

## ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

## LYMPHOID TUMORS

### CD20-позитивные В-лимфоциты в реактивном микроокружении опухоли как независимый иммуногистохимический фактор прогноза при нодулярном склерозе классической лимфомы Ходжкина

### CD20-Positive B-Lymphocytes in the Reactive Tumor Microenvironment as an Independent Immunohistochemical Prognostic Factor in Nodular Sclerosis Classical Hodgkin Lymphoma

*М.С. Минаев<sup>1</sup>, Е.А. Перфилова<sup>1</sup>, Д.А. Дьяконов<sup>1</sup>, В.А. Росин<sup>1</sup>, Н.В. Минаева<sup>1</sup>, Е.В. Ванеева<sup>1</sup>, Т.В. Чагорова<sup>2</sup>, И.В. Парамонов<sup>1</sup>, В.О. Саржевский<sup>3</sup>, Д.М. Коновалов<sup>4</sup>*

*MS Minaev<sup>1</sup>, EA Perfilova<sup>1</sup>, DA D'yakonov<sup>1</sup>, VA Rosin<sup>1</sup>, NV Minaeva<sup>1</sup>, EV Vaneeva<sup>1</sup>, TV Chagorova<sup>2</sup>, IV Paramonov<sup>1</sup>, VO Sarzhevskii<sup>3</sup>, DM Konovalov<sup>4</sup>*

<sup>1</sup> ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА», ул. Красноармейская, д. 72, Киров, Российская Федерация, 610027

<sup>1</sup> Kirov Research Institute of Hematology and Transfusiology, 72 Krasnoarmeiskaya ul., Kirov, Russian Federation, 610027

<sup>2</sup> ГБУЗ «Областной онкологический диспансер», пр-т Строителей, д. 37А, Пенза, Российская Федерация, 440071

<sup>2</sup> Regional Oncology Dispensary, 37A Stroitelei pr-t, Penza, Russian Federation, 440071

<sup>3</sup> ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ул. Нижняя Первомайская, д. 70, Москва, Российская Федерация, 105203

<sup>3</sup> NI Pirogov National Medical and Surgical Center, 70 Nizhnyaya Pervomaiskaya ul., Moscow, Russian Federation, 105203

<sup>4</sup> ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, ул. Саморы Машела, д. 1, Москва, Российская Федерация, 117997

<sup>4</sup> Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, 1 Samory Mashela ul., Moscow, Russian Federation, 117997

#### РЕФЕРАТ

**Цель.** Оценить прогностическое значение CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли по гистологическим препаратам лимфатических узлов у пациентов с нодулярным склерозом классической лимфомы Ходжкина (кЛХ).

**Материалы и методы.** Исследованы архивные образцы (парафиновые блоки, кассеты) лимфатических узлов 71 пациента с впервые диагностированной кЛХ, вариант с нодулярным склерозом. Выполнена морфометрическая оценка CD20-позитивных клеток реактивного микроокружения с применением иммуногистохимических методов. Оценивалось 20 полей зрения в каждом образце биоптата лимфатического узла с подсчетом среднего относительного числа CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли. Подсчет В-клеток осуществлялся методом двойного слепого анализа. Больные были в возрасте 18–77 лет (медиана 35 лет); женщин было 37, мужчин — 34. Согласно первичной медицинской документации, 11 (15,5 %) пациентов получали лечение в первой линии по протоколу ABVD, 60 (84,5 %) — по протоколу BEACOPP-14 (EACOPP-14) либо BEACOPPesc.

**Результаты.** Сниженное число CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли выступает как независимый фактор неблагоприятного прогноза у пациентов с нодулярным склерозом кЛХ. Именно у этой категории больных отмечаются худшие показатели бесобытийной выживаемости (БСВ). Медиана БСВ в группе

#### ABSTRACT

**Aim.** To assess the prognostic value of CD20-positive B-lymphocytes in the reactive tumor microenvironment using histological specimens of lymph nodes from patients with nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma (cHL).

**Materials & Methods.** The analysis focused on archival samples (paraffin blocks and cassettes) of lymph nodes from 71 patients with newly diagnosed cHL, nodular sclerosis type. Immunohistochemical methods were used for morphometric assessment of CD20-positive cells in the tumor microenvironment. In each lymph node biopsy sample, 20 fields of view were analyzed for the mean relative count of CD20-positive B-lymphocytes in the reactive tumor microenvironment. The B-cell count was determined by the double-blind method. Patients were aged 18–77 years (median 35 years); there were 37 women and 34 men. Based on the primary medical documentation, 11 (15.5 %) patients received ABVD as first-line therapy and 60 (84.5 %) patients were treated with BEACOPP-14 (EACOPP-14) or BEACOPPesc regimens.

**Results.** A low count of CD20-positive B-lymphocytes in the reactive tumor microenvironment is regarded as an independent factor of poor prognosis in patients with nodular sclerosis cHL. This is the category of patients who show worse event-free survival (EFS) rates. In the cohort with the subthreshold count of CD20-positive B-lymphocytes in the reactive microenvironment, the median EFS was 38 months, whereas in the cohort with the above-threshold count it was not reached.

с подпороговым числом CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном микроокружении составила 38 мес., а в группе с надпороговым числом она не достигнута.

