

УДК: 618.16-006.61-091.8

UDC: 618.16-006.61-091.8

14.00.00 Медицинские науки

Medical sciences

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
ЛИМФОЦИТАРНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ У
БОЛЬНЫХ РАКОМ ВУЛЬВЫ****PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF
LYMPHOCYTIC INFILTRATION IN VULVAR
CANCER PATIENTS**

Неродо Галина Андреевна
д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН,
РИНЦ SPIN-код: 9162-4949

Nerodo Galina Andreevna
Dr. Sci. Med., professor, corresponding member of
RAS, RSCI SPIN-code: 9162-4949

Новикова Инна Арнольдовна
к.м.н., РИНЦ SPIN-код: 4810-2424

Novikova Inna Arnoldovna
Cand. Sci. Med., RSCI SPIN-code: 4810-2424

Златник Елена Юрьевна
д. м. н., профессор, РИНЦ SPIN-код: 4137-7410

Zlatnik Elena Yurievna
Dr. Sci. Med., professor, RSCI SPIN-code: 4137-7410

Иванова Виктория Александровна
д. м. н., профессор, РИНЦ SPIN-код: 8785-9790

Ivanova Viktoria Aleksandrovna
Dr. Sci. Med., professor, RSCI SPIN-code: 8785-9790

Ульянова Елена Петровна
РИНЦ SPIN-код: 1243-9475
*ФГБУ "Ростовский научно-исследовательский
онкологический институт" Министерства
здравоохранения РФ, Россия, 344037, Ростов-на-
Дону, ул. 14-я линия, 63*

Ulianova Elena Petrovna
RSCI SPIN-code: 1243-9475
*Rostov Research Institute of Oncology, Russia,
344037, Rostov-on-Don, 14-line, 63*

Для определения возможной роли иммунологического микроокружения опухоли в поддержании длительности ремиссии проведено ретроспективное иммуногистохимическое исследование лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации в опухолевой ткани 84 больных раком вульвы с длительным (свыше 2-х лет) и коротким периодом (менее 2-х лет) ремиссии. Больные раком вульвы с кратковременной ремиссией находились в возрасте от 46 до 85 лет, средний возраст 67 лет. Среди них в I стадии было 15,8% больных, во II – 21%, в III – 47,4% и в IV – 15,8%. Длительность ремиссии у больных этой группы была в среднем 11 месяцев. Возраст больных в группе с длительной ремиссией колебался от 27 до 71 года, средний возраст был 48 лет. В I стадии было 38,5% больных, во II – 53,8%, в III – 7,7%. Длительность ремиссии в этой группе составила в среднем 8 лет. По гистологической структуре у всех больных был выявлен плоскоклеточный рак. В строме и паренхиме опухолевой ткани выявлено наличие лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации различной степени выраженности, с преобладанием в ней Т-лимфоцитов. У больных с длительной ремиссией (свыше 2-х лет) отмечено преобладание CD8+ клеток в ткани злокачественной опухоли, тогда как более высокий уровень опухолевой инфильтрации CD4+ Т-лимфоцитов ассоциировался с более короткой ремиссией (менее 2-х лет) и неблагоприятным прогнозом. Выявленные различия позволяют

A retrospective immunohistochemical study of lymphocyte and macrophage infiltration in tumor tissue of 84 vulvar cancer patients with a long (over 2 years) and short (less than 2 years) remission was performed to determine a possible role of immunologic microenvironment of tumors in maintaining remission. Vulvar cancer patients with a short remission period were aged 46-85 years, mean age 67 years. 15.8% of them had stage I of the disease, 21% - stage II, 47.4% - stage III and 15.8% - stage IV. The average duration of remission in this group was 11 months. Patients with a long remission period were aged 27-71 years, mean age 48 years. 38.5% of them had stage I of the disease, 53.8% - stage II and 7.7% - stage III. The average duration of remission in this group was 8 years. Histological study showed squamous cell carcinoma in all patients. Stroma and parenchyma of tumor tissues demonstrated lymphocyte and macrophage infiltration of various degrees with the predominance of T-lymphocytes. CD8+ cells prevailed in tumor tissue of patients with a long remission period (over 2 years), while a higher level of CD4+ T-lymphocytic infiltration was associated with a short remission (less than 2 years) and a poor prognosis. These differences allow prediction of the vulvar cancer course and its early or late recurrence

