

УДК 616.5-006.81-091.8:612.112.95

Я. А. Божченко, Я. В. Вишневецкая, И. А. Покатаев, Л. В. Демидов
**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ
И ИХ СООТНОШЕНИЙ В УЧАСТКАХ ЧАСТИЧНОЙ СПОНТАННОЙ
РЕГРЕССИИ И В ПЕРИТУМОРАЛЬНОЙ ЛИМФОЦИТАРНОЙ
ИНФИЛЬТРАЦИИ В ПЕРВИЧНОЙ МЕЛАНОМЕ КОЖИ**

Российский онкологический научный центр имени Н. Н. Блохина, г. Москва, Российская Федерация

Y. A. Bozhchenko, Y. V. Vishnevskaya, I. A. Pokataev, L. V. Demidov
**THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF LYMPHOCYTES
SUBPOPULATIONS AND THEIR RATIOS IN SITES OF PARTIAL
SPONTANEOUS REGRESSION AND IN A PERITUMORALNY LYMPHOCYTIC
INFILTRATION IN PRIMARY SKIN MELANOMA**

N.N Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation

Резюме. Способность меланомы кожи (МК) к регрессии или прогрессии во многом обусловлена взаимодействием клеток опухоли и системы локального иммунитета. **Цель.** Изучение субпопуляций лимфоцитов с подсчетом их абсолютных средних значений и соотношений в лимфоидном инфильтрате в участках частичной спонтанной регрессии первичной меланомы кожи (ПМК) и в области перитуморальной лимфоцитарной инфильтрации опухоли (ПЛИО). **Материалы и методы.** На гистологическом материале от 277 больных МК проведено иммуногистохимическое исследование субпопуляций CD45, CD3, CD8, CD4, CD20, FoxP3 лимфоцитов в лимфоидном инфильтрате в участках частичной спонтанной регрессии ПМК и в участках ПЛИО. **Результаты.** В области частичной спонтанной регрессии наблюдались более высокие по сравнению с ПЛИО абсолютные средние значения таких субпопуляций лимфоцитов как: CD45, CD3, CD8. В участках регрессии ПМК и участках ПЛИО у больных, у которых не отмечалось прогрессирования заболевания, отмечалось более высокое соотношение CD8/FoxP3 и CD4/FoxP3 Т-лимфоцитов, по сравнению с участками ПЛИО у больных, у которых отмечалось прогрессирование заболевания. При этом соотношение CD8/CD4 Т-лимфоцитов было практически одинаковым как в участках регрессии ПМК, так и в участках ПЛИО. **Заключение.** Полученные данные абсолютных и средних значений субпопуляций иммунных клеток и их соотношений имеют важное клиническое значение и могут быть использованы в дальнейшем для иммунокоррекции в прогностически неблагоприятных группах наблюдения.

Ключевые слова: меланома, регрессия, перитуморальная лимфоцитарная инфильтрация опухоли, CD8+, CD4+, Т-лимфоциты

Abstract. The ability of skin melanoma (SM) to regress, or progression, is largely due to the interaction of tumor cells and the local immunity system. **Aim.** Study of the subpopulations of lymphocytes with the calculation of their absolute mean values and ratios in the lymphoid infiltrate in the areas of partial spontaneous regression of the primary melanoma of the skin (PSM) and in the area of peritumoral lymphocytic tumor infiltration (PLTI). **Materials and methods.** Histological material from 277 patients with MK carried out immunohistochemical studies of subpopulations of CD45, CD3, CD8, CD4, CD20, FoxP3 lymphocytes in the lymphoid infiltrate in the sites of partial spontaneous regression of PSM and in the areas of PLTI. **Results.** In the region of partial spontaneous regression, the absolute mean values of such subpopulations of lymphocytes as CD45, CD3, and CD8 were higher in comparison with PLTI. In the regions of regression of PSM and PLTI sites in patients with no progression of the disease, a higher ratio of CD8/FoxP3 and CD4/FoxP3 T-lymphocytes was observed, compared to the sites of PLTI in patients with progression of the disease. At that, the ratio of CD8/CD4 T lymphocytes was almost the same both in the regions of regression of PSM, and in the regions of the PLTI. **Conclusion.** The obtained data of absolute and average values of the subpopulations of immune cells and their ratios are of great clinical importance and can be used further for immunocorrection in prognostically unfavorable observation groups.

Keywords: skin melanoma, tumor regression, tumor-infiltration lymphocytes, CD8+, CD4+, T-lymphocytes

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Божченко Яна Анатольевна
Laody.1981@mail.ru

Contact information of the author responsible for correspondence:

Yana A.Bozhchenko
Laody.1981@mail.ru

Дата поступления 28.02.2017

Received 28.02.2017

Образец для цитирования:

Божченко Я.А., Вишневская Я.В., Покатаев И.А., Демидов Л.В. Сравнительная характеристика субпопуляций лимфоцитов и их соотношений в участках частичной спонтанной регрессии и в перитуморальной лимфоцитарной инфильтрации в первичной меланоме кожи. Вестник уральской медицинской академической науки. 2017, Том 14, №1, с. 40–48, DOI: 10.22138/2500-0918-2017-14-1-40-48

For citation:

Bozhchenko Y.A., Vishnevskaya Y.V., Pokataev I.A., Demidov L.V. The comparative characteristic of lymphocytes subpopulations and their ratios in sites of partial spontaneous regression and in a peritumoral lymphocytic infiltration in primary skin melanoma. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. Journal of Ural Medical Academic Science. 2017, Vol. 14, no. 1, pp. 40–48. DOI: 10.22138/2500-0918-2017-14-1-40-48 [In Russ.]