**Заключение.** Полученные в настоящем исследовании данные указывают на необходимость оценки относительного числа CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли у пациентов с нодулярным склерозом КЛХ еще на этапе первичной диагностики опухоли. Есть все основания полагать, что включение этого иммуногистохимического параметра в существующие прогностические модели именно у данной категории пациентов вполне оправдано.

**Ключевые слова:** классическая лимфома Ходжкина, нодулярный склероз, реактивное микроокружение опухоли, CD20, В-лимфоциты, прогноз.

**Получено:** 4 сентября 2023 г.

**Принято в печать:** 10 марта 2024 г.

*Для переписки:* Максим Сергеевич Минаев, ул. Красноармейская, д. 72, Киров, Российская Федерация, 610027; тел.: +7(919)503-03-42; e-mail: minayko@gmail.com

*Для цитирования:* Минаев М.С., Перфилова Е.А., Дьяконов Д.А. и др. CD20-позитивные В-лимфоциты в реактивном микроокружении опухоли как независимый иммуногистохимический фактор прогноза при нодулярном склерозе классической лимфомы Ходжкина. Клиническая онкогематология. 2024;17(2):166–72.

DOI: 10.21320/2500-2139-2024-17-2-166-172

**Conclusion.** The results of this study demonstrate the need to assess the relative count of CD20-positive B-lymphocytes in the reactive tumor microenvironment in patients with nodular sclerosis cHL at the primary diagnosis stage. There is every reason to believe that for this category of patients the incorporation of this immunohistochemical parameter into the existing predictive models is fully justified.

**Keywords:** classical Hodgkin lymphoma, nodular sclerosis, reactive tumor microenvironment, CD20, B-lymphocytes, prognosis.

**Received:** September 4, 2023

**Accepted:** March 10, 2024

*For correspondence:* Maksim Sergeevich Minaev, 72 Krasnoarmeiskaya ul., Kirov, Russian Federation, 610027; Tel.: +7(919)503-03-42; e-mail: minayko@gmail.com

*For citation:* Minaev MS, Perfilova EA, D'yakonov DA, et al. CD20-Positive B-Lymphocytes in the Reactive Tumor Microenvironment as an Independent Immunohistochemical Prognostic Factor in Nodular Sclerosis Classical Hodgkin Lymphoma. Clinical oncohematology. 2024;17(2):166–72. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2024-17-2-166-172

## ВВЕДЕНИЕ

Поиск дополнительных терапевтических мишеней, разработка новых прогностических моделей и критериев стратификации при гематологических злокачественных опухолях в последние десятилетия являются актуальной исследовательской парадигмой. За счет внедрения в практику усовершенствованных методов иммуногистохимического анализа, активного применения молекулярно-генетических и цитогенетических исследований в эпоху иммунотерапии стало возможным более детальное изучение факторов, влияющих на развитие рецидивов, рефрактерности, на механизмы иммунного ответа, способность организма противодействовать опухолевому росту и метастазированию. Один из таких факторов — опухоль-ассоциированное микроокружение и его компоненты [1–3].

Нодулярный склероз — наиболее часто встречающийся гистологический вариант классической лимфомы Ходжкина (КЛХ), который характеризуется своеобразной гистоархитектоникой с образованием фиброзных тяжей, формирующих так называемые нодулы. Морфологический субстрат в подавляющем большинстве наблюдений представлен полиморфным клеточным микроокружением, а относительное содержание опухолевых клеток Ходжкина и Березовского—Рид—Штернберга составляет не более 10 % всей клеточной массы [4–6]. Несмотря на успехи со-

временной противоопухолевой терапии, достаточно часто регистрируются рецидивы и резистентное течение заболевания, на долю которых приходится до 10–30 % случаев [7]. Существующие клинические модели стратификации (GHSG, IPS и др.) и морфологическая система градаций Британской национальной группы по изучению лимфом (BNLI) имеют ограниченную ценность и не позволяют в полной мере прогнозировать течение заболевания у конкретного пациента [8–10]. Это подчеркивает необходимость поиска дополнительных факторов прогноза при КЛХ еще на этапах первичной диагностики.

До настоящего времени активно изучается роль В-лимфоцитов в клеточном микроокружении различных опухолей [11]. Предполагается, что их содержание является важным предиктивным фактором и при гематологических опухолях, включая КЛХ [12–14]. В ряде исследований установлена связь высокого относительного количества CD20-позитивных клеток реактивного микроокружения с благоприятным течением КЛХ и лучшей выживаемостью больных после первой линии лечения по протоколу BEACOPP [15–17]. Однако имеются работы, противоречащие отмеченным выше данным. Опухоль-ассоциированные лимфоциты в части случаев могут приобретать проонкогенные свойства [13, 14, 18]. Благодаря способности опухолевых клеток «рекрутировать» клеточные элементы микроокружения при КЛХ формируется один из наиболее серьезных механизмов резистентности — избегание иммунного надзора и

апоптоза [11]. Так, P. Greaves и соавт. продемонстрировали, что высокая плотность нефоликулярных CD20-позитивных клеток у больных КЛХ связана со снижением показателей выживаемости и неудачами лечения [16].

