

Для цитирования: Михайлов И.В., Еремеева Е.Р., Глазков А.А., Тележникова И.М., Сетдикова Г.Р., Балканов А.С. Иммуноморфологическая специфичность HER2-low рака молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(5): 47–58. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-5-47-58

For citation: Mikhailov I.V., Eremeeva E.R., Glazkov A.A., Telezhnikova I.M., Setdikova G.R., Balkanov A.S. Immunomorphological specificity of HER2-low breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(5): 47–58. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-5-47-58

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ HER2-LOW РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И.В. Михайлов¹, Е.Р. Еремеева¹, А.А. Глазков¹, И.М. Тележникова^{1,2},
Г.Р. Сетдикова¹, А.С. Балканов¹

¹ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Россия, 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2

²ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова» ДЗМ

Россия, 111123, г. Москва, ш. Энтузиастов, 86, к. 5

Аннотация

Оценка уровня инфильтрации опухоль-ассоциированными лимфоцитами (TiLs) уже хорошо зарекомендовала себя как дополнительный инструмент прогнозирования выживаемости при трипленетивном (ТПн) и HER2/neu позитивном (HER2+) подтипах рака молочной железы (РМЖ). В последнее время РМЖ, в том числе вышеобозначенных подтипов, характеризующийся низкой/неопределенной экспрессией HER2/neu, выделяют в отдельную группу, получившую обозначение HER2-low РМЖ. Взаимозависимость между клинико-морфологическими параметрами и инфильтрацией иммунокомпетентными клетками, включающими опухоль-ассоциированные макрофаги (ОАМ), и HER2-low РМЖ, на данный момент не изучена. **Цель исследования** – выявление значимых взаимосвязей между уровнем субпопуляций иммунокомпетентных клеток (TiLs + ОАМ) и клинико-морфологическими параметрами HER2-low (экспрессия HER2/neu +1 или +2) РМЖ. **Материал и методы.** В рамках исследования изучен операционный материал (мастэктомия/резекция) 33 пациенток с HER2-low РМЖ. Подсчет TiLs и оценку уровня субпопуляций иммунокомпетентных клеток (ИКК: Т-хелперов, Т-киллеров, М1 и М2 макрофагов) методом ИГХ осуществляли во внутриопухолевых участках и в инвазивном крае первичной опухоли. **Результаты.** Исследование операционного материала показало, что TiLs (Me=5 [5; 10] %) обнаружены у всех 33 пациенток. Наиболее значимым в инвазивном крае и во внутриопухолевых участках оказался уровень М2 макрофагов (CD163inv: Me=20 [10; 40] %; CD163c: Me=15 [7; 30] % соответственно). У пациенток с высоким (≥ 20 %) уровнем М2 макрофагов в инвазивном крае отмечался и более высокий уровень большинства иных субпопуляций ИКК на всем протяжении исследуемой опухолевой ткани, а также значительно чаще выявлялась периневральная инвазия. **Выводы.** Высокий уровень инфильтрации М2 макрофагами инвазивного края сочетается с выявлением периневральной инвазии в первичном HER2-low РМЖ, являющейся одним из предикторов высокого риска прогрессирования. На этом основании можно предположить, что уровень М2 макрофагов в инвазивном крае HER2-low РМЖ может стать еще одним фактором прогноза течения данной опухолевой патологии.

Ключевые слова: рак молочной железы, негативный HER2-neu статус, HER2-low статус, опухоль-ассоциированные макрофаги, периневральная инвазия.

IMMUNOMORPHOLOGICAL SPECIFICITY OF HER2-LOW BREAST CANCER

I.V. Mikhailov¹, E.R. Ereemeeva¹, A.A. Glazkov¹, I.M. Telezhnikova^{1,2},
G.R. Setdikova¹, A.S. Balkanov¹

¹M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute
61/2, Shchepkina St., Moscow, 129110, Russia

²A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific and Practical Center
86, build. 5, Entuziastov shosse, Moscow, 111123, Russia

Abstract

Assessment of tumor infiltrating lymphocytes (TILs) has been recognized as an additional tool for predicting survival in triple negative (TN) and HER2/neu positive (HER2+) subtypes of breast cancer (BC). Recently, BC, including the above-mentioned subtypes and characterized by low/undefined expression of HER2/neu, has been isolated into a separate group, designated HER2-low BC. The relationship between clinical and morphological parameters of HER2-low breast cancer and infiltration by immunocompetent cells, including tumor associated macrophages (TAM), has not been studied to date. **The purpose of the study** was to identify significant relationships between the level of subpopulations of immunocompetent cells (Tils + TAM) and the clinical and morphological parameters of HER2-low BC. **Material and Methods.** The study examined the surgical specimens of 33 patients with HER2-low BC. Visual counting of TILs and assessment (IHC) of the level of T-helpers, T-killers, M1 and M2 macrophages were carried out in intratumor sites and the invasive edge of the primary tumor. **Results.** The study of mastectomy specimens showed that infiltration of Tils (Me=5 [5; 10] %) was observed in all 33 patients. The level of M2 of macrophages was found to be the highest both in the invasive margin and in the intratumor sites (CD163inv: Me=20 [10; 40] %; CD163c: Me=15 [7; 30] %, respectively). In patients with high (≥ 20 %) levels of M2 macrophages in the invasive margin, there was also a high level of other immunocompetent cells, and perineural invasion was detected significantly more often ($p=0.019$). **Conclusion.** A high level of infiltration by M2 macrophages of the invasive margin is combined with the detection of perineural invasion in primary HER2-low breast cancer, which is one of the predictors of a high risk of progression. In combination with other clinical and morphological parameters, the level of M2 macrophages in HER2-low breast cancer may become another factor in predicting disease prognosis.