Введение

Один из уникальных аспектов развития первичной меланомы кожи (ПМК) – ее способность к спонтанной регрессии. Наличие в опухоли двух противоположно текущих процессов регрессии и прогрессии является результатом сложного взаимодействия клеток опухоли и иммунной системы организма [1].

По данным одних исследований, наличие регрессии является неблагоприятным прогностическим признаком заболевания, поскольку искажает исходную толщину ПМК по Бреслоу, являющуюся одним из главных факторов, определяющих исход заболевания. Регрессия ПМК достоверно коррелирует с худшим прогнозом выживаемости больных и с метастазированием в сторожевые лимфатические узлы [2, 3, 4].

По данным других авторов регрессия сочетается с низким риском метастазирования в сторожевые лимфатические узлы [5].

В ряде исследований наличие регрессии ПМК с толщиной опухоли более 1 мм не выявило какой-либо статистически достоверной корреляции с общей и безрецидивной выживаемостью больных, а также с микрометастазами в сторожевые лимфатические узлы. [6, 7, 8].

Цель исследования

Цель настоящей работы — изучение субпопуляций лимфоцитов с подсчетом их абсолютных средних значений и соотношений в лимфоидном инфильтрате в участках частичной спонтанной регрессии ПМК и в области перитуморальной лимфоцитарной инфильтрации опухоли (ПЛИО).

Материалы и методы

Исследование было выполнено на гистологическом материале от 277 больных с диагнозом МК, оперированных в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» МЗРФ за период 2003–2007 гг. Диагноз МК был подтвержден данными гистологического исследования препаратов, по которым также оценивалось наличие признаков частичной спонтанной регрессии в ПМК (рис. 1А) и ПЛИО (рис. 1Б).

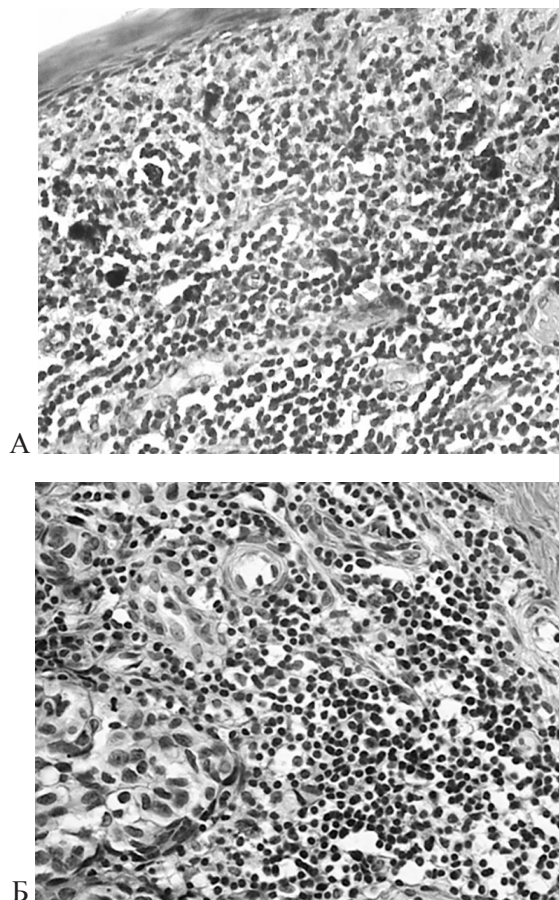


Рисунок 1. А. Участок частичной спонтанной регрессии ПМК: отсутствие опухолевых клеток, выраженная лимфоцитарная инфильтрация, наличие меланофагов, ангиоматоз (окраска г-э, ×10). Б. Участок ПЛИО: наличие гнезд более крупных опухолевых клеток, окруженных мелкими лимфоидными клетками (окраска г-э, ×10).

Figure 1. A. The site of partial spontaneous regression of PSM: the absence of tumor cells, pronounced lymphocytic infiltration, the presence of melanophages, angiomatosis (staining of g-e, ×10). B. PLTI site: the presence of nests of larger tumor cells surrounded by small lymphoid cells (staining of g-e, ×10).

Для иммуногистохимического исследования был использован архивный материал отдела патологической анатомии опухолей человека ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН — парафиновые блоки операционного материала первичной МК. Иммуногистохимическое исследование выполнялось на серийных депарафинизированных срезах опухолевой ткани с помощью биотин-стрептавидинового иммунопероксидазного метода с моноклональными антителами, перечень которых представлен в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика использованных в исследовании моноклональных антител

Table 1

The characteristic of the monoclonal antibodies used in a research

Антиген	Антитело (клон)	Фирма	Титр	Функции белка
CD45	2B11+PD7/26	DAKO	1:70	Маркер Т- и В-лимфоцитов
CD3	F7.2.38	DAKO	1:140	Активированные Т-лимфоциты
CD8	C8/144B	DAKO	1:100	Цитотоксические Т-лимфоциты
CD4	4B12	DAKO	2:70	Т-хелперы
CD20	L26	DAKO	1:400	В-лимфоциты
FoxP3	22510b	ABCAM	1:2RTU	Регуляторные Т-лимфоциты

Срезы толщиной 3–5 мкм депарафинизировали и регидратировали по стандартной схеме. Для демаскировки антигенов проводили предварительную обработку депарафинизированных срезов в водяной бане при температуре 95°C в течение 40 мин с использованием цитратного буфера pH 6,0 (Dako). Срезы инкубировали с первичными антителами в течение 1 часа при комнатной температуре. В качестве вторичных антител и пероксидазного комплекса использовали стандартный набор реагентов LSAB+ Kit или систему детекции SuperSensitive™ Polymer-HRP («BioGenex»). Для визуализации реакции применялся раствор диаминобензидина DAB+ (Dako). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера (Рис. 2).