прогнозировать течение опухолевого процесса и развитие рецидива в ранние или отдаленные сроки

Ключевые слова: РАК ВУЛЬВЫ, ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК, ЛИМФОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНАЯ ИНФИЛЬТРАЦИЯ, ПРОГНОЗ

Keywords: VULVAR CANCER, SQUAMOUS CELL CARCINOMA, LYMPHOCYTE AND MACROPHAGE INFILTRATION, PROGNOSIS

Doi: 10.21515/1990-4665-125-056

Введение

Рак вульвы выявляется в основном у пожилых женщин, у женщин менопаузального возраста, чаще всего в интервале 60-80 лет. Эта локализация доступна для визуального осмотра, и несмотря на это, малосимптомное течение заболевания в ранних стадиях, отсутствие профилактических осмотров и онконастороженности приводит к поздней обращаемости к специалисту. И как следствие этого, более 50% больных поступают с III-IV стадиями злокачественного процесса. Эффективность лечения на этих стадиях снижена [6, 9] в силу особенностей анатомо-топографического строения наружных половых органов с чрезвычайно богатой сетью лимфатических сосудов, рак данной локализации является агрессивным, так как обладает склонностью к быстрому росту, метастазированию и рецидивированию. По данным литературы, общая 5-летняя выживаемость у больных раком вульвы не превышает 50%. Сложность представляет и лечение рецидивов рака вульвы, которые возникают у больных от 30 до 60% в течение первых 5 лет после окончания лечения [11]. Основными причинами летальных исходов являются несвоевременная диагностика и нерадикальность проведенного лечения и больные, как правило, погибают от рецидивов и метастазов [7, 8]. Таким образом, поиск любых прогностических факторов эффективности лечения рака вульвы является актуальным на сегодняшний день.

Опухолевое микроокружение является одним из факторов, определяющих прогноз заболевания. Роль инфильтрации опухоли иммунокомпетентными клетками неоднозначна, в литературе есть данные

о том, что они могут способствовать не только ее регрессии, но и росту [1]. Гетерогенность состава лимфоцитарно-макрофагального инфильтрата, находящегося вблизи опухоли, можно рассматривать как отражение различия биологических свойств опухолевых клеток, способствующих его формированию [10]. Как указано в литературе, состав лимфоидного инфильтрата и его функциональная активность являются факторами независимого прогноза: при наличии высокого содержания в ткани опухоли и перифокальной зоне колоректального рака CD8+ лимфоцитов 5-ти летняя выживаемость больных составила 86,2%, а рецидивы возникали у 4,8% больных, тогда как на фоне низкого содержания этих клеток данные показатели составили 27,5% и 75% соответственно [3]. Большое число CD8+ цитотоксических лимфоцитов, коррелирует с ухудшением показателей выживаемости при лимфоме Ходжкина [13], плоскоклеточном раке анального канала [18], но являются фактором благоприятного прогноза при раке эндометрия [16], яичников [20]. Установлено, что снижение уровня Т-клеточной инфильтрации опухоли имеет определенную связь с регионарным метастазированием или наличием микрометастазов [4]. В некоторых работах прослеживается положительная корреляция между Т-клеточной инфильтрацией опухоли (включая CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты) и положительным клиническим прогнозом, однако, судя по данным авторов, это относится к HLA-DR II позитивным опухолям [5]. В других исследованиях подчеркивается однозначно позитивная прогностическая роль инфильтрации CD8+ Т-клетками как предшественниками цитотоксических Т-лимфоцитов – эффекторов адаптивного иммунитета [12].

Макрофаги являются важным компонентом хронического воспаления. М1 макрофаги участвуют в формировании противоопухолевого ответа, активируются бактериальными продуктами и ИФН-гамма и подавляют микроорганизмы и рост опухолевых клеток.

Макрофаги M2 участвуют в регуляции воспаления, стимулируют пролиферацию, ангиогенез, процесс заживления и поглощают обломки погибших клеток. По существующим данным макрофаги, инфильтрирующие опухоль являются предшественниками M2 типа, которые способствуют развитию опухоли [22].

Целью настоящего исследования явилась оценка экспрессии и прогностической значимости лимфоцитарно-макрофагальных маркеров в ткани плоскоклеточной карциномы вульвы.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования послужили парафиновые блоки тканей опухолей вульвы 84 больных раком вульвы, в которых проводилось изучение лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации иммуногистохимическим методом. С парафиновых блоков готовили срезы толщиной 3-4 мкм на ротационном микротоме Accu-Cut SRM 200 фирмы Sakura (Япония). Срезы наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали вертикально в термостате при температуре 37°C в течение ночи. Использованные в работе первичные антитела и их разведения представлены в таблице 1.