Key words: breast cancer, negative HER2-neu status, HER2-low status, tumor-associated macrophages, perineural invasion.

Рак молочной железы (PMЖ) характеризуется гетерогенным фенотипом, обуславливающим вариабельность клинического течения данной опухоли. В этой связи для определения тактики лечения, кроме клинической характеристики опухоли, рекомендуется также ориентироваться на молекулярный подтип PMЖ. Выделяют 4 подтипа – люминальный А и В (ЛА/В), HER2/neu позитивный (HER2+) и трипленегативный (ТПн). Только в случае HER2+ PMЖ, диагностируемого в соответствии с требованиями American Society of Clinical Oncology (ASCO)/College of American Pathologists (CAP) при выявлении в рамках иммуногистохимического исследования (ИГХ) позитивной (+3) экспрессии HER2/neu или в случае неопределенной экспрессии HER2/neu (+2) при амплификации гена HER2/neu, прогнозируется высокая выживаемость в ответ на применение таргетной терапии ингибиторами HER2/neu [1].

Публикуются данные, свидетельствующие о том, что HER2/neu негативный (HER2-) PMЖ представляет собой неоднородную группу по уровню экспрессии HER2/neu. Так, у 47,5 % пациенток выявляется низкая (+1) или неопределенная (+2)

экспрессия HER2/neu и только в 52,5 % случаев экспрессия HER2/neu отсутствует (0). Гормонопозитивный статус (ЛА/В) диагностируется у 64 % пациенток с низкой/неопределенной экспрессией HER2/neu и только у 36,7 % пациенток – при отсутствии экспрессии HER2/neu (ЛА/В диагностируется у 28 % пациенток с HER2+ PMЖ) [2–4]. Некоторые авторы предлагают обозначать PMЖ с низкой/неопределенной экспрессией HER2/neu как HER2-low подтип, а при отсутствии экспрессии HER2/neu – как HER2-zero подтип [2].

В зависимости от уровня экспрессии HER2/neu в клетках HER2- PMЖ наблюдаются отличия как клинического течения опухолевого процесса, так и его ответа на проводимое лечение. Среди пациенток с первично выявленным метастатическим PMЖ число HER2-low случаев значительно выше, чем с HER2-zero [3]. В ответ на проведение неоадьювантной химиотерапии (neoXT) RCB-0 (pathological complete response – pCR) фиксируется существенно чаще среди пациенток с HER2-zero PMЖ, чем с HER2-low PMЖ [2]. Появились сообщения об эффективности терапии трастузумабом дерукстеканом (конъюгат анти-HER2/neu антитела

с химиопрепаратом) у пациенток с метастатическим HER2- РМЖ, но только с HER2-low подтипом [5, 6]. Вышеприведенные факты стали основанием для пристального изучения особенностей течения HER2- РМЖ в зависимости от уровня экспрессии HER2/neu.

Оценка уровня инфильтрации РМЖ лимфоцитами (TiLs) уже зарекомендовала себя как дополнительный инструмент прогнозирования эффективности лечения, особенно при ТРн РМЖ (существенная доля ТРн РМЖ характеризуются низкой/неопределенной экспрессией HER2/neu) [7]. Наиболее часто при РМЖ выявляются Т-лимфоциты – хелперы (CD4+ лимфоциты), наименее часто – Т-лимфоциты – киллеры (CD8+ лимфоциты). Уровень инфильтрации иными иммунокомпетентными клетками (ИКК), например опухоль-ассоциированными макрофагами (ОАМ: CD68+/CD163+), характеризуется промежуточными значениями [8].

Характер инфильтрации ИИК коррелирует с молекулярным подтипом опухоли. Так, при лА/В, HER2+ и ТРн РМЖ уровень TiLs составлял 5 % [9], 12,5–19 % [10, 11] и 20 % соответственно [12, 13]. Высокий уровень TiLs ассоциирован с подтипом РМЖ (лА/В – у 6 %, HER2+ – у 10–24 %, ТРн – у 35 % пациенток) [14], молодым возрастом, G3, высоким уровнем Ki67, лимфогенным метастазированием и выживаемостью [7, 10, 11, 13, 15–17].

Принимая во внимание отсутствие информации, посвященной специфичности субпопуляций ИИК в ткани HER2-low РМЖ, мы провели ретроспективный сравнительный анализ клинкоморфологических и иммунных параметров у таких пациенток.

Цель исследования – выявление значимых взаимосвязей между уровнем субпопуляций иммунокомпетентных клеток (TiLs + ОАМ) и клинкоморфологическими параметрами HER2-low (экспрессия HER2/neu +1 или +2) РМЖ.

Материал и методы

В период с 01.01.21 по 31.12.21 (12 мес) у 41 (19 %) из 217 пациенток, получивших хирургическое лечение в условиях стационара ГБУЗ МО МОНИКИ, при исследовании операционного материала установлен низкий (+1) или неопределенный (+2) статус HER2/neu. Такие опухоли в нашем исследовании получили обозначение HER2-low РМЖ. Состояние морфологического материала признано удовлетворительным лишь у 33 (медиана возраста – 66 [53; 75] лет) из 41 пациентки. Из них и была сформирована группа для исследования.

