

Предварительная версия статьи, поступившей в редакцию журнала.
Дата поступления: 30.10.2023

НА ЗАМЕТКУ

Данная статья поступила в редакцию журнала и будет опубликована после прохождения рецензирования, корректуры, редактуры и вёрстки. После этого будет назначен том и номер выпуска журнала, в котором статья будет опубликована в окончательной редакции. После публикации в окончательной редакции статья будет удалена из данного раздела.

Следует обратить внимание на то, что статьи в данном разделе не содержат всех библиографических данных. Они будут присвоены только после включения статьи в тот или иной номер журнала.

Кроме того, в процессе подготовки статьи к публикации, после снятия вопросов с авторами могут произойти изменения в её содержании, текст статьи может измениться перед окончательной публикацией.

Прогностическое значение CD8⁺-лимфоцитов микроокружения при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

Е.В. Ванеева, В.А. Росин, Д.А. Дьяконов, Н.В. Глубоковских

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России), 6100027, г. Киров, Красноармейская, 72

Для переписки: Елена Викторовна Ванеева, к.б.н., научный сотрудник лаборатории патоморфологии, Киров, ул Красноармейская, 72, Российская Федерация; 8922 975 23 34; vaneeva.elena.vic@mail.ru

Актуальность. Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) является агрессивной, клинически и биологически гетерогенной опухолью. В последние годы активно изучается роль микроокружения в канцерогенезе ДВКЛ. Компоненты внеклеточного матрикса и широкий спектр опухоль-ассоциированных клеток влияют на пролиферацию опухоли, способствуют уклонению от иммунного надзора, устойчивости к лечению. Цитотоксические Т-лимфоциты (CD8⁺) играют ведущую роль в формировании иммунного ответа на внутриклеточные патогены или трансформированные клетки.

Цель. Оценить прогностическое значение относительного количества CD8⁺ Т-лимфоцитов микроокружения при ДВКЛ.

Материалы и методы. В исследование включены 124 пациента с впервые диагностированной ДВКЛ. Все больные получали стандартную иммунохимиотерапию первой линии по схеме R-CHOP. С помощью иммуногистохимического и морфометрического методов определено относительное количество CD8⁺ Т-лимфоцитов в биоптатах лимфоузлов или другой опухолевой ткани. Частотный анализ данных проводили с использованием критерия хи-квадрат Пирсона (χ^2), пятилетнюю общую (ОВ) и беспрогрессивную (БПВ) выживаемость рассчитывали по методу Каплана-Мейера, регрессии Кокса. Пороговое значение для CD8⁺ Т-клеток вычисляли с помощью ROC-анализа, показатель составил 13%.

Результаты. Подпороговое количество (CD8⁺≤13%) цитотоксических лимфоцитов ассоциировалось с наличием у пациентов экстранодального поражения и отсутствием полного ответа на стандартную терапию, низкой ОВ и БПВ. Уровень CD8⁺ Т-лимфоцитов ≤13% является независимым фактором неблагоприятного прогноза течения ДВКЛ при анализе ОВ и БПВ.

Вывод. Количество CD8⁺ Т-лимфоцитов $\leq 13\%$ является неблагоприятным критерием, позволяющим прогнозировать течение ДВКЛ при лечении по протоколу R-CHOP.

Ключевые слова. ДВКЛ, общая и беспрогрессивная выживаемость, цитотоксические лимфоциты.

Prognostic Significance of CD8⁺-lymphocytes of the microenvironment in Diffuse Large B-cell Lymphoma

E.V. Vaneeva, V.A. Rosin, D.A. Dyakonov, N.V. Glubokovskikh

The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, 6100027, Kirov, Krasnoarmeyskaya, 72

For correspondence: Elena Vaneeva, Researcher, Ph.D., Laboratory of Pathomorphology, 72, Krasnoarmeyskaya, Kirov, Russian Federation, 610027; 8922 975 23 34; e-mail: vaneeva@niigpk.ru

Relevance. Diffuse B-cell lymphoma (DBCL) is an aggressive, clinically and biologically heterogeneous tumor. In recent years, the role of the microenvironment in the carcinogenesis of DBCL has been extensively studied. Components of the extracellular matrix and a wide range of tumor-associated cells influence tumor proliferation, contribute to evasion of immune surveillance, and resistance to treatment. Cytotoxic T lymphocytes (CD8⁺) play a leading role in the formation of the immune response to intracellular pathogens or transformed cells.

Aim. To evaluate the prognostic value of the relative number CD8⁺ T-lymphocytes of the microenvironment in DBCL.