Таким образом, прогностическое значение клеток реактивного микроокружения при КЛХ изучено недостаточно. В связи с этим количественная оценка CD20-позитивных В-лимфоцитов позволит расширить представления о связи клеток реактивного микроокружения опухоли с характером течения данной болезни.

**Цель настоящего исследования** — оценить прогностическое значение CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли по гистологическим препаратам лимфатических узлов у пациентов с нодулярным склерозом КЛХ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ретроспективном исследовании использованы архивные образцы (парафиновые блоки, кассеты) лимфатических узлов 71 пациента с впервые диагностированной КЛХ, вариант с нодулярным склерозом. Больные наблюдались в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России (Киров) и в ГБУЗ «Областной онкологический диспансер» (Пенза) в период с 2006 по 2020 г. У всех пациентов диагноз пересмотрен с учетом новых требований классификации ВОЗ 2022 г. Больные были в возрасте 18–77 лет (медиана 35 лет); женщин было 37, мужчин — 34. Согласно первичной документации, 11 (15,5 %) пациентов получали лечение в первой линии по протоколу ABVD, 60 (84,5 %) — по протоколу BEACOPP-14 (EACOPP-14) либо BEACOPPesc. Характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Эффективность терапии оценивалась после 2, 4 и 6 циклов химиотерапии. Далее осуществлялся контроль в динамике в рамках диспансерного наблюдения с учетом в т. ч. данных позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ). Полная ремиссия (ПР) — исчезновение всех клинических проявлений заболевания, в т. ч. выявляемых с помощью лабораторных и лучевых методов диагностики, достигнута у 37 больных. Параметр «отсутствие ПР» (см. табл. 1) включал пациентов с частичной ремиссией ( $n = 24$ ), рефрактерностью к лечению ( $n = 7$ ), рецидивами и/или прогрессированием заболевания ( $n = 3$ ).

Для идентификации трансмембранного фосфопротеина CD20 на поверхности лимфоцитов использовали иммуногистохимический метод окрашивания по стандартной методике. Иммуноспецифичность моноклонального антитела CD20 (клон L26, Dako, Германия) выявляли с помощью вторичного антитела, конъюгированного с пероксидазой хрена, входящей в набор реактивов EnVISION+ (Dako, Германия). Морфологическую оценку и подсчет относительного числа CD20-позитивных В-лимфоцитов выполняли визуально способом двойного слепого анализа с использованием светового микроскопа Leica DM 1000 (Германия) со встроенной фото-/видеокамерой и программным обеспечением анализа изображений ImageScore Color, версия M, с окулярами 10x при объ-

**Таблица 1.** Характеристика пациентов с нодулярным склерозом КЛХ ( $n = 71$ )

Показатель	Число пациентов, $n$ (%)
Пол	
Мужчины	34 (47,9)
Женщины	37 (52,1)
Морфологический тип КЛХ (по BNLI)	
NS I	49 (69,5)
NS II	22 (30,5)
В-симптомы	
Нет	40 (56,4)
Есть	31 (43,6)
Стадия (по Ann Arbor в модификации Cotswold)	
Локализованная	34 (47,9)
Распространенная	37 (52,1)
Протокол химиотерапии 1-й линии	
ABVD	11 (15,5)
BEACOPP-14 (EACOPP-14), BEACOPPesc.	60 (84,5)
Ответ на терапию 1-й линии	
ПР	37 (52,1)
Отсутствие ПР	34 (47,9)

