подтип отличается выраженными интратуморальными иммунными реакциями в первичной опухоли (как Т-, так и В-клеточными). Во-вторых, при детальном анализе взаимосвязей каждого из молекулярных подтипов с лимфоидными реакциями в костном мозге мы установили изменение преимущественно пропорции В-клеточных популяций. В той или иной степени они касались В-предшественников, В1-клеток врожденного иммунитета, а также плазмочитарных популяций, при этом статистическая значимость варьировала от высокой до слабой (или полного отсутствия), что вероятно обусловлено небольшим объемом наблюдений. Поэтому любые суждения и выводы по данному факту весьма затруднительны и преждевременны. Тем не менее, такое увеличение в костном мозге доли CD5<sup>+</sup>В-клеток врожденного иммунитета позволяет задуматься о возможном напряжении противоопухолевого иммунного ответа при нелюминальном подтипе. CD5<sup>+</sup>В-клетки способны продуцировать пентамерные антитела IgM, которые посредством связывания с опухоле-ассоциированными гликанами реализуют программу апоптоза опухолевых клеток. Полученные нами результаты в купе с выраженной лимфоидной инфильтрацией первичной опухоли расширяют представления об особенностях нелюминального рака молочной железы и приближают к пониманию иммунного ответа при данном биологическом подтипе. Не исключено, что расшифровка связей между иммунной системой костного мозга и локальными иммунными процессами в опухоли в дальнейшем могут привести к формированию группы больных, селективная иммунотерапия у которых может иметь наибольшую эффективность. И на сегодняшний день имеется несколько работ, целью которых является изучение предикторов ответа на иммунотерапию [246, 247, 248, 249].

По результатам исследования костного мозга при раке яичников мы считаем целесообразным сделать акцент на минорных популяциях лимфоцитов, таких как перфорин/гранзим -содержащие. Мы считаем, что в их отношении получены весьма

интересные результаты, которые хорошо подчеркивают взаимосвязь пропорции эффекторных клеток костного мозга и распространенности опухоли. Это касалось, по крайней мере, двух лимфоидных популяций: Perforin+CD3+ и Perforin+CD27+ клеток. Наравне с этим имело место увеличение пропорции CD3-Granzim+ -клеток, равно как и пропорции Granzim+CD4+-лимфоцитов. Такое совпадение по нескольким типам эффекторных популяций, на наш взгляд, может свидетельствовать о повышении уровня цитотоксических реакций при раке яичников распространенных стадий. Наконец, нельзя не отметить, что мы наблюдали увеличение доли еще одной минорной субпопуляции лимфоцитов. Это CD3+CD4+CD25+ клетки, увеличение числа которых коррелировало, хотя и статистически не значимо, с распространенностью опухоли (стадия, асцит, поражение большого сальника). Примечательно, что схожие данные нами получены при изучении интратуморальных лимфоцитов проточно-цитометрическим методом. Мы однозначно не можем игнорировать все эти факты, поскольку это в определенной степени проливает свет на иммунные реакции в костном мозге и, разумеется, требуется продолжить накопление данных. По нашему мнению, с учетом полученных результатов, необходимо раскрыть эту тему более подробно и подвергнуть масштабному изучению эти аспекты иммуногенеза при раке яичников.

При раке шейки матки мы наблюдали некоторое увеличение доли CD27+CD8+ клеток. Интересно, что субпопуляции Т-клеток памяти помимо CD27 могут экспрессировать разные антигены, в числе которых перфорины, гранзимы. Последнее обстоятельство тем больше побуждает продолжить изучение этих эффекторных популяций Т-клеток костного мозга, поскольку популяции цитотоксических CD27+ лимфоцитов, как оказалось были связаны с гистологическим видом опухоли, что выявлено при раке легкого [8]. Хотелось бы заострить внимание, что особое значение приобретает этот факт в контексте иммуноотерапии, которая позволила добиться больших успехов в лечении рака, раскрыв новые возможности таргетного воздействия на иммунную систему пациента. Важно отметить, что в этой бурно развивающейся области идет постоянная эволюция лечебных подходов и разрабатываются не только новые ингибиторы иммунных контрольных точек, но и агонисты костимуляторных молекул (например, для CD27 – варлилумаб) для реализации эффективного противоопухолевого иммунного ответа [264]. Необходимо подчеркнуть, что в ряде исследований отмечен не только клинический эффект агонистов CD27, но и синергизм действия с блокаторами PD-1 [265].

Любопытные результаты получены при анализе эффекторных лимфоцитарных популяций в зависимости от степени дифференцировки опухоли. При раке молочной железы мы сравнили опухоли со 2-й и 3-й степенью злокачественности и обнаружили связь с В-клеточными реакциями костного мозга. Это касалось В1(CD5+)-лимфоцитов врожденного



иммунитета, количество которых при третьей степени злокачественности было в два раза больше и составило 20,7%,  $p = 0,02$ . Этот факт ранее не изученный и весьма любопытный, поэтому требуется дальнейшее исследование установленных ассоциаций, в особенности потому, что В1- клетки отличает продукция врожденных пентамерных антител класса М, главенствующая роль которых в реализации противоопухолевого ответа путем апоптоза при взаимодействии с опухоле-ассоциированными гликанами хорошо известна [110, 111, 112, 113]. Данный механизм уникален тем, что, не повреждая нормальные ткани, возможно селективное уничтожение клеток рака.

При раке шейки матки низкодифференцированные опухоли характеризовались высоким содержанием CD45RO+CD3+ Т-клеток памяти. Популяция Т-лимфоцитов иммунологической памяти гетерогенна и включает эффекторные (Тem) и центральные (Тcm) клетки памяти, особое значение придается CD8+ клеткам «памяти», которые способны проявлять опухолеспецифическую цитотоксичность [266, 214]. Примечательно, что доля таких CD8+ Тcm-клеток в опухоли при солидных новообразованиях рассматривается как прогностический фактор и подтверждением тому могут служить исследования по оценке эффективности вакцинотерапии рака шейки матки [214]. Поэтому повышение их уровня однозначно может сообщать о напряжении противоопухолевого иммунного ответа. Иная картина получена в отношении наивных Т-клеток (CD45RA+CD3+) костного мозга. При низкодифференцированном раке шейки матки их содержание было меньше, чем при умереннодифференцированном ( $p = 0,05$ ). По-видимому, это происходило за счет доли CD45RA+CD45+CD3+CD8+ клеток ( $p = 0,07$ ). Не можем не отметить, что при этом пропорция цитотоксических клеток памяти CD45RO+CD45+CD3+CD8+ при низкодифференцированном раке выглядела больше, чем при G2 ( $p = 0,07$ ). Такое совпадение по нескольким видам популяций, приводит к мысли, что эта линия различий неслучайна, и целесообразно изучить этот характер изменений более подробно, поскольку в современную практику лечения рака шейки матки активно внедряется иммунотерапия и не исключено, что ее место в дальнейшем будет укрепляться и потребуются надлежащие критерии оценки ее эффективности.

Завершая обсуждение, обратим внимание, что результаты нашей работы подтверждают значимость фенотипа опухоли в опосредовании противоопухолевой иммунной защиты, проливают свет на тонкие механизмы иммунного реагирования в первичном очаге поражения и костном мозге, корреляция которых показана нами впервые при опухолях женской репродуктивной системы. Отражая биологические свойства опухоли иммунологические маркеры определяют характер ее течения, а также, как известно, могут служить дополнительными критериями предсказания ответа на терапию. Насколько

подходят изученные в данной работе иммунологические маркеры при опухолях женской репродуктивной системы стало возможным судить благодаря их комплексному сопоставлению с клинико-морфологическими параметрами опухоли, анализу выживаемости, а также опираясь на их корреляции с основными иммунными реакциями костного мозга. Вне всяких сомнений, эффекторные интратуморальные иммунные реакции играют колоссальную роль и сейчас это доказывать уже не нужно, но следует признать, что в отрыве от иммунофенотипа опухоли целесообразность их использования несколько меркнет и мы упускаем шанс контролировать болезнь. Поэтому консолидация усилий по их дальнейшему исследованию на мировом уровне выглядит очевидной. Не менее правомочным становится исследование центрального органа гемопоэза и лимфопоэза – костного мозга, иммунные реакции в котором неразрывно связаны с локальными интратуморальными иммунными процессами, протекающие как отражение системных реакций. Мы убеждены, что диагностический процесс может быть выстроен таким образом, что для каждой пациентки проведение иммунного профилирования может быть существенно полезным, поскольку выбор опций в лечении уже сейчас опирается на известные иммунологические аспекты. Благодаря новым разработкам в области прецизионной иммунотерапии это на сегодняшний день может и должно использоваться в практике. Препараты с доказанной эффективностью как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях уже занимают свои места в схемах адьювантного и неадьювантного лечения рака. Их перечень постоянно растет и основанием для их применения в наше время становится не только молекулярно-генетический, но и иммунологический облик болезни.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фундаментальные исследования в области иммунологии позволили установить многие аспекты морфологических и функциональных особенностей органов иммунной системы организма. Доказанная роль лимфоцитов в реализации противоопухолевого иммунного ответа, включающая способность распознавания и уничтожения клеток-мишеней, заставила по-новому взглянуть на проблему рака, обнажив целый пласт возможностей от оценки степени выраженности иммунного ответа до прогнозирования лечебного эффекта и создания новых иммуноориентированных подходов. Именно это послужило мощным стимулом к масштабным исследованиям взаимодействия опухоли и системы иммунопоэза организма больного, которые уже давно заняли одно из приоритетных направлений в науке. Прочный интерес к этой проблематике сохраняется по сей день и одной из веских причин является фенотипическое разнообразие клеток рака, что определенным образом задает вектор иммунного реагирования на развитие злокачественной опухоли в организме больного.

Исследованию этого уникального иммунологического феномена, а также изучению интратуморальных иммунных реакций в их взаимосвязи с иммунофенотипическими характеристиками опухолей женской репродуктивной системы посвящено данное исследование. Наравне с этим важным разделом работы стало принципиально новое направление исследований – изучение иммунной системы костного мозга, роль которого до недавнего времени недооценивалась. Костный мозг, являясь центральным органом гемопоэза и иммунопоэза, играет важную роль в канцерогенезе, и, в частности, гематогенном метастазировании опухолей. Поэтому изучение взаимосвязей эффекторных лимфоцитарных популяций в первичном очаге поражения и костном мозге явилось одним из интригующих событий в нашем исследовании. Крайне важно отметить, что это не только открыло новую перспективу понимания в реализации иммунных взаимодействий опухоли и организма больного, но и обнажило целый ряд неизученных ранее фактов, касающихся системы врожденного иммунитета, а также отдельных эффекторных популяций лимфоцитов костного мозга.