Materials and Methods. 124 patients with first diagnosed DBCL were included in the study. All patients received standard first-line polychemotherapy according to the R-CHOP scheme. The relative number of CD8⁺ T-lymphocytes in biopsy specimens of lymph nodes or other tumor tissue was determined using immunohistochemical and morphometric methods. Frequency analysis of data was performed using Pearson's chi-square test (χ^2), five-year overall (OV) and progression-free survival (PFS) were calculated using the Kaplan-Meier, Cox regression method. The threshold value for CD8⁺ T cells was calculated using ROC analysis.

Results. The prognostically significant threshold level of CD8⁺ T-lymphocytes in biopsy specimens corresponded to 13%. A subthreshold number (CD8⁺ $\leq 13\%$) of cytotoxic lymphocytes was associated with the presence of extranodal lesions in patients and lack of complete response to standard therapy, low OS and BPV compared to patients who had CD8⁺ T-cell content above the threshold level. The proportion of CD8⁺ T-lymphocytes below 13% is an unfavorable independent prognostic factor in the OV and LFTs of patients with DBCL treated with the R-CHOP protocol.

Conclusion. CD8⁺ T-lymphocyte count $\leq 13\%$ is an unfavorable criterion to predict the course of diffuse B large cell lymphoma.

Keywords. DBCL, overall and progression-free survival, cytotoxic lymphocytes.

Введение. ДВКЛ представляет собой агрессивную опухоль со множеством подтипов, отличающихся клиническими проявлениями, морфологическими и молекулярно-генетическими характеристиками. Заболевание является наиболее распространенным среди всех неходжкинских лимфом, составляя около 30-40% [1, 2]. Стандартная иммунохимиотерапия (R-CHOP) эффективна у значительной части больных, однако в 30% случаев отмечается резистентность к лечению и/или развитие рецидивов [3, 4]. Прежде всего это связывают с биологической гетерогенностью ДВКЛ. С помощью молекулярно-генетических методов выявлены основные подтипы опухоли (GCB, ABC/non-GCB), отражающие разные этапы В-клеточной дифференцировки, активацию различных

сигнальных путей, неодинаковый прогноз течения болезни [3, 5]. Последующее секвенирование генома позволило разработать алгоритм, идентифицирующий еще шесть генетических подтипов (*TP53^{mut}*, *MCD*, *BN2*, *N1*, *EZB* и *ST2*) ДВКЛ [6]. В клинической практике для стратификации пациентов на группы риска, используется международный прогностический индекс (МПИ). Однако, многие авторы отмечают, что чувствительность МПИ не высока, так как он базируется главным образом на клинических характеристиках пациентов и не учитывает патогенез заболевания [7].

В процессе прогрессии заболевания клетки опухоли приобретают уникальный фенотип, способствующий их неограниченной пролиферации, отсутствию чувствительности к регуляторным сигналам, активации ангиогенеза. Происходят изменения во взаимодействии опухоли с ее микроокружением. При этом важным аспектом является способность неопластических клеток уклоняться от надзора иммунной системы [9].

Микроокружение ДВКЛ представлено иммунными клетками (Т-лимфоциты, макрофаги, естественные киллеры), стромой, кровеносными сосудами и внеклеточным матриксом [8]. Т-лимфоциты занимают особое место в иммунной системе и имеют решающее значение в развитии клеточного иммунитета. Основные морфологически и функционально различные подтипы представлены Т-хелперами (CD3⁺/CD4⁺), цитотоксическими Т-клетками (CD3⁺/CD8⁺), NK-Т-клетками (CD3⁺/CD56⁺/CD16⁺) и регуляторными Т-клетками (CD3⁺/CD4⁺/CD25⁺/FoxP3⁺). Цитотоксические лимфоциты являются основными эффекторными Т-клетками, функциональная активность которых осуществима только в паре с главным комплексом гистосовместимости класса 1 через уникальный Т-клеточный рецептор.

Инфильтрирующие опухоль CD8⁺ Т-лимфоциты участвуют в апоптозе злокачественных клеток с помощью гранзим-перфоринового механизма или за счет взаимодействия с мембранным рецептором клетки-мишени CD95. Дефицит CD8⁺-лимфоцитов ослабляет противоопухолевый иммунитет, а их избыток может провоцировать аутоагрессию [10, 11].

Некоторыми авторами установлено благоприятное значение инфильтрации как общей Т-клеточной популяции (CD3⁺), так и увеличения отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов в опухолевом микроокружении ДВКЛ [17, 18, 19]. В результате исследований Н. Rajnai et al. выявлено, что количество цитотоксических лимфоцитов выше порогового уровня (порог 5%) связано с высокой выживаемостью пациентов [21]. Напротив, в работах J.F. Muris et al. и С. Galand et. al. высокий процент CD8⁺-лимфоцитов являлся показателем неблагоприятного прогноза течения ДВКЛ [20, 22]. В исследованиях австралийских ученых не выявлена взаимосвязь между уровнем CD8⁺-клеток (порог 15%) и течением заболевания [23]. Таким образом, исследования характеризуются различием в результатах, в связи с чем необходимо дальнейшее изучение CD8⁺-лимфоцитов при ДВКЛ.