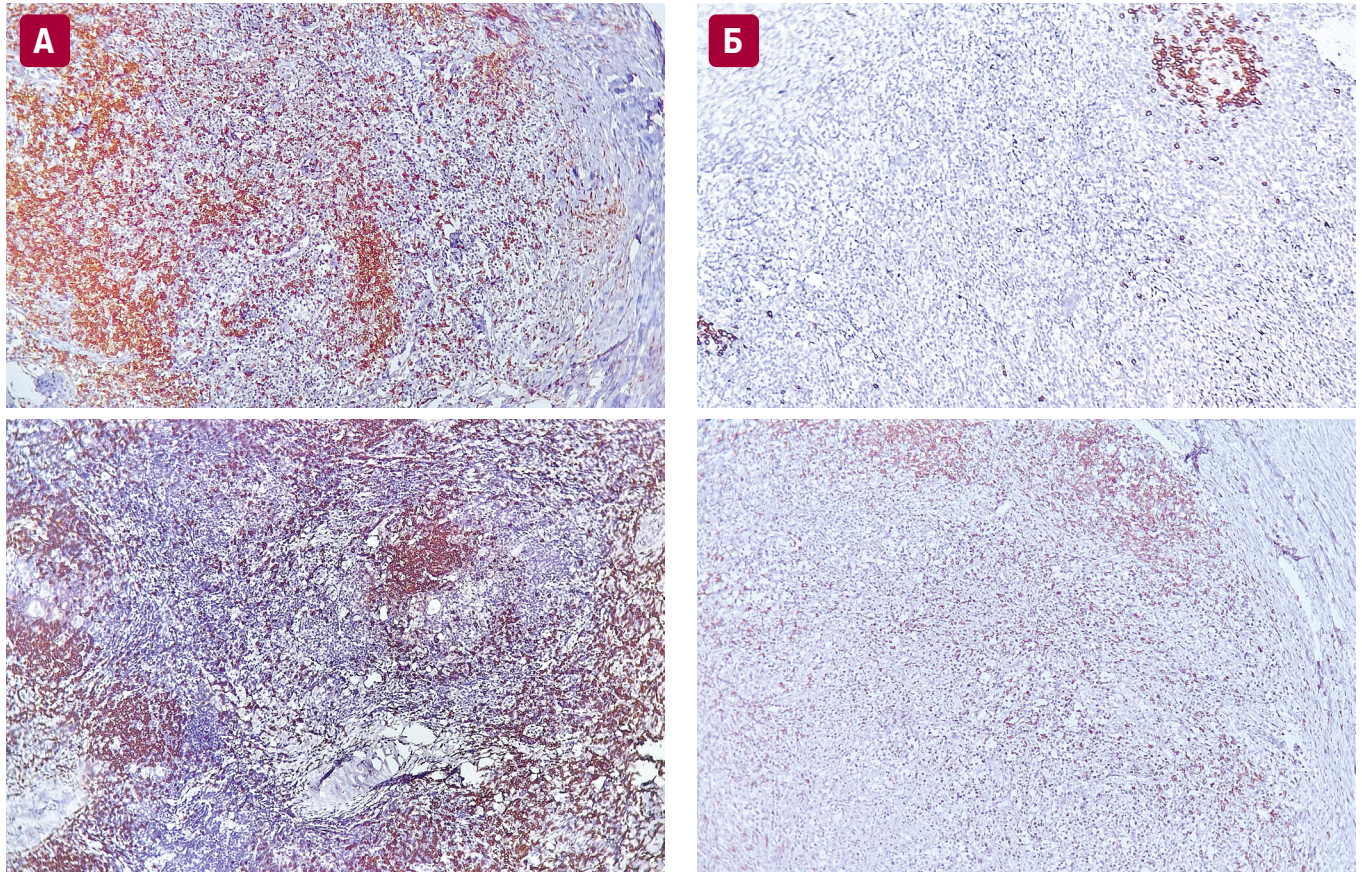
BNLI — Британская национальная группа по изучению лимфом;  
NS — нодулярный склероз; КЛХ — классическая лимфома Ходжкина;  
ПР — полная ремиссия.

ективе 100x. Оценивали 20 полей зрения в каждом образце. Исходя из полученных результатов вычисляли среднее относительное содержание CD20-позитивных В-клеток в исследуемом материале.

Проведение научной работы одобрено местным этическим комитетом (протокол заседания локального этического комитета при ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России № 7 от 17.03.2023 г.).

### Статистический анализ

Статистическую обработку данных, полученных в ходе исследования, проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 26 (разработчик — SPSS: An IBM Company, США) и программы автоматизированного статистического анализа StatTech v3.1 (разработчик — ООО «СТАТТЕХ», Россия). Каждая из сравниваемых совокупностей оценивалась на предмет ее соответствия закону нормального распределения. Для этого использовался критерий Колмогорова—Смирнова, рекомендуемый при числе исследуемых более 60. С помощью ROC-анализа вычисляли прогностически значимый порог экспрессии CD20, группирующей переменной служил ответ на лечение (ПР после первой линии терапии и отсутствие таковой). Оценку частоты дифференцированной экспрессии маркера с клиническими характеристиками больных осуществляли с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона с расчетом значений отношения шансов (ОШ) и 95%-го доверительного интервала (95% ДИ). В случае числа ожидаемых частот менее 5 применяли точный двусторонний критерий Фишера (F). 5-летнюю общую (ОВ) и бессобытийную выживаемость (БСВ) рассчитывали по методу Каплана—Мейера с графическим построением соответствующих кривых (логранговый тест). С целью выявить факторы прогноза КЛХ и оценить их независимое влияние на течение заболевания применяли модель пропорциональных рисков регрессии Кокса. Показатели считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .



**Рис. 1.** Классическая ЛХ, вариант с нодулярным склерозом. Биоптат лимфатического узла. Распределение CD20-позитивных В-лимфоцитов в лимфатических узлах с (А) высокой и (Б) низкой экспрессией маркера по числу В-клеток (подсчет В-клеток осуществлялся методом двойного слепого анализа). Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD20,  $\times 100$

**Fig. 1.** Nodular sclerosis cHL. Lymph node biopsy. Distribution of CD20-positive B-lymphocytes in the lymph nodes with (A) high and (B) low marker expression assessed by B-cell count (it was determined by the double-blind method). CD20 antibody immunohistochemical assay,  $\times 100$

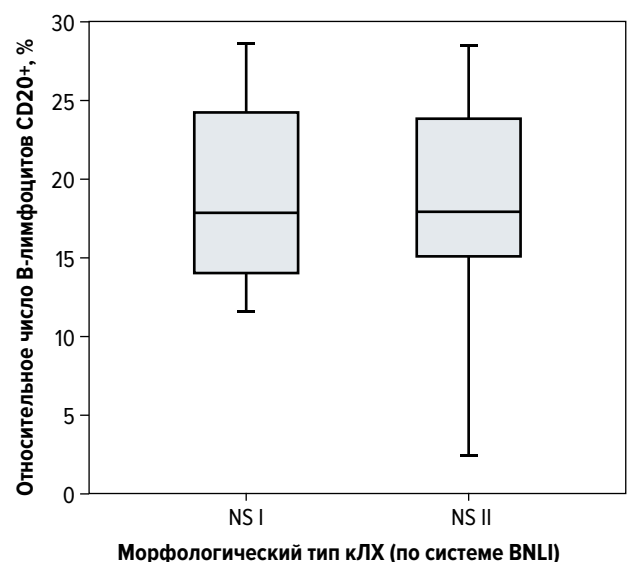
## РЕЗУЛЬТАТЫ

Экспрессия биомаркера CD20 выявлена в 100 % наблюдений ( $n = 71$ ). На рис. 1 представлена дифференцированная экспрессия маркера CD20 в лимфатических узлах при кЛХ.