Операционный материал первичной опухоли молочной железы фиксировали в 10 % забуференном растворе формалина, затем заливали в парафин и готовили серийные срезы. После депарафинизации препараты окрашивали гематоксилином и

эозином. Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) проводили на серийных парафиновых срезах толщиной 2 мкм с использованием иммуноштейнера закрытого типа Ventana Bench Mark Ultra. Для определения молекулярного типа опухоли (рецепторы эстрогена – ER, рецепторы прогестерона – PR, HER2/new, Ki67) и субпопуляций ИКК (CD4 – лимфоцитов, CD8 – лимфоцитов, CD68 – M1 макрофагов, CD163 – M2 макрофагов) использовали антитела производства «Roche Ventana» (США). Анализ субпопуляций ИКК проводили во внутриопухолевых участках и в инвазивном крае (рис. 1). При неопределенном HER2/neu статусе (2+) выполнялось дополнительное исследование методом двухцветной хромогенной *in situ* гибридизации (набором Inform Her2 Dual ISH DNA Probe Cjctail Assay RocheVentana).

Интенсивность экспрессии биомаркеров оценивали полуколичественным методом. Учитывалась также их локализация. При ядерной локализации оценивали процент окрашенных ядер на 100 исследованных ядер. Подсчет TiLs проводили в соответствии с рекомендациями International Immunooncology Biomarkers Working Group [14, 18]. Для повышения точности измерения стеклопрепараты были отсканированы с помощью сканирующего микроскопа Leica Aperio AT2 (Leica, Германия) и программного обеспечения ScanScope (Aperio ScanScope XT Leica).

Статистический анализ выполнен в среде R Studio (v. 2023.06.0+421) с помощью языка R (v. 4.3.0). Для количественных переменных рассчитывали относительные частоты (n (%)). Сравнение частот качественных признаков в двух независимых группах проводили с помощью критерия χ^2 или точного критерия Фишера (при значениях ожидаемых частот менее 5). Сравнение количественных переменных в двух независимых выборках проводили с помощью критерия Манна–Уитни. Уровень ошибки первого рода (α) был установлен равным 0,05, нулевые гипотезы отвергали при $p < 0,05$.

Результаты

Наиболее часто – у 31 (94 %) из 33 пациенток – диагностирован лА/В подтип РМЖ (табл. 1). Размер первичной опухоли у подавляющего большинства пациенток (55 %) на момент выполнения хирургического лечения соответствовал pT2. Лимфогенные метастазы (pN+) имели место лишь у 33 % пациенток. Лимфоваскулярная (LV+) и периневральная (Pn+) инвазия установлены у 15 и 27 % пациенток соответственно. Проведение неоХТ имело место у 7 (21 %) пациенток. У 33 пациенток с HER2-low РМЖ обнаружены Tils (Me – 5 [5; 10] %) (рис. 2). Высокий (≥ 20 %) уровень Tils выявлен только у 4 (12 %) пациенток.

При исследовании субпопуляций ИКК установлено, что в инвазивном крае и во внутриопухолевых участках наиболее высокой оказалась