ТАБЛИЦА 1. ПАНЕЛЬ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ИССЛЕДОВАНИИ АНТИТЕЛ

Специфичность	Клон	Фирма	Разведение	Буфер для «демаскировки антигенов»
CD3 (мембранное окрашивание)	SP7	Thermo Scientific	1:150	10 mM Tris, 1 mM EDTA (pH 6,0)
CD4 (мембранное окрашивание)	IF 6	DCS	1:40	10 mM Tris, 1 mM EDTA (pH 9,0)
CD8 (мембранное и цитоплазматическое окрашивание)	C8/1448	DAKO	RTU	10 mM Tris, 1 mM EDTA (pH 9,0)
CD20 (мембранное окрашивание)	L26	Cell Marque	1:500	10 mM Tris, 1 mM EDTA (pH 8,0)
CD68 (цитоплазматическое окрашивание)	KP 1	DAKO	RTU	10 mM Tris, 1 mM EDTA (pH 9,0)

Парафиновые срезы депарафинировали и регидратировали по стандартной методике. "Демаскировку" антигенов проводили в PT-Link Thermo. Протокол включал в себя предварительный нагрев до 65⁰С, восстановление антигена в течение 20 минут при температуре 97⁰С и дальнейшее охлаждение до 65⁰С. Затем стекла промывались в течение 1-3 минут TBS-буфером (Dako) и помещались в автостейнер Thermo Scientific для окрашивания в автоматическом режиме. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали систему детекции Reveal Polyvalent HRP-DAB Detection System. Срезы докрашивали гематоксилином Майера, для заключения использовали бальзам Bio-Mount. Полуколичественно оценивали экспрессию Т-клеточных лимфоцитарных маркеров CD3, CD4 и CD8, В-клеточного лимфоцитарного маркера CD20 и макрофагального маркера CD68 на 10 случайно выбранных полях зрения с применением светового микроскопа Zeiss Axio Imager M2 под увеличением x10, x20, x40.

Результаты исследования

Под наблюдением находилось 84 больных раком вульвы в возрасте от 57 до 84 лет, 38 из которых после лечения были с кратковременной ремиссией, а 46 – с длительной. Больные раком вульвы с кратковременной ремиссией находились в возрасте от 46 до 85 лет, средний возраст 67 лет. Среди них в I стадии было 15,8% больных, во II – 21%, в III - 47,4% и в IV – 15,8%, т.е., в ранних стадиях было 36,8% - менее половины больных, а в поздних стадиях 63,2%, т.е. с распространённым злокачественным процессом было почти 2/3 больных. По гистологической структуре у всех больных был выявлен плоскоклеточный рак: у 30% имел место высокодифференцированный, у 70% умеренно- и низкодифференцированный (40 и 30%). Длительность ремиссии у больных этой группы была от 5 до 20 мес., в среднем 11 мес. Ни у одной из пациенток этой группы ДНК ВПЧ обнаружен не был.

Возраст больных в группе с длительной ремиссией колебался от 27 до 71 года, средний возраст был 48 лет. В I стадии было 38,5% больных, во II – 53,8%, в III – 7,7%, т.е. в ранних стадиях было 92,3% больных, а среди больных с короткой ремиссией было всего 36,8% (более чем в 2 раза меньше); больных с запущенными формами заболевания с длительной ремиссией было лишь 7,7%, по сравнению с 63,2% больных в группе с короткой ремиссией. По гистологической структуре у всех пациенток данной группы был выявлен плоскоклеточный рак, преимущественно высоко- и умеренно-дифференцированный с преобладанием первого (60%). Низкая степень дифференцировки опухоли у больных данной группы отсутствовала. Длительность ремиссии составила от 3-х до 18 лет, в среднем 8 лет. Среди больных в группе с длительной ремиссией у 54% отмечено наличие ДНК ВПЧ (в основном 16 и 18 типа). Все больные подверглись комплексному лечению в соответствии со стадией заболевания.

Для определения возможной роли иммунологического микроокружения опухоли в эффективности лечения и поддержании длительной ремиссии проведено ретроспективное морфологическое исследование лимфоцитарной инфильтрации и иммуногистохимическое исследование субпопуляций лимфоцитов и макрофагов, инфильтрирующих опухоль, у больных обеих подгрупп.