Относительное число CD20-позитивных В-лимфоцитов в биоптатах лимфатических узлов различалось и варьировало от 0,1 до 28,4 %, медиана соответствовала 17,1 % (1-3-й квартиль [ $Q_1$ - $Q_3$ ] 16,6-19,6). Статистически значимых различий между морфологическими типами NS I и NS II по этому показателю не выявлено: 17,1 ( $Q_1$ - $Q_3$  12,9-24,1) и 17,2 % ( $Q_1$ - $Q_3$  13,9-24,4) соответственно ( $p = 0,66$ ) (рис. 2).

Во всех случаях наблюдалась мембранно-цитоплазматическая реакция с антителом к CD20. С помощью ROC-анализа установлено оптимальное пороговое значение CD20-позитивных В-лимфоцитов, равное 17,2 % (специфичность 86,5 %, чувствительность 85 %). Площадь под ROC-кривой составила  $0,873 \pm 0,043$  (95% ДИ 0,790-0,957;  $p < 0,001$ ) (рис. 3).

На основании полученных данных пациенты распределены в две группы: с высоким (надпороговым,  $\geq 17,2$  %;  $n = 32$ ) и низким (подпороговым,  $< 17,2$  %;  $n = 39$ ) относительным числом CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли. Проанализирован характер распределения CD20-



**Рис. 2.** Относительное число CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли при различных морфологических типах нодулярного склероза кЛХ (по системе градации BNLI)

NS — нодулярный склероз; кЛХ — классическая лимфома Ходжкина.

**Fig. 2.** The relative count of CD20-positive B-lymphocytes in the reactive tumor microenvironment depending on the morphological type of nodular sclerosis cHL (according to the BNLI grading system)

NS — nodular sclerosis; кЛХ — classical Hodgkin lymphoma.

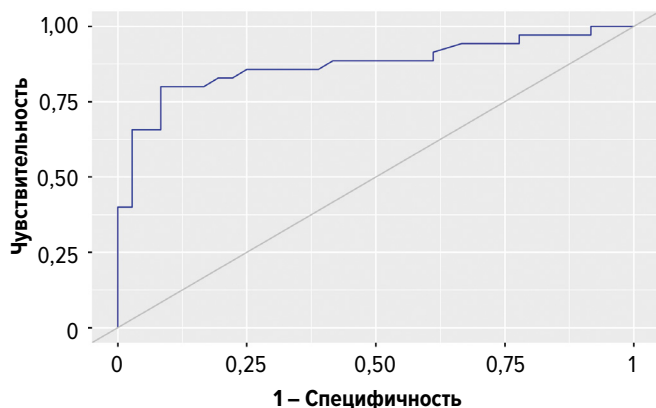


Рис. 3. ROC-кривая для CD20-позитивных В-лимфоцитов

Fig. 3. ROC curve for CD20-positive B-lymphocytes

Таблица 2. Взаимосвязь относительного числа CD20-позитивных В-лимфоцитов с клиническими характеристиками пациентов с нодулярным склерозом КЛХ

Показатель	Число клеток CD20+		ОШ (95% ДИ)	$p$ ( $\chi^2$ )
	Надпороговое ( $n = 32$ ), $n$ (%)	Подпороговое ( $n = 39$ ), $n$ (%)		
Пол				
Мужчины ( $n = 34$ )	16 (47,1)	18 (52,9)	1,1 (0,47–2,97)	0,75
Женщины ( $n = 37$ )	16 (43,2)	21 (61,8)		
В-симптомы				
Нет ( $n = 40$ )	23 (57,5)	17 (42,5)	0,2 (0,11–0,82)	0,03*
Есть ( $n = 31$ )	9 (29,0)	22 (71,0)		
Стадия (по Ann Arbor в модификации Cotswold)				
Локализованная ( $n = 34$ )	21 (61,8)	13 (38,2)	0,3 (0,09–0,71)	0,07*
Распространенная ( $n = 37$ )	11 (29,7)	26 (70,3)		
Ответ на терапию 1-й линии				
ПР ( $n = 37$ )	28 (75,7)	9 (24,3)	0,04	0,001*
Отсутствие ПР ( $n = 34$ )	4 (11,8)	30 (88,2)	(0,01–0,12)	

95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОШ — отношение шансов; ПР — полная ремиссия.

\* Статистически значимые различия между группами.

позитивных В-клеток в группах пациентов с различными клиническими и морфологическими характеристиками КЛХ. В результате установлены межгрупповые статистически значимые различия (табл. 2).