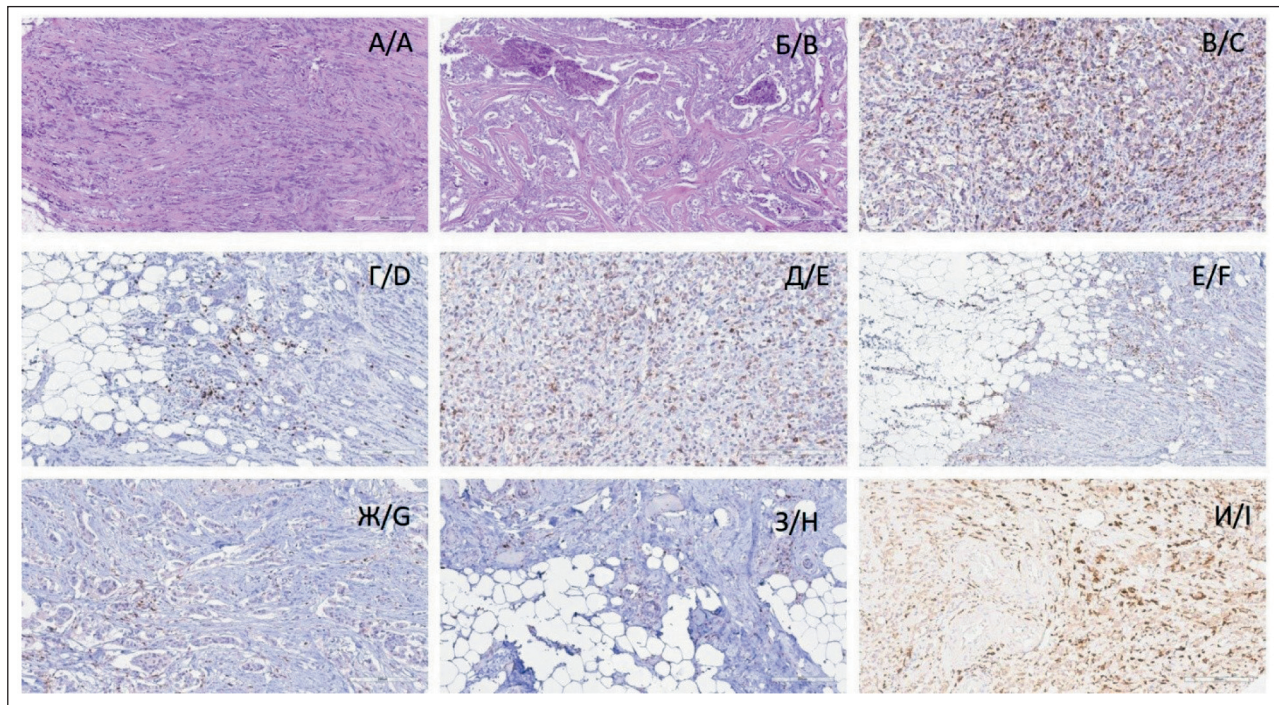


Рис. 1. Микрофото. Специфичность инфильтрации HER2-low рака молочной железы иммунокомпетентными клетками, ×400: А – высокий уровень TiLs (окраска гематоксилином и эозином); Б – низкий уровень TiLs (окраска гематоксилином и эозином); В – внутриопухолевая инфильтрация CD4+ лимфоцитами (ИГХ); Г – инфильтрация CD4+ лимфоцитами инвазивного края (ИГХ); Д – внутриопухолевая инфильтрация CD8+ лимфоцитами (ИГХ); Е – инфильтрация CD8+ лимфоцитами инвазивного края (ИГХ); Ж – внутриопухолевая инфильтрация CD68+ макрофагами (ИГХ); З – инфильтрация CD68+ макрофагами инвазивного края (ИГХ); И – внутриопухолевая инфильтрация CD163+ макрофагами (ИГХ). Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 1. Microphoto. Specificity infiltration of HER2-low breast cancer by immunocompetent cells, ×400: A – high level of TiLs (hematoxylin and eosin staining); B – low level of TiLs (hematoxylin and eosin staining); C – intra-tumor infiltration by CD4 lymphocytes (IHC); D – CD4 infiltration lymphocytes, invasive margin (IHC); E – intra-tumor infiltration by CD8 lymphocytes (IHC); F – infiltration by CD8 lymphocytes, invasive margin (IHC); G – intra-tumor infiltration by CD68 (IHC); H – infiltration by CD68 macrophages, invasive margin (IHC); I – intra-tumor infiltration by CD163 macrophages (IHC). Note: created by the authors

Таблица 1/Table 1

Характеристика пациенток, включенных в исследование
Characteristics of patients included in the study

Параметры/Parameters		Значение/Values n=33
Возраст, годы/Age, years		66 [53; 75]
Me [LQ; UQ]/min-max		33–84
pT	I	12 (36 %)
	II	18 (55 %)
	III	3 (9 %)
pN+		11 (33 %)
Молекулярный подтип/ Molecular subtype	Люминальный/Luminal A,	15 (45 %)
	Люминальный/Luminal B	16 (49 %)
	Трипленегативный/Triple negative	2 (6 %)
Гистологический подтип/ Histological subtype	Протоковая/Ductal	25 (76 %)
	Дольковая/Lobular	3 (9 %)
	Муцинозная/Mucinous	5 (15 %)
LV+		5 (15 %)
Pn+		9 (27 %)
Ki67, Me [LQ; UQ] % min-max		29 [12; 36] 1–57
neoXT/neoCT +		7 (21 %)

Примечание: таблица составлена авторами.
Note: created by the authors.

Таблица 2/Table 2

Инфильтрация TiLs внутриопухолевых участков и инвазивного края HER2-low рака молочной железы
Infiltration of TiLs of intratumor sites and the invasive margin of HER2-low breast cancer

Параметры/Parameters	Значение/Values n=33
TiLs, Me [LQ; UQ] %	5 [5; 10]
Внутриопухолевая субпопуляция TiLs/TiLs subpopulation in intra-tumor sites	
CD68c, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 7]
CD163c, Me [LQ; UQ] %	15 [7; 30]*
CD4c, Me [LQ; UQ] %	5 [5; 7]
CD8c, Me [LQ; UQ] %	2 [2; 5]
Субпопуляции TiLs в инвазивном крае/TiLs subpopulations in the invasive margin	
CD68inv, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 10]
CD163 inv, Me [LQ; UQ] %	20 [10; 40]*
CD4 inv, Me [LQ; UQ] %	5 [5; 10]
CD8 inv, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 5]

Примечания: * – $p < 0,001-0,005$; таблица составлена авторами.

Notes: * – $p < 0,001-0,005$; created by the authors.

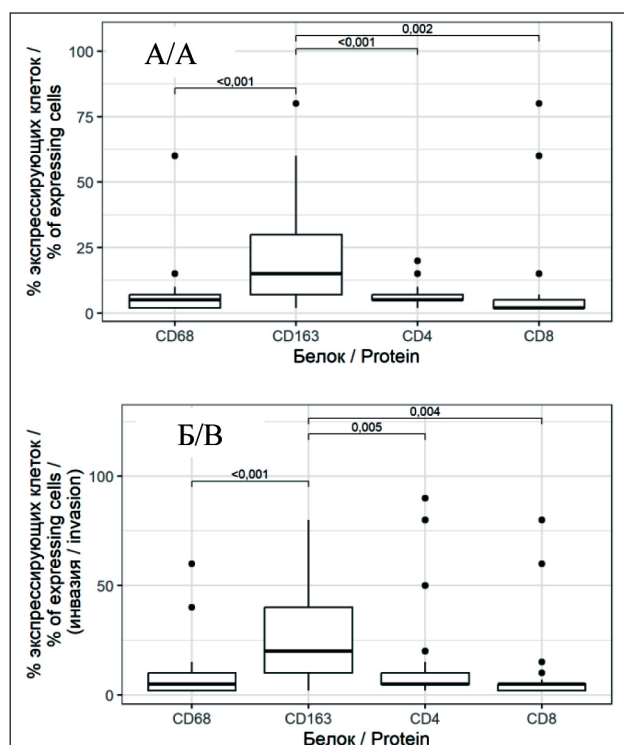


Рис. 2. Специфичность субпопуляций TiLs HER2-low рака молочной железы:

А – внутриопухолевый участок; Б – инвазивный край.

Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 2. Specificity of TiLs subpopulations in HER2-low breast cancer: A – intratumoral site; B – invasive margin.

Note: created by the authors

экспрессия CD163: CD163inv: Me=20 [10; 40] % и CD163c: Me=15 [7; 30] % соответственно (табл. 2, рис. 2). Параметры экспрессии CD4c, CD8c, CD68c, CD4inv, CD8inv и CD68inv оказались существенно ниже и достоверно не отличались друг от друга.

Более высокий уровень экспрессии CD163inv по сравнению с CD163c обнаружен только у 3 (9 %) пациенток. Высокий уровень экспрессии CD4inv, CD8inv и CD68inv (по сравнению с внутриопухолевыми участками) также выявлялся редко – у 2 (6 %), 4 (12 %) и 3 (9 %) пациенток соответственно. Не установлено факта более высокой экспрессии маркеров субпопуляций ИКК во внутриопухолевых участках по сравнению с инвазивным краем.

Исследование экспрессии субпопуляций ИКК в нативных образцах HER2-low РМЖ и образцах, подвергшихся воздействию неоХТ, осуществлялось в двух группах: 1-я группа состояла из пациенток, получивших неоХТ (7 пациенток), во 2-ю группу включены пациентки, у которых неоХТ не проводилась (22 пациентки). Установлено, что уровни TiLs и отдельно субпопуляций ИКК у пациенток из 1-й и 2-й групп достоверно не отличались (табл. 3). По нашему мнению, это может косвенно свидетельствовать об отсутствии влияния неоХТ на уровень экспрессии субпопуляций ИКК в HER2-low РМЖ. Вместе с тем, стоит отметить, что после проведения неоХТ все же имела место тенденция ($p=0,066$) увеличения количества клеток, экспрессирующих CD8c.

Далее, на основании уровня M2 макрофагов в инвазивном крае (экспрессия CD163inv), являющегося, как считают многие [19], ключевым звеном в прогрессировании опухоли, были сформированы две группы: в 1-ю группу включили 14 (42 %) пациенток с низкой (<20 %) экспрессией CD163inv, во 2-ю группу – 19 (58 %) пациенток с высокой (≥ 20 %) экспрессией CD163inv. Статистический анализ показал (рис. 3, табл. 4), что у пациенток

Таблица 3/Table 3

Проведение неoadъювантной химиотерапии при HER2-low раке молочной железы и уровень иммунокомпетентных клеток

Neoadjuvant chemotherapy for HER2-low breast cancer and the level of immunocompetent cells

Параметры/Parameters	neoXT/neoCT (-) (n=26)	neoXT/neoCT (+) (n=7)	p
Tils, Me [LQ; UQ] %	5 [5; 10]	10 [7,5; 15]	0,272 ^a
Внутриопуховая субпопуляция Tils/Tils subpopulation in intra-tumor sites			
CD68c, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 7]	7 [2,5; 10]	0,351 ^a
CD163c, Me [LQ; UQ] %	15 [7; 30]	10 [10; 20]	0,824 ^a
CD4c, Me [LQ; UQ] %	5 [5; 7]	5 [5; 12,5]	0,675 ^a
CD8c, Me [LQ; UQ] %	2 [2; 5]	5 [3,5; 11]	0,066 ^a
Субпопуляции Tils в инвазивном крае/Tils subpopulations in the invasive margin			
CD68inv, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 9,2]	7 [2,5; 10]	0,736 ^a
CD163 inv, Me [LQ; UQ] %	20 [10; 40]	20 [10; 30]	0,579 ^a
CD4 inv, Me [LQ; UQ] %	5 [5; 7]	5 [5; 20]	0,511 ^a
CD8 inv, Me [LQ; UQ] %	2 [2; 5]	5 [3,5; 11]	0,147 ^a

Примечания: ^a – критерий Манна–Уитни; таблица составлена авторами.

Notes: ^a – Mann–Whitney criterion; created by the authors.

Таблица 4/Table 4

Взаимосвязь между экспрессией CD163 в инвазивном крае, клинико-морфологическими показателями и уровнем субпопуляций TiLs в HER2-low раке молочной железы

The relationship between CD163 expression in the invasive margin, clinical and morphological parameters and the level of TiLs subpopulations in HER2-low breast cancer

Параметры/Parameters	CD163inv ≤20 % (n=14)	CD163inv >20 % (n=19)	p-value
Возраст, лет/Age, years, Me [LQ; UQ]	68 [55; 75]	59,5 [53,5; 67,8]	0,299 ^a
neoXT/neoCT +, n (%)	5 (26,3 %)	2 (14,3 %)	0,67 ^b
pT			
I	9 (47,4 %)	0 (0 %)	0,083 ^b
II	10 (52,6 %)	8 (57,1 %)	
III	0 (0 %)	3 (21,4 %)	
Молекулярный подтип/Molecular subtype			
Люминальный/Luminal A	8 (42,1 %)	7 (50 %)	0,86 ^b
Люминальный/Luminal B	10 (52,6 %)	6 (42,9 %)	
Триплнегативный/Triple negative	1 (5,3 %)	1 (7,1 %)	
Гистологический подтип/Histological subtype			
Дольковая/Lobular	3 (15,8 %)	0 (0 %)	0,282 ^b
Муцинозная/Mucinous	2 (10,5 %)	3 (21,4 %)	
Протоковая/Ductal	14 (73,7 %)	11 (78,6 %)	
LV+	2 (10,5 %)	3 (21,4 %)	0,628 ^b
Pn+	2 (10,5 %)	7 (50 %)	0,019 ^b
Ki67, Me [LQ; UQ] %	29 [12; 38]	24 [16,5; 34]	0,661 ^a
Tils, Me [LQ; UQ] %	5 [5; 10]	10 [5; 13,8]	0,066 ^a
Внутриопуховая субпопуляция Tils/Tils subpopulation in intra-tumor sites			
CD68c, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 7]	6 [2; 10]	0,201 ^a
CD163c, Me [LQ; UQ] %	10 [6; 17,5]	35 [15; 55]	0,006 ^a
CD4c, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 5]	7 [5; 9,2]	0,002 ^a
CD8c, Me [LQ; UQ] %	2 [2; 3,5]	5 [5; 6,5]	0,003 ^a
Субпопуляции Tils в инвазивном крае/Tils subpopulations in the invasive edge			
CD68inv, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 7]	10 [5; 33,8]	0,011 ^a
CD4inv, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 5]	12,5 [5,5; 18,8]	<0,001 ^a
CD8inv, Me [LQ; UQ] %	2 [2; 5]	5 [5; 13]	0,006 ^a