При морфологическом исследовании в строме и паренхиме опухолевой ткани выявлено наличие лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации различной степени выраженности, от незначительной, где отмечаются одиночно рассеянные лимфоциты и мелкие лимфоцитарные инфильтраты, до более выраженной, в виде очаговых скоплений по типу формирования лимфоидных фолликулов, преимущественно расположенных на границе опухоль – перифокальная зона.

С помощью иммуногистохимического исследования установлено, что в лимфоцитарных инфильтратах присутствуют как В-, так и Т-лимфоциты, причем последних большинство. Сравнительная характеристика факторов локального клеточного иммунитета при раке вульвы у больных, у которых впоследствии развилась ремиссия различной длительности, представлена в таблице 2.

ТАБЛИЦА 2. СОСТАВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК, ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ ОПУХОЛЬ ВУЛЬВЫ, У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ РЕМИССИИ

Мононуклеарные клетки	Количество клеток (%)	
	Длительная ремиссия	Кратковременная ремиссия
Т-лимфоциты (CD3+)	95,3±9,7	85,7±6,6
В-лимфоциты (CD20+)	6±1,7	13±2,4*↑

Примечание. * - статистически достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

Как видно из таблицы 2, у больных с длительной ремиссией уровень зрелых (CD3+) Т-лимфоцитов в опухоли был выше, хотя разница значений и не имела достоверных различий, а содержание CD20+В-лимфоцитов достоверно ниже, чем у больных с кратковременной ремиссией. CD20+лимфоциты в обоих случаях встречались в виде единичных клеток, разрозненно расположенных среди паренхимы опухоли.

Обращает на себя внимание разнонаправленность содержания основных субпопуляций Т-клеток, инфильтрирующих опухоль: так, количество CD8+ лимфоцитов было статистически значимо выше, а уровень CD4+ клеток – ниже в опухолях больных, впоследствии продемонстрировавших длительную ремиссию (рис.1). Показатели этой подгруппы составляли для CD4+ 41,9±4,9%, для CD8+ 52,4±6,1%, тогда как в подгруппе больных с кратковременной ремиссией – 67,5±9,7% и 17,3±3,2% соответственно (в обоих случаях $p < 0,05$).

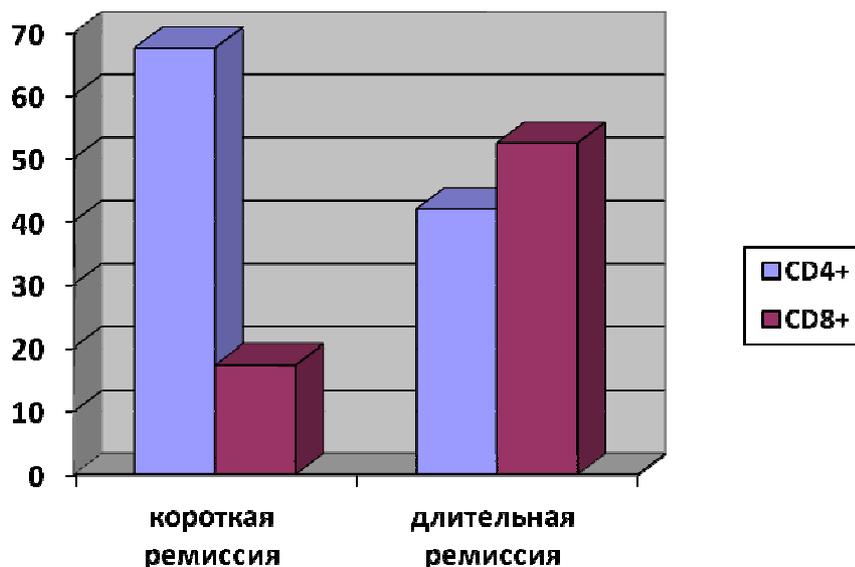


Рис. 1. Уровни основных субпопуляций Т-лимфоцитов в опухолях больных раком вульвы при различной продолжительности ремиссии (%).

В ткани первичной опухоли с коротким периодом ремиссии соотношение CD4/CD8 лимфоцитов составило 3,9, тогда как в опухоли с длительным периодом ремиссии 0,8.