Производили подсчет положительно окрашенных лимфоцитов по всему периметру опухоли отдельно в участках ПЛИО и в участках частичной спонтанной регрессии, на увеличении 40. Вычисляли среднее количество положительно окрашенных клеток на 1 поле зрения, а также соотношение субпопуляций лимфоцитов путем деления их средних значений [9].

Статистическую обработку материалов проводили с использованием программ Microsoft Excel, Statistica software release 8.0 (StatSoftInc), за величину уровня статистической значимости принимали $p < 0,05$.

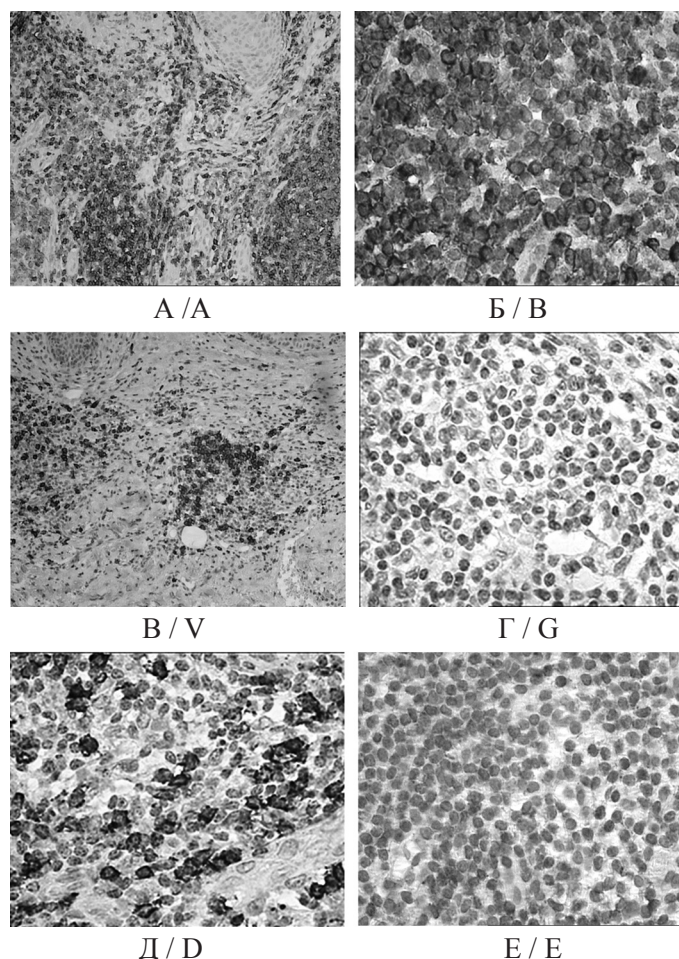


Рисунок 2. Иммуногистохимическое исследование лимфоцитарной инфильтрации при меланоме кожи. А. С антителами к CD45 лимфоцитам (×20), Б. С антителами к CD3 лимфоцитам (×40). В. С антителами к CD8 Т-цитотоксическим лимфоцитам (×40), Г. С антителами к CD4 Т-хелперам (×40). Д. С антителами к CD20 В-лимфоцитам (×20), Е. С антителами к FoxP3 Т-регуляторным лимфоцитам (×40).

Figure 2. Immunohistochemical research of lymphocytic infiltration in skin melanoma. A. With antibodies to CD45 lymphocytes (×20), B. With antibodies to CD3 lymphocytes (×40). V. With antibodies to CD8 T-cytotoxic lymphocytes (×40), G. With antibodies to CD4 T-helper cells (×40). D. With antibodies to CD20 b-lymphocytes (×20), E. With antibodies to FoxP3 T-regulatory lymphocytes (×40).

Результаты исследования

В исследование вошло 277 больных с МК. Все больные были разделены на 2 группы наблюдения: первую группу наблюдения составили пациенты с МК, у которых при гистологическом исследовании были выявлены участки частичной спонтанной регрессии первичной опухоли — 53 (19%) случая. Вторую группу наблюдения составили пациенты, у которых гистологическое исследование исключило наличие участков частичной спонтанной регрессии первичной опухоли — 224 (81%) случая. Сравнительная клиническая характеристика больных обеих групп наблюдения представлена в таблице 2.

Таблица 2

Клиническая характеристика больных МК с регрессией и без регрессии ПМК

Table 2

Clinical characteristics of patients with MK with regression and without regression of PSM

Признак		Количество, n (%)		Значение p
		ПМК с регрессией	ПМК без регрессии	
Возраст	Минимум-максимум	33-78	17-98	0,67
	Медиана	53	53,5	
Пол, n (%)	Мужчины	25 (47 %)	88 (39,4 %)	0,37
	Женщины	28 (53 %)	136 (60,6 %)	
Стадия	I	19 (36 %)	43 (19 %)	0,08
	II	29 (55 %)	144 (64, %)	
	III	5 (9 %)	30 (14 %)	
	IV	0	7(3 %)	
Распространенность процесса на момент удаления ПМК, n (%)	Только первичная опухоль	31 (60,8 %)	103 (45,5 %)	0,14
	Первичная опухоль с наличием метастазов	5 (9,4 %)	35 (15,6 %)	

По данным таблицы 2 следует, что средний возраст больных в обеих группах наблюдения составил 53 года. В группе наблюдения с наличием участков частичной спонтанной регрессии ПМК пациенты женского пола незначительно преобладали над пациентами мужского пола и составили 28 (53 %) и 25 (47 %) случаев соответственно, различия между двумя группами статистически незначимы ($p=0,37$). В группе наблюдения без частичной спонтанной регрессии ПМК пациенты женского пола в 1,5 раза преобладали над пациентами мужского пола.