Примечания: ^a – критерий Манна–Уитни; ^b – Точный критерий Фишера; таблица составлена авторами.

Notes: ^a – Mann–Whitney criterion; ^b – Fisher’s Exact criterion; created by the authors.

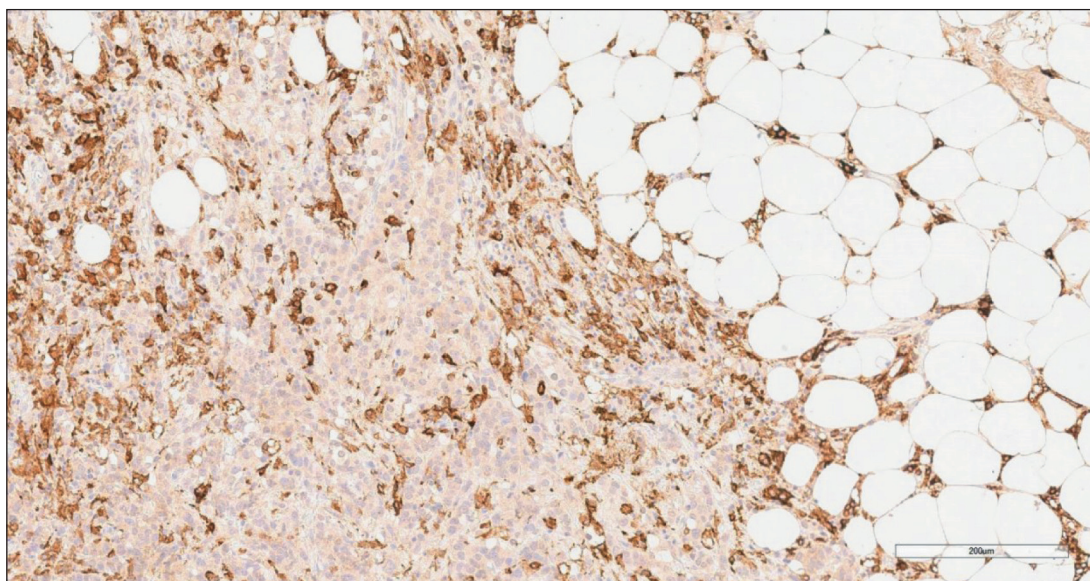


Рис. 3. Микрофото. Высокий уровень ($\geq 20\%$) экспрессии CD163 (M2 макрофаги) в инвазивном крае HER2-low рака молочной железы. Примечание: рисунок выполнен авторами
Fig. 3. Microphoto. High level ($\geq 20\%$) expression of CD163 (M2 macrophages) in the invasive margin of HER2 low breast cancer.
Note: created by the authors

из 2-й группы наблюдалась достоверно более высокая внутриопухолевая экспрессия CD163с ($p=0,006$), CD4с ($p=0,002$) и CD8с ($p=0,003$). Во 2-й группе также наблюдалась более высокая экспрессия субпопуляций ИКК в инвазивном крае – CD68inv ($p=0,011$), CD4inv ($p<0,001$) и CD8inv ($p=0,006$). Что касается Tils, то зафиксирована лишь тенденция увеличения уровня Tils во 2-й группе ($p=0,066$).

Анализ морфологических характеристик показал, что во 2-й группе значительно чаще имела место Pn+ (1-я гр. – у 10,5 %; 2-я гр. – у 50 % пациенток, $p=0,019$). Остальные параметры, включающие возраст пациенток, pT, молекулярный и гистологический подтип РМЖ, LV+ и Ki67, в обеих группах оказались сопоставимыми.

Метастатическое поражение аксиллярных лимфатических узлов является самым неблагоприятным клиническим предиктором выживаемости при РМЖ. В этой связи мы выполнили оценку взаимосвязи между уровнем Tils, субпопуляциями ИКК в HER2-low РМЖ и лимфогенным метастазированием (табл. 5). Среди 22 пациенток с pN- ожидаемо чаще, чем с pN+, диагностирована опухоль T1 ($p=0,008$). У пациенток с pN+ выявлена лишь тенденция увеличения общего числа TiLs ($p=0,059$), экспрессии CD68inv ($p=0,09$) и CD163inv ($p=0,077$).