Преобладание в опухоли CD8+ клеток, являющихся предшественниками цитотоксических Т-лимфоцитов, по-видимому, более благоприятным образом отражается на эффекте лечения и длительности ремиссии (рис.2).

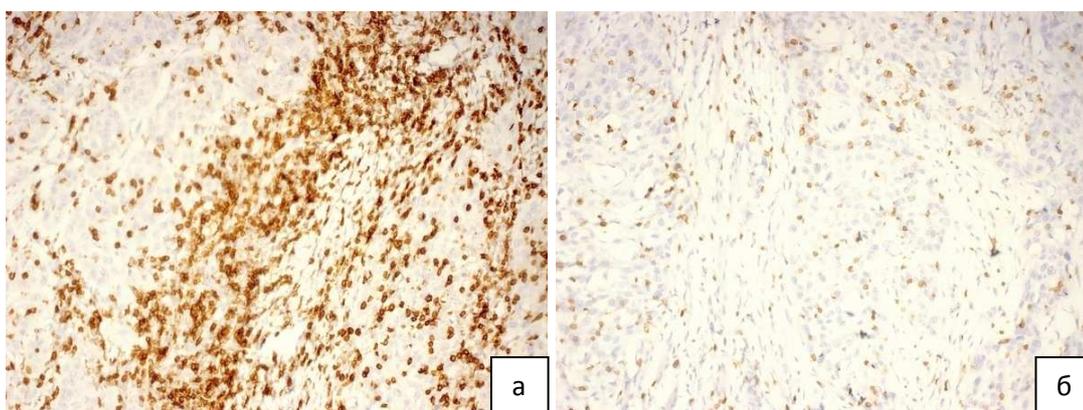


Рис. 2. Экспрессия CD8 в опухолевой ткани карциномы вульвы с различным безрецидивным периодом. Ув. x200.

а- длительный период ремиссии, б- короткий период ремиссии

Присутствие в опухолях больных, вышедших после проведенного лечения в непродолжительную ремиссию, высокого количества CD4+ T-клеток, можно объяснить возможным превалированием среди них Tregs-клеток (CD4+CD25+FoxP3+), являющихся иммуносупрессивными и проонкогенными. Полученные результаты, касающиеся накопления в опухолевом микроокружении Tregs, нашли подтверждение при исследовании других опухолей. Так, сопоставление лимфоцитарного состава образцов ткани первичных и рецидивных СМТ установило, что процентное содержание CD3+CD8+ лимфоцитов в ткани первичных опухолей статистически достоверно выше, чем в ткани рецидивных, а количество Tregs, напротив, в них ниже [2]. По данным литературы рак пищевода характеризуется усилением инфильтрации опухоли T-регуляторными лимфоцитами (T regs) при более распространенных стадиях заболевания [19] в частности при раке поджелудочной и молочной желез [21, 14, 17] раке яичников [15, 23]. Для опухолей исследуемых нами групп выявлены общие черты, в виде выраженной инфильтрации CD68+макрофагами, в незначительно большем количестве в ткани больных с коротким периодом ремиссии, составившим $80,4 \pm 12,1$ и $76 \pm 5,1$ для больных с длительным периодом ремиссии. Инфильтрация CD68+ макрофагами в исследуемых группах представлена как в строме, так и в зонах сплошного опухолевого роста. Так, в строме и паренхиме опухоли определяется выраженная диффузная инфильтрация макрофагами в виде густого очагового скопления и диффузно-рассеянного при различной длительности безрецидивного периода (рис.3).