Комплексное многопараметровое изучение эффекторных звеньев иммунопоэза опухолей женской репродуктивной системы установило ряд очень важных закономерностей, подтверждающих их значимую роль в развитии опухолей, а также неразрывную взаимосвязь с иммунофенотипическим портретом клеток рака. Прежде всего важно отметить, что HLA-DR и TfR1 иммунофенотипы опухолей взаимосвязаны со стадией, размером опухоли, степенью ее злокачественности. Экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости II класса (HLA-DR) при раке молочной железы, раке шейки матки

коррелирует с ранними стадиями. Экспрессия трансферриновых рецепторов TfR1, молекул HLA-DR часто наблюдается при отсутствии экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона клетками рака молочной железы. В то же время экспрессия FAS/АРО лиганда CD95 и молекул адгезии CD54 имеют связь со стадией, размером первичной опухоли при раке молочной железы. Весьма интересным фактом стало обнаружение корреляции экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости II класса с суррогатным подтипом рака молочной железы: при люминальном подтипе рака молочной железы (подразделение проведено на основании экспрессии рецепторов эстрогенов) антиген HLA-DR экспрессировался опухолевыми клетками чаще, чем при нелюминальном подтипе.

Результаты тщательного анализа показали, что иммунофенотип опухоли оказывает влияние на характер интратуморальных иммунных реакций и находится с ними во взаимосвязи. Одним из ключевых моментов исследования стало обнаружение того факта, что интратуморальные иммунные реакции в строме и в паренхиме опухолей качественно различались. NK-клеточные реакции в паренхиме опухоли являлись доминирующими при раке яичников. При раке шейки матки нами выявлен выраженный характер В-клеточных реакций в строме опухоли. В целом же местные иммунные реакции были более выраженными при ранних стадиях опухолевого процесса, при этом ведущими являлись Т-клеточные реакции, тогда как распространенные стадии характеризовались преимущественно проявлением гуморального иммунного ответа.

Иммуноморфологическое исследование костного мозга при опухолях женской репродуктивной системы – принципиально новое направление, которое позволило выявить клеточные и иммунологические изменения гемопоэза и лимфопоэза. Без преувеличения можно констатировать, что данное исследование установило очень значимые, на наш взгляд, закономерности. Прежде всего, показатели гемопоэза и лимфопоэза были достоверно связаны с клинико-морфологическими параметрами рака молочной железы, рака яичников. Результаты анализа показали снижение числа миелоидных предшественников гранулоцитарного ростка, нарастание пропорции терминальных форм дифференцировки эритроидного ростка при увеличении распространенности рака молочной железы, рака яичников. Нарастание стадии рака молочной железы коррелировало с повышенным уровнем в костном мозге В-лимфоцитов, а именно, В-предшественников (CD10+), и В-клеток врожденного иммунитета (CD5+). Совершенно новым фактом стало обнаружение взаимосвязи эффекторных популяций лимфоцитов костного мозга с интратуморальными иммунными реакциями опухолей женской репродуктивной. Установлено, что В-предшественники (CD19+CD10+) и В1-клетки врожденного иммунитета (CD19+CD5+) находились в отрицательной корреляции с субпопуляциями Т-клеток (CD4+, CD8+) в

опухолевой ткани при раке молочной железы. Эти данные свидетельствуют о необходимости более масштабного изучения иммунных реакций в костном мозге, а также их связи с местными иммунными процессами. Подобные исследования важны не только с научной, но и с практической точки зрения по нескольким причинам. Одна из которых видится совершенно очевидной – это необходимость мониторинга лекарственного лечения с использованием современных диагностических платформ и разработка персонализированных подходов с привлечением новых средств иммунотерапии, уже прочно вошедшей в онкологию. В то же время серьезным основанием является перспектива восполнения дефицита врожденных пентамерных антител, специфически реагирующих с опухолевыми клетками и продуцируемых V1-популяциями лимфоцитов, что обсуждается в последние годы на мировом уровне.

Результаты нашей работы дают новое представление о возможных направлениях дальнейших исследований эффекторных звеньев иммунорезонанса при опухолях женской репродуктивной системы, в особенности, при накоплении данных в разных прогностических группах, с учетом клинко-морфологических особенностей по каждой нозологии. Необходимость такого рода комплексных иммунологических исследований уже назрела и накопление значительной доказательной базы может повысить вероятность успешного лечения благодаря подобному иммунному профилированию опухоли.

## ВЫВОДЫ

1. Иммунофенотипический HLA-DR портрет опухоли связан с клинико-морфологическими характеристиками опухолей женской репродуктивной системы: стадией, размером первичной опухоли, наличием регионарных метастазов. Экспрессия молекул HLA-DR характеризует группу благоприятного прогноза при люминальном подтипе рака молочной железы.

2. Tfr1 (CD71) - иммунофенотип связан с экспрессией молекул HLA-I класса при раке молочной железы, раке тела матки, а также раке шейки матки. Мономорфный Tfr1-иммунофенотип наблюдается чаще при люминальном подтипе рака молочной железы. При раке яичников Tfr1- мозаичный фенотип часто ассоциирован с экспрессией HLA-DR.

3. Экспрессия FAS/APO лиганда CD95 и молекул адгезии CD54 взаимосвязаны, имеют связь со стадией (FAS/APO лиганд), размером первичной опухоли при раке молочной железы. CD95 негативный фенотип выявляется чаще при протоковом раке молочной железы, коррелирует с высокой частотой регионарного метастазирования.

4. Интратуморальные иммунные реакции опухолей женской репродуктивной системы качественно различаются в строме и паренхиме опухоли. Т-клеточные иммунные реакции опухолей женской репродуктивной преимущественно характерны для ранних стадий, В-клеточные и плазмоцитарные – для поздних стадий. Рак яичников ранних стадий характеризуется высокой частотой Т-клеточных и НК-клеточных интратуморальных реакций. При раке шейки матки В-клеточные реакции стромы прямо коррелируют со стадией.

5. При раке молочной железы, раке тела матки, раке шейки матки выраженные интратуморальные CD8+ Т-клеточные, CD38+ плазмоцитарные реакции преобладают при HLA-DR мономорфном фенотипе. При раке тела и шейки матки Tfr1- мономорфный фенотип сопровождается выраженными цитотоксическими CD8+, В-клеточными реакциями в строме. Выраженный характер Т-клеточных реакций связан с позитивным CD29 и CD54 фенотипом рака молочной железы.

6. Показатели гемопоэза связаны с клинико-морфологическими параметрами опухолей женской репродуктивной системы: с нарастанием стадии снижается доля миелоидных предшественников, увеличивается содержание терминальных форм эритробластической дифференцировки. Миелоидные предшественники находятся в отрицательной корреляции с костномозговыми CD4+CD25+, CD8+HLA-DR+ популяциями Т-клеток при раке молочной железы, CD3+CD4+, CD4+Granzim+, CD45+Granzim+/Perforin+

лимфоидными популяциями при раке яичников. Эритроидные предшественники находятся в отрицательной связи с НК- клетками костного мозга при раке молочной железы.

7. В костном мозге пропорция В-клеток врожденного иммунитета (CD19+CD5+) и В-предшественников (CD19+CD10+) увеличивались при нарастании стадии опухолей женской репродуктивной системы.

8. Эффекторные популяции лимфоцитов костного мозга находятся в отрицательной корреляции с интратуморальными иммунными реакциями: содержание В-предшественников (CD19+CD10+) и В1-клеток врожденного иммунитета (CD19+CD5+) взаимосвязано с уровнями субпопуляций Т-клеток (CD4+, CD8+) в опухолевой ткани при раке молочной железы.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Иммунофенотипический портрет опухоли на основании экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости II класса (HLA-DR) целесообразно определять при раке молочной железы люминального подтипа с целью дифференцированного выбора лекарственной терапии. Выбор тактики лечения должен определяться на мультидисциплинарном консилиуме, включающего иммунолога, с учетом индивидуального иммунного профиля опухоли.

2. Иммуногистохимическое исследование характера местных иммунных реакций необходимо проводить отдельно в стромальном и в паренхиматозном компоненте опухоли. Следует также учитывать, что Т-клеточные иммунные реакции опухолей женской репродуктивной преимущественно характерны для ранних стадий, В-клеточные и плазмоцитарные – для поздних стадий.

3. Изменение показателей гемопоэза у больных опухолями женской репродуктивной системы необходимо рассматривать с позиций возможной поддерживающей терапии и коррекции этих нарушений. При анализе лимфопоэза следует помнить, что в костном мозге пропорция В-клеток врожденного иммунитета (CD19+CD5+) и В-предшественников (CD19+CD10+) увеличивались при нарастании стадии опухолей женской репродуктивной системы. Это позволит выбрать оптимальный вид иммунокорректирующей терапии.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2023. Atlanta: American Cancer Society; 2023. 81 p.
2. Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность) / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2022. – илл. – 252 с.
3. Каприн, А.Д. / Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность) // А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ» Минздрава России, 2019. – 250 с
4. Хаитов, Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов // Учебник. Геотар-Медиа. – 2018. – С. 496.
5. Дейчман, Г.И. Влияние клеток костного мозга, селезенки и перитонеального экссудата на метастазирование опухолевых клеток в легкие сибирских хомячков / Г.И. Дейчман, Л.М. Кашкина, Т.Е. Ключарева и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1982. – № 10. – С. 102–105.
6. Шубина, И.Ж. Современные представления о противоопухолевом иммунитете. / И.Ж. Шубина, А.В. Сергеев, Л.Т. Мамедова и др. // Российский биотерапевтический журнал. – 2015. – Т. 14, № 3. – С. 19–28.
7. D'Alessandris, N. PD-L1 expression is associated with tumor infiltrating lymphocytes that predict response to NACT in squamous cell cervical cancer / N. D'Alessandris, I. Palaia, A. Pernazza et al. // Virchows Archiv: an international journal of pathology. – 2021. – V. 478, N 3. – P. 517–525.
8. Тупицын, Н.Н. Иммунологические показатели костного мозга больных немелкоклеточным раком легкого / Н.Н. Тупицын, Т.М. Джуманазаров, А.Д. Палладина и др. // Российский биотерапевтический журнал. – 2020. – Т. 19., № 2. – С. 47-54.
9. Goldberg, J. The immunology of hormone receptor positive breast cancer / J. Goldberg, R.G. Pastorello, T. Vallius et al. // J. Front Immunol. – 2021 – N 12. – P. 674192.
10. Feng, Z. Circulating tumor cells in the early detection of human cancers / Z. Feng, J. Wu, Y. Lu // Int J Biol Sci. – 2022 – V. 18 – N. 8 – P. 3251-3265.
11. Gerada, Ch. Autophagy, the innate immune response and cancer / Ch. Gerada, K.M. Ryan // Mol Oncol. – 2022. V. 14, N 9. – P. 1913–29.
12. Тупицын, Н.Н. Гуморальный противоопухолевый иммунитет / Н.Н. Тупицын //

Иммунология гемопоэза. – 2018. – Т. 2, № 2. – С. 107-149.