Согласно полученным данным, надпороговое относительное число CD20-позитивных В-клеток преобладало у больных с отсутствием В-симптомов (ОШ 0,2; 95% ДИ 0,11–0,82;  $p = 0,03$ ). Высокая экспрессия антигена CD20 в 2 раза чаще встречалась у пациентов с локализованными стадиями нодулярного склероза КЛХ в сравнении с группой с распространенными стадиями заболевания (ОШ 0,3; 95% ДИ 0,09–0,71;  $p = 0,07$ ). Установлено статистически значимое повышение частоты достижения ПР у больных с надпороговой экспрессией маркера (ОШ 0,04; 95% ДИ 0,01–0,12;  $p = 0,001$ ).

При анализе 5-летней ОВ наблюдалась тенденция к преобладанию подпороговой экспрессии CD20 в группе пациентов с худшей ОВ ( $p = 0,078$ ). При оценке

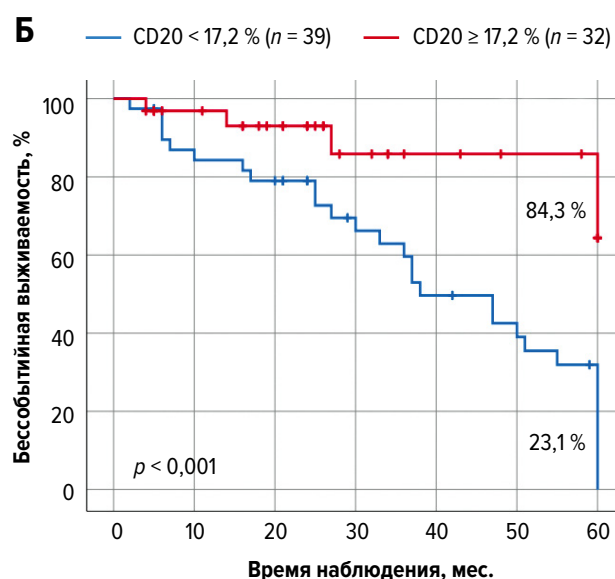
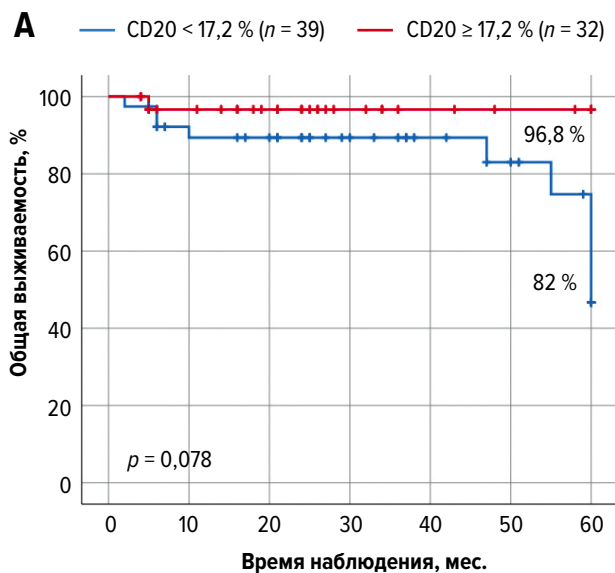


Рис. 4. (А) Общая и (Б) бессобытийная выживаемость больных с нодулярным склерозом КЛХ в группах с надпороговым и подпороговым относительным числом CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли

Fig. 4. (A) Overall and (B) event-free survival of patients with nodular sclerosis cHL in the cohorts with the above- and subthreshold relative count of CD20-positive B-lymphocytes in the reactive tumor microenvironment

БСВ межгрупповые различия достигли статистической значимости (рис. 4). Установлено, что при низкой экспрессии маркера CD20 медиана БСВ составила 38 мес., при высокой — она не достигнута. Неблагоприятные события развивались в 3,5 раза чаще у пациентов с надпороговым уровнем CD20-позитивных В-клеток по сравнению с группой ниже порогового значения (84,3 и 23,1 % соответственно; отношение рисков [ОР] 0,24; 95% ДИ 0,09–0,62;  $p < 0,001$ ).

Методом бинарной логистической регрессии в однофакторном анализе установлена обратная зависимость между относительным числом CD20-позитивных В-лимфоцитов реактивного микроокружения и ответом на терапию в исследуемой когорте больных (ОР 0,75; 95% ДИ 0,62–0,82;  $p < 0,001$ ). Так, при увеличении относительного количества В-лим-

**Таблица 3.** Результаты многофакторного регрессионного анализа Кокса предикторов БСВ

Параметр	БСВ		
	ОР	95% ДИ	p
Женский пол	0,454	0,217–0,952	0,037*
Наличие В-симптомов	1,337	0,642–2,783	0,438
Распространенная стадия заболевания	2,986	1,285–6,936	0,011*
Число В-клеток CD20+ < 17,2 % в реактивном микроокружении	0,327	0,11–0,99	0,048*

95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; БСВ — бессобытийная выживаемость; ОР — отношение рисков.

\* Статистически значимые различия между группами.

фоцитов с экспрессией исследуемого маркера риск неблагоприятного события уменьшался в 1,4 раза.