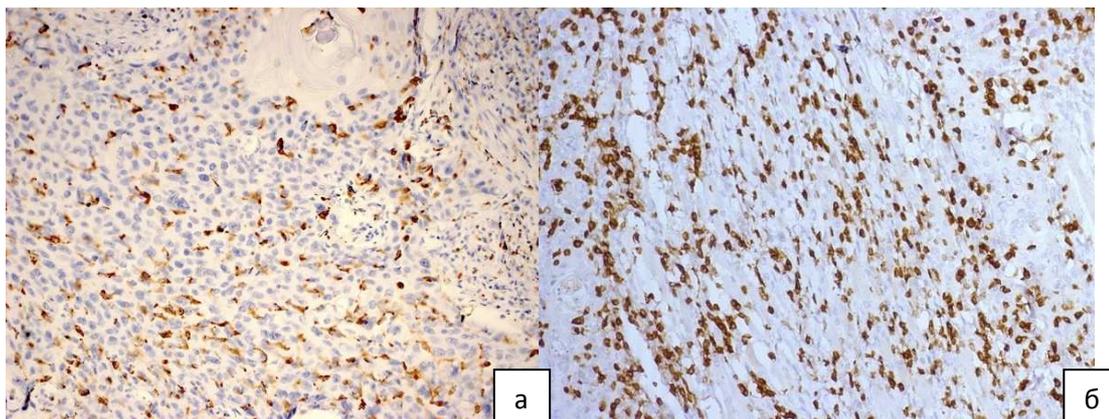


Рис. 3. Экспрессия CD68 в опухолевой ткани карциномы вульвы с различным безрецидивным периодом. Ув.х 200.

а- короткий период ремиссии, б- длительный период ремиссии

Выводы

Результаты ретроспективного иммуногистохимического исследования рака вульвы показали, что иммунологическое микроокружение опухоли прооперированных больных оказалось различным у больных с развившейся впоследствии длительной и кратковременной ремиссией. Преобладание CD8+ Т-клеток в ткани злокачественной опухоли наблюдалось у больных, с длительной ремиссией (свыше 2-х лет), а более высокий уровень внутриопухолевых CD4+ Т-клеток ассоциировался с короткой ремиссией (менее 2-х лет) и, следовательно, неблагоприятным прогнозом. Мы связываем такие различия с возможным присутствием среди популяции CD4+ клеток Tregs лимфоцитов, что и было подтверждено при изучении других видов опухолей. Таким образом, выявленные различия в лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации первичной плоскоклеточной карциномы вульвы с использованием иммуногистохимического исследования позволяют прогнозировать течение опухолевого процесса и развитие рецидива в ранние или отдаленные сроки.

Список литературы

1. Бережная Н.М. Иммунология злокачественного роста / Н.М. Бережная, В.Ф. Чехун // Киев: Наукова Думка, 2005. – 790 с.
2. Златник Е.Ю. Характеристика факторов локального иммунитета у больных саркомами мягких тканей / Е.Ю. Златник, Е.М. Непомнящая, И.А. Новикова и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – №3. <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24621>
3. Кит О.И. Местный клеточный иммунитет при аденокарциноме и полипах толстой кишки / О.И. Кит, А.В. Шапошников, Е.Ю. Златник и др. // Сибирское медицинское обозрение. – 2012. - №4 (76). – С. 11-16.
4. Крохина О.В. Иммуноморфологическая диагностика микрометастазов рака молочной железы в костный мозг / О.В. Крохина, В.П. Летагин, Н.Н. Тупицын и др. // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2005. - №1. – С.70-73.
5. Летагин В.П. Варианты иммунофенотипа рака молочной железы и их клиническое значение для прогноза / В.П. Летагин, Н.Н. Тупицын, Е.В. Артамонова // Материалы VII Российского онкологического конгресса. 25-27 ноября 2003 г. Москва. С. 50-53.
6. Неродо Г.А. Клиническое течение рака вульвы у больных репродуктивного возраста / Г.А. Неродо, Е.М. Непомнящая, Е.А. Неродо // Креативная хирургия и онкология. – 2012. - №3. – С. 61-66.
7. Неродо Г.А. Сроки возникновения рецидивов рака вульвы и их прогностические факторы / Г.А. Неродо, В.А. Иванова, Е.А. Неродо // Современные проблемы науки и образования. – 2013. - №1. <http://www.science-education.ru/107-8442>.
8. Неродо Е.А. Анализ сроков появления рецидивов и безрецидивной выживаемости у больных раком вульвы / Е.А. Неродо, Г.А. Неродо, В.А. Иванова // Российский медицинский журнал. – 2014. - №2. – С. 18-21.
9. Неродо Е.А. Клиническая характеристика больных с рецидивами рака вульвы / Е.А. Неродо, В.А. Иванова, Г.А. Неродо, Т.В. Мироненко // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – Приложение №1. – С. 85.
10. Перельмутер В.М. Особенности воспалительной инфильтрации в строме инвазивного протокового рака молочной железы при развитии рецидивов / В.М. Перельмутер, С.В. Вторушин, Ю.Н. Одинцов и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – №5 (41) – С.11-16.
11. Турчак А.В. Рецидивы рака вульвы и результаты их терапии (20-летний опыт) / А.В. Турчак // Онкология. - 2009. - Т.11, №4. - С. 312-313.
12. Шамилов Ф.А. Субпопуляции интратуморальных лимфоцитов при раке молочной железы / Ф.А. Шамилов // Онкология. – №2. – С.50-53.
13. Asano N. Prognostic significance of T-cell or cytotoxic molecules phenotype in classical Hodgkin's lymphoma: a clinicopathologic study / N. Asano, A. Oshiro, K. Matsuo et al. // J. Clin. Oncol. – 2006. – Vol. 24. – P. 4626-4633.
14. Bates G.J. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse / G.J. Bates, S.B. Fox, C. Han et al. // J Clin Oncol. – 2006. – Vol. 24. – P. 5373–5380.
15. Curiel T.J. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival / T.J. Curiel, G. Coukos, L. Zou et al. // Nat Med. – 2004. – Vol. 10. – P. 942-949.
16. De Jong R.A. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer / R.A. de Jong, N. Leffers, H.M. Boezen et al. // Gynecol Oncol. – 2009. – Vol. 114. – P. 105-110.