В обеих группах наблюдения наиболее часто первичная МК диагностировалась во II стадии заболевания — 29 (55 %) и 144 (64 %) случаев соответственно. В группе наблюдения с наличием участков частичной спонтанной регрессии ПМК доля пациентов с I стадией заболевания была почти в 2 раза больше, а с III стадией заболевания в 2 раза меньше, чем доля пациентов с соответствующими стадиями заболевания в группе наблюдения без регрессии ПМК. Различия между двумя группами по стадии не достигли статистической значимости ($p=0,08$).

В группе наблюдения с наличием участков частичной спонтанной регрессии ПМК на момент удаления первичной опухоли, метастазы были исключены в 31 (60,8 %) случае, а в группе наблюдения без регрессии ПМК — в 103 (45,5 %) случаях ($p=0,18$). В то же время, наличие гистологически подтвержденных метастазов опухоли на момент удаления ПМК в группе наблюдения с наличием участков частичной спонтанной регрессии ПМК наблюдалось немного реже, чем в группе наблюдения без регрессии ПМК и составило

5 (9,4 %) и 35 (15,6 %) соответственно ($p=0,29$).

Морфологическая характеристика ПМК у пациентов обеих групп наблюдения представлена в таблице 3.

Таблица 3

Морфологические характеристики ПМК с регрессией и без регрессии

Table 3

Morphological characteristics of PSM with regression and without regression

Признак		Количество, n (%)		Значение p
		ПМК с регрессией	ПМК без регрессии	
Тип роста ПМК	Поверхностно-распространяющаяся	21 (40 %)	53 (23,5 %)	<0,0001
	Узловая	14 (26,4 %)	154 (68 %)	
	Смешанная	14 (26,4 %)	17 (7,5 %)	
	Акральнo-лентигинозная	4 (7,2 %)	2 (1 %)	
Толщина ПМК по Бреслоу, n (%)	≤ 1мм	15 (28,2 %)	21 (9 %)	0,0009
	1,1-2мм	10 (19 %)	40 (18 %)	
	2,1-4мм	14 (26,4 %)	60 (27 %)	
	≥ 4,1мм	14 (26,4 %)	103 (46 %)	
Наличие изъязвления ПМК, n (%)	Есть	25 (49 %)	156 (69 %)	0,0034
	Нет	28 (51 %)	68 (31 %)	
Количество митозов в 1 мм ² , n (%)	0	17 (32 %)	39 (17 %)	0,11
	1-3	18 (34 %)	68 (30 %)	
	4-6	3 (6 %)	29 (13 %)	
	7-9	8 (15 %)	30 (13,4 %)	
	≥ 10	7 (13 %)	58 (26 %)	
Перитуморальная инфилтративная инфильтрация ПМК	Слабая	4 (8 %)	91 (41 %)	<0,0001
	Умеренная	15 (28 %)	74 (33 %)	
	Выраженная	34 (64 %)	59 (26 %)	

Из таблицы 3 следует, что у пациентов в группе наблюдения с наличием участков частичной спонтанной регрессии ПМК преобладал поверхностно-распространяющийся тип роста опухоли — 21 (40 %) случай, а в группе наблюдения без регрессии ПМК преобладал узловой тип роста опухоли — 154 (68 %) случая.

МК с толщиной опухоли по Бреслоу ≤1мм в группе наблюдения с наличием участков частичной спон-

танной регрессии ПМК наблюдалась практически в 3 раза чаще, чем в группе наблюдения без регрессии ПМК и составила 15 (28,2%) и 21 (9%) случаев соответственно. В то же время, МК с толщиной опухоли по Бреслоу $\geq 4,1$ мм в группе наблюдения с наличием участков частичной спонтанной регрессии ПМК наблюдалась практически в 2 раза реже, чем в группе наблюдения без регрессии ПМК и составила 14 (26,4%) и 103 (46%) случаев соответственно.

Количество случаев ПМК с изъязвлением и без него, в группе наблюдения с наличием участков частичной спонтанной регрессии было практически равным и составило 25(49%) и 28 (51%) случаев соответственно. В группе наблюдения без регрессии ПМК количество случаев с наличием изъязвления в 2 раза преобладало над количеством случаев ПМК без изъязвления на поверхности опухоли и составило 156 (69%) и 68 (31%) случаев соответственно.

В обеих группах наблюдения распределение всех случаев ПМК по количеству митозов на 1 мм² опухоли было практически одинаковым. Однако, отсутствие митозов в ПМК с наличием частичной спонтанной регрессии отмечалось в 2 раза чаще, чем в группе наблюдения без регрессии ПМК — 17 (32%) и 39 (17%) соответственно. Также, в группе наблюдения с наличием участков частичной спонтанной регрессии ПМК случаи, где было более 10 митозов на 1 мм² встречались 2 раза реже, чем в группе наблюдения без регрессии ПМК и составили 7 (13,7%) и 58 (26%) случаев соответственно.

В группе наблюдения с наличием участков частичной спонтанной регрессии преобладала выраженная перитуморальная лимфоцитарная инфильтрация — 34 (64%) случаев. В группе наблюдения без регрессии чаще наблюдалась слабая перитуморальная лимфоцитарная инфильтрация — 91 (41%) случаев.

В таблице 4 представлены данные по 5-летней общей и безрецидивной выживаемости больных.