13. Batalha, S. The Peripheral Immune Landscape of Breast Cancer: Clinical Findings and In Vitro Models for Biomarker Discovery / S. Batalha, S. Ferreira, C. Brito // *Cancers*. – 2021. – N 13. – P. 1305.

14. Henriksen, J.R. Prognostic significance of baseline T cells, B cells and neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) in recurrent ovarian cancer treated with chemotherapy / J.R. Henriksen, L. Norderby, F. Donskov // *J Ovarian Res.* – 2020. – V. 13, N 1. – P. 59.

15. Горбунова, Т.В. Клиническое значение анализа субпопуляций лимфоцитов костного мозга при рабдомиосаркоме и опухолях семейства саркомы Юинга у детей / Т.В. Горбунова, В.Г. Поляков, Н.Н. Тупицын и др. // *Онкопедиатрия*. – 2014. – № 2. – С. 27-36

16. Solomayer, E.F. Influence of adjuvant hormone therapy and chemotherapy on the immune system analysed in the bone marrow of patients with breast cancer / E.F. Solomayer, M. Feuerer, L. Baietalet et al. // *Clin. CancerRes.* – 2003. – Vol. 9, N 1. – P. 74-80.

17. Feuerer, M. Enrichment of memory T-cells and the profound immunological changes in the bone marrow from untreated breast cancer patients / M. Feuerer, M. Rocha, L. Bai et al. // *Int. J. Cancer*. – 2001. – Vol. 92, N 1. – P. 96-103

18. Capietto, A.H. Immune regulation of bone metastasis / Capietto A.H., Faccio R. // *Bonekey Rep.* – 2014. – N 3. – P. 600.

19. Рябчиков, Д.А. Диссеминированные опухолевые клетки у пациентов с люминальным раком молочной железы / Д.А. Рябчиков, О.А. Безнос, И.А. Дудина и др. // *Российский биотерапевтический журнал*. – 2018. – Т. 17, №1. – С. 53–57.

20. De Groot, A. F. Strong CD8+ lymphocyte infiltration in combination with expression of HLA class I is associated with better tumor control in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy / A.F. De Groot, E.J. Blok, A. Charehbili // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2019. – N 175. – P. 605–615.

21. Li, J. The prognostic value of tumor-infiltrating T lymphocytes in ovarian cancer / J. Li, J. Wang, R. Chen et al. // *Oncotarget*. – 2017. – V. 8, N 9. – P. 15621–15631.

22. Burnet, M. The clonal selection theory of acquired immunity / M. Burnet // *Cambridge*. – 1959.

23. Абелев, Г.И. Основы иммунитета / Г.И. Абелев // *Соросовский образовательный журнал*. – 1966. – № 5. – С. 4–10.

24. Seliger, B. Strategies of tumor immune evasion / B. Seliger // *BioDrugs*. – 2005. – N 19. – P. 347–354.

25. Algarra, I. The selection of tumor variants with altered expression of classical and

nonclassical MHC class I molecules: implications for tumor immune escape / I. Algarra, A. Garcia-Lora, T. Cabrera et al. // *Cancer Immunol Immunother.* – 2004. – N 53. – P. 904–910.

26. Артамонова, Е.В. Местные иммунные реакции при раке молочной железы. В кн.: Рак молочной железы: иммунологические факторы прогноза. /Е.В. Артамонова, Н.А. Огнерубов, Н.Н. Тупицын, В.И. Летагин. - Воронеж, 2005. - С. 89-137.

27. Clarke, B.G. Intraepithelial T-cells and prognosis in ovarian carcinoma: novel associations with stage, tumor type, and BRCA1 loss / B.G. Clarke, Han K. Ceballos // *Mod Pathol.* – 2009. – V. 22, N3. – P. 393-102.

28. Huszno, J. The association of tumor lymphocyte infiltration with clinicopathological factors and survival in breast cancer / J. Huszno, E.Z. Nożyńska, B. Lange et al.// *Pol J Pathol.* – 2017. – V. 68, N 1. – P.26–32.

29. Tupitsyn, N. N. Relationship between semiquantitative and quantitative parameters of local immune response in gastric cancer / N.N. Tupitsyn, Z.G. Kadagidze, I.K. Tuichiev et al // *Experimental Oncology.* –1995. – V.17. – P.31–36

30. Тупицын, Н.Н. Субпопуляции иммуноцитов в гистологических срезах рака молочной железы / Н.Н. Тупицын, Е.В. Артамонова, З.Г. Кадагидзе и др. // *Вопросы онкологии.* – 1994. –Т.40, №7. – С.314–318

31. Зуева, Е.В. Иммуногистохимическая и проточно-цитометрическая характеристика интратуморальных лимфоцитов при серозной аденокарциноме яичников / Е.В. Зуева, С.О. Никогосян, В.В. Кузнецов // *Опухоли женской репродуктивной системы.* – 2009. – Т. 3, № 4. – С. 117–121.

32. Liang, Y.L. Tumor-infiltrating CD8+ and FOXP3+ lymphocytes before and after neoadjuvant chemotherapy in cervical cancer / Y.L.W. Liang, X.L.B. Zhang // *Diagn Pathol.* – 2018. – V. 13, N 1. – P. 93.

33. De Jong, R.A. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer / R.A. De Jong, N. Leffers, H.M. Boezen // *Gynecol Oncol.* –2009. – N 114. – P. 105–10.

34. Piersma, S.J. High number of intraepithelial CD8+ tumor infiltrating lymphocytes is associated with the absence of lymph node metastases in patients with large early-stage cervical cancer. / S.J. Piersma, E.S. Jordanova, M.I. van Poelgeest et al.// *Cancer Res.* – 2007. – V. 67, N 1. – P. 354–361.

35. Sato, E. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T-cells ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer / I.E. Sato, S.H. Olson, J. Ahn // *PNAS.* – 2005. – V. 102, N 51. – P. 1853818543

36. Denkert, C. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. / C. Denkert, S. Loibl, A. Noske et al. // *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*. – 2010. – V. 28, N 1. – P. 105–113.
37. Denkert, C. Standardized evaluation of tumor-infiltrating Lymphocytes in breast cancer: results of the ring studies of the International Immuno-Oncology Biomarker Working Group / C. Denkert, S. Wienert, A. Poterie, et al. // *Modern Pathology*. – 2016. – V. 29, N 10. – P. 1155–64.
38. Denkert, C. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy / C. Denkert, G. von Minckwitz, S. Darb-Esfahani et al. // *Lancet Oncol*. – 2018. – V. 19, N 1. – P. 40–50.
39. Leffers, N. Prognostic significance of tumorinfiltrating T-lymphocytes in primary and metastatic lesions of advanced stage ovarian cancer / N. Leffers, M.J. Gooden, R.A. de Jong et al. // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2009. – N 58. – P. 449–59.
40. Menard, S. Lymphoid infiltration as a prognostic variable for early-onset breast carcinomas / S. Menard et al. // *Clin. Cancer Res.* –1997. – V.3. –P.817 –819
41. Pupa, S.M. Macrophage infiltrate and prognosis in c-erb-2 overexpressing breast carcinomas / S.M. Pupa et al. // *J. Clin. Oncol.* –1996. – V.14. – P.85–94
42. Чобанян, Н.С. Рак молочной железы у женщин молодого возраста / Чобанян Н.С. // автореф. дис. ... д.м.н. – М., 1992. – С.41
43. Wang, Q. PD-L1 expression combined with CD8+tumor infiltrating lymphocytes in high grade serous ovarian cancer / Wang Q., Lou W., Di W. et al. // *Int Immunopharmacol.* – 2017. – V. 52. – P. 7–14.
44. Субботина, А.А. Взаимосвязь между уровнями лимфоидной инфильтрации опухоли и эффективностью неoadъювантной химиотерапии / А.А. Субботина, Н.Н. Тупицын, В.П. Летягин и др. // *Маммология*. –2006. – №4. – С.30 –33.
45. Meng, Y. PD-L1 expression correlates with tumor infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy in cervical cancer / Y. Meng, H. Liang, J. Hu // *J Cancer*. – 2018. – N 9. – P. 2938–2945.
46. St Paul, M. The roles of CD8+ T cell subsets in antitumor immunity /M. St Paul, P.S. Ohashi // *Trends Cell Biol.* – 2020. – V. 30, N 9. – P. 695–704.
47. Артамонова, Е.В. Роль иммунофенотипирования опухолевых клеток в диагностике и прогнозе рака молочной железы / Е.В. Артамонова // *Иммунология гемопозса*. – 2009. – Т. 6, № 1. – С. 8–51.

48. Liu, S. Prognostic significance of FOXP3+ tumor infiltrating lymphocytes in breast cancer depends on estrogen receptor and human epidermal growth factor receptor-2 expression status and concurrent cytotoxic T-cell infiltration / S. Liu, W.D. Foulkes, S. Leung, et al. // *Breast Cancer Res.* – 2014. – N 16. – P. 432.
49. Seo, A.N. Tumour infiltrating CD8+ lymphocytes as an independent predictive factor for pathological complete response to primary systemic therapy in breast cancer / A.N. Seo, H.J. Lee, E.J. Kim, et al. // *Br. J. Cancer.* – 2013. – N 109. – P. 2705–13.
50. Mahmoud, S.M. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer / S.M. Mahmoud, E.C. Paish, D.G. Powe et al. // *J Clin Oncol.* – 2011. – V. 29, N 15. – P. 1949–1955.
51. Zhang, L. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer / L. Zhang, J.R. Conejo-Garcia, D. Katsaros et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – V. 348. – P. 203–13.
52. DeLeeuw, R.J. CD25 identifies a subset of CD4(+) FoxP3(-) TIL that are exhausted yet prognostically favorable in human ovarian cancer / R.J. DeLeeuw, D.R. Kroeger, S.E. Kost et al. // *Cancer Immunol Res.* – 2015. – N 3. – P. 245–253.
53. Knutson, K.L. Regulatory T cells, inherited variation, and clinical outcome in epithelial ovarian cancer. / K.L. Knutson, M.J. Maurer, C.C. Preston et al. // *Cancer Immunol Immunother.* – 2015. – V. 64. – P. 1495–1504.
54. Bosmuller, H.C. Combined immunoscore of CD103 and CD3 identifies long-term survivors in high-grade serous ovarian cancer / H.C. Bosmuller, P. Wagner, J.K. Peper et al. // *Int J Gynecol Cancer.* – 2016. – N 26. – P. 671–679.
55. Chen, X. CD8+CD28- T cells: not only age-related cells but a subset of regulatory T cells. / Chen, X., Liu, Q. & Xiang, A.P. // *Cell Mol Immunol.* – 2018. – N 15. – P.734-736.
56. Filaci, G. CD8+ CD28-T regulatory lymphocytes inhibiting T cell proliferative and cytotoxic functions infiltrate human cancers / G. Filaci, D. Fenoglio, M. Fravega et al. // *J Immunol.* – 2007. –V.179, N 7. – P. 4323–34
57. Karagoz, B. CD8+CD28- cells and CD4+CD25+ regulatory T-cells in the peripheral blood of advanced stage lung cancer patients. / B. Karagoz, O. Bilgi, M. Gumus et al. // *Med. Oncol.* – 2010. –V. 27, N 1. – P. 29–33
58. Song, G. Elevated level of peripheral CD8(+) CD28(-) T lymphocytes are an independent predictor of progression-free survival in patients with metastatic breast cancer during the course of chemotherapy / G. Song, X. Wang, J. Jia // *Cancer Immunol Immunother.* – 2013. – V. 62, N 32. – P. 1123–1130.
59. Li, Y. Decreased level of peripheral CD8+CD28+ T cells is associated with lymph

node metastasis in patients with breast cancer / Y. Li, T. Qian, H. Zhao // *Future Oncol.* – 2020. – V. 16, N 32. – P. 2611–2617.