17. De Kruijf E.M. The predictive value of HLA class I tumor cell expression and presence of intratumoral Tregs for chemotherapy in patients with early breast cancer / E.M. de Kruijf, J.G. Van Nes, A. Sajet et al. // *Clin Cancer Res.* – 2010. – Vol. 16 (4). – P. 1272–1280.
18. Grabenbauer G.G. Tumor-infiltrating cytotoxic T cells but not regulatory T cells predict outcome in anal squamous cell carcinoma / G.G. Grabenbauer, G. Lahmer, L. Distel et al. // *Clin Cancer Res.* – 2006. – Vol. 12. – P. 3355-3560.
19. Kono K. CD4+CD25 high regulatory T cells increase with tumour stage in patients with gastric and oesophageal cancers / K. Kono, H. Kawaida, A. Takahashi et al. // *Cancer Immunol Immunother.* – 2006 – Vol. 5. – P. 1064-1071.
20. Leffers N. Prognostic significance of tumor-infiltrating T-lymphocytes in primary and metastatic lesions of advanced stage ovarian cancer / N. Leffers, M.J. Gooden, R.A. de Jong et al. // *Cancer Immunol Immunother.* – 2009. – Vol. 58. – P. 449-459.
21. Liyanage U.K. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma / U.K. Liyanage, T.T. Moore, H.G. Joo et al. // *J Immunol* – 2002. – Vol.169. – P. 2756-2761.
22. Mantovani A. Tumor-associated macrophages in cancer-related inflammation / A. Mantovani // *Immunotherapy.* – 2011. – Vol. 3(4), Suppl. 1. – P. 21-22.
23. Zhang L. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer / Zhang L., Conejo-Gracia J.R., Katsaros D., et al. // *N Engl J Med.* – 2003. – Vol. 348. – P. 203-213.

References

1. Berezhnaja N.M. Immunologija zlokachestvennogo rosta / N.M. Berezhnaja, V.F. Chehun // Kiev: Naukova Dumka, 2005. – 790 s.
2. Zlatnik E.Ju. Charakteristika faktorov lokal'nogo immuniteta u bol'nyh sarkomami mjakkih tkanej / E.Ju. Zlatnik, E.M. Nepomnjashhaja, I.A. Novikova i dr. // *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija.* – 2016. – №3. <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24621>
3. Kit O.I. Mestnyj kletochnyj immunitet pri adenokarcinome i polipah tolstoj kishki / O.I. Kit, A.V. Shaposhnikov, E.Ju. Zlatnik i dr. // *Sibirskoe medicinskoje obozrenie.* – 2012. - №4 (76). – S. 11-16.
4. Krohina O.V. Immunomorfologičeskaja diagnostika mikrometastazov raka molochnoj zhelezy v kostnyj mozg / O.V. Krohina, V.P. Letjagin, N.N. Tupicyn i dr. // *Opuholi zhenskoj reproduktivnoj sistemy.* – 2005. - №1. – S.70-73.
5. Letjagin V.P. Varianty immunofenotipa raka molochnoj zhelezy i ih kliničeskoe znachenie dlja prognoza / V.P. Letjagin, N.N. Tupicyn, E.V. Artamonova // *Materialy VII Rossijskogo onkologičeskogo kongressa. 25-27 nojabrja 2003 g. Moskva.* S. 50-53.
6. Nerodo G.A. Kliničeskoe tečenie raka vul'vy u bol'nyh reproduktivnogo vozrasta / G.A. Nerodo, E.M. Nepomnjashhaja, E.A. Nerodo // *Kreativnaja hirurgija i onkologija.* – 2012. - №3. – S. 61-66.
7. Nerodo G.A. Sroki vznikovenija recidivov raka vul'vy i ih prognostičeskie faktory / G.A. Nerodo, V.A. Ivanova, E.A. Nerodo // *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija.* – 2013. - №1. <http://www.science-education.ru/107-8442>
8. Nerodo E.A. Analiz srokov pojavlenija recidivov i bezrecidivnoj vyzhivaemosti u bol'nyh rakom vul'vy / E.A. Nerodo, G.A. Nerodo, V.A. Ivanova // *Rossijskij medicinskij zhurnal.* – 2014. - №2. – S. 18-21.