Обсуждение

В рамках исследования мы установили, что у 19 % пациенток с РМЖ фенотип опухоли характеризуется низкой/неопределенной экспрессией HER2/neu. В последнее время появились сообщения об особенностях ответа на лекарственную терапию и

выживаемости у таких пациенток, что и послужило основанием для предложения идентифицировать опухоли с низкой/неопределенной экспрессией HER2/neu в отдельную группу – HER2-low РМЖ [2]. Например, у пациенток с HER2-low РМЖ и негативным гормональным статусом pCR ответ на неоХТ значительно реже, а 3-летняя безрецидивная выживаемость значительно выше, чем среди HER2-zero РМЖ [2]. Еще одним фактором, свидетельствующим о необходимости всестороннего изучения HER2-low РМЖ, является его конверсия (в 30 % случаев) при прогрессировании в HER2-zero РМЖ и наоборот, что может на конкретном этапе лечения обуславливать резистентность к проводимой терапии [3, 20]. Однако не исключается, что вышеописанная конверсия является всего лишь следствием гетерогенности опухоли.

В понятие TiLs чаще всего включают Т-лимфоциты, В-лимфоциты и, реже, макрофаги [10, 14, 21]. Показатель TiLs при РМЖ в среднем составляет 20–30 % [12] и в ряде случаев используется как предиктор прогноза лечения – высокий уровень TiLs коррелирует с высокой выживаемостью [10, 14]. Высокий уровень TiLs также гарантирует и высокую эффективность неоХТ, например при HER2+ РМЖ [10, 12]. Однако некоторые авторы отмечают снижение эффективности таргетной терапии, например трастузумабом, при HER2+ РМЖ, если уровень TiLs составляет $\geq 60\%$ [11]. Установлено, что имеет место более интенсивное лимфогенное метастазирование при раннем РМЖ, если в первичной опухоли не выявляются TiLs [22]. По другим данным, не обнаружена зависимость между уровнем TiLs, метастатическим поражением лимфоузлов и размером опухоли в случае HER2+

Таблица 5/Table 5

Зависимость между метастатическим поражением лимфоузлов и инфильтрацией субпопуляций
TiLs в HER2-low раке молочной железы

Relationship between metastatic lymph nodes and TiLs subpopulations in HER2-low breast cancer

Параметры/Parameters	pN-	pN	p
	(n=22)	(n=11)	
Возраст, лет/Age, years, Me [LQ; UQ]	67 [53,5; 74,8]	64 [54; 71]	0,674 ^a
pT			
I	11(50 %)	1 (9 %)	0,008 ^{b*}
II	11 (50 %)	7 (64 %)	
III	0 (0 %)	3 (27 %)	
Гистологический подтип/Histological subtype			
Дольковая/Lobular	1 (4,5 %)	2 (18 %)	0,4 ^b
Муцинозная/Mucinous	3 (14 %)	2 (18 %)	
Протоковая/Ductal	18 (82 %)	7 (64 %)	
Молекулярный подтип/Molecular subtype			
Люминальный/Luminal A	1 (4,5 %)	1 (9 %)	0,279 ^b
Люминальный/Luminal B	12 (54,5 %)	3 (27 %)	
Триплнегативный/Triple negative	9 (41 %)	7 (64 %)	
LV			
Есть/Yes	4 (18 %)	1 (9 %)	0,643 ^b
Нет/No	18 (82 %)	10 (91 %)	
Pn			
Есть/Yes	7 (32 %)	2 (18 %)	0,681 ^b
Нет/No	15 (68 %)	9 (82 %)	
Ki67, Me [LQ; UQ] %	18,5 [12; 34]	34 [23,5; 36]	0,284 ^a
TiLs, Me [LQ; UQ] %	5 [5; 10]	10 [5; 20]	0,059 ^a
Внутриопухолевая субпопуляция TiLs/TiLs subpopulation in intra-tumor sites			
CD68c, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 7]	7 [2,5; 10]	0,261 ^a
CD163c, Me [LQ; UQ] %	12,5 [5,5; 27,5]	20 [10; 50]	0,248 ^a
CD4c, Me [LQ; UQ] %	5 [3,5; 6,5]	5 [5; 8,5]	0,124 ^a
CD8c, Me [LQ; UQ] %	2 [2; 5]	5 [2; 5]	0,248 ^a
Субпопуляции TiLs в инвазивном крае/TiLs subpopulations in the invasive edge			
CD68inv, Me [LQ; UQ] %	5 [2; 7]	10 [4; 25]	0,09 ^a
CD163inv, Me [LQ; UQ] %	17,5 [7,8; 30]	40 [15; 60]	0,077 ^a
CD4inv, Me [LQ; UQ] %	5 [3,5; 7]	7 [5; 12,5]	0,325 ^a
CD8inv, Me [LQ; UQ] %	2 [2; 5]	5 [2; 5]	0,496 ^a

Примечания: ^a – критерий Манна–Уитни; ^b – Точный критерий Фишера; * – p<0,05; таблица составлена авторами.

Notes: ^a – Mann–Whitney criterion; ^b – Fisher’s Exact criterion; * – p<0,05; created by the authors.

или лА/В РМЖ [9, 10, 15]. Сведения о характере и уровне TiLs при HER2-low РМЖ в литературе отсутствуют.

В нашем исследовании, несмотря на то, что у 94 % пациенток с HER2-low РМЖ диагностирован гормонопозитивный статус (лА/В РМЖ), высокий уровень TiLs (≥ 20 %) выявлен у 12 % пациенток, что более характерно для HER2+ РМЖ. Выявленная специфичность TiLs первичного HER2-low РМЖ представляется крайне важной, так как косвенно указывает на целесообразность изучения у пациенток с данным подтипом опухоли использования некоторых методик лечения, уже доказавших свою эффективность при HER2+ РМЖ.