60. Baker, K. Prognostic significance of CD8<sup>+</sup> T lymphocytes in breast cancer depends upon both oestrogen receptor status and histological grade / K. Baker, J. Lachapelle, I. Zlobec // *Histopathology.* – 2011. – V. 58, N 7. – P. 1107–1116.

61. Čepnija, T. Prognostic significance of lymphocyte infiltrate Localization in triple-negative breast cancer / T. Čepnija, I. Mrklič, M. Perić Balja et al. // *J Pers Med.* – 2022. – V. 12, N 6. – P. 941.

62. Dieci, M.V. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in two phase III randomized adjuvant breast cancer trials / M.V. Dieci, M.C. Mathieu, V. Guarneri et al. // *Ann Oncol.* – 2015. – V. 26, N 8. – P. 1698–1704.

63. He, M. The prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in cervical cancer / M. He, Y. Wang, G. Zhang // *J Gynecol Oncol.* – 2021. – V. 32, N 3. – P. 32

64. Denkert, C. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer / C. Denkert, S. Loibl, A. Noske et al. // *J Clin Oncol.* – 2010. – V. 28, N 1. – P. 105–113.

65. Zhou, Y. Correlation between immune-related genes and tumor-infiltrating immune cells with the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer / Y. Zhou, Q. Tian, H. Gao // *J. Front Genet.* – 2022. – N 13. – P. 905617.

66. Moragon, S. Immunological landscape of HER-2 positive breast cancer. / S. Moragon, C. Hernando, M.T. Martinez-Martinez // *Cancers (Basel).* – 2022 – V.14, N 13 – P. 3167.

67. Park, H.B. Acquisition of anergic and suppressive activities in transforming growth factor-beta-costimulated CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T cells. / H.B. Park, D.J. Paik, E. Jang et al. // *Int. Immunol.* – 2004. – V.16, N 8. – P. 1203–1213

68. Whiteside, T.L. Regulatory T cell subsets in human cancer: are they regulating for or against tumor progression? / T.L. Whiteside // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2014. – V.63, №1. – P. 67–72.

69. Roychoudhuri, R. The interplay of effector and regulatory T cells in cancer / R. Roychoudhuri, R.L. Eil, N.P. Restifo // *Curr. Opin Immunol.* – 2015. – V.33. – P. 101–111

70. Tawara, I. Sequential involvement of two distinct CD4<sup>+</sup> regulatory T cells during the course of transplantable tumor growth and protection from 3-methylcholantrene-induced tumorigenesis by CD25-depletion / I. Tawara, Y. Take, A. Uenaka et al. // *Jpn. J. Cancer Res.* – 2002. – V.93. – P. 911–916

71. Stovgaard, E.S. Triple negative breast cancer - prognostic role of immune-related

factors: a systematic review. / Stovgaard, E.S., Nielsen D., Hogdall E. et al. // *Acta Oncologica*. – 2018. – V. 57, N 1. – P. 74–82.

72. Chatenoud L. Natural and induced T CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells. / L. Chatenoud // *Methods Mol Biol*. – 2011. – N 677. – P. 3–13.

73. Niakan, A. Cytokine profile of CD4 + CD25 - FoxP3 + T cells in tumor-draining lymph nodes from patients with breast cancer / A. Niakan, Z. Faghieh, A.R. Talei et al. // *Mol Immunol*. – 2019. – N 116. – P. 90–97.

74. Jamiyan, T. Prognostic impact of a tumor-infiltrating lymphocyte subtype in triple negative cancer of the breast / T. Jamiyan, H. Kuroda, R. Yamaguchi // *Breast Cancer*. – 2020. – V. 27, N 5. – P. 880–892.

75. West, N.R. Tumour-infiltrating FOXP3(+) lymphocytes are associated with cytotoxic immune responses and good clinical outcome in oestrogen receptor-negative breast cancer / N.R. West., S.E. Kost, S.D. Martin // *Br J Cancer*. – 2013. – V. 108, N 1. – P. 155–62.

76. Pende, D. Killer Ig-Like Receptors (KIRs): Their role in NK cell modulation and developments leading to their clinical exploitation / D. Pende, M. Falco, M. Vitale // *Front. Immunol*. – 2019. – N 10. – P. 1179.

77. López-Botet, M. Dual role of natural killer cells on graft rejection and control of cytomegalovirus infection in renal transplantation / M. López-Botet, C. Vilches, D. Redondo-Pachón et al. // *Frontiers Immunol*. – 2017. – V. 8, N 1. – P. 11

78. Terabe, M. Tissue-specific roles of NKT cells in tumor immunity. / M. Terabe, J.A. Berzofsky // *Front. Immunol*. – 2018. – V.9. – P. 1838

79. Whiteside, T.L. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth. / T.L. Whiteside // *Oncogene*. – 2008. – V.27, N 45. – P. 5904–5912.

80. Абакушина, Е. В. Основные функции и свойства НК-клеток человека / Е.В. Абакушина, Е. Г. Кузьмина, Е. И. Коваленко // *Иммунология*. – 2012. – Т.33, №4. – С. 220–224

81. Ruffel, B. Leucocyte composition in human breast cancer / B. Ruffel, A. Au, H.S. Rugo et al. // *PNAS*. – 2012. – V.109, N 8. – P.2796–2801

82. Кадагидзе, З.Г. Основные субпопуляции регуляторных лимфоцитов у больных злокачественной меланомой и раком молочной железы / З.Г. Кадагидзе, А.И. Черткова, Т.Н. Заботина и др. // *Иммунология*. – 2014. – Т.35, №4 – С. 64–67.

83. Verma, C. (2015) Natural killer (NK) cell profiles in blood and tumour in women with large and locally advanced breast cancer (LLABC) and their contribution to a pathological complete response (PCR) in the tumour following neoadjuvant chemotherapy (NAC): differential

restoration of blood profiles by NAC and surgery / C. Verma, V. Kaewkangsan, J.M. Eremin et al. // *J. Transl. Med.* – 2015 – V.13, N1 – P.180.

84. Foulds, G.A. Immune-phenotyping and transcriptomic profiling of peripheral blood mononuclear cells from patients with breast cancer: identification of a 3 gene signature which predicts relapse of triple negative breast cancer / G.A. Foulds, J. Vadakekolathu, T.M.A. Abdel-Fatah et al. // *Front. Immunol.* – 2018. – V. 9. – P. 2028

85. Nieto-Velázquez, N.G. Altered expression of natural cytotoxicity receptors and NKG2D on peripheral blood NK cell subsets in breast cancer patients / N.G. Nieto-Velázquez, Y.D. Torres-Ramos, J.L. Muñoz-Sánchez et al. // *Transl. Oncol.* – 2016. – V.9, N 5 – P. 384–391

86. Mamessier, E. Human breast cancer cells enhance selftolerance by promoting evasion from NK cell antitumor immunity / E. Mamessier, A. Sylvain, M.L. Thibult et al. // *J. Clin. Investig.* – 2011 – V.121, N9 – P. 3609–3622

87. Elboim, M. HSV-2 specifically down regulates HLA-C expression to render HSV-2-infected DCs susceptible to NK cell killing / M. Elboim, I. Grodzovski, E. Djian et al. // *PLoS pathogens.* – 2013. – V.9, N3 – e1003226.

88. Muccio, L. Analysis of memorylike natural killer cells in human cytomegalovirus-infected children undergoing alphabetaT and B cell-depleted hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies / L. Muccio, A. Bertaina, M. Falco et al. // *Haematologica* – 2016. – V.101, N 3 – 371–381

89. Levy, S. Correlation of stress-factors with sustained depression of natural killer cell activity and predicted prognosis in patients with breast cancer / S. Levy, R. Herberman, M. Lippman et al. // *J. Clin. Oncol.* –1987. –V.5., N3 – P.348–353

90. Tsavaris, N. Immune changes in patients with advanced breast cancer undergoing chemotherapy with taxanes / N. Tsavaris, C. Kosmas, M. Vadiaka et al. // *Br. J. of Cancer.* – 2002. – V.87. – P.21–27

91. Ferlazzo, G. The abundant NK cells in human secondary lymphoid tissues require activation to express killer cell Ig-like receptors and become cytolytic. G. Ferlazzo, D. Thomas, S. L. Lin et al. // *J. Immunol.* – 2004. – V. 172 – P. 1455–1462.

92. Annaratone, L. The multifaceted nature of tumor microenvironment in breast carcinomas. L. Annaratone, E. Cascardi, E. Vissio // *Pathobiology.* – 2020. – V. 87. – P. 125–142.

93. Mamessier, E. Peripheral blood NK cells from breast cancer patients are tumor-induced composite subsets / E. Mamessier, L.C. Pradel, M.L. Thibult // *J Immunol.* – 2013. – V. 190 – P. 2424 –2436.

94. Ben-Eliyahu, S. Evidence that stress and surgical interventions promote tumor



development by suppressing natural killer cell activity / S. Ben-Eliyahu, G.G. Page, R. Yirmiya et al. // *Int. J. Cancer.* – 1999. – V.80. – P.880–888

95. Soderquest, K. Cutting edge: CD8<sup>+</sup> T cell priming in the absence of NK cells leads to enhanced memory responses / Soderquest K. et al. // *J. Immunol.* – 2011. – V.186. – P.3304–3308

96. Zhang, S. Prognostic significance of tumor-infiltrating natural killer cells in solid tumors: A systematic review and meta-analysis / S. Zhang, W. Liu, B. Hu // *Front. Immunol.* – 2020. – V. 11. – P. 1242.

97. Wang, B. Metastatic consequences of immune escape from NK cell cytotoxicity by human breast cancer stem cells / B. Wang // *Cancer Res.* – 2014. – V. 74. – P. 5746–5757.