Таблица 4

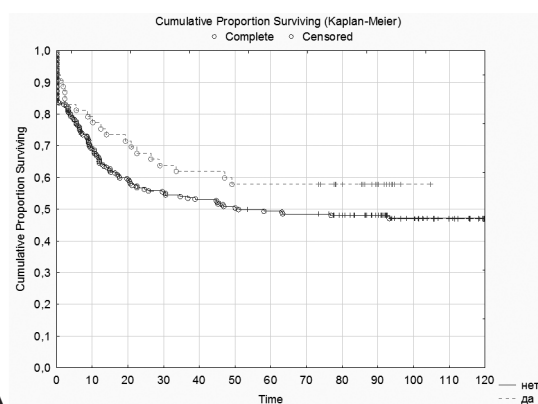
Сравнительная характеристика 5-летней общей и безрецидивной выживаемости больных с ПМК с регрессией и без регрессии

Table 4

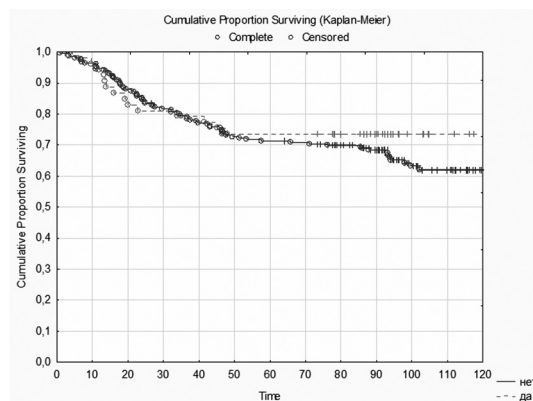
Comparative characteristics of 5-year overall and disease-free survival of patients with PSM with regression and without regression

Признак	ПМК с регрессией	ПМК без регрессии	Значение p
5-летняя выживаемость без прогрессирования, %	30 (56,6 %)	104 (46 %)	0,09
5-летняя общая выживаемость, %	40 (75 %)	153 (68 %)	0,58

Из таблицы 4 следует, что частота прогрессирования, 5-летняя общая и безрецидивная выживаемость больных МК в обеих группах наблюдения не имеет статистически достоверных отличий.



А / А



Б / В

Рисунок 3А. Кривые Каплан-Майера для времени без прогрессирования ($p=0,16$) (ось абсцисс — время продолжительности жизни в месяцах, ось ординат — количество больных). 3Б. Кривые Каплан-Майера для времени продолжительности жизни больных ($p=0,43$) (ось абсцисс — время продолжительности жизни в месяцах, ось ординат — количество больных).

Figure 3A. Kaplan-Meier curves for time without progression ($p=0,16$) (abscissa axis — life time in months, ordinate axis — number of patients). 3B. Kaplan-Meier curves for the life time of patients ($p=0,43$) (abscissa axis — life time in months, ordinate axis — number of patients).

Различия и по времени без прогрессирования, и по продолжительности жизни также не имели статистически значимых отличий в обеих группах наблюдения ($p>0,05$).

Мы провели подсчет средних абсолютных значений субпопуляций лимфоцитов, входящих в состав лимфоидного инфильтрата в участках регрессии ПМК и в участках перитуморальной лимфоцитарной инфильтрации опухоли (ПЛИО). Все больные были разделены на 4 группы наблюдения. В 1 группу наблюдения вошли пациенты, у которых в ПМК отмечалось наличие частичной спонтанной регрессии и в течение 5 лет не наблюдалось признаков прогрессирования заболевания — они составили 31 (11,2%) случай. Во 2 группу наблюдения вошли пациенты у которых в ПМК наблюдалась частичная спонтанная регрессия и в течение 5 лет произошло прогрессирование заболевания в виде появления местных рецидивов и/или появления регионарных или отдаленных метастазов — они составили 22 (8%) случая. В 3 группу наблюде-

ния вошли пациенты, у которых в ПМК не наблюдалось признаков частичной спонтанной регрессии, отмечалось наличие только ПЛИО и в течение 5 лет не произошло прогрессирование заболевания — они составили 109 (39,3%) случаев. В 4 группу наблюдения вошли пациенты, у которых не наблюдалось признаков частичной спонтанной регрессии и в течение 5 лет произошло прогрессирование заболевания в виде появления местных рецидивов и/или появления регионарных или отдаленных метастазов — они составили 115 (41,5%) случаев.

Средние абсолютные значения исследованных популяций лимфоцитов в участках частичной спонтанной регрессии и в участках ПЛИО представлены в таблице 5.

Таблица 5

Абсолютные средние значения субпопуляций лимфоцитов в 4-х группах наблюдения

Table 5

Absolute mean values of lymphocyte subpopulations in 4 observation groups

Маркер лимфоцитов	МК с частичной спонтанной регрессией без прогрессирования (1-я группа)	МК с частичной спонтанной регрессией с прогрессированием (2-я группа)	МК без частичной спонтанной регрессии без прогрессирования (3-я группа)	МК без частичной спонтанной регрессии с прогрессированием (4-я группа)
CD45	315	272	184	209
CD3	257	205	153	140
CD8	145	121	98	86
CD4	95	82	49	59
CD20	45	69	25	51
FoxP3	31	36	22	57

Как следует из таблицы 5, наиболее высокое абсолютное среднее значение CD45 положительно окрашенных лимфоцитов было в 1 группе наблюдения, то есть в участках частичной спонтанной регрессии ПМК у больных, у которых не наблюдалось прогрессирования заболевания, и составило в среднем 315 кл/п.зр. Во 2 группе наблюдения, то есть в участках частичной спонтанной регрессии ПМК у больных, у которых наблюдалось прогрессирование заболевания, среднее количество CD45 положительно окрашенных лимфоцитов было несколько меньше и составило 272 кл/п.зр. В 3 группе наблюдения, то есть в участках ПЛИО у больных, у которых не наблюдалось прогрессирование заболевания, отмечалось наименьшее среднее количество CD45 положительно окрашенных лимфоцитов — 184 кл/п.зр. В 4 группе наблюдения, то есть в участках ПЛИО у больных, у которых наблюдалось прогрессирование заболевания, среднее количество CD45 положительно окрашенных лимфоцитов составило 209 кл/п.зр.