В многофакторной модели регрессии Кокса оценено прогностическое значение одновременно нескольких предикторов течения нодулярного склероза КЛХ (табл. 3). Установлено, что факторами, независимо влияющими на риск нежелательного события при расчете БСВ, являются пол, распространенная стадия заболевания, число CD20-позитивных В-лимфоцитов менее 17,2 % в реактивном микроокружении.

Низкое число CD20-позитивных В-лимфоцитов увеличивало риск наступления неблагоприятных событий в 3 раза (ОР 0,32; 95% ДИ 0,11–0,99;  $p = 0,048$ ), распространенные стадии — в 2,9 раза (ОР 2,9; 95% ДИ 1,28–6,93;  $p = 0,011$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Определение потенциальной прогностической роли относительного числа CD20-позитивных В-лимфоцитов как одного из компонентов реактивного микроокружения при нодулярном склерозе КЛХ становится в последнее время все более актуальным. Причинами этого считают наличие тесной взаимосвязи с вирусом Эпштейна—Барр и способности В-клеточного реактивного микроокружения опухоли поддерживать противоопухолевый иммунитет за счет антителозависимой клеточной цитотоксичности [19]. Так, высокое относительное содержание В-клеточной популяции в опухоли может быть связано с благоприятным течением заболевания [20].

С помощью ROC-анализа установлено прогностически значимое пороговое значение CD20-позитивных В-клеток, равное 17,2 %. С учетом указанного показателя проведен сравнительный анализ дифференцированной экспрессии маркера с выраженностью клинических проявлений заболевания. Выявлена взаимосвязь низкой экспрессии CD20 по числу В-клеток в микроокружении с такими неблагоприятными факторами течения заболевания, как распространенная стадия, наличие В-симптомов, отсутствие ПР. Сниженное относительное число CD20-позитивных В-лимфоцитов характерно для пациентов с рецидивами и рефрактерным течением заболевания и связано с худшими показателями БСВ. Риск развития нежелательных явлений у больных с низкой экспрессией маркера (< 17,2 %) увеличивался в 4,2 раза по сравнению

с пациентами, имевшими надпороговый показатель экспрессии CD20 по числу В-клеток в микроокружении (ОР 0,24; 95% ДИ 0,09–0,62;  $p = 0,003$ ). Повышение доли CD20-позитивных В-лимфоцитов, связанное с лучшими показателями БСВ, вероятно, характеризует степень иммунной защиты организма при КЛХ.

В результате многофакторного анализа установлено, что число CD20-позитивных В-клеток в гистологических препаратах лимфатических узлов служит независимым фактором прогноза течения КЛХ с нодулярным склерозом. Полученные данные сопоставимы с результатами ряда зарубежных работ [11, 15, 16].

Одним из возможных недостатков исследования является неоднородность когорты пациентов по использованным схемам противоопухолевой лекарственной терапии. В такой ситуации не исключено влияние протокола лечения на показатели выживаемости. Однако следует отметить, что большая часть больных получала интенсивные программы химиотерапии первой линии.

Таким образом, полученные данные по морфометрической оценке CD20-позитивных В-лимфоцитов реактивного микроокружения опухоли с применением иммуногистохимического анализа указывают на необходимость рассмотрения целесообразности включения данного метода в диагностическую панель как дополнительного прогностического фактора при КЛХ [21]. Дальнейшие исследования в этом направлении позволят более полно определить прогностический потенциал относительного числа CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли при КЛХ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сниженное относительное число CD20-позитивных В-лимфоцитов в реактивном опухолевом микроокружении при КЛХ коррелирует с прогностически неблагоприятными клиническими проявлениями болезни и худшими показателями БСВ. В целом этот иммуногистохимический показатель вполне может выступать в качестве независимого прогностически неблагоприятного фактора при нодулярном склерозе КЛХ.

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** Д.А. Дьяконов.

**Сбор и обработка данных:** М.С. Минаев, Е.А. Перфилова, Д.А. Дьяконов, В.А. Росин, Е.В. Ванеева, Н.В. Минаева, Т.В. Чагорова, В.О. Саржевский, Д.М. Коновалов.

**Предоставление материалов исследования:**

Д.А. Дьяконов, Т.В. Чагорова.

**Анализ и интерпретация данных:** М.С. Минаев,

Е.А. Перфилова, Д.А. Дьяконов, В.А. Росин, Е.В. Ванеева, Н.В. Минаева, Т.В. Чагорова, В.О. Саржевский, Д.М. Коновалов.

**Подготовка рукописи:** М.С. Минаев, Е.А. Перфилова, Е.В. Ванеева, В.О. Саржевский, Д.М. Коновалов.

**Окончательное одобрение рукописи:** Д.А. Дьяконов, В.А. Росин, Н.В. Минаева, И.В. Парамонов, В.О. Саржевский, Д.М. Коновалов.