9. Nerodo E.A. Klinicheskaja harakteristika bol'nyh s recidivami raka vul'vy / E.A. Nerodo, V.A. Ivanova, G.A. Nerodo, T.V. Mironenko // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. – 2011. – Prilozhenie №1. – S. 85.
10. Perel'muter V.M. Osobennosti vospalitel'noj infil'tracii v strome invazivnogo protokovogo raka molochnoj zhelezy pri razvitanii recidivov / V.M. Perel'muter, S.V. Vtorushin, Ju.N. Odincov i dr. // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. – 2010. – №5 (41) – S.11-16.
11. Turchak A.V. Recidivy raka vul'vy i rezul'taty ih terapii (20-letnij opyt) / A.V. Turchak // Onkologija. - 2009. - T.11, №4. - S. 312-313.
12. Shamilov F.A. Subpopuljacie intratumoral'nyh limfocitov pri rake molochnoj zhelezy / F.A. Shamilov // Onkologija. – №2. – S.50-53.
13. Asano N. Prognostic significance of T-cell or cytotoxic molecules phenotype in classical Hodgkin's lymphoma: a clinicopathologic study / N. Asano, A. Oshiro, K. Matsuo et al. // J. Clin. Oncol. – 2006. – Vol. 24. – P. 4626-4633.
14. Bates G.J. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse / G.J. Bates, S.B. Fox, C. Han et al. // J Clin Oncol. – 2006. – Vol. 24. – P. 5373–5380.
15. Curiel T.J. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival / T.J. Curiel, G. Coukos, L. Zou et al. // Nat Med. – 2004. – Vol. 10. – P. 942-949.
16. De Jong R.A. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer / R.A. de Jong, N. Leffers, H.M. Boezen et al. // Gynecol Oncol. – 2009. – Vol. 114. – P. 105-110.
17. De Kruijf E.M. The predictive value of HLA class I tumor cell expression and presence of intratumoral Tregs for chemotherapy in patients with early breast cancer / E.M. de Kruijf, J.G. Van Nes, A. Sajet et al. // Clin Cancer Res. – 2010. – Vol. 16 (4). – P. 1272–1280.
18. Grabenbauer G.G. Tumor-infiltrating cytotoxic T cells but not regulatory T cells predict outcome in anal squamous cell carcinoma / G.G. Grabenbauer, G. Lahmer, L. Distel et al. // Clin Cancer Res. – 2006. – Vol. 12. – P. 3355-3560.
19. Kono K. CD4+CD25 high regulatory T cells increase with tumour stage in patients with gastric and oesophageal cancers / K. Kono, H. Kawaida, A. Takahashi et al. // Cancer Immunol Immunother. – 2006 – Vol. 5. – P. 1064-1071.
20. Leffers N. Prognostic significance of tumor-infiltrating T-lymphocytes in primary and metastatic lesions of advanced stage ovarian cancer / N. Leffers, M.J. Gooden, R.A. de Jong et al. // Cancer Immunol Immunother. – 2009. – Vol. 58. – P. 449-459.
21. Liyanage U.K. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma / U.K. Liyanage, T.T. Moore, H.G. Joo et al. // J Immunol – 2002. – Vol.169. – P. 2756-2761.
22. Mantovani A. Tumor-associated macrophages in cancer-related inflammation / A. Mantovani // Immunotherapy. – 2011. – Vol. 3(4), Suppl. 1. – P. 21-22.
23. Zhang L. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer / Zhang L., Conejo-Gracia J.R., Katsaros D., et al. // N Engl J Med. – 2003. – Vol. 348. – P. 203-213.