В последнее время все чаще публикуются результаты исследований, посвященных изучению субпопуляций ИКК РМЖ. Уже известно, что в

РМЖ кроме лимфоцитов выявляются опухоль-ассоциированные макрофаги (ОАМ) двух типов – М1 и М2. Одним из маркеров М1 ОАМ считают CD 68, за маркер М2 ОАМ чаще всего принимают CD163 [17]. Первые обладают способностью ингибировать опухолевый рост (IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α), для вторых свойственно потенцирование опухолевого прогрессирования (TGF- β , IL-4, IL-10, и IL-13) [17]. Наименьший уровень CD68+/CD163+ ОАМ обнаруживается в люминальном А РМЖ, наибольший – в HER2+ РМЖ [23, 24]. Высокий уровень ОАМ коррелирует с возрастом, величиной первичной опухоли (pT), высоким уровнем Ki67, степенью дифференцировки (G), метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов [17, 16, 23, 25, 26]. Считается, что в основе химиорезистентности при РМЖ также может лежать

повышение уровня ОАМ в ответ на неоХТ [8, 17]. Так, при высокой инфильтрации CD68+ ОАМ (но в сочетании с высокой экспрессией CD4 и низкой экспрессией CD8) у 58 % пациенток с РМЖ наблюдается pCR в ответ на неоХТ [8]. Высокий уровень ОАМ коррелирует с ростом безрецидивной выживаемости при люминальном РМЖ [16] и с низкой выживаемостью при ТПн РМЖ [25]. В случае высокой инфильтрации только CD163+ ОАМ у пациенток с РМЖ наблюдается лишь тенденция снижения безрецидивной выживаемости [25].

По нашим данным, при HER2-low РМЖ в инвазивном крае и во внутриопухолевых участках наиболее высоким является уровень CD163+ ОАМ (20 и 15 % соответственно). Уровень других субпопуляций ИКК оказался существенно ниже и составлял всего 5 %. Известно, что экспрессия в инвазивном крае опухоли именно CD163 является значимым фактором, определяющим ее прогрессирование. Мы установили, что в инвазивном крае HER2-low РМЖ высокая экспрессия CD163 (обнаружена нами у 58 % пациенток) сопровождалась высокой экспрессией других субпопуляций ИКК как в инвазивном крае, так и во внутриопухолевых участках (кроме CD68с) и ассоциировалась с наличием известного морфологического признака злокачественности – перинеуральной инвазии. Полагаем, что приведенные данные могут свидетельствовать о том, что выявление высокого уровня M2 макрофагов в инвазивном крае при HER2-low РМЖ в сочетании с высокой инфильтрацией иными субпопуляциями ИКК (увеличение уровня субпопуляций ИКК в инвазивном крае опухоли по сравнению с внутриопухолевыми участками мы наблюдали достаточно редко – не более чем в 12 % случаев) может стать одним из предикторов как ответа на лечение, так и риска прогрессирования. Исследования в этом направлении будут продолжены.

Следует также констатировать, что в нашем исследовании не установлена зависимость между экспрессией CD163inv и уровнем TiLs, что, скорее всего, указывает на то, что оба вышеобозначенных показателя могут являться независимыми параметрами, в том числе и у пациенток с HER2-low РМЖ. Это предположение также нуждается в дальнейшей проверке.

Уже установлено, что для разных подтипов РМЖ характерна своя специфичность инфильтрации субпопуляциями ИКК. Например, уже известно, что экспрессия CD4 выше, а CD8 ниже при HER2+ РМЖ, чем при HER2- РМЖ [27]. Публикуются данные о специфичности и прогностической значимости изменения уровня TiLs в ткани РМЖ в ответ на неоХТ. Так, проведение неоХТ влечет за собой снижение экспрессии CD4, CD68 и рост CD8 [8]. Негативный гормональный статус РМЖ и G3 сочетаются с отсутствием снижения экспрессии CD4 после неоХТ [8]. Высокий уровень экспрессии

CD8 и индекса отношения CD8/CD4 коррелирует с высокой вероятностью pCR в ответ на неоХТ [21]. Отмечается снижение общей и безрецидивной выживаемости в случае высокой экспрессии CD68 (иногда CD8) после неоХТ [8]. В нашем исследовании после проведения неоХТ уровень TiLs и экспрессия CD68, CD163 и CD4 в инвазивном крае HER2-low РМЖ существенно не отличались от аналогичных показателей в образцах опухолей, изъятых у пациенток, которым этот вид лечения не проводили. По нашему мнению, вышеприведенные данные, являясь, безусловно, промежуточными, все же могут указывать на то, что неоХТ не оказывает существенного влияния на уровень инфильтрации ИКК при HER2-low РМЖ. Отсутствие инвазивного края в ряде биопсийных образцов не позволило нам исследовать истинную динамику изменения уровня ИКК в вышеуказанном участке опухоли до и после неоХТ. Вместе с тем, в настоящем исследовании было установлено, что существует ассоциация между высоким уровнем ИКК в инвазивном крае и во внутриопухолевых участках опухоли. Вывод напрашивается сам собой – теперь, на основании полученных результатов, появляется возможность сравнивать уровень ИКК в биопсийном и операционном материале, даже в случае, если в первом отсутствует инвазивный край опухоли. Вышеприведенные результаты, а также выявленная тенденция повышения уровня внутриопухолевых Т-киллеров (CD8с) в ответ на неоХТ лягут в основу пролонгации исследования на следующем этапе НИР.

Выявление зависимости между высоким уровнем экспрессии CD163inv и перинеуральной инвазией побудило нас сравнить уровни субпопуляций ИКК при HER2-low РМЖ в зависимости от ведущего клинического признака злