

# Прогностическое значение экспрессии CD163- и CD68-положительных макрофагов при нодулярном склерозе лимфомы Ходжкина

Е.А. Перфилова, М.С. Минаев, Д.А. Дьяконов, В.А. Росин, И.В. Парамонов

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства»; Россия, 610027 Киров, ул. Красноармейская, 72

**Контакты:** Елена Александровна Перфилова [lperf78@gmail.com](mailto:lperf78@gmail.com)

**Введение.** Классическая лимфома Ходжкина является одним из курательных онкогематологических заболеваний. Тем не менее у 15–20 % пациентов отмечаются рефрактерность к проводимой химиотерапии и развитие ранних рецидивов заболевания. Существующие клинические, патоморфологические и иммунофенотипические критерии позволяют диагностировать лимфому Ходжкина и с учетом этого выбрать персонифицированный метод лечения. Появляется все больше данных о взаимосвязи опухолевого субстрата с клетками микроокружения. Особое внимание уделяется опухоли-ассоциированным макрофагам, роль которых до конца не изучена.

**Цель исследования** – определить клинко-морфологические критерии и прогностическое значение экспрессии CD163- и CD68-положительных макрофагов в препаратах лимфатических узлов при нодулярном склерозе классической лимфомы Ходжкина.

**Материалы и методы.** Изучены клинко-лабораторные характеристики и результаты лечения 52 пациентов с впервые диагностированной лимфомой Ходжкина (подтип нодулярный склероз). Эффективность терапии оценивали после 2–4 курсов химиотерапии по данным позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией, по шкале Deauville.

**Результаты.** В гистологических срезах лимфатических узлов определены различия в характере расположения и относительном количестве CD163-положительных макрофагов у пациентов обеих исследуемых групп. При морфометрическом подсчете CD68-положительных клеток статистически значимых межгрупповых различий не выявлено. Установлено пороговое значение доли CD163-положительных клеток. Взаимосвязи уровня экспрессии CD68 и ответа на 1-ю линию терапии не выявлено. Соотношение опухоли-ассоциированных макрофагов у каждого пациента оценивали по индексу доли CD163/CD68. Определено пороговое значение индекса доли, позволяющее прогнозировать течение нодулярного склероза классической лимфомы Ходжкина.

**Заключение.** В качестве дополнительных морфологических критериев прогнозирования ответа на терапию 1-й линии у больных нодулярным склерозом классической лимфомы Ходжкина могут быть использованы следующие показатели: характер тканевого распределения и количественный подсчет субпопуляционного состава макрофагально-гистиоцитарного микроокружения опухолевой ткани. Результаты исследования могут быть использованы при стратификации пациентов с нодулярным склерозом классической лимфомы Ходжкина на группы риска уже на этапе диагностики в целях прогнозирования ответа на инициальной стадии терапии, а также для определения персонифицированных подходов к лечению.

**Ключевые слова:** макрофаги, лимфома Ходжкина, нодулярный склероз, иммуногистохимия, прогноз

**Для цитирования:** 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): 104–112. DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-1-104-112.

## Prognostic significance of CD163- and CD68-expressing macrophages in nodular sclerosis Hodgkin lymphoma

E.A. Perfilova, M.S. Minaev, D.A. Diakonov, V.A. Rosin, I.V. Paramonov

Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Federal Medical Biological Agency; 72 Krasnoarmeyeskaya St., Kirov 610027, Russia

**Contacts:** Elena Aleksandrovna Perfilova [lperf78@gmail.com](mailto:lperf78@gmail.com)

**Background.** Classical Hodgkin lymphoma is considered as one of the curable hematological malignancies. More attention is paid to the tumor-associated macrophages. Their role still has not been fully understood.

**The objective of the study** was to determine the clinical and morphological criteria and prognostic significance of CD163- and CD68-expressing macrophages in formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) lymph node samples of nodular sclerosis Hodgkin lymphoma.

**Materials and methods.** We have studied clinical and laboratory characteristics and treatment results of 52 patients with newly diagnosed nodular sclerosis Hodgkin lymphoma. The treatment efficacy was assessed after 2–4 courses of chemotherapy by positron emission tomography combined with computed tomography scan (PET-CT) according to the Deauville scale.

**Results.** In FFPE lymph node samples, differences in the localization and relative number of CD163-positive macrophages in patients of both study groups were determined. Morphometric counting of CD68-positive cells did not reveal statistically significant intergroup differences. The threshold of CD163-positive cells has been established. The relationship between the CD68 expression level and the response to frontline therapy was not revealed. The ratio of tumor-associated macrophages in each patient was assessed by the CD163/CD68 index. The threshold of the index was determined, which allows predicting the course of nodular sclerosis Hodgkin lymphoma.

**Conclusion.** The following parameters could be used as additional morphological criteria for predicting the response to frontline therapy in patients with nodular sclerosis Hodgkin lymphoma: tissue distribution pattern and quantitative calculation of macrophage-histiocytic microenvironment subpopulation composition. The results could be used to risk group stratification of patients with nodular sclerosis Hodgkin lymphoma in order to predict the response to initial phase of therapy, as well as to determine personalized treatment approaches.

**Key words:** macrophages, Hodgkin's lymphoma, nodular sclerosis, immunohistochemistry, prognosis

**For citation:** Perfilova E.A., Minaev M.S., Diakonov D.A. et al. Prognostic significance of CD163- and CD68-expressing macrophages in nodular sclerosis Hodgkin lymphoma. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2022;17(1):104–112. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-1-104-112.

## Введение

Классическая лимфома Ходжкина (кЛХ) является моноклональной лимфоидной неоплазией, происходящей из В-клеток. Этот патологический процесс на протяжении всей истории со времени описания в 1832 г. привлекал к себе внимание врачей-патологов со всего мира в силу необычной морфологии пораженной ткани. Особый интерес к кЛХ сохраняется у практикующих врачей, так как это одно из немногих онкогематологических заболеваний, признанных потенциально излечимыми у большинства первичных пациентов. Еще в 1978 г. огромный вклад в разработку терапии внесла немецкая группа по исследованию лимфомы Ходжкина, созданная и возглавляемая профессором Фолкером Дилем. Схема полихимиотерапии ВЕАСОРР (блеомицин, этопозид, доксорубин, циклофосфамид, винкристин, прокарбазин, преднизолон) позволяет достичь высоких показателей излечения у большинства больных с первичной лимфомой Ходжкина [1–3]. Тем не менее у 15–20 % пациентов отмечаются рефрактерность к проводимой химиотерапии и развитие ранних рецидивов заболевания. В этих случаях возникает необходимость изменения подходов к лечению, применения таргетной и иммунотерапии, а также выполнения аутологичной или аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [4].

В настоящее время существуют клинические, патоморфологические и иммунофенотипические критерии, позволяющие диагностировать лимфому Ходжкина и с учетом этого выбрать персонализированный метод лечения для достижения стойкой ремиссии заболевания. Исторически прогноз течения кЛХ определялся только стадией заболевания и наличием симптомов интоксикации. Взяв за основу клиническую

классификацию Ann Arbor, ученые продолжили поиск дополнительных прогностических факторов, которые могли бы помочь в выборе адекватной терапии для каждой группы больных. Современные клинические модели прогноза течения заболевания, такие как International Prognostic Score (IPS) и German Hodgkin's Lymphoma Study Group (GHSG), не включают морфологические и иммуногистохимические особенности, в силу чего их ценность ограничена. В связи с этим актуальной является разработка дополнительных к IPS и GHSG прогностических критериев, способствующих выбору оптимального терапевтического подхода в дебюте заболевания.

По данным классификации Всемирной организации здравоохранения, принято выделять 4 гистологических варианта кЛХ: лимфоидное преобладание, нодулярный склероз, смешанно-клеточный вариант, лимфоидное истощение. К наиболее частому подтипу относится нодулярный склероз (составляет около 70 % всех случаев заболевания), который характеризуется развитием в лимфатических узлах коллагеновых фиброзных тяжей, формирующих нодулы. Внутри них идентифицируются крупные атипичные клетки, происходящие из В-лимфоцитов герминативного центра фолликула, известные как клетки Ходжкина и Рид–Штернберга. В значительном количестве в лимфоидной ткани обнаруживается полиморфноклеточный компонент микроокружения, представленный Т- и В-лимфоцитами, нейтрофилами, эозинофилами, плазмócитами, а также макрофагально-гистиоцитарными элементами. Реже встречается смешанно-клеточный вариант – 20–25 %, с преобладанием лимфоцитов – 5 %. Вариант с истощением лимфоидной ткани встречается очень редко, на его долю приходится менее 1 % всех случаев [5–7].

Появляется все больше данных о взаимосвязи опухолевого субстрата с клетками микроокружения. Особое внимание уделяется опухоль-ассоциированным макрофагам, роль которых до конца не изучена. Эти клетки способны участвовать в ускорении роста опухоли, инициации и поддержании неоангиогенеза, изменять метаболизм в опухоли, играть важную роль в инвазии опухолевых клеток в окружающие нормальные ткани, пролиферации и поддержании их жизнеспособности. Результаты экспериментальных и клинических исследований показали, что высокий уровень макрофагальной инфильтрации опухолевой ткани ассоциирован с неблагоприятным прогнозом течения заболевания для пациентов и приобретением резистентности к химио- и иммунотерапии [8].

Морфологический анализ и оценка относительно содержания CD163- и CD68-антигенположительных опухоль-ассоциированных макрофагов при нодулярном склерозе КЛХ могут выступать эффективными и перспективными методами представления их в качестве предиктора течения заболевания. Известно, что маркер CD163 достаточно специфичен и проявляет экспрессию преимущественно в макрофагах и гистиоцитах. В отдельных работах зарубежных авторов, посвященных изучению CD163-положительных клеток, отмечено, что повышение их относительного количества считается значимым прогностическим критерием течения нодулярного склероза КЛХ [9, 10]. Моноклональное антитело CD68 используется в иммуногистохимическом исследовании в качестве маркера клеток моноцитарной/макрофагальной линии. Маркер неспецифичен и экспрессируется на гранулоцитах и дендритных клетках, фибробластах, клетках Купфера и остеокластах.

В ранее проведенных исследованиях нами установлено прогностическое значение опухоль-ассоциированных макрофагов (CD163, CD68) при нодулярном склерозе КЛХ [11–13]. Повышение доли клеток, экспрессирующих CD163, коррелирует с вероятностью развития рецидивов заболевания и низкой общей выживаемостью пациентов, что частично совпадает с результатами зарубежных исследований, которые носят преимущественно описательный характер [9, 14–16]. Значимость CD68 как маркера-предиктора течения КЛХ в настоящее время доказана не в полной мере, хотя встречаются отдельные работы, в которых отражена важная роль данного маркера [16, 17].

Таким образом, актуальным и целесообразным остается дальнейшее изучение клеток опухолевого микроокружения при нодулярном склерозе КЛХ. Особенности распределения и количественная оценка CD163- и CD68-положительных макрофагов в лимфатических узлах расширят представление об их взаимодействии с опухолевым субстратом. Применение морфометрического подсчета указанных клеток в гистологических срезах, подготовленных и окрашенных стандартными методами с использо-

ванием программы анализа изображений, позволит более точно оценить экспрессию биомаркеров в исследуемом материале. Это может способствовать стратификации пациентов на этапе диагностики заболевания и формированию нового вектора в прогнозировании течения нодулярного склероза КЛХ наряду с критериями существующих клинических моделей IPS и GHSg.

**Цель исследования** — определить клинико-морфологические критерии и прогностическое значение экспрессии CD163- и CD68-положительных макрофагов в препаратах лимфатических узлов при нодулярном склерозе КЛХ.

### Материалы и методы

Изучены клинико-лабораторные характеристики и результаты лечения 52 пациентов, наблюдавшихся в клинике Кировского НИИ гематологии и переливания крови ФМБА с впервые диагностированной лимфомой Ходжкина (подтип нодулярный склероз) в период с 2006 по 2018 г.

Все больные были разделены на 2 группы: 1-ю ( $n = 21$ ) составили обследуемые, достигшие полной ремиссии при проведении стандартной полихимиотерапии по схеме BEACOPP/ABVD (адриамицин, блеомицин, винбластин, дакарбазин) (благоприятное течение); 2-ю ( $n = 31$ ) — пациенты с рефрактерностью к химиотерапии, в том числе те, кому была выполнена аутологичная/аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (неблагоприятное течение). В изучаемых группах соотношение мужчин ( $n = 24$ ; 46,2 %) и женщин ( $n = 28$ ; 53,8 %) составило примерно 1:1; медиана возраста — 36 лет.

Согласно клинической классификации Ann Arbor (в модификации Cotswold) I стадия заболевания выявлена у 3 (5,8 %) пациентов; II — у 21 (40,4 %); III — у 16 (30,8 %); IV — у 12 (23,0 %).

Основным методом лечения была полихимиотерапия, для отдельных групп больных ( $n = 25$ ; 48,1 %) — ее сочетание с лучевой терапией, показаниями к которой служили оставшиеся резидуальные очаги в первично пораженных областях по данным позитронно-эмиссионной томографии. Согласно клиническим рекомендациям у 46 (88,5 %) пациентов в 1-й линии применяли протоколы BEACOPP-14 (4–6 курсов) и его модификации; у 6 (11,5 %) — ABVD (4–6 курсов). При резистентных и рецидивирующих формах заболевания 11 (21,2 %) больных получили схемы полихимиотерапии 2-й линии (BEGEV (бендамустин, гемцитабин, винорельбин), GDP (гемцитабин, дексаметазон, цисплатин), CVPP (циклофосфамид, винбластин, прокарбазин, преднизолон)) или комбинации схемы 2-й линии с препаратами моноклональных антител (ритуксимаб, ниволумаб, брентуксимаб ведотин, пембролизумаб).

Эффективность терапии оценивали после 2–4 курсов химиотерапии с применением позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной

томографией, по шкале Deauville. Полная ремиссия, т. е. исчезновение всех проявлений заболевания, в том числе выявляемых с помощью лабораторных и лучевых методов диагностики, а также клинических симптомов, если они имели место до начала лечения, достигнута у 40,4 % больных. Частичная ремиссия, т. е. уменьшение суммы размеров всех измеряемых очагов не менее чем на 50 %, отсутствие новых очагов поражения и признаков увеличения какого-либо из ранее диагностированных очагов поражения – у 48,1 %. Рефрактерная форма заболевания, т. е. устойчивость опухолевой ткани к препаратам полихимиотерапии и лучевой терапии установлена у 7,7 % пациентов. Рецидив и прогрессирование (прогрессирование – появление новых очагов или увеличение известного очага после частичной ремиссии или стабилизации; рецидив – обнаружение новых очагов или рост известных более чем на 25 % от минимального после полной ремиссии) – в 3,8 % случаев.

Трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (аутологичную или аллогенную) по показаниям проводили 7 (13,5 %) больным. Морфологические и иммуногистохимические исследования, необходимые для верификации диагноза и дальнейшей оценки экспрессии CD163- и CD68-антигенположительных клеток, выполняли всем больным на срезах с парафиновых блоков биоптатов лимфатических узлов (эксцизионная биопсия).

Для идентификации CD163- и CD68-положительных клеток в исследуемом материале использовали иммуногистохимический метод. Иммунореактивность первичных моноклональных антител CD163 (клон MRQ-26; Cell Marque, США) и CD68 (клон PG-M1; Dako, Дания) выявляли с помощью вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой, входящей в набор реактивов EnVISION+ (Dako, Дания), по стандартной методике. Патоморфологическую оценку и подсчет относительного числа экспрессирующих клеток выполняли с помощью светового микроскопа Leica DM 1000 (Германия) со встроенной фото- и видеокамерой и программы анализа изображений ImageScope Color, версии M, с окулярами  $\times 10$  при объективах  $\times 4$ ,  $\times 10$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$ . Исследования каждого образца проводили последовательно в 10 полях зрения, площадь каждого из которых соответствовала 0,33 мм<sup>2</sup> [18]. Определяли относительное содержание CD163- и CD68-положительных клеток.

Для статистической обработки данных применяли программу STADIA. При сравнении показателей использовали непараметрический критерий Манна–Уитни, метод  $\chi^2$ -Пирсона с поправкой Йетса. В случаях малого числа наблюдений проводили анализ с помощью точного двустороннего критерия Фишера. Общую и безрецидивную выживаемость рассчитывали по методу Каплана–Майера с построением соответствующих кривых. Различия между показателями считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

В гистологических срезах лимфатических узлов определены различия в характере расположения и относительном количестве CD163-положительных макрофагов у пациентов обеих исследуемых групп. Так, у всех больных 1-й группы клетки локализовались ближе к центру нодулярных структур, в отдалении от фиброзных тяжей, образуя небольшие или умеренные рыхлые скопления. У всех обследуемых 2-й группы опухоль-ассоциированные CD163-положительные макрофаги находились вдоль фиброзных тяжей по внутренней границе нодуля (рис. 1).

В результате морфометрического подсчета опухоль-ассоциированных макрофагов выявлены различия относительного количества CD163-экспрессирующих клеток в сравниваемых группах (рис. 2). У пациентов 1-й группы медиана доли CD163-антигенположительных макрофагов статистически значимо ниже по сравнению с таковой во 2-й группе: 6,0 (5,0–6,4) % против 15,8 (8,0–19,5) % ( $p < 0,001$ ).

При морфометрическом подсчете CD68-положительных клеток статистически значимых межгрупповых различий не выявлено. У пациентов 1-й группы медиана доли CD68-антигенположительных опухоль-ассоциированных макрофагов была сопоставима с таковой во 2-й группе: 12,0 (10,6–13,0) % и 10,5 (8,9–14,1) % соответственно ( $p = 0,08$ ) (рис. 3).

Содержание опухоль-ассоциированных макрофагов с учетом стадии КЛХ и пола пациентов представлено в таблице.

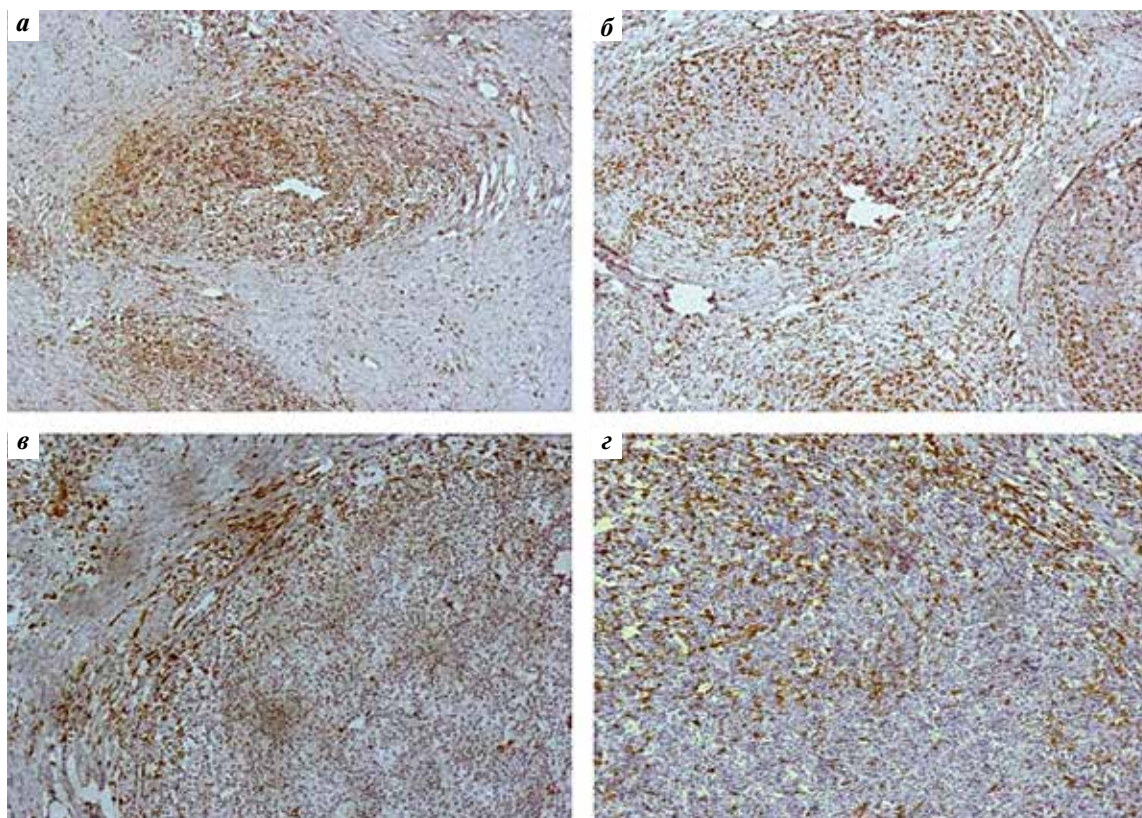
*Относительное содержание CD163- и CD68-антигенположительных макрофагов с учетом стадии заболевания (по клинической классификации Ann Arbor в модификации Cotswold)*

*The relative content of CD163- and CD68-antigen-positive macrophages considering the disease stage (according to Ann Arbor clinical classification with Cotswold modification)*

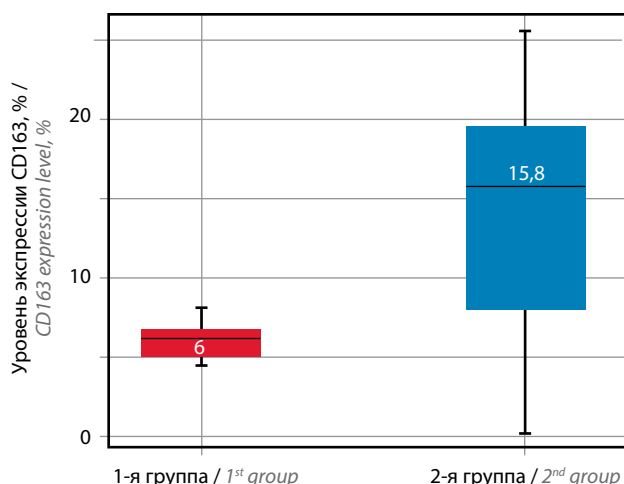
Показатель Parameter	Количество CD163-антигенположительных макрофагов, Me The number of CD163-antigen-positive macrophages, Me	Количество CD68-антигенположительных макрофагов, Me The number of CD68-antigen-positive macrophages, Me
Пол: Gender:		
мужской male	7	12
женский female	8	12
Стадия: Stage:		
I	5	12
II	7	13
III	7	11
IV	14	10

**Примечание.** Полученные данные не имели статистической значимости ( $p > 0,05$ ).

*Note.* The data obtained were not statistically significant ( $p > 0,05$ ).

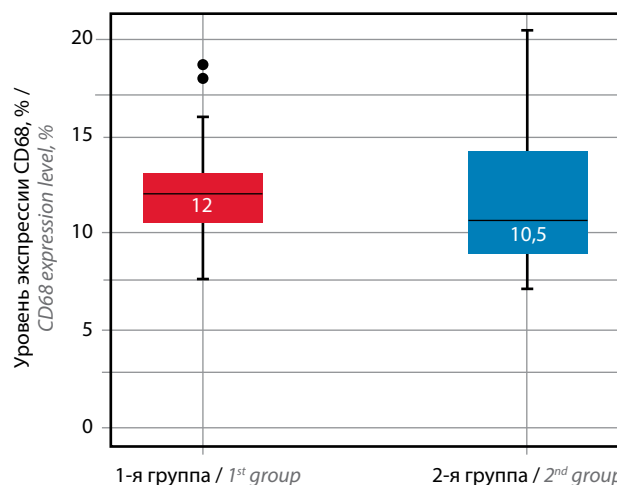


**Рис. 1.** Особенности распределения CD163- и CD68-антигенположительных макрофагов в лимфатическом узле пациентов с нодулярным склерозом лимфомы Ходжкина ( $\times 200$ ): а – CD163, 1-я группа; б – CD163, 2-я группа; в – CD68, 1-я группа; г – CD68, 2-я группа  
**Fig. 1.** Distribution features of CD163- and CD68-antigen-positive macrophages in the lymph node of patients with nodular sclerosis Hodgkin lymphoma ( $\times 200$ ): а – CD163, 1<sup>st</sup> group; б – CD163, 2<sup>nd</sup> group; в – CD68, 1<sup>st</sup> group; г – CD68, 2<sup>nd</sup> group