Наиболее высокое абсолютное среднее значение

CD3 положительно окрашенных лимфоцитов было в 1 группе наблюдения и составило в среднем 257 кл/п.зр. Во 2 группе наблюдения данный показатель был несколько меньше и составил 205 кл/п.зр. В 3 группе наблюдения — 153 кл/п.зр. В 4 группе наблюдения отмечалось наименьшее среднее количество CD3 положительно окрашенных лимфоцитов и составило 140 кл/п.зр.

Показатели среднего количества CD8 (цитотоксические Т-лимфоциты) положительно окрашенных лимфоцитов также были максимальными в 1 группе наблюдения — 145 кл/п.зр и минимальными в 4 группе наблюдения — 86 кл/п.зр. Во 2 группе наблюдения данный показатель составил 121 кл/п.зр, в 3 группе наблюдения — 98 кл/п.зр.

Показатели среднего количества CD4 (Т-хелперы) положительно окрашенных лимфоцитов были максимальными в 1 и 2 группах наблюдения — 95 и 82 кл/п.зр соответственно. Минимальные значения данного показателя наблюдались в 3 группе наблюдения — 49 кл/п.зр. В 4 группе наблюдения данный показатель составил 59 кл/п.зр.

Показатели среднего количества CD20 (В-лимфоциты) положительно окрашенных лимфоцитов были максимальными во 2 и 4 группах наблюдения — 69 и 51 кл/п.зр и минимальными в 1 и 3 группах наблюдения — 45 и 25 кл/п.зр.

Максимальное среднее количество FoxP3 (Т-регуляторные лимфоциты) отмечалось в 4 группах наблюдения — 57 кл/п.зр, минимальное в 3 группе наблюдения — 22 кл/п.зр. В 1 и 2 группах наблюдения данный показатель составил — 31 и 36 кл/п.зр.

Данные исследования соотношения субпопуляций лимфоцитов в 4 группах наблюдения представлены в таблице 6.

Таблица 6

Соотношения субпопуляций лимфоцитов в 4-х группах наблюдения

Table 6

Ratio of subpopulations of lymphocytes in 4 observation groups

Соотношение субпопуляций лимфоцитов	МК с частичной спонтанной регрессией без прогрессирования (1-я группа)	МК с частичной спонтанной регрессией с прогрессированием (2-я группа)	МК без частичной спонтанной регрессии без прогрессирования (3-я группа)	МК без частичной спонтанной регрессии с прогрессированием (4-я группа)
CD45/CD3	1,2	1,3	1,2	1,5
CD3/CD20	5,7	2,9	6	2,3
CD8/CD4	1,5	1,5	2	1,4
CD8/FoxP3	4	4,5	4	2
CD4/FoxP3	3	2,3	2,3	1,2

Как следует из таблицы 6, соотношение CD45/CD3 положительно окрашенных лимфоцитов, отражающее соотношение зрелых функционально активных

Т-лимфоцитов к общему числу всех лимфоцитов в лимфоидном инфильтрате, было наиболее низким в 1 и 3 группах наблюдения, то есть у пациентов у которых не наблюдалось прогрессирование заболевания и составило — 1,2. Во 2 группе наблюдения данный показатель составил 1,3. В 4 группе наблюдения соотношение CD45/CD3 положительно окрашенных лимфоцитов было наибольшим и составило 1,5.

Соотношение CD3/CD20 положительно окрашенных лимфоцитов, отражающее соотношение Т- и В-лимфоцитов в лимфоидном инфильтрате, было максимальным в 1 и 3 группах наблюдения, то есть у пациентов у которых не наблюдалось прогрессирование заболевания и составило 5,6 и 6 соответственно. Минимальные значения данного показателя отмечались во 2 и 4 группах наблюдения, то есть у пациентов у которых наблюдалось прогрессирование заболевания и составило — 2,9 и 2,3 соответственно.

Соотношение CD8/CD4 положительно окрашенных лимфоцитов, отражающее соотношение цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-хелперов в лимфоидном инфильтрате, было максимальным в 3 группе наблюдения и составило 2. В 1 и 3 группах наблюдения данный показатель был равен 1,5. Наименьшие значения данного соотношения были выявлены в 4 группе наблюдения.

Соотношение CD8/FoxP3 положительно окрашенных лимфоцитов, отражающее соотношение цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-регуляторных лимфоцитов в лимфоидном инфильтрате, было минимальным в 4 группе наблюдения и составило 2. В остальных группах наблюдения данный показатель был равен 4–4,5.

Обсуждение результатов исследования

По данным ряда зарубежных исследований, частичная спонтанная регрессия в ПМК встречается от 10 до 35% случаев [6, 10, 11]. В нашем исследовании случаи частичной спонтанной регрессии ПМК составили 19% от общего числа больных МК. Частичная спонтанная регрессия практически с одинаковой частотой встречалась у пациентов как женского, так и мужского пола (53 и 47% соответственно). В то же время в группе больных МК без регрессии пациенты женского пола в 1,5 раза преобладали над пациентами мужского пола.