98. Honkanen, T.J. Prognostic and predictive role of spatially positioned tumour infiltrating lymphocytes in metastatic HER2 positive breast cancer treated with trastuzumab / T.J. Honkanen // *Sci. Rep.* – 2017. – V. 7. – P.18027

99. Muntasell, A. NK cell infiltrates and HLA class I expression in primary HER2(+) breast cancer predict and uncouple pathological response and disease-free survival / A. Muntasell // *Clin. Cancer Res.* – 2019. – V. 25. – P. 1535–1545.

100. Park, M.H. High expression of CX3CL1 by tumor cells correlates with a good prognosis and increased tumor-infiltrating CD8<sup>+</sup> T cells, natural killer cells, and dendritic cells in breast carcinoma / M.H. Park, J.S. Lee, J.H. Yoon // *J. Surg. Oncol.* – 2012. – V. 106. – P. 386–392.

101. Vgenopoulou, S. Immunohistochemical evaluation of immune response in invasive ductal breast cancer of not-otherwise-specified type / S. Vgenopoulou // *Breast.* – 2003. – V. 12. – P. 172–178.

102. Rathore, A.S. Is the tumor infiltrating natural killer cell (NK-TILs) count in infiltrating ductal carcinoma of breast prognostically significant? / A.S. Rathore, M.M. Goel, A. Makker // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2014. – V. 15. – P. 3757–3761.

103. Uppendahl, L.D. / Natural Killer Cell-Based Immunotherapy in Gynecologic Malignancy: A Review / L.D. Uppendahl, C.M. Dahl, J.S. Miller et al. // *Front Immunol.* – 2018. – N 8. – P.1825.

104. Dong, H.P. NK- and B-cell infiltration correlates with worse outcome in metastatic ovarian carcinoma / H.P. Dong, M.B. Elstrand, A. Holth et al. // *Am J Clin Pathol.* – 2006. – V. 125. – P. 451–8.

105. Moy, P.M. Depression of natural killer cytotoxic activity in lymphocytes infiltrating human pulmonary tumors / P.M. Moy, E.C. Holmes, S.H. Golub // *Cancer Res.* – 1985. – V. 45. – P. 57–60.

106. Nersesian, S. NK cell infiltration is associated with improved overall survival in solid cancers: A systematic review and meta-analysis / S. Nersesian, S.L. Schwartz, St.R. Grantham et al. // *Translational Oncology*. – 2021. – N 14 –100930.
107. Webb, J.R. Tumor-infiltrating lymphocytes expressing the tissue resident memory marker CD103 are associated with increased survival in high-grade serous ovarian cancer / J.R. Webb, K. Milne, P. Watson et al. // *Clin Cancer Res*. – 2014. – V. 20, N 2. – P. 434–444.
108. Manaster, I. Endometrial NK cells are special immature cells that await pregnancy / I. Manaster, S. Mizrahi, D. Goldman-Wohl et al. // *J Immunol*. – 2008. – V. 181, N 3. – P. 1869–76.
109. Wang, Y. B Cell Development and Maturation / Y. Wang, J. Liu, P.D. Burrows et al. // *Adv Exp Med Biol*. – 2020. – V. 22, N 1. – P.1254.
110. Brandlein, S. Human monoclonal IgM antibodies with apoptotic activity isolated from cancer patients / Brandlein S., Lorenz J., Ruoff N. // *Hum. Antibodies*. – 2002. – V. 11, N 4. – P. 107–119.
111. Татарский, В.В. Липоапоптоз: механизм программируемой гибели клеток при действии липидов. / В.В. Татарский. // *Иммунология гемопозеза*. – 2017. – №2. – С. 42–51.
112. Huflej't, M.E. Anti-carbohydrate antibodies of normal sera: findings, surprises and challenges / M.E. Huflej't, M. Vuskovic, D. Vasiliu et al. // *Mol. Immunol*. – 2009. – V. 46, N 15. – P. 3037–49.
113. Удалова, Я.А. Мембранная экспрессия Le на клетках рака молочной железы / Я.А. Удалова, Н.В. Бовин, П.С. Обухова и др. // *Опухоли женской репродуктивной системы*. – 2009. – №3. – С. 43–48.
114. Choi, Y.S. B-1 cells in the bone marrow are a significant source of natural IgM / Y.S. Choi, J.A. Dieter, K. Rothausler et al. // *Eur J Immunol*. – 2012. – V. 42. – P. 120–129.
115. Mizoguchi, A. Chronic intestinal inflammatory condition generates IL-10-producing regulatory B cell subset characterized by CD1d upregulation / Mizoguchi A et al. // *Immunity*. – 2002. – V. 16, N 2. – P. 219–30.
116. Hladikova, K. Tumor-infiltrating B cells affect the progression of oropharyngeal squamous cell carcinoma via cell-to-cell interactions with CD8(+) T cells / Hladikova K, et al. // *J Immunother Cancer*. – 2019. – V. 7, N 1. – P.261.
117. Milne, K. Systematic analysis of immune infiltrates in high-grade serous ovarian cancer reveals CD20, FoxP3 and TIA-1 as positive prognostic factors / K. Milne et al. // *PLoS ONE*. – 2009. – V. 4, N 7. – e6412.
118. Miligy, I. Prognostic significance of tumour infiltrating B lymphocytes in breast ductal carcinoma in situ / I. Miligy, P. Mohan, A. Gaber et al. // *Histopathology*. – 2017. – V. 71. –

P. 258–68.

119. Kuroda, H. Tumor-infiltrating B cells and T cells correlate with postoperative prognosis in triple-negative carcinoma of the breast / H. Kuroda, T. Jamiyan, R. Yamaguchi et al. // *BMC Cancer*. – 2021. – V. 21. – P. 286.

120. Laumont, C.M. Tumour-infiltrating B cells: immunological mechanisms, clinical impact and therapeutic opportunities / C.M. Laumont, A.C. Banville, M. Gilardi et al. // *Nat Rev Cancer*. – 2022. – N 22. – P. 414–430.

121. Qin, Y. Tumor-infiltrating B cells as a favorable prognostic biomarker in breast cancer: a systematic review and meta-analysis / Y. Qin, F. Peng, L. Ai // *Cancer Cell Int*. – 2021. – V. 21, N 1. – P.310

122. Mohammed, Z.M. The relationship between lymphocyte subsets and clinicopathological determinants of survival in patients with primary operable invasive ductal breast cancer / Z.M. Mohammed, J.J. Going, J. Edwards // *Br J Cancer*. – 2013. – V.109. – P. 1676–84.

123. Thompson, E. The immune microenvironment of breast ductal carcinoma in situ / E. Thompson, J.M. Taube, H. Elwood, R. Sharma, A. Meeker, H.N. Warzecha et al. // *Mod Pathol*. – 2016. – V. 29. – P. 249–258.

124. Yang, C. Prognostic significance of B-cells and pSTAT3 in patients with ovarian cancer / C. Yang, H. Lee, V. Jove // *PLoS One*. – 2013. – V. 8, N 1. – e54029.

125. Kroeger, D.R. Tumor-infiltrating plasma cells are associated with tertiary lymphoid structures, cytolytic T-cell responses, and superior prognosis in ovarian cancer / D.R. Kroeger, K. Milne, B.H. Nelson // *Clin Cancer Res*. – 2016. – V. 22, N 12. – P. 3005–3015.

126. Trowsdale, J. Major histocompatibility complex genomics and human disease / J. Trowsdale, J.C. Knight // *Annu. Rev. Genom. Hum. Genet*. – 2013. – N 14. – P. 301–323.

127. Trowsdale, J. Genomic structure and function in the MHC / J. Trowsdale // *Trends Genet*. – 1993. – N 9. – P. 117–122.

128. Norman, P.J. Sequences of 95 human MHC haplotypes reveal extreme coding variation in genes other than highly polymorphic HLA class I and II. / P.J. Norman, S.J. Norberg, L.A. Guethlein et al. // *Genome Res*. – 2017. – V. 27. – P. 813–823.

129. Horton, R. Gene map of the extended human MHC / R. Horton, L. Wilming, V. Rand et al. // *Nat. Rev. Genet*. – 2004. – N 5. – P. 889–889.

130. Neefjes, J. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation / J. Neefjes, M.L.M. Jongma, P. Paul et al. // *Nat. Rev. Immunol*. – 2011. – N 11. – P. 823–836.

131. Blum, J.S. Pathways of antigen processing / J.S. Blum, P.A. Wearsch, P. Cresswell /

Annu. Rev. Immunol. – 2013. – V. 31. – P. 443–473.

132. Farhood, B. CD8+ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: A review / B. Farhood, M. Najafi, K. Mortezaee // *J. Cell. Physiol.* – 2019. – V. 234. – P. 8509–8521.

133. Cruz, F.M. The biology and underlying mechanisms of cross-presentation of exogenous antigens on MHC-I Molecules / F.M. Cruz, J.D. Colbert, M. Merino // *Annu. Rev. Immunol.* – 2017. – V. 35. – P. 149–176.

134. Leone, P. MHC class I antigen processing and presenting machinery: organization, function, and defects in tumor cells / P. Leone, E.C. Shin, F.V. Perosa // *J. Natl. Cancer Inst.* 2013. – V. 105. – P. 1172–1187.

135. Thielens, A. NK cell MHC class I specific receptors (KIR): From biology to clinical intervention / A. Thielens, E. Vivier, F. Romagné // *Curr. Opin. Immunol.* – 2012. – N 24. – P. 239–245.

136. Rock, K.L. Present yourself by MHC class I and MHC class II molecules / K.L. Rock, E. Reits, J. Neefjes // *Trends Immunol.* – 2016. – V. 37. – P. 724–737.

137. Holling, T.M. Function and regulation of MHC class II molecules in T-lymphocytes: Of mice and men / T.M. Holling, E. Schooten, P.J. Van Den Elsen // *Hum. Immunol.* – 2004. – V. 65. – P. 282–290.

138. Garrido, F. MHC antigens and tumor escape from immune surveillance / F. Garrido, I. Algarra // *Adv. Cancer Res.* – 2001. – V. 83. – P. 117–158.

139. Ryu, K.S. Alterations of HLA class I and II antigen expression in preinvasive, invasive and metastatic cervical cancers / K.S. Ryu, Y.S. Lee, B.K. Kim et al. // *Exp Mol Med.* – 2013. – V. 33. – P. 136–144.

140. Vitale, M. HLA class I antigen and transporter associated with antigen processing (TAP-1 and TAP-2) down-regulation in high grade primary breast carcinoma lesions / M. Vitale et al. // *Cancer Res.* – 1998. – V. 58, N 4. – P. 737–747.

141. Cabrera, T. Analysis of HLA class I alterations in tumors: choosing a strategy based on known patterns of underlying molecular mechanisms / T. Cabrera, I. Maleno, A. Collado // *Tissue Antigens.* – 2007. – V. 69. – P. 264–268.

142. Cai, L. Defective HLA class I antigen processing machinery in cancer / L. Cai, T. Michelakos, T. Yamada // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2018. – V. 67. – P. 999–1009.