**Административная поддержка:** И.В. Парамонов.

**ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES**

1. Scott D, Steidl C. The classical Hodgkin lymphoma tumor microenvironment: macrophages and gene expression-based modeling. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2014;2014(1):144–50. doi: 10.1182/asheducation-2014.1144.
2. Menendez V, Solorzano JL, Fernandez S, et al. The Hodgkin Lymphoma Immune Microenvironment: Turning Bad News into Good. *Cancers (Basel)*. 2022;5(14):1360. doi: 10.3390/cancers14051360.
3. Перфилова Е.А., Минаев М.С., Дьяконов Д.А. и др. Прогностическое значение экспрессии CD163- и CD68-положительных макрофагов при нодулярном склерозе лимфомы Ходжкина. *Онкогематология*. 2022;17(1):104–12. doi: 10.17650/1818-8346-2022-17-1-104-112. [Perfilova EA, Minaev MS, Diakonov DA, et al. Prognostic significance of CD163- and CD68-expressing macrophages in nodular sclerosis Hodgkin lymphoma. *Oncohematology*. 2022;17(1):104–12. doi: 10.17650/1818-8346-2022-17-1-104-112. (In Russ)]
4. Connors JM, Cozen W, Steidl C, et al. Hodgkin Lymphoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2020;6(1):61. doi: 10.1038/s41572-020-0203-z.
5. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised 4th edition. Lyon: IARC Press; 2017. 586 p.
6. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. 252 с. [Kaprin AD, Starinskii VV, Petrova GV, eds. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2020 godu (zabolevaemost' i smertnost')*. (Malignant neoplasms in Russia in 2020 (incidence and mortality.) Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsena — filial FGBU "NMITs radiologii" Publ.; 2021. 252 p. (In Russ)]
7. Ferhanoglu B, Kim T, Karduss A, et al. Treatment pathways and clinical outcomes in Hodgkin lymphoma outside Europe and North America: results from

the international, multicenter, retrospective, B-HOLISTIC study. *Leuk Lymphoma*. 2022;63(14):3317–30. doi: 10.1080/10428194.2022.2126281.

8. Pileri S, Fiori S, Lullis V, Tabanelli V. Lymphoma, Hodgkin's: Pathology and Genetics. In: Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier; 2019. doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.65258-3.

9. Van Spronsen DJ, Vrints LW, Hofstra G, et al. Disappearance of prognostic significance of histopathological grading of nodular sclerosing Hodgkin's disease for unselected patients, 1972–92. *Br J Haematol*. 1997;96(2):322–7. doi: 10.1046/j.1365-2141.1997.d01-2010.x.

10. Hess JL, Bodis S, Pinkus G, et al. Histopathologic grading of nodular sclerosis Hodgkin's disease. Lack of prognostic significance in 254 surgically staged patients. *Cancer*. 1994;74(2):708–14. doi: 10.1002/1097-0142(19940715)74:2<708::aid-cn-cr2820740226>3.0.co;2-7.

11. Shang J, Zha H, Sun Y. Phenotypes, Functions, and Clinical Relevance of Regulatory B Cells in Cancer. *Front Immunol*. 2020;11:582657. doi: 10.3389/fimmu.2020.582657.

12. Downs-Canner SM, Meier J, Vincent BG, et al. B Cell Function in the Tumor Microenvironment. *Annu Rev Immunol*. 2022;40:169–93. doi: 10.1146/annurev-immunol-101220-015603.

13. Santos M, Lima MM. CD20 role in pathophysiology of Hodgkin's disease. *Rev Assoc Med Bras*. 2017;63(9):810–3. doi: 10.1590/1806-9282.63.09.810.

14. Vardhana S, Younes A. The immune microenvironment in Hodgkin lymphoma: T cells, B cells, and immune checkpoints. *Haematologica*. 2016;101(7):794–802. doi: 10.3324/haematol.2015.132761.

15. Panico L, Tenneriello V, Ronconi F, et al. High CD20+ background cells predict a favorable outcome in classical Hodgkin lymphoma and antagonize CD68+ macrophages. *Leuk Lymphoma*. 2015;6(56):1636–42. doi: 10.3109/10428194.2014.951849.

16. Greaves P, Clear A, Coutinho R, et al. Expression of FOXP3, CD68, and CD20 at diagnosis in the microenvironment of classical Hodgkin lymphoma is predictive of outcome. *J Clin Oncol*. 2017;35(10):1140. doi: 10.1200/JCO.2011.39.9881.

17. Jachimowicz RD, Pieper L, Reinke S, et al. Whole-slide image analysis of the tumor microenvironment identifies low B-cell content as a predictor of adverse outcome in patients with advanced-stage classical Hodgkin lymphoma treated with BEACOPP. *Haematologica*. 2021;106(6):1684–92. doi: 10.3324/haematol.2019.243287.

18. Jones RJ, Gocke CD, Kasamon YL, et al. Circulating clonotypic B cells in classic Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2009;113(23):5920. doi: 10.1182/blood-2008-11-189688.

19. Zhao X, Ma Y, Bian H, et al. CD20 expression is closely associated with Epstein-Barr virus infection and an inferior survival in nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma. *Front Oncol*. 2022;12:993768. doi: 10.3389/fonc.2022.993768.

20. Bertuzzi C, Sabattini E, Agostinelli C. Immune Microenvironment Features and Dynamics in Hodgkin Lymphoma. *Cancers*. 2021;13(14):3634. doi: 10.3390/cancers13143634.

21. Lacet DFR, Oliveira CC. The role of immunohistochemistry in the assessment of classical Hodgkin lymphoma microenvironment. *Int J Clin Exper Pathol*. 2022;10(15):412–24.