Цель. Оценить прогностическое значение относительного количества CD8⁺-лимфоцитов микроокружения при ДВКЛ.

Материалы и методы. В ретроспективное исследование включены 124 первичных пациента с морфологически и иммуногистохимически подтвержденным диагнозом ДВКЛ, установленным в соответствии с классификацией опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ 2008-2017 гг.. Медиана возраста 59 лет (от 23 до 80 лет). Из них 62 – мужчины, 62 – женщины. Больные наблюдались в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России с 2014 по 2020 гг. и получали терапию 1 линии по схеме R-CHOP. Характеристика больных представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой

Показатели	Количество пациентов, абс. (%)
Возраст: <60 лет ≥60 лет	58 (47) 66 (53)
В-симптомы: нет есть	50 (40) 74 (60)

Стадия (по Ann Arbor): I-II III-IV	50 (40) 74 (60)
Наличие экстранодального поражения: нет есть	61 (49) 63 (51)
Концентрация ЛДГ: норма выше нормы	39 (31) 85 (69)
Ответ на терапию: полный ответ частичный ответ/рецидив/рефрактерность	70 (56) 54 (44)
МПИ, группы риска, баллы: МПИ ≤2 МПИ >2	62 (50) 62 (50)
Иммуногистохимический подтип (алгоритма С. Р. Hans): GCB non-GCB	45 (36) 79 (64)
Статус пациента на момент исследования: продолжают наблюдение летальный исход	76 (61) 48 (39)

Для исследования использовали архивные образцы (парафиновые блоки) лимфоузлов или других, вовлеченных в патологический процесс органов, а также материал послеоперационных биопсий. Морфологические и иммуногистохимические исследования выполняли в лаборатории патоморфологии ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. Постановку реакций осуществляли непрямым пероксидазным методом в соответствии с протоколом для систем визуализации EnVISION (DAB+, «Dako»), с использованием широкой диагностической панели антител. Для детекции цитотоксических Т-лимфоцитов гистологические срезы инкубировали с соответствующими моноклональными антителами (клон C8/144B, Dako).

Морфометрический подсчет относительного содержания CD8⁺-клеток выполняли на световом микроскопе «AxioScope.A1» со встроенной фото/видеокамерой, программным обеспечением анализа изображений (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия). Оценивали 10 полей зрения в каждом образце с применением окуляров x10 и объектива x100. Исходя из полученных результатов, вычисляли среднее относительное содержание антиген-позитивных клеток в биопсийном материале.

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистической программы IBM SPSS Statistics 26. Прогностически значимый порог CD8⁺-лимфоцитов вычисляли с помощью ROC-анализа. Оценку наличия/отсутствия их ассоциации с характеристиками больных осуществляли с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (χ^2) с расчетом значений отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае числа ожидаемых частот менее 5 применяли точный двусторонний критерий Фишера (F). Пятилетнюю общую (ОВ) и беспрогрессивную (БПВ) выживаемость рассчитывали по методу Каплана-Мейера с графическим построением соответствующих кривых, межгрупповые сравнения факторов оценивали с помощью log-rank test. Независимое влияние факторов на выживаемость пациентов анализировали методом регрессии Кокса. Показатели считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Цитотоксические Т-лимфоциты выявлены в биопсийном материале у 118 из 124 пациентов, во всех случаях наблюдалось дискретное расположение клеток по всему срезу. Характер локализации экспрессии - цитоплазматическая, мембранная (рис. 1а). Относительное содержание CD8⁺-клеток в биоптатах у разных пациентов варьировало от 0% до 57% (рис. 1б). Медиана процентного количества цитотоксических Т-лимфоцитов составила 13% [Q₁-Q₃:5-21,5].