143. De Jong, R.A. Loss of HLA class I and mismatch repair protein expression in sporadic endometrioid endometrial carcinomas / R.A. De Jong, A. Boerma, H.M. Boezen // *Int J Cancer.* – 2012. – V. 131 N 8. – P. 1828–1836.

144. Ferns, D.M. Classical and non-classical HLA class I aberrations in primary cervical

squamous- and adenocarcinomas and paired lymph node metastases / D.M. Ferns, A.M. Heeren, S. Samuels // *J Immunother Cancer*. – 2016. – V.15 N 4. – P. 78

145. Зуева, Е.В. Клиническое значение иммунофенотипирования серозной аденокарциномы яичников / Е.В. Зуева / дисс. ...канд. мед. наук. – 2010. – Москва. – С. 152.

146. Barrier, B.F. Characterization of human leukocyte antigen-G (HLA-G) expression in endometrial adenocarcinoma / B.F. Barrier, B.S. Kendall, K.L. Sharpe-Timms et al. // *Gynecol Oncol*. – 2006. – V. 103, N 13. – P. 25–30.

147. Martin, H.P. Downregulation of antigen presentation-associated pathway proteins is linked to poor outcome in triple-negative breast cancer patient tumors / H.P. Martin, L.H. Brian, Ch.B. Hans et al. // *OncoImmunology*. – 2017. – V. 6, N 5. – e1305531

148. Sinn, B.V. Human leucocyte antigen class I in hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer: association with response and survival after neoadjuvant chemotherapy / B.V. Sinn, K.E. Weber, W.D. Schmitt et al. // *Breast Cancer Res* – 2019. – N 21. – P. 142.

149. Yakabe, K. Clinical implications of human leukocyte antigen class I expression in endometrial cancer / K. Yakabe, A. Murakami, Y. Nishimoto et al. // *Mol Clin Oncol*. – 2015. – V. 3, N 6. – P. 1285–1290.

150. Ferguson, A. Expression of MHC products and leukocyte differentiations antigens in gynaecological neoplasms: an immunohistological analyses of the tumor cells and infiltrating leukocytes. /A. Ferguson, M. Moore, H. Fox // *Brit J Cancer*. – 1985. – V. 52. – P. 551–556

151. Allavena, P. Intraperitoneal recombinant  $\gamma$ -interferon in patients with recurrent ascitic ovarian carcinoma: modulation of cytotoxicity and cytokine production in tumor-associated effectors and major histocompatibility antigen expression on tumor cells / P. Allavena, F. Peccatori, D. Maggioni et al. // *Cancer Res*. – 1990– V. 50. – P. 7318–23.

152. Буров, Д.А. Клиническое значение экспрессии молекул гистосовместимости на клетках рака молочной железы / Д.А. Буров, О.А. Безнос, И.К. Воротников и др. // *Иммунология гемопоза*. – 2022. – Т. 12, № 3. – С. 33–53.

153. Артамонова Е.В. Иммунологическая микрогетерогенность рака молочной железы. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1992

154. Kubler, K. HLA-class II haplotip association with ovarian cancer / K. Kubler, P.F. Arndt, E. Wardermann et al. // *International journal of Cancer*. – 2006. – V. 15, N 12. – P. 2980–2985.

155. Samuels, S. Human leukocyte antigen-DR expression is significantly related to an increased disease-free and disease-specific survival in patients with cervical adenocarcinoma S. Samuels, V.M. Spaans, M. Osse et al. // *Int J Gynecol Cancer*. – 2016. – V. 26, N 8. – P. 1503–

1503.

156. Balakrishnan, C.K. CD74 and HLA-DRA in cervical carcinogenesis: potential targets for antitumour therapy / C.K. Balakrishnan, G.J. Tye, S.D. Balasubramaniam, G. Kaur // *Medicina*. – 2022. – V. 58. – P.190.

157. Кушлинский, Н.Е. Рак молочной железы / Н.Е. Кушлинский, А.А. Портной, К.П. Лактионов // М.– Издательство РАМН – 2005. – С. 480

158. Субботина, А.А. Анализ результатов неoadъювантного лечения больных с учетом иммунофенотипических особенностей рака молочной железы / А.А. Субботина, В.П. Летягин, Н.Н. Тупицын и др. // *Опухоли женской репродуктивной системы*. – 2008. – № 4. – С. 31–34.

159. Axelrod, M.L. Biological consequences of MHC-II expression by tumor cells in cancer. / M.L. Axelrod, R.S. Cook, D.B. Johnson et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2019. – V. 25. – P. 2392–2402.

160. Daltoé, R.D. Clinical relevance of co-expression of HLA-DR $\alpha$ , CD74/II and NF $\kappa$ B in epithelial ovarian cancer: identification of prognostic and therapeutical biomarker profile / R.D. Daltoé, K.P. Madeira, K.L. de Araújo // *SL Clinical and Medical Oncology*. – 2020. – V. 2, N 1. – P.115.

161. Rangel, L.B. Anomalous expression of the HLA-DR alpha and beta chains in ovarian and other cancers / L.B. Rangel, R. Agarwal, C.A. Sherman-Baust // *Cancer Biol Ther.* – 2004. – V. 3, N 10. – P. 1021–1027.

162. Mortara, L. CIITA induced MHC class II expression in mammary adenocarcinoma leads to aTh1 polarization of the tumor microenvironment, tumor rejection, and specific antitumor memory / L. Mortara, P. Castellani, R. Meazza // *Clin. Cancer Res.* – 2006. – N 12. – P. 3435–3443.

163. Sabbatino, F. Role of human leukocyte antigen system as a predictive biomarker for checkpoint-based immunotherapy in cancer patients / F. Sabbatino, L. Liguori, G. Polcaro // *Int J Mol Sci.* – 2020. – V. 21, N 19. – 7295.

164. Murciano-Goroff, Y.R. The future of cancer immunotherapy: microenvironment-targeting combinations / Y.R. Murciano-Goroff, A.B. Warner, J.D. Wolchok // *Cell Res.* – 2020. – V. 30. – P. 507–519.

165. Cheng, Y. Structure of the human transferrin receptor-transferrin complex / Y. Cheng, O. Zak, P. Aisen et al. // *Cell.* – 2004. – V. 116. – P. 565–576.

166. Eckenroth, B.E. How the binding of human transferrin primes the transferrin receptor potentiating iron release at endosomal pH / B.E. Eckenroth, A.N. Steere, N.D. Chasteen et al. //

Proc Natl Acad Sci USA. – 2011. – V. 108. – P. 13089–13094.

167. Daniels, T.R. The transferrin receptor part I: biology and targeting with cytotoxic antibodies for the treatment of cancer / T.R. Daniels, T. Delgado, J.A. Rodriguez et al. // *Clin Immunol.* – 2006. – V. 121. – P. 144–158.

168. Uhlen, M. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome / M. Uhlen, L. Fagerberg, B.M. Hallstrom et al. // *Science.* – 2015. – V. 347. – 1260419.

169. Shen, Y. Transferrin receptor 1 in cancer: a new sight for cancer therapy / Y. Shen, X. Li, D. Dong et al. // *Am J Cancer Res.* – 2018. – N 8. – P. 916–931.

170. Basuli, D. Iron addiction: a novel therapeutic target in ovarian cancer / D. Basuli, L. Tesfay, Z. Deng et al. // *Oncogene.* – 2017. – V. 36. – P. 4089–4099.

171. Habashy, H.O. Transferrin receptor (CD71) is a marker of poor prognosis in breast cancer and can predict response to tamoxifen / H.O. Habashy, D.G. Powe, C.M. Staka et al. // *Breast Cancer Res Treat.* – 2010. – V. 119. – P. 283.

172. Jiang, X.P. Decreased iron in cancer cells and their microenvironment improves cytotoxicity of breast cancer cells by natural killer cells / X.P. Jiang, R.L. Elliott. *Anticancer Res.* – 2017. – V. 37. – P. 2297–305.

173. Pham, C.G. Ferritin heavy chain upregulation by NF- $\kappa$ B inhibits TNF- $\alpha$ -induced apoptosis by suppressing reactive oxygen species / C.G. Pham, C. Bubici, F. Zazzeroni et al. // *Cell.* – 2004. – V. 119. – P. 529–542.

174. Kenneth, N.S. TfR1 interacts with the IKK complex and is involved in IKK-NF- $\kappa$ B signaling / N.S. Kenneth, S. Mudie, S. Naron et al. // *Biochem J.* – 2013. – V. 449. – P.275–284.

175. Greene, C.J. Transferrin receptor 1 upregulation in primary tumor and downregulation in benign kidney is associated with progression and mortality in renal cell carcinoma patients. C.J. Greene, K. Attwood, N.J. Sharma et al. // *Oncotarget.* – 2017. – N 8. – 107052–75.

176. Jamnongkan, W. Upregulation of transferrin receptor-1 induces cholangiocarcinoma progression via induction of labile iron pool / W. Jamnongkan, R. Thanan, A. Techasen et al. // *Tumour Biol.* – 2017. – V. 39. – 1010428317717655.

177. Chan, K.T. Overexpression of transferrin receptor CD71 and its tumorigenic properties in esophageal squamous cell carcinoma / K.T. Chan, M.Y. Choi, K.K. Lai et al. // *Oncol Rep.* – 2022. – V. 12, N 3. – P. 1156–1168. – 2014. – V. 31. – P. 1296–1304.

178. Rosager, A.M. Transferrin receptor-1 and ferritin heavy and light chains in astrocytic brain tumors: expression and prognostic value / A.M. Rosager, M.D. Sorensen, R.H. Dahlrot et al. // *PLoS One.* – 2017. – V. 12. – e0182954.

179. Ohkuma, M. Absence of CD71 transferrin receptor characterizes human gastric

adenosquamous carcinoma stem cells / M. Ohkuma, N. Haraguchi, H. Ishii et al. // *Ann Surg Oncol.* – 2012. – V. 19. – P. 1357–1364.

180. Leung, T.H. CD71+ Population Enriched by HPV-E6 protein promotes cancer aggressiveness and radioresistance in cervical cancer cells / T.H. Leung, H.W. Tang, M.K. Siu // *Mol Cancer Res.* – 2019. – V. 17, N 9. – P. 1867–1880.

181. Kang, M.K. Potential identity of multi-potential cancer stem-like subpopulation after radiation of cultured brain glioma / M.K. Kang, B.I. Hur, M.H. Ko, C.H. Kim, S.H. Cha, S.K. Kang // *BMC Neurosci.* – 2008. – N 9. – P. 15.

182. Xu, X. Transferrin receptor-involved HIF-1 signaling pathway in cervical cancer / X. Xu, T. Liu, J. Wu et al. // *Cancer Gene Ther.* – 2019. – V. 26. – P. 356–365.

183. Wang, Y. Highly Metastatic subpopulation of TNBC cells has limited iron metabolism and is a target of iron chelators / Y. Wang, T. Ohara, Y. Chen // *Cancers.* – 2023. – V. 15. – P. 468.