Частичная спонтанная регрессия наиболее часто встречалась в ПМК с поверхностно-распространяющимся типом роста, толщиной опухоли по Бреслоу менее 1 мм, отсутствием митозов и сочеталась с выраженной ПЛИО. В то же время ПМК без регрессии чаще сочеталась с такими гистологическими параметрами, как: узловой тип роста опухоли, толщина опухоли по Бреслоу более 4 мм, слабая ПЛИО, митотический индекс более 10 митозов/10 п. зр и наличие изъязвления.

Пятилетилетняя общая и безрецидивная выживаемость, время общей и безрецидивной продолжительности жизни больных с наличием спонтанной частичной регрессии ПМК и у больных с ее отсутствием не

имели статистически достоверных различий.

Исследование абсолютного среднего количества различных субпопуляций лимфоцитов в области частичной спонтанной регрессии показало более высокие по сравнению с ПЛИО абсолютные средние значения таких субпопуляций лимфоцитов, как: CD45, CD3, CD8. Кроме того, средние абсолютные значения данных субпопуляций лимфоцитов у пациентов без прогрессирования заболевания (1 и 3 группы) были выше, чем у пациентов у которых наблюдалось прогрессирование заболевания (2 и 4 группы).

Данные литературы говорят о значительном повышении CD4 лимфоцитов в участках регрессии ПМК [12]. В нашем исследовании среднее количество CD4 Т-лимфоцитов в участках регрессии практически в 2 раза было выше, чем в участках ПЛИО.

Абсолютные средние значения FoxP3 Т-регуляторных лимфоцитов в участках регрессии у больных как с прогрессированием заболевания, так и без прогрессирования, были одинаковыми — 31 и 36 клеток/п.зр. Однако, в участках ПЛИО у больных без прогрессирования заболевания данный показатель имел меньшие значения (22 кл/п.зр), в то время как в участках ПЛИО у больных с прогрессированием заболевания количество FoxP3 Т-регуляторных лимфоцитов было гораздо большим по сравнению с участками регрессии (57 кл/п.зр).

В участках регрессии ПМК и участках ПЛИО у больных, у которых не отмечалось прогрессирования заболевания, отмечается более высокое соотношение CD8/FoxP3 и CD4/FoxP3 Т-лимфоцитов, по сравнению с участками ПЛИО у больных, у которых отмечалось прогрессирование заболевания. При этом соотношение CD8/CD4 Т-лимфоцитов было практически одинаковым во всех 4 группах наблюдения.

Заключение

Наряду с основными клинико-морфологическими характеристиками меланомы кожи данные абсолютных средних значений субпопуляций иммунных клеток и их соотношений имеют важное клиническое значение и могут быть использованы в дальнейшем для иммунокоррекции в прогностически неблагоприятных группах наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zurac S., Negroiu G., Petrescu S., Andrei R., Tebeica T., Popp C., Mustăță R. Spectrum of morphologic alterations of regression in cutaneous melanoma-potential for improving disease prognosis. *Rom J. Intern. Med.* 2012; 50(2):145-53.
2. Cintolo J.A., Gimotty P., Blair A., Guerry D., Elder D.E., Hammond R., Elenitsas R., Xu X., Fraker D., Schuchter L.M., Czerniecki B.J., Karakousis G. Local immune response predicts survival in patients with thick (t4) melanomas. *Ann. Surg. Oncol.* 2013; 20(11):3610-7. DOI: 10.1245/s10434-013-3086-3.
3. Maurichi A., Miceli R., Camerini T., Mariani L., Patuzzo R., Ruggeri R., Gallino G. Prediction of survival in patients with thin melanoma: results from a multi-institution study. *J. Clin. Oncol.* 2014; 32(23):2479-85. DOI: 10.1200/JCO.2013.54.2340.
4. Martires K.J., Barnholtz-Sloan J.S., Bordeaux J.S. A call for consistent reporting of regression in melanoma. *Arch. Dermatol.* 2012;148(9):1081-3. DOI: 10.1001.
5. Ribero S., Osella-Abate S., Sanlorenzo M., Savoia P., Astrua C., Cavaliere G., Tomasini C., Senetta R., Macripò G., Bernengo M.G., Quaglini P. Favourable prognostic role of regression of primary melanoma in AJCC stage I-II patients. *Br. J. Dermatol.* 2013;169(6):1240-5. DOI: 10.1111.
6. Tas F., Erturk K. Presence of histological regression as a prognostic factor in cutaneous melanoma patients. *Melanoma Res.* 2016 Jul 1. [Epub ahead of print]. DOI:10.1097/CMR.0000000000000277
7. Burton A.L., Gilbert J., Farmer R.W., Stromberg A.J., Hagendoorn L., Ross M.I., Martin R.C., Mc Masters K.M., Scoggins C.R., Callender G.G. Regression does not predict nodal metastasis or survival in patients with cutaneous melanoma. *Am Surg.* 2011;77(8):1009-13.
8. Botella-Estrada R., Traves V., Requena C., Guillen-Barona C., Nagore E. Correlation of histologic regression in primary melanoma with sentinel node status. *JAMA Dermatol.* 2014;150(8):828-35. DOI: 10.1001/jamadermatol.2013.9856
9. Hussein M.R., Elers D.A., Fadel S.A., Omar M.A. Immunohistological characterisation of tumour infiltrating lymphocytes in melanocytic skin lesions. *J ClinPathol.* 2006; 59(3): 316–324.
10. Ribero S., Moscarella E., Ferrara G., Piana S., Argenziano G., Longo C. Regression in cutaneous melanoma: a comprehensive review from diagnosis to prognosis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2016; 12. DOI: 10.1111/jdv.13815. [Epub ahead of print].
11. McClain S.E., Shada A.L., Barry M., Patterson J.W., Slingluff C.L. Jr. Outcome of sentinel lymph node biopsy and prognostic implications of regression in thin malignant melanoma. *Melanoma Res.* 2012; 22(4):302-9. DOI: 10.1097/CMR.0b013e328353e673.
12. Botella-Estrada R., Kutzner H. Study of the Immunophenotype of the Inflammatory Cells in Melanomas With Regression and Halo Nevi. *Am. J. Dermatopathol.* 2015; 37:376–380. DOI: 10.1097/DAD.0000000000000205.