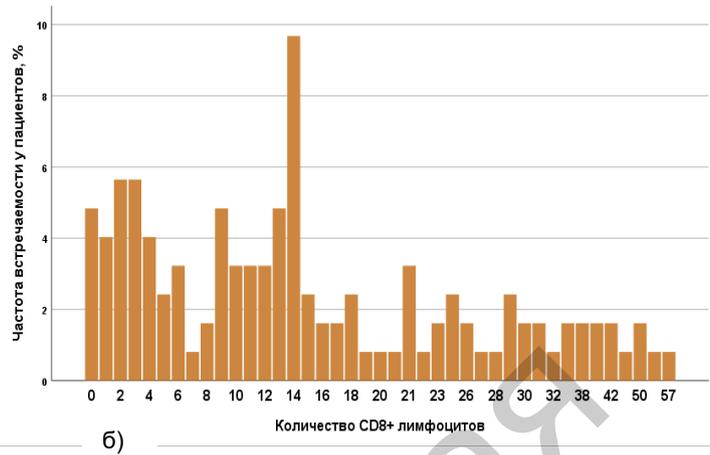
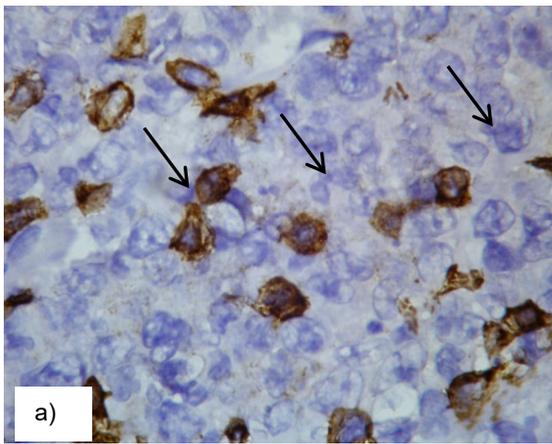


Рис. 1. а) Диффузная В-крупноклеточная лимфома. Биоптат лимфатического узла. Иммуногистохимическое окрашивание моноклональным антителом к CD8 (клон C8/144B, Dako), система визуализации EnVision (Dako, Дания). Продукт реакции окрашен в коричневый цвет (стрелки). Докраска ядер гематоксилином, $\times 1000$; б) Распределение пациентов по содержанию CD8⁺- клеток в биопсийном материале

Fig. 1. a) Diffuse large B-cell lymphoma. Lymph node biopsy. Immunohistochemical staining by monoclonal CD8 antibody (clone C8/144B, Dako), EnVision visualization system (Dako, Denmark). The reaction product is brown (arrows). Hematoxylin final nuclear staining, $\times 1000$; b) Distribution of patients according to the content of CD8⁺-cells in biopsy material

В результате ROC-анализа оптимальный прогностически значимый пороговый уровень CD8⁺-лимфоцитов составил 13% (чувствительность - 73%, специфичность - 62%; $p=0,008$; AUC=0,64 (рис. 2). В соответствии с установленным порогом пациентов разделили на группы: с количеством Т-лимфоцитов выше порогового уровня (высокий или надпороговый; $>13\%$) и содержанием Т-лимфоцитов ниже порогового уровня (низкий или подпороговый;

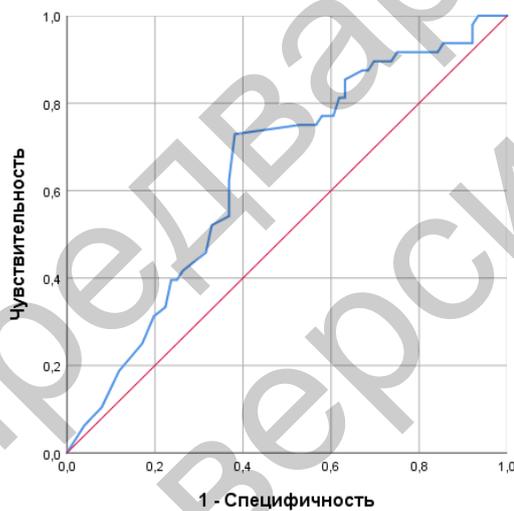


Рис. 2. ROC-кривая для CD8⁺ лимфоцитов

Fig. 2. ROC-curve for CD8⁺ lymphocytes

Проанализированы особенности распределения надпорогового и подпорогового количества CD8⁺-клеток в биоптатах пациентов с разными характеристиками ДВККЛ (табл. 2). Пациенты с наличием экстранодального поражения чаще регистрировались в группе с низким уровнем CD8⁺-лимфоцитов в отличие от обследованных с высоким содержанием клеток (61% против 39% соответственно; $p=0,049$).

При сравнении частоты распределения цитотоксических Т-лимфоцитов в зависимости от ответа на терапию R-CHOP получены статистически значимые различия. У пациентов с подпороговым уровнем CD8⁺-клеток вероятность отсутствия ремиссии увеличивались в 2,2 раза по сравнению с больными, имевшими надпороговое количество цитотоксических лимфоцитов ($p=0,026$; ОШ=2,2; 95% ДИ:1,1-4,7). С другими клинико-лабораторными

показателями значимых различий не выявлено. Отмечалась тенденция к преобладанию распространенных стадий заболевания у лиц с содержанием CD8⁺-клеток ниже порогового уровня, чем у обследуемых с превышающим этот показатель количеством цитотоксических Т-клеток (p=0,078).