184. Candelaria, P.V. Antibodies targeting the transferrin receptor 1 (TfR1) as direct anti-cancer agents / P.V. Candelaria, L.S. Leoh, M.L. Penichet // *Front. Immunol.* – 2021. – N 12. – P. 607692.

185. Joshi, S. Altered mucins (MUC) trafficking in benign and malignant conditions / S. Joshi, S. Kumar, A. Choudhury et al. // *Oncotarget.* – 2014. – V. 5, N 17. – P. 7272–7284.

186. Nath, S. MUC1: a multifaceted oncoprotein with a key role in cancer progression / S. Nath, P. Mukherjee // *Trends Mol Med.* – 2014. – V. 20, N 6. – P. 332–342.

187. Kufe, D.W. MUC1-C oncoprotein as a target in breast cancer: activation of signaling pathways and therapeutic approaches / D.W. Kufe // *Oncogene.* – 2013. – V. 32, N 9. – P. 1073–1081.

188. Chen, J.Q. Dysregulation of glucose transport, glycolysis, TCA cycle and glutaminolysis by oncogenes and tumor suppressors in cancer cells / J.Q. Chen, J. Russo // *Biochim Biophys Acta.* – 2012. – V.1826, N2. – P. 370–384.

189. Riganti, C. The pentose phosphate pathway: an antioxidant defense and a crossroad in tumor cell fate / C. Riganti, E. Gazzano, M. Polimeni et al. // *Free Radic Biol Med.* – 2012. – V. 53, N 3. – P. 421–436.

190. Klinge, C.M. Targeting the intracellular MUC1 C-terminal domain inhibits proliferation and estrogen receptor transcriptional activity in lung adenocarcinoma cells / C.M. Klinge, B.N. Radde, Y. Imbert-Fernandez et al. // *Mol Cancer Ther.* – 2011. – V. 10, N 11 – P. 2062–2071.

191. Kitamoto, S. MUC1 enhances hypoxiadriiven angiogenesis through the regulation of multiple proangiogenic factors / S. Kitamoto, S. Yokoyama, M. Higashi et al. // *Oncogene.* – 2013.



– V. 32, N 39. – P. 4614–4621.

192. Cardaci, S. TCA cycle defects and cancer: when metabolism tunes redox state / S. Cardaci, M.R. Ciriolo // *Int J Cell Biol.* – 2012. – N 1. – P. 161837.

193. Feng, H. Expression of MUC1 and MUC2 mucin gene products in human ovarian carcinomas / H. Feng, M. Ghazizadeli, H. Konishi et al. // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2002. – V. 32, N 12. – P. 525–529.

194. Hou, R. Lewis(y) antigen promotes the progression of epithelial ovarian cancer by stimulating MUC1 expression / R. Hou, L. Jiang, D. Liu et al. // *Int J Mol Med.* – 2017. – V. 40, N 2. – P. 293–302.

195. Deng, J. The role of tumour-associated MUC1 in epithelial ovarian cancer metastasis and progression / J. Deng, L. Wang, H. Chen et al. // *Cancer Metastasis Rev.* – 2013. – V. 32, N 3. – P. 535–551.

196. Zhang, D. Chemoresistance is associated with MUC1 and Lewis y antigen expression in ovarian epithelial cancers. / D. Zhang, J. Gao, L. Zhu // *Int J Mol Sci.* – 2013. – V. 14, N 6. – P. 11024–11033.

197. Stevens, A.J. Programming multicellular assembly with synthetic cell adhesion molecules / A.J. Stevens, A.R. Harris, J. Gerdtts // *Nature.* – 2023. – V. 614, N 7946. – P. 144–152.

198. Hanker, A.B. Extracellular Matrix/Integrin Signaling Promotes Resistance to Combined Inhibition of Her2 and Pi3k in Her2(+) Breast Cancer. / A.B. Hanker, M.V. Estrada, G. Bianchini et al. // *Cancer Res.* – 2017 – V. 77, N 12. – P. 3280–3292.

199. Huang, C. Beta1 integrin mediates an alternative survival pathway in breast cancer cells resistant to lapatinib / C. Huang, C.C. Park, S.G. Hilsenbeck et al. // *Breast Cancer Res.* – 2011 – V. 13., N.4. – P. R844.

200. Ruan, Y. Mechanisms of cell adhesion molecules in endocrine-related cancers: a concise outlook / Y. Ruan, L. Chen, D. Xie // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2022. – N 13. – P. 865436

201. Zhu, L.C. Membranous expressions of Lewis Y and Cam-Dr-related markers are independent factors of chemotherapy resistance and poor prognosis in epithelial ovarian cancer / L.C. Zhu, L.C. Zhu, J. Gao et al. // *Am J Cancer Res.* – 2015. – V. 5, N 2. – P. 830 – 843.

202. Dötzer, K. Integrin  $\alpha 2\beta 1$  represents a prognostic and predictive biomarker in primary ovarian cancer. / K. Dötzer, F. Schlüter, F. Koch et al. // *Biomedicines.* – 2021. – V 9, N 3. – P.289.

203. Zhang, L. EZH2 engages TGF $\beta$  signaling to promote breast cancer bone metastasis via integrin  $\beta 1$ -FAK activation / L. Zhang, J. Qu, Y. Qi // *Nat Commun.* – 2022. – V. 13, N 1. – P.

2543.

204. Ünlü, B. Integrin regulation by tissue factor promotes cancer stemness and metastatic dissemination in breast cancer / B. Ünlü, B. Kocatürk, A.M.R. Rondon // *Oncogene*. – 2022. – V. 41, N 48. – P. 5176–5185.

205. Dhaliwal, D. Molecular and cellular mechanisms controlling integrin-mediated cell adhesion and tumor progression in ovarian cancer metastasis: a review. / D. Dhaliwal, T.G. Shepherd. // *Clin Exp Metastasis*. – 2022. – V. 39, N 2. – P. 291-301.

206. Sawada, K. Integrin inhibitors as a therapeutic agent for ovarian cancer. / K. Sawada, C. Ohyagi-Hara C, T.J. Kimura. // *Oncol*. – 2012. – 915140.

207. Bösmüller, H. CD56 (Neural Cell Adhesion Molecule) Expression in ovarian carcinomas: association with high-grade and advanced stage but not with neuroendocrine differentiation international / H. Bösmüller, P. Wagner, D.L. Pham et al. // *Journal of Gynecologic Cancer* – 2017. – V.27 – P. 239-245.

208. Bui, T.M. ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. / T.M. Bui, H.L. Wiesolek, Sumagin et al. // *Biol*. – 2020. – V.108, N 3 – P. 787-799.

209. Regev, O. ICAM-1 on breast cancer cells suppresses lung metastasis but is dispensable for tumor growth and killing by cytotoxic T cells. / O. Regev, M. Kizner, F. Roncato et al. // *Front Immunol* – 2022. – V. 11, N 13. – 849701.

210. Vaidya, F.U. Molecular and cellular paradigms of multidrug resistance in cancer. / F.U. Vaidya, A. Sufiyan Chhipa, V. Mishra et al. // *Cancer Rep (Hoboken)* – 2022. – V. 5, N 12. – e1291.

211. Ding, P. Progress and challenges of multidrug resistance proteins in diseases. / P. Ding, Y. Gao, J. Wang et al. // *Am J Cancer Res* – 2022. – V. 15, N 12(10). – P. 4483-4501.

212. Modi, A. ABC transporters in breast cancer: their roles in multidrug resistance and beyond. / A. Modi, D. Roy, S. Sharma et al. // *J Drug Target* – 2022. – V. 30, N 9. – P. 927-947.

213. Koretz, K. Correlation of HLA-D/Ii antigen expression in breast carcinoma with local lymphohistiocytic infiltration reveals considerable dysregulation in a subset of tumors / K. Koretz, G. Moldenhauer, O. Majdic et al. // *Int J Cancer*. – 1989. – V. 44, N 5. – P. 816–822.

214. Frisch, B. Normal bone marrow. Biopsy interpretation of bone and bone Marrow / B. Frisch, R. Bartl // London: Arnold. – 1999. – P. 38–54.

215. Smith, C. Hematopoietic stem cells and hematopoiesis / C. Smith // *Cancer Control*. – 2003. – N 10. – P. 9 – 16.

216. Travlos, G.S. Normal structure, function, and histology of the bone marrow / G.S.

Travlos // *Toxicol Pathol.* – 2006. – V. 34. – P. 548 – 565.

217. Chasis, J.A. Erythroblastic islands: Specialized microenvironmental niches for erythropoiesis / J.A. Chasis // *Current Opin Hematol.* – 2006. – N 13. – P. 137 – 141.

218. Yeo, J.H. The iron islands: Erythroblastic islands and iron metabolism / J.H. Yeo, C.K. Colonne, N. Tasneem et al. // *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* – 2019. – V. 1863, N 2. – P. 466 – 471.

219. Asada, N. Regulation of malignant hematopoiesis by bone marrow microenvironment / N. Asada // *Front. Oncol.* – 2018. – N 8. – P. 119.

220. Juul, S. Epo and other hematopoietic factors / S. Juul, U. Felderhoff-Mueser // *Semin Fetal Neonatal Med.* – 2007. – N 12. – P. 250–258.

221. Soares-da-Silva, F. Yolk sac, but not hematopoietic stem cell-derived progenitors, sustain erythropoiesis throughout murine embryonic life / F. Soares-da-Silva, L. Freyer, R. Elsaid // *Exp Med.* – 2021. – V. 218, N 4. – P. e20201729

222. Liang, R. Mitochondrial localization and moderated activity are key to murine erythroid enucleation / R. Liang, V. Menon, J. Qiu // *Blood Adv.* – 2021. – V. 5, N 10. – P. 2490–2504.

223. Wölwer, C.B. Calcium Signaling Is Required for Erythroid Enucleation / C.B. Wölwer, L.B. Pase, S.M. Russell et al. // *PLoS One.* – 2016. – V. 11, N 1. – P. e0146201

224. Yeo, J.H. Cellular dynamics of mammalian red blood cell production in the erythroblastic island niche / J.H. Yeo, Y.W. Lam, S.T. Fraser // *Biophys Rev.* – 2019. – V. 11, N 6. – P. 873–894.

225. Тимонина, Е.Г. Результаты исследования характеристик костного мозга больных плоскоклеточным раком головы и шеи, их клиническое значение / Е.Г. Тимонина, Н.Н. Тупицын, С.О. Подвязников и др. // *Опухоли головы и шеи.* – 2016. – V. 6, N 10. – P. 55 – 67.

226. Мкртчян, В.А. Взаимосвязь между НК-клетками костного мозга больных раком молочной железы и биологическими особенностями опухоли и эритропозом / В.А. Мкртчян, И.К. Воротников, О.А. Чернышева и др. // *Онкогинекология.* – 2019. – № 10. – С. 4–13.

227. Крохина, О.В. Микрометастазы рака молочной железы в костный мозг. Иммуноморфологическая диагностика: дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.14 / Крохина Ольга Владимировна; – Москва, 2003. – 170 с.

228. Богомолова О.А., Тупицын Н.Н., Родионов В.В. и др. / *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.* – 2014. – Т. 25, № 1-2

229. Ubellacker, J.M. Zoledronic acid alters hematopoiesis and generates breast tumor-

suppressive bone marrow cells / J.M. Ubellacker, M.T. Haider, M.J. DeCristo et al. // *Breast Cancer Res.* – 2017. – V. 19, N 1. – P. 23.

230. Гольдберг, В.Е. Механизмы угнетения и восстановления гемопоэза у больных раком молочной железы в условиях химиотерапии по схеме доксорубицин/доцетаксел / В.Е. Гольдберг, Т.Ю. Хричкова, В.В. Жданов // *Сибирский онкологический журнал.* – 2011. – Т.48, № 6. – С. 5–9.

231. Горбунова, Т.В. Анализ клинически значимых субпопуляций лимфоцитов костного мозга у детей при рабдомиосаркоме и ОССЮ / Т.В. Горбунова, В.Г. Поляков, Т.В. Шведова и др. // *Иммунология гемопоэза.* – 2013. – Т. 11, №1-2. – С.32-71

232. Тупицын, Н.Н. Взаимосвязь костномозговых популяций врожденного иммунитета (TCR  $\gamma\delta$ , V1(CD5+)- лимфоциты у больных раком молочной железы с клиническими показателями и гемопоэзом / Н.Н. Тупицын, В.А. Мкртчян, А.Д. Палладина и др. // *Онкогинекология.* – 2020. – Т. 33, № 1. – С. 28–30.

233. Григорьева, Т. А. Субпопуляции лимфоцитов костного мозга больных раком молочной железы. / Т.А. Григорьева, О.А. Безнос, Н.Н. Тупицын и др. // *Опухоли женской репродуктивной системы.* – 2015. – Т.11, № 2. – С. 52-55

234. Pantel, K. Bone marrow as a reservoir for disseminated tumor cells: a special source for liquid biopsy in cancer patients / K. Pantel, C. Alix-Panabieres // *Bonekey Rep.* – 2014. – N 3. – P.584.

235. Тупицын, Н.Н. Циркулирующие и диссеминированные раковые клетки при раке молочной железы и раке яичников / Н.Н. Тупицын // *Онкогинекология.* – 2013. – № 1. – С. 12 – 18.

236. Fehm, T. Detection of disseminated tumor cells in patients with gynecological cancers / T. Fehm, S. Becker, C. Bachmann et al. // *Gynecol Oncol.* – 2006. – V. 103, N 3. – P. 942 – 947.

237. Тупицын, Н.Н. Костный мозг онкологического больного: стадирование опухолей, гемопоэз, иммунная система / Тупицын Н.Н. // – 2018. – Т. 16, № 2. – С. 10 – 54.

238. Енгай, Д.А. Иммунологическая характеристика Pgp170 позитивного рака молочной железы: дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.14 / Енгай Дина Анатольевна. – Москва, 2008. – 136 с.

239. Seliger B, Kloor M, Ferrone S. HLA class II antigen-processing pathway in tumors: Molecular defects and clinical relevance / B. Seliger, M. Kloor, S. Ferrone. // *Oncoimmunology.* – 2017. – V. 6, N 2. – e1171447.

240. Wantoch von Rekowski, K. The Impact of Integrin-Mediated Matrix Adhesion on Cisplatin resistance of W1 Ovarian Cancer / K. Wantoch von Rekowski, P. König, S. Henze et al.

// Cells. Biomolecules. – 2019. – N.9. – P. 788.

241. Baltes, F.  $\beta$  (1)-Integrin binding to collagen type 1 transmits breast cancer cells into chemoresistance by activating ABC efflux transporters. / F. Baltes, V. Pfeifer, K. Silbermann et al. // Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res. – 2020. – 1867:118663.

242. Rodriguez, J.A. HLA-mediated tumor escape mechanisms that may impair immunotherapy clinical outcomes via T-cell activation / J.A. Rodriguez // Oncol. Lett. – 2017. – N 14. – P. 4415 – 4427.

243. Haen, S.P. Towards new horizons: Characterization, classification and implications of the tumour antigenic repertoire / S.P. Haen, M.W. Loffler, H.G. Rammensee et al. // Nat. Rev. Clin. Oncol. – 2020. – V. 17. – P. 595 – 610.

244. Ohno, A. Tumor-infiltrating lymphocytes predict survival outcomes in patients with cervical cancer treated with concurrent chemoradiotherapy / A. Ohno, T. Iwata, Y. Katoh // Gynecol Oncol. – 2020. – V. 159, N 2. – P. 329–334.

245. Sobral-Leite, M. Assessment of PD-L1 expression across breast cancer molecular subtypes, in relation to mutation rate, BRCA1-like status, tumor-infiltrating immune cells and survival / M. Sobral-Leite, K. Van de Vijver, M. Michaut et al. // Oncoimmunology. – 2018. – V. 7, N 12. – e1509820.

246. Webb, E.S. Immune checkpoint inhibitors in cancer therapy / E.S. Webb, P. Liu, R. Baleeiro et al. // J. Biomed. Res. – 2018. – N 32. – P. 317–326.

247. Kametani, Y. Humanized mice as an effective evaluation system for peptide vaccines and immune checkpoint inhibitors / Y. Kametani, Y. Ohno, S. Ohshima // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – N 20. – P. 6337.

248. Ashizawa, T. Antitumor Effect of Programmed death-1 (PD-1) blockade in humanized the NOG-MHC double knockout mouse / T. Ashizawa, A. Iizuka, C. Nonomura et al. // Clin. Cancer Res. – 2017. – V. 23. – P. 149–158.

249. Rodig, S.J. MHC proteins confer differential sensitivity to CTLA-4 and PD-1 blockade in untreated metastatic melanoma / S.J. Rodig, D. Gusenleitner, D. Jackson et al. // Sci. Transl. Med. – 2018. – N 10. – P. 35–40.

250. Tegeler, C.M. HLA-DR Presentation of the tumor antigen MSLN associates with clinical outcome of ovarian cancer patients / C.M. Tegeler, J. Scheid, H.G. Rammensee et al. // Cancers (Basel). – 2022. – V. 14, N 9. – P. 2260.

251. Chen, R. Correlation between subsets of tumor-infiltrating immune cells and risk stratification in patients with cervical cancer / R. Chen, Y. Gong, D. Zou et al. // PeerJ. – 2019. – N 7. – P. e7804.

252. Palaia, I. Response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced cervical cancer: The role of immune-related factors / I. Palaia, F. Tomao, A.D.I Pinto // *In Vivo*. – 2021. – V. 35, N 2. – P. 1277–1283.
253. Артамонова Е.В. Роль иммунофенотипирования опухолевых клеток в диагностике и прогнозе рака молочной железы. Автореф. дисс. ... докт. мед. наук., Москва, 47 С., 2003.
254. Qiu, X. Micellar paclitaxel boosts ICD and chemo-immunotherapy of metastatic triple negative breast cancer / X. Qiu, Y. Qu, B. Guo et al. // *J Control Release* – 2022. – V. 341. – P. 498-510.
255. Maeda, T. MUC1-C induces PD-L1 and immune evasion in triple-negative breast cancer. / T. Maeda, M. Hiraki, C. Jin // *Cancer Res.* – 2018. – V. 78, N 1. – P. 205–215.
256. Yamashita, N. MUC1-C integrates activation of the IFN- $\gamma$  pathway with suppression of the tumor immune microenvironment in triple-negative breast cancer / N. Yamashita, M. Long, A. Fushimi // *J Immunother Cancer*. – 2021. – V. 9, N 1. – P. e002115
257. Mohammed, Z.M. The relationship between components of tumour inflammatory cell infiltrate and clinicopathological factors and survival in patients with primary operable invasive ductal breast cancer / Z.M. Mohammed, J.J. Going, J. Edwards et al. // *Br J Cancer*. – 2012. – V. 107. – P. 864 – 73.
258. Yazaki, S. Integrative prognostic analysis of tumor-infiltrating lymphocytes, CD8, CD20, programmed cell death-ligand 1, and tertiary lymphoid structures in patients with early-stage triple-negative breast cancer who did not receive adjuvant chemotherapy / S. Yazaki, T. Shimoi, M. Yoshida et al. // *Breast Cancer Res Treat.* – 2023. – V. 197. – P. 287 – 297.
259. Morand, S. Ovarian cancer immunotherapy and personalized medicine / S. Morand, M. Devanaboyina, H. Staats et al. // *Int J Mol Sci.* – 2021. – V. 22, N 12. – P. 6532.
260. Крохина, О.В. Иммуноцитологическая диагностика микрометастазов рака молочной железы в костный мозг / О.В. Крохина // *Иммунология гемопоэза*. – 2007. – Т. 2, № 4. – С. 116–132.
261. Тупицын, Н.Н. Роль костного мозга в прогнозе диффузной В-крупноклеточной лимфомы / Н.Н. Тупицын, П.А. Зейналова, М.А. Френкель и др. // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. – 2015. – № 4. – С. 40–47.
262. Тупицын, Н.Н. Роль костного мозга в прогнозе фолликулярной лимфомы / Н.Н. Тупицын, Н.А. Фалалеева, А.В. Моженкова и др. // *Российский биотерапевтический журнал*. – 2016. – Т. 15, № 3. – С. 99–102.
263. Фалалеева, Н.А. Особенности эритропоэза больных фолликулярной лимфомой /

Н.А. Фалалеева, А.В. Моженкова, Е.А. Османов и др. // Вестник ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» – 2016. – № 3. – С. 35 – 38.

263. Горбунова, Т.В. Сравнительный анализ субпопуляционного состава лимфоцитов костного мозга у детей при мелкоклеточных саркомах / Т.В. Горбунова, В.Г. Поляков, И.Н. Серебрякова и др. // Иммунология. – 2012. – Т. 33, № 1. – С. 37 – 44.

264. Steven, A. Invited review series: lung cancer practice, implementing evidence from around the world / A. Steven, S.A. Fischer, B.W. Robinson // *Respirology*. – 2016. – V. 21. – P. 821–833.

265. Buchan, S. OX40- and CD27-mediated costimulation synergizes with anti-PD-L1 blockade by forcing exhausted CD81 T cells to exit quiescence / S. Buchan, T. Manzo, B. Flutter et al. // *J Immunol*. – 2015. – V. 194, N 1. – P. 125 – 133.

266. Меньшенина, А.П. Иммунный статус больных раком шейки матки при лечении с применением дендритно-клеточной вакцинации / А.П. Меньшенина, Е.Ю. Златник, Т.И. Моисеенко // *Современные проблемы науки и образования*. – 2018. – № 6. – С. 16 – 18.