**Рис. 2.** Относительное содержание CD163-положительных макрофагов в лимфатических узлах пациентов с нодулярным склерозом лимфомы Ходжкина  
**Fig. 2.** Relative content of CD163-positive macrophages in the lymph nodes of patients with nodular sclerosis Hodgkin lymphoma

При оценке зависимости прогноза ответа на 1-ю линию терапии от уровня экспрессии CD163 и CD68 с помощью ROC-анализа получены следующие кривые (рис. 4). Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи уровня экспрессии CD163 и ответа на 1-ю линию терапии, составила  $0,712 \pm 0,091$  с 95 %



**Рис. 3.** Относительное содержание CD68-положительных макрофагов в лимфатических узлах пациентов с нодулярным склерозом лимфомы Ходжкина  
**Fig. 3.** Relative content of CD68-positive macrophages in the lymph nodes of patients with nodular sclerosis Hodgkin lymphoma

доверительным интервалом (ДИ) 0,534–0,889. В целях установления оптимального порогового уровня кривых с помощью статистической программы рассчитывали значение  $p$  за счет сопоставления чувствительности и специфичности метода исследования. В результате полученная прогностическая модель была статистически

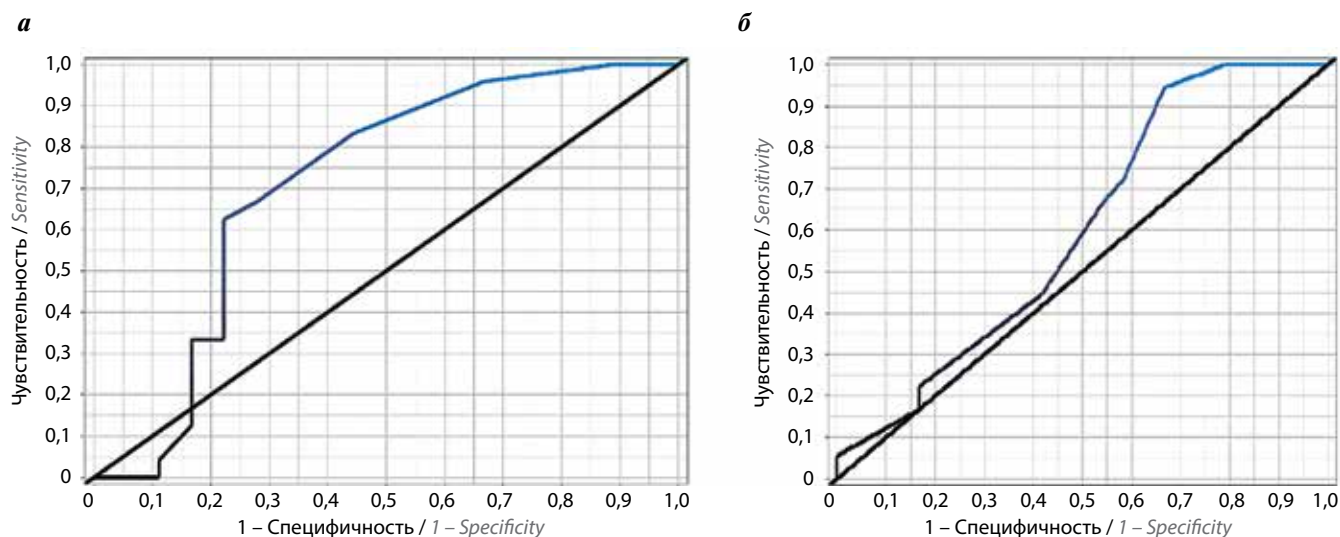


Рис. 4. ROC-кривые, характеризующие зависимость ответа на 1-ю линию терапии от уровня экспрессии CD163 (а) и CD68 (б)  
Fig. 4. ROC curves characterizing the dependence of response to the 1<sup>st</sup> line therapy on the expression level of CD163 (a) and CD68 (b)

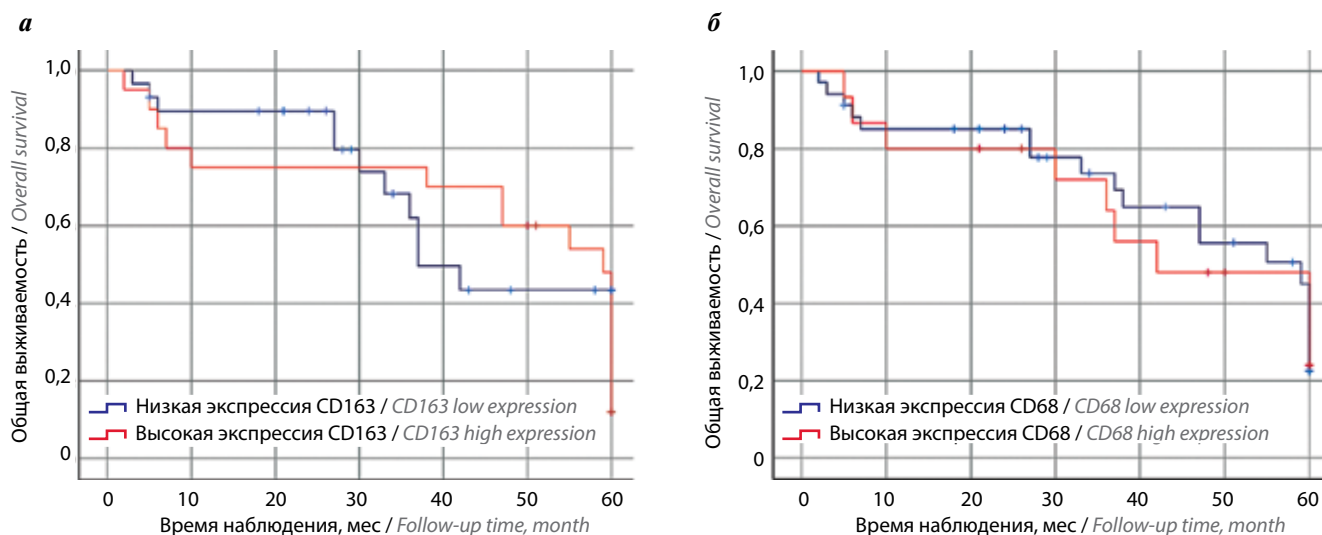


Рис. 5. Пятилетняя общая выживаемость пациентов с нодулярным склерозом лимфомы Ходжкина в зависимости от уровня экспрессии CD163- (а) и CD68- (б) положительных клеток  
Fig. 5. Five-year overall survival of patients with nodular sclerosis Hodgkin lymphoma depending on the expression level of CD163- (a) and CD68- (b) positive cells

значимой ( $p = 0,019$ ), т.е. пригодной для дальнейшего использования при статистическом анализе.

Установлено пороговое значение доли CD163-положительных клеток – 10 %. При их относительном содержании, равном или превышающем данный показатель, прогнозировался риск недостижения полной ремиссии. Чувствительность и специфичность метода составили 62,5 и 77,8 % соответственно. Взаимосвязи уровня экспрессии CD68 и ответа на 1-ю линию терапии не выявлено ( $p = 0,257$ ).

Соотношение опухоль-ассоциированных макрофагов у каждого пациента оценивали по индексу доли CD163/CD68. Определено пороговое значение индекса доли, позволяющее прогнозировать течение нодулярного склероза КЛХ. При значении индекса доли, равном или менее 12 %, констатировалось благопри-

ятное течение заболевания, при значении более 12 % – неблагоприятное течение [12].

При изучении продолжительности жизни пациентов с нодулярным склерозом лимфомы Ходжкина выявлено, что медиана 5-летней общей выживаемости у пациентов с высоким относительным содержанием CD163-антигенположительных клеток соответствовала 59 мес (95 % ДИ 52,8–65,2), у обследуемых с низкой экспрессией исследуемого антитела – 37 мес (95 % ДИ 29,5–44,5) ( $p = 0,043$ ) (рис. 5, а). Медиана 5-летней общей выживаемости в группе с высокой долей CD68-положительных клеток соответствовала 59 мес (95 % ДИ 35,7–82,2) против 42 мес (95 % ДИ 22,5–61,5) в группе с низким уровнем исследуемого антитела (рис. 5, б). Данные различия не имели статистической значимости ( $p > 0,05$ ).

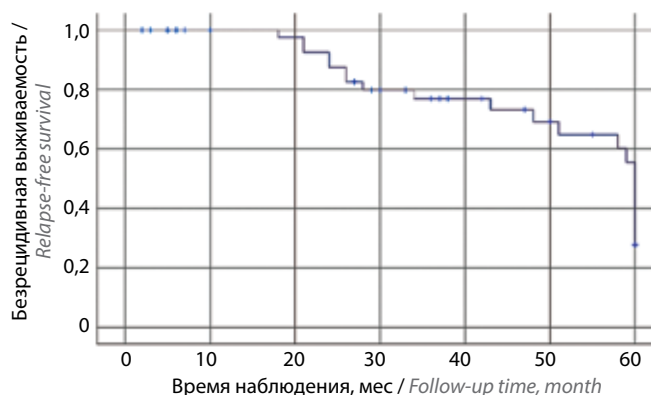


Рис. 6. Безрецидивная выживаемость пациентов с полной ремиссией при нодулярном склерозе лимфомы Ходжкина

Fig. 6. Relapse-free survival of patients with complete remission of nodular sclerosis Hodgkin lymphoma

У 21 пациента с полной ремиссией безрецидивная выживаемость составила 60 мес (95 % ДИ 59,3–60,6). Это указывает на эффективность выбранных протоколов 1-й линии полихимиотерапии (рис. 6).

### Обсуждение

Опухоль-ассоциированные макрофаги играют важную роль в прогнозе течения КЛХ, о чем свидетельствуют результаты исследований отдельных авторов. Однако таких работ немного, и их результаты достаточно противоречивы. Это указывает на необходимость дальнейшего изучения данного вопроса. В нашем исследовании использовано иммуногистохимическое окрашивание с помощью моноклональных антител к CD163 (клон MRQ-26) и CD68 (клон PG-M1) для сопоставления их взаимосвязи с прогнозом заболевания.

CD68 представляет собой гликопротеин, используемый в качестве маркера моноцитов/макрофагов, но является неспецифичным. Он экспрессируется на миелоидных и дендритных клетках, фибробластах, клетках Лангерганса и др. Моноклональное антитело CD163 – более специфичный маркер для моноцитов/макрофагов, представляет более точную, по сравнению с CD68, информацию о локализации и количественном содержании указанных клеток при оценке общей иммуногистохимической картины лимфатических узлов у больных КЛХ [19].

В результате морфометрического анализа выявлено, что относительное число CD163-антигенположительных клеток у больных 1-й группы статистически значимо меньше, чем у пациентов 2-й группы. Напротив, доля CD68-положительных макрофагов у обследуемых, достигших полной ремиссии, значительно выше, чем у больных с рефрактерностью к проводимой химиотерапии 1-й и последующих линий. При изучении гистоархитектоники и иммуногистохимической картины лимфатических узлов установлены особенности расположения CD163-положительных клеток. Так, у больных 1-й группы указанные клетки локализовались ближе к центру нодулярных структур, в от-

далении от фиброзных тяжей, образуя небольшие или умеренные рыхлые скопления. У обследуемых 2-й группы опухоль-ассоциированные макрофаги находились вдоль фиброзных тяжей по внутренней границе нодуля.

Установлено, что опухоль-ассоциированные макрофаги располагались небольшими или умеренными очаговыми скоплениями с эксцентричным распределением кариоцитов по отношению к лимфоидным нодулям, либо локализованных преимущественно на границе между фиброзными тяжами и нодулями (циркулярно по периферии нодуля). Такое расположение напоминает «барьер», сформированный макрофагами, ограждающий опухолевый субстрат от условно здоровой ткани. Принцип морфометрического анализа, использованного в работе, отличается от такового у авторов из Южной Кореи и Саудовской Аравии, которые проводили исследование у больных лимфомой Ходжкина без учета конкретного варианта заболевания и морфометрического подсчета относительного числа CD163- и CD68-антигенположительных макрофагов, т.е. без количественной оценки содержания и соотношения макрофагальных элементов в лимфатическом узле [9, 16].

В то же время важность изучения количественного содержания ассоциированных с опухолью макрофагов показана в исследованиях, проведенных в Чехии и США. Следует отметить, что полученные авторами результаты имеют определенное сходство с нашими данными [14, 15]. Использование иммуногистохимических маркеров опухоль-ассоциированных макрофагов CD163 и CD68 позволяет на этапе первичной диагностики лимфомы Ходжкина прогнозировать благоприятный и неблагоприятный варианты течения заболевания.

Таким образом, полученные данные указывают на обратно пропорциональную связь высокой экспрессии CD163-антигенположительных макрофагов с неблагоприятным течением заболевания. Неоднократно описывалась роль маркера CD68 в качестве потенциального предиктора течения КЛХ. Оценка относительного содержания и локализации CD68-антигенположительных клеток в препаратах лимфатических узлов при нодулярном склерозе КЛХ в нашем исследовании не выявила зависимости между перечисленными параметрами и прогнозом течения заболевания, что подтверждают результаты работ зарубежных авторов. Доля CD68-положительных клеток в обеих группах определялась с одинаковой частотой, но имела тенденцию к повышению в 1-й группе. Соотношение CD163/CD68 может использоваться в качестве дополнительного критерия прогноза течения нодулярного склероза КЛХ. Так, при индексе доли CD163- и CD68-антигенположительных макрофагов в лимфатическом узле выше порогового значения ( $\geq 12\%$ ) возможно прогнозировать неблагоприятное течение патологического процесса [12]. Существующие на сегодняшний день

методы не позволяют количественно оценить содержание и соотношение макрофагальных элементов в гистологических препаратах лимфатических узлов пациентов с нодулярным склерозом КЛХ.

### Заключение

В качестве дополнительных морфологических критериев прогнозирования ответа на терапию 1-й линии у больных нодулярным склерозом КЛХ могут быть использованы следующие показатели: характер тканевого распределения и количественный подсчет субпопуляционного состава макрофагально-гистиоцитарного микроокружения опухолевой ткани. При благоприятном прогнозе течения заболевания макрофаги в препарате, как правило, локализованы в отдалении от фиброзных тяжей, распределены неравномерно, в виде небольших или умеренных скоплений с эксцентричным распределением клеток по отношению к лимфоидным нодулям. Для пациентов с рефрактерной формой нодулярного склероза КЛХ характерным является

расположение CD163-положительных элементов преимущественно на границе между фиброзными тяжами и нодулями (циркулярно по периферии нодулей). Повышение относительного количества CD163-экспрессирующих кариоцитов характерно для больных с минимальным ответом на стандартную терапию 1-й линии. Иммуногистохимическое определение маркера CD163 может использоваться в комплексной диагностике причин рефрактерности.

Содержание и характер распределения CD68-антигенположительных клеток также могут быть потенциальными прогностическими критериями течения нодулярного склероза КЛХ, но в совокупности с более специфичным маркером (CD163). Результаты исследования могут быть использованы при стратификации пациентов с нодулярным склерозом КЛХ на группы риска уже на этапе диагностики в целях прогнозирования ответа на инициальной стадии терапии, а также для определения персонифицированных подходов к лечению.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Connors J.M., Cozen W., Steidl C. et al. Hodgkin lymphoma. *Nat Rev Dis Primers* 2020;6(1):61. DOI: 10.1038/s41572-020-0189-6.
- WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Eds.: S.H. Swerdlow, E. Campo, N.L. Harris et al. Lyon: IARC, 2017. Pp. 435–438.
- Беляева Е.С., Сусулева Н.А., Валиев Т.Т. Значение интенсивной химиотерапии для лечения детей с распространенными стадиями лимфомы Ходжкина. *РМЖ. Мать и дитя* 2020;3(2):149–53. [Belyaeva E.S., Susuleva N.A., Valiev T.T. The importance of intensive chemotherapy for advanced Hodgkin lymphoma in children. *RMZH. Mat' i ditya* = Russian Journal of Woman and Child Health 2020;3(2):149–53. (In Russ.)]. DOI: 10.32364/2618-8430-2020-3-2-149-154.
- Мочкин Н.Е., Саржевский В.О., Дубинина Ю.Н. Результаты лечения классической лимфомы Ходжкина, включающего высокодозную химиотерапию с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток, в НМХЦ им. Н.И. Пирогова. *Клиническая онкогематология* 2018;11(3):234–40. [Mochkin N.E., Sarzhetskii V.O., Dubinina Yu.N. et al. Outcome of classical Hodgkin's lymphoma treatment based on high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation: the experience in the N.I. Pirogov Russian National Medical Center of Surgery. *Klinicheskaya onkogematologiya* = Clinical Oncohematology 2018;11(3):234–40. (In Russ.)].
- Поляцкин И.Л., Артемьева А.С., Криволапов Ю.А. Пересмотренная классификация ВОЗ опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей, 2017 (4-е издание): опухоли лимфоидной ткани. *Архив патологии* 2019;81(3):59–65. [Polyatskin I.L., Artem'eva A.S., Krivolapov Yu.A. Revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues, 2017 (4th edition): lymphoid tumors. *Arkhiv Patologii* = Archive of Pathology 2019;81(3):59–65. (In Russ.)]. DOI: 10.17116/patol20198103159.
- Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфо-пролиферативных заболеваний. Под ред. И.В. Поддубной, В.Г. Савченко. М.: Буки Веди, 2018. [Russian clinical guidelines for the diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases. Eds.: I.V. Poddubnaya, V.G. Savchenko. Moscow: Buki Vedi, 2018. (In Russ.)].
- Наср М.Р., Перри А.М., Скрабек П. Патология лимфатических узлов для клиницистов. Пер. с англ. Ю.А. Криволапова. М.: Практическая медицина, 2019. С. 190–196. [Nasr M.R., Perry A.M., Skrabek P. Lymph node pathology for clinicians. Translated from English by Yu.A. Krivolapov. Moscow: Prakticheskaya meditsina, 2019. Pp. 190–196. (In Russ.)].
- Богданова И.М., Болтовская М.Н., Рахмилевич А.Л., Артемьева К.А. Ключевая роль опухоли-ассоциированных макрофагов в прогрессировании и метастазировании опухолей. *Иммуно-*
- логия 2019;40(4):41–7. [Bogdanova I.M., Boltovskaya M.N., Rakhmylevich A.L., Artemyeva K.A. Key role of tumor-associated macrophages in the progressing and metastasis of tumors. *Immunologiya* = Immunology 2019;40(4):41–7. (In Russ.)].
- Al Sayed Ahmed H., Raslan W.F., Deifalla A.H.S., Fathallah M.D. CD163 is a predictive biomarker for prognosis of classical Hodgkin's lymphoma in Saudi patients. *Mol Clin Oncol* 2019;11(1): 67–76. DOI: 10.3892/mco.2019.1850.
- Mavili H.S., Isisag A., Tan A. Relationship of Tumor-associated macrophage population detected by CD68 PG-M1, CD68KP1, and CD163 with latent EBV infection and prognosis in classical Hodgkin lymphoma. *Turk Patoloji Derg* 2021;37(2):130–8. DOI: 10.5146/tjpath.2020.01514.
- Минаев М.С., Дьяконов Д.А., Перфилова Е.А. и др. Особенности локализации и количественная оценка содержания CD163-положительных макрофагов при нодулярном склерозе лимфомы Ходжкина. *Вестник гематологии* 2019;15(4):44–5. [Minaev M.S., Diakonov D.A., Perfilova E.A. et al. Localization pattern and quantitative assessment of CD163-positive macrophages in nodular sclerosis Hodgkin lymphoma. *Vestnik gematologii* = The Bulletin of Hematology 2019;15(4):44–5. (In Russ.)].
- Дьяконов Д.А., Минаев М.С., Перфилова Е.А. Способ морфометрической оценки прогноза течения нодулярного склероза лимфомы Ходжкина по индексу доли CD163+ и CD68+ макрофагов в лимфатических узлах.

- Патент 2 738 863. 2020. [Diakonov D.A., Minaev M.S., Perfilova E.A. Morphometric prognosis assessment method for nodular sclerosis Hodgkin lymphoma according to CD163+ and CD68+ macrophages proportion index in the lymph nodes. Patent 2 738 863. 2020. (In Russ.)].
13. Минаев М.С., Дьяконов Д.А., Перфилова Е.А. Анализ CD68-положительных макрофагов при нодулярном склерозе лимфомы Ходжкина. Гематология и трансфузиология 2020;65(1):180–1. [Minaev M.S., Diakonov D.A., Perfilova E.A. Analysis of CD68-positive macrophages in nodular sclerosis Hodgkin lymphoma. *Gematologiya i transfuziologiya* = *Hematology and Transfusiology* 2020;65(1):180–1. (In Russ.)].
  14. Procházka V., Papajík T., Dýšková T. et al. The lymphoma-associated macrophage to Hodgkin-reed-sternberg cell ratio is a poor prognostic factor in classic Hodgkin lymphoma patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2019;19(10):e573–80. DOI: 10.1016/j.clml.2019.07.001.
  15. Harris J.A., Jain S., Ren Q. et al. CD163 versus CD68 in tumor associated macrophages of classical Hodgkin lymphoma. *Diagn Pathol* 2012;7:12. DOI: 10.1186/1746-1596-7-12.
  16. Yoon D.H., Koh Y.W., Kang H.J. et al. CD68 and CD163 as prognostic factors for Korean patients with Hodgkin lymphoma. *Eur J Haematol* 2012;88(4):292–305. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2011.01731.x.
  17. Mohamed O., El Bastawisy A., Allahlobi N. et al. The role CD68+ macrophage in classical Hodgkin lymphoma patients from Egypt. *Diagn Pathol* 2020;15(1):10. DOI: 10.1186/s13000-019-0912-3.
  18. Matutes E., Bain B.J., Wotherspoon A. Lymphoid malignancies: an atlas of investigation and diagnosis. Clinical Publishing, 2007. 152 p.
  19. Klein J.L., Nguyen T.D.T., Bien-Willner G.A. et al. CME/SAM CD163 immunohistochemistry is superior to CD68 in predicting outcome in classical Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2014;141(3):381–7. DOI: 10.1309/AJCP61TLMXLSLJYS.

#### Вклад авторов

Е.А. Перфилова: написание текста рукописи, выполнение практической части исследования, статистический анализ и интерпретация данных;

М.С. Минаев: сбор, систематизация и интерпретация клинических данных, выполнение практической части исследования, статистический анализ данных;

Д.А. Дьяконов: разработка концепции и дизайна исследования, формулировка выводов;

В.А. Росин: проверка критически важного интеллектуального содержания статьи, формулировка выводов;

И.В. Парамонов: организация проведения исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания статьи.

#### Authors' contributions

E.A. Perfilova: article writing, practical part of the study, statistical analysis and data interpretation;

M.S. Minaev: collection, systematization and interpretation of clinical data, practical part of the study, statistical analysis;

D.A. Diakonov: concept and design development, conclusions;

V.A. Rosin: review of critical intellectual content of the article, conclusions;

I.V. Paramonov: study organization, review of critical intellectual content of the article.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

Е.А. Перфилова / E.A. Perfilova: <https://orcid.org/0000-0002-1138-9184>

М.С. Минаев / M.S. Minaev: <https://orcid.org/0000-0001-8106-6391>

Д.А. Дьяконов / D.A. Diakonov: <https://orcid.org/0000-0001-8688-1344>

В.А. Росин / V.A. Rosin: <https://orcid.org/0000-0003-2054-2870>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

#### Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства». Протокол № 28н от 22.10.2021.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

#### Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Federal Medical Biological Agency. Protocol No. 28n dated 22.10.2021.

All patients gave written informed consent to participate in the study.