Таблица 2. Распределение количества CD8⁺-лимфоцитов в зависимости от характеристик пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой

Параметры	Количество CD8 ⁺ клеток		p, ОШ (95% ДИ)
	CD8>13%, n=60 абс. (%)	CD8≤13%, n=64 абс. (%)	
Возраст:			
<60 лет	35 (53,0)	31 (47,0)	0,27
≥60 лет	25 (43,1)	33 (56,9)	0,67 (0,33-1,36)
В-симптомы:			
нет	26 (52,0)	24 (48,0)	0,51
есть	34 (45,9)	40 (54,1)	1,3 (0,64-2,61)
Стадия (по Ann Arbor):			
II	29 (58,0)	21 (42,0)	0,078
III-IV	31 (41,9)	43 (58,1)	1,9 (0,93-3,96)
Экстранодальное поражения:			
нет	35 (57,4)	26 (42,6)	0,049*
есть	25 (39,0)	38 (61,0)	2,0 (0,98-4,25)
Концентрация ЛДГ:			
норма	18 (46,2)	21 (53,8)	0,73
выше нормы	42 (49,4)	43 (50,6)	0,8 (0,41-1,87)
Ответ на терапию:			
ПО	40 (57,1)	30 (42,9)	0,026*
ЧО/прогрессия/рефрактерность	20 (37,0)	34 (63,0)	2,2 (1,1-4,7)
МПИ, группы риска, баллы:			
МПИ ≤2	34 (54,8)	28 (45,2)	0,15
МПИ >2	26 (41,9)	36 (58,1)	1,6 (0,86-3,43)
Иммуногистохимический подтип ДВКЛ (алгоритм С.Р. Hans):			
GCB	21 (46,7)	24 (53,3)	0,77
non-GCB	39 (49,4)	40 (50,6)	0,9 (0,44-1,86)

Примечание: * - статистически значимые различия между группами; ПО – полный ответ, ЧО - частичный ответ, ЛДГ – лактатдегидрогеназа.

Проанализирована зависимость показателя выживаемости от уровня CD8⁺-лимфоцитов у больных ДВКЛ, получавших лечение по протоколу R-CHOP (рис. 3). Установлено, что 5-летняя ОВ в группе с надпороговым уровнем CD8⁺-лимфоцитов соответствовала 78,3% при недостигнутой медиане против 45,3% (медиана 40 мес.) у пациентов с подпороговым количеством клеток (p=0,001). Низкое содержание цитотоксических Т-лимфоцитов ассоциировалось с высоким риском развития летального исхода (p=0,001; ОР=3,2; 95% ДИ=1,69-6,07).

Значение 5-летней БПВ в случаях с низким содержанием CD8⁺ Т-клеток соответствовало 45,3% (Ме - 39 мес.), с высоким – 60% при недостигнутой медиане (p=0,036). Риск рецидива и/или рефрактерности к терапии у больных с подпороговым уровнем цитотоксических лимфоцитов был в 1,7 раза выше по отношению к обследуемым с более высоким их количеством (ОР=1,7; 95% ДИ=1,02-2,91).

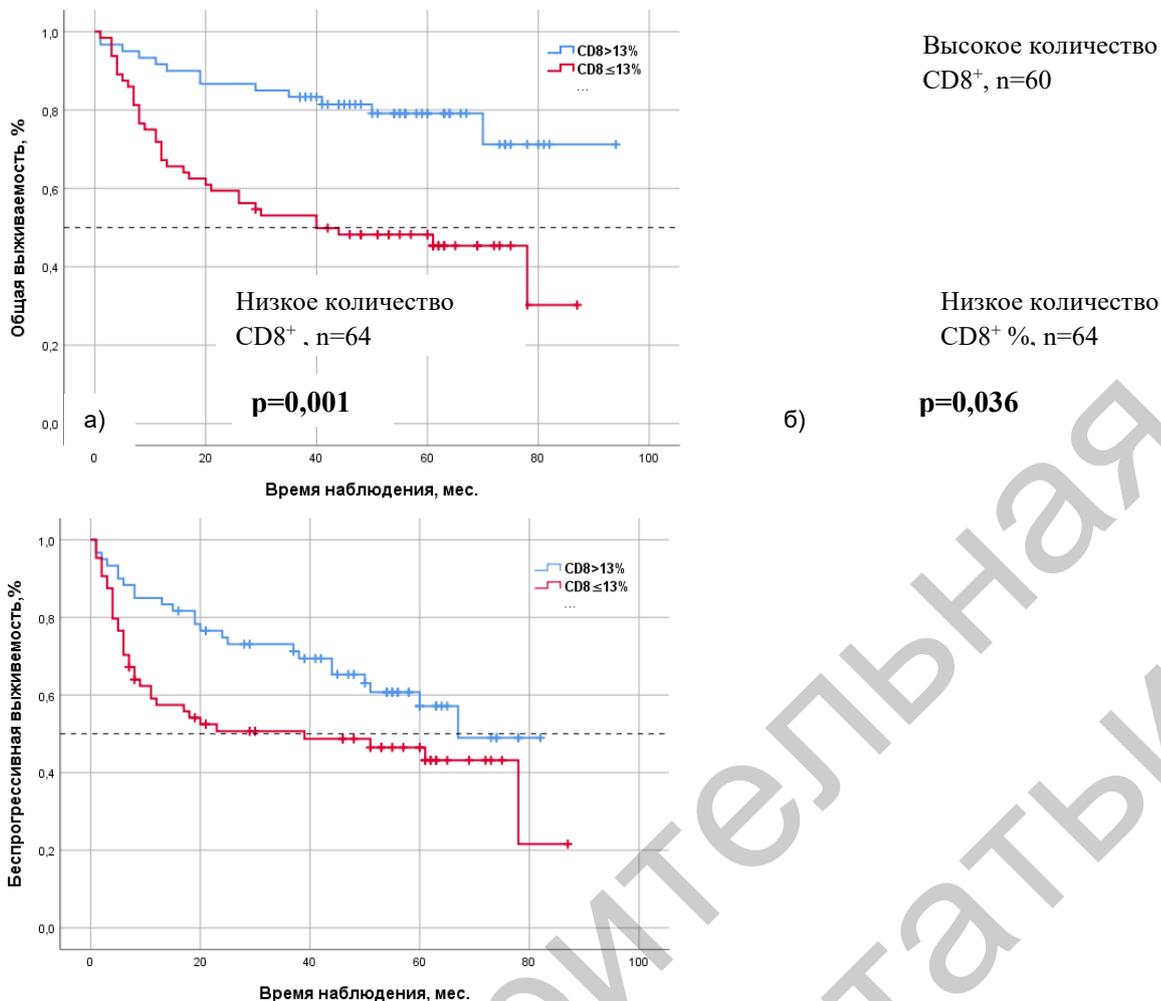


Рис. 3. Общая (а) и беспрогрессивная (б) выживаемость больных ДВКЛ в зависимости от количества CD8⁺-лимфоцитов

Fig. 3. OS (a) and PFS (b) of DLBCL patients depending on the levels of CD8⁺-lymphocytes

В результате однофакторного регрессионного анализа Кокса установлены предикторы прогноза течения ДВКЛ при ОБ: подпороговый уровень цитотоксических Т-лимфоцитов ≤13%, МПИ>2, non-GCB подтип заболевания (табл. 3). С использованием многофакторной модели оценено независимое влияние нескольких факторов на течение ОБ и БПВ.

Таблица 3. Однофакторный и многофакторный анализ Кокса предикторов ОБ и БПВ пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой

Однофакторный анализ							
Параметр	ОБ			БПВ			
	ОР	95% ДИ	р	ОР	95% ДИ	р	
Экспрессия CD8 ⁺	3,2	1,69-6,07	0,012*	0,9	0,97-1,01	0,345	
МПИ>2	4,7	2,41-9,33	0,001*	5,0	2,71-9,17	0,001*	
ИГХ подтип (non-GCB)	1,9	1,12-3,78	0,043*	1,5	0,89-2,66	0,123	
Многофакторный анализ							
Параметр	ОБ			БПВ			
	ОР	95% ДИ	р	ОР	95% ДИ	р	
Экспрессия CD8 ⁺	4,0	1,87-8,65	0,002*	1,0	0,98-1,09	0,248	
МПИ>2	4,9	2,51-9,88	0,001*	5,1	2,83-9,41	0,001*	
ИГХ подтип (non-GCB)	1,8	2,51-9,88	0,075	1,4	0,83-2,53	0,191	

Установлено, что число цитотоксических Т-лимфоцитов ≤13% независимо от других предикторов, указанных в таблице 3, влияет на прогноз течения ДВКЛ при анализе ОБ.

Заключение. Важное значение в развитии опухолевого процесса имеет окружающая микросреда, которая формируется в результате образования перекрестных связей между

опухолевыми клетками и разными типами окружающих их клеток. Среди последних ключевое значение имеют эффекторные Т-лимфоциты. Под влиянием опухоли Т-клетки могут проявлять как противоопухолевую, так и проопухолевую активность [13]. Поэтому процессы, влияющие на иммунный профиль опухолевого микроокружения, вызывают повышенное внимание исследователей.

Нами проведено исследование количественного содержания CD8⁺ Т-лимфоцитов в биопсийном материале больных с помощью иммуногистохимического метода. Выявлены значительные колебания количества цитотоксических Т-клеток (0-57%) у пациентов с ДВКЛ. Установлен пороговый уровень CD8⁺-клеток, равный 13%. У больных с уровнем CD8⁺ Т-лимфоцитов ≤13% значительно чаще встречались очаги экстранодального поражения и отсутствие полной ремиссии заболевания при лечении по протоколу R-CHOP. Выявлена тенденция к преобладанию низкого числа CD8⁺-клеток с распространенными стадиями заболевания.