REFERENCES

1. Zurac S., Negroiu G., Petrescu S., Andrei R., Tebeica T., Popp C., Mustăță R. Spectrum of morphologic alterations of regression in cutaneous melanoma--potential for improving disease prognosis. *Rom J. Intern. Med.* 2012; 50(2):145-53.
2. Cintolo J.A., Gimotty P., Blair A., Guerry D., Elder D.E., Hammond R., Elenitsas R., Xu X., Fraker D., Schuchter L.M., Czerniecki B.J., Karakousis G. Local immune response predicts survival in patients with thick (t4) melanomas. *Ann. Surg. Oncol.* 2013; 20(11):3610-7. DOI: 10.1245/s10434-013-3086-3.
3. Maurichi A., Miceli R., Camerini T., Mariani L., Patuzzo R., Ruggeri R., Gallino G. Prediction of survival in patients with thin melanoma: results from a multi-institution study. *J. Clin. Oncol.* 2014; 32(23): 2479-85. DOI: 10.1200/JCO.2013.54.2340.
4. Martires K.J., Barnholtz-Sloan J.S., Bordeaux J.S. A call for consistent reporting of regression in melanoma. *Arch. Dermatol.* 2012;148(9):1081-3. DOI: 10.1001.
5. Ribero S., Osella-Abate S., Sanlorenzo M., Savoia P., Astrua C., Cavaliere G., Tomasini C., Senetta R., Macripò G., Bernengo M.G., Quaglini P. Favourable prognostic role of regression of primary melanoma in AJCC stage I-II patients. *Br. J. Dermatol.* 2013;169(6):1240-5. DOI: 10.1111.
6. Tas F., Erturk K. Presence of histological regression as a prognostic factor in cutaneous melanoma patients. *Melanoma Res.* 2016 Jul 1. [Epub ahead of print]. DOI:10.1097/CMR.0000000000000277
7. Burton A.L., Gilbert J., Farmer R.W., Stromberg A.J., Hagendoorn L., Ross M.I., Martin R.C., McMasters K.M., Scoggins C.R., Callender G.G. Regression does not predict nodal metastasis or survival in patients with cutaneous melanoma. *Am Surg.* 2011;77(8):1009-13.
8. Botella-Estrada R., Traves V., Requena C., Guillen-Barona C., Nagore E. Correlation of histologic regression in primary melanoma with sentinel node status. *JAMA Dermatol.* 2014;150(8):828-35. DOI: 10.1001/jamadermatol.2013.9856
9. Hussein M.R., Elers D.A., Fadel S.A., Omar M.A. Immunohistological characterisation of tumour infiltrating lymphocytes in melanocytic skin lesions. *J ClinPathol.* 2006; 59(3): 316–324.
10. Ribero S., Moscarella E., Ferrara G., Piana S., Argenziano G., Longo C. Regression in cutaneous melanoma: a comprehensive review from diagnosis to prognosis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2016; 12. DOI: 10.1111/jdv.13815. [Epub ahead of print].
11. McClain S.E., Shada A.L., Barry M., Patterson J.W., Slingluff C.L. Jr. Outcome of sentinel lymph node biopsy and prognostic implications of regression in thin malignant melanoma. *Melanoma Res.* 2012; 22(4):302-9. DOI: 10.1097/CMR.0b013e328353e673.
12. Botella-Estrada R., Kutzner H. Study of the Immunophenotype of the Inflammatory Cells in Melanomas With Regression and Halo Nevi. *Am. J. Dermatopathol.* 2015; 37:376–380. DOI: 10.1097/DAD.0000000000000205.

Авторы

Божченко Яна Анатольевна

Аспирант, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения патологической анатомии опухолей человека

Laody.1981@mail.ru

Вишневская Яна Владимировна

РОНЦ им. Н.Н. Блохина, г. Москва, Россия

Кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения патологической анатомии опухолей человека, yana_vishn@list.ru

Покатаев Илья Анатольевич

Кандидат медицинских наук, врач-химиотерапевт отделения клинической фармакологии и химиотерапии pokia@mail.ru

Демидов Лев Вадимович

Профессор, доктор медицинских наук, заведующий отделением биотерапии опухолей demidov.lev@gmail.com

Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина

Российская Федерация, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23

Authors

Yana A. Bozhchenko

Post-graduate student, Pathologist of Department of Pathological Anatomy of Human Tumors
Laody.1981@mail.ru

Yana V. Vishnevskaya

Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Pathologist
Department of Pathological Anatomy of Human Tumors
yana_vishn@list.ru

Ilya A. Pokataev

Cand. Sci. (Med.), Doctor Chemotherapist Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy
pokia@mail.ru

Lev V. Demidov

Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Department of Biotherapy of Tumor
demidov.lev@gmail.com

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center

Kashirskoye sh., 23, Moscow, Russian Federation, 115478