При анализе ОБ и БПВ установлено, что низкая доля CD8-позитивных лимфоцитов является неблагоприятным прогностическим фактором течения ДВКЛ при лечении по протоколу R-CHOP. Показатели 5-летней ОБ у пациентов с низким количеством цитотоксических Т-лимфоцитов значительно ниже (45,3%, медиана 40 мес.), а риск летального исхода - в 3 раза выше, по сравнению с больными, имевшими надпороговый уровень клеток данной популяции (78,3%, $p=0,001$). Схожая закономерность выявлена при оценке БПВ: 45,3% в случаях с низким количеством CD8⁺ (медиана 23 мес.) в биопсийном материале и 60% - с высоким (медиана не достигнута), $p=0,036$. В результате многофакторного анализа установлено, что низкий уровень CD8⁺-лимфоцитов (≤13%) является независимым фактором неблагоприятного прогноза течения ДВКЛ.

Полученные данные согласуются с результатами некоторых исследований [21, 25]. Однако, встречались работы, в которых высокое содержание CD8⁺-лимфоцитов ассоциировалось с низкой выживаемостью пациентов или вовсе не имело прогностического значения [20, 22, 23]. Предполагается, что инактивация Т-клеток в этих случаях объясняется воздействием сложной иммуносупрессивной сети, состоящей из клеток самой опухоли, клеток воспаления, цитокинов. При этом Т-лимфоциты находятся в состоянии неполной активации (истощения), с потерей их функций, высокой экспрессией ингибиторных антигенов, со снижением продукции эффекторных цитокинов [11, 21, 24, 25]. Также отмечается, что наиболее распространенной причиной, связанной с уклонением опухоли от иммунного надзора, является отсутствие экспрессии на поверхности опухолевых клеток белков МНС класса 1, что коррелирует с плохим прогнозом заболевания и наблюдается примерно в 50% случаев ДВКЛ [14, 15, 16, 17].

Вывод. Относительное количество CD8⁺-лимфоцитов микроокружения опухоли ≤13% является независимым неблагоприятным фактором прогноза течения ДВКЛ и ассоциировано с низкой ОБ и БПВ пациентов, получавших лечение по протоколу R-CHOP.

Список литературы:

1. Sehn LH, Salles G. Diffuse Large B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2021;384:842–58. DOI:[10.1056/NEJMra2027612](https://doi.org/10.1056/NEJMra2027612).
2. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia.* 2022;36(7):1720-1748. doi: 10.1038/s41375-022-01620-2.
3. Тумян Г. С. Материалы 13-й Международной конференции по злокачественным лимфомам (июнь 2015г., Лугано). *Клин.онкогематол.* 2015;8(4):455-470.
[Tumyan G. S. Proceedings of the 13th International Conference on Malignant Lymphoma (June 2015, Lugano). *Clin.oncohematol.* 2015;8(4):455-470. (in Russ)].
4. Campo E, Jaffe E, Cook JR et al. The international consensus classification of mature lymphoid neoplasms: A report from the clinical advisory committee. *Blood.* 2022; 140:1229–1253.
5. Alizadeh A, Eisen MB, Davis RE et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* 2000; 403, 503–511.

6. Rong Sh, Di Fu, Lei D et al. Simplified algorithm for genetic subtyping in diffuse large B-cell lymphoma. 2023, 8(1):145. doi: 10.1038/s41392-023-01358-y.
7. Vajavaara H, Leivonen S-K, Jørgensen J et. al. Low lymphocyte-to-monocyte ratio predicts poor outcome in high-risk aggressive large B-cell lymphoma. *eJ Haem.* 2022;3:681–687. <https://doi.org/10.1002/jha2.409>.
8. Autio M, Leivonen S-K, Brück O et. al. Immune cell constitution in the tumormicroenvironment predicts the outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica.* 2021;106(3):718-729. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.243626>.
9. Зибирова Р.Ф., Мозеров С.А. Характеристика клеточного микроокружения. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2018;7(2): 67-72. DOI: 10.17116/onkolog20187267-72. [Zibirof R.F., Moserov S.A. Characterization of cellular microenvironment. *Oncology. Journal of Oncology. P.A. Herzen.* 2018;7(2): 67-72. DOI: 10.17116/onkolog20187267-72. (in Russ)].
10. Бурместер Г.-Р., Пецутто А. Наглядная иммунология. пер. с англ. - 8-е изд. - М. : Лаборатория знаний. 2022:320.
[Burmester G.-R., Petsutto A. *Visual Immunology.* 8th ed. - M. : Laboratory of Knowledge. 2022:320 (in Russ)].
11. Zheng S, Ma J, Li J et al. Lower PTEN may be associated with CD8+ T cell exhaustion in diffuse large B-cell lymphoma. *Human Immunology.* 2023;S0198-8859(23):116-7 doi.org/10.1016/j.humimm.2023.07.007
12. Cioroianu A I, Stinga P I, Sticlaru L at al. Tumor Microenvironment in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Role and Prognosis. *Analytical Cellular Pathology.* 2019;1-9. <https://doi.org/10.1155/2019/8586354>.
13. Wellenstein MD, Visser KE Cancer-cell-intrinsic mechanisms shaping the tumor immune landscape. *Immunity.* 2018; 48(3):399-416.
14. Cornel AM, Mimpfen IL, Nierkens S. MHC class I downregulation in cancer: Underlying mechanisms and potential targets for cancer immunotherapy. *Cancers.* 2020;12:1760.
15. Takahara T, Nakamura Sh, Tsuzuki T. et al. The Immunology of DLBCL. *Cancers.* 2023; 15(3):835. <https://doi.org/10.3390/cancers15030835>
16. Wilkinson ST, Vanpatten KA, Fernandez DR et al. Partial plasma cell differentiation as a mechanism of lost major histocompatibility complex class II expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2012;119:1459–1467.
17. Ennishi D, Takata K, Beguelin W et al. Molecular and genetic characterization of MHC deficiency identifies EZH2 as therapeutic target for enhancing immune recognition. *Cancer Discov.* 2019;9: 546–563.
18. Шолохова Е.Н., Зейналова П.А., Османов Е.А. и др. Клиническое значение клеток опухолевого микроокружения при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. *Вестник ФГБУН «РОИЦ им. Н.Н.Блохина».* 2014; 25(3-4):81-85.
[Sholokhova E.N., Zeynalova P.A., Osmanov E.A. et al. Clinical significance of tumor microenvironment cells in diffuse B large cell lymphoma. *Bulletin of FGBUN "N.N.Blokhin RONC".* 2014; 25(3-4):81-85. (in Russ)].
19. Ahearne JM, Bhuller K., Hew R. at al. Expression of PD-1 (CD279) and FoxP3 in diffuse large B-cell lymphoma. 2014; 465(3):351-8. doi: 10.1007/s00428-014-1615-5.
20. Galand C, Donnou S, Molina TJ at al. Influence of tumor location on the composition of immune infiltrate and its impact on patient survival. Lessons from DCBCL and animal models. *Frontiers in immunology.* 2012;4(3):98. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00098.V.3>.

21. Rajnai H, Heyning FH, Koens L et al. The density of CD8+ T-cell infiltration and expression of BCL2 predicts outcome of primary diffuse large B-cell lymphoma of bone. *Virchows Archiv*. 2014; 464:229–239. doi 10.1007/s00428-013-1519-9/.
22. Muris JF, Meijer CJ, Cillessen S. et al. Prognostic significance of activated cytotoxic T-lymphocytes in primary nodal diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2004;18:589–596. doi:10.1038/sj.leu.2403240.
23. Keane C, Gill D, Vari F et al. CD4(+) tumor infiltrating lymphocytes are prognostic and independent of R-IPi in patients with DLBCL receiving R-CHOP chemo-immunotherapy. *Am J Hematol*. 2013; 88(4):273-276. | <https://doi.org/10.1002/ajh.23398>.
24. Jiang Y, Li Y, Zhu B. T-cell exhaustion in the tumor microenvironment. *Cell Death Dis.* 2015;6:1792. doi: 10.1038/cddis.2015.162.
25. Guan Q, Han M, Guo Q et al. Strategies to reinvigorate exhausted CD8+ T cells in tumor microenvironment. *Front. Immunol.* 2023;14:1204363. doi: 10.3389/fimmu.2023.1204363

Информация об авторах:

1. Ванеева Е.В. – к.б.н., научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», Киров, Россия, 8922 975 23 34, e-mail: vaneeva.elena.vic@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1045-2011>.
2. Росин В.А. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», Киров, Россия, (8332) 67-37-38, e-mail: rosin@niigpk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2054-2870>.
3. Дьяконов Д.А. – к.м.н., заведующий лабораторией патоморфологии, ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», Киров, Россия, (8332) 67-37-38, e-mail: dyakonov@niigpk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8688-1344>.
4. Глубоковских Н.В. - лаборант-исследователь, ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», Киров, Россия, конт. тел. – (8332) 67-37-38, <http://orcid.org/0009-0001-7181-6192>.

Конфликты интересов Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке к публикации настоящей статьи: разработка концепции статьи, проведение гистологических, иммуногистохимических исследований, морфометрического анализа, статистическая обработка фактических данных, написание и редактирование текста статьи, рецензирование и утверждение текста статьи.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом при ФГБУН КНИИГ и ПК ФМБА России (протокол № 26 от 26.09.2023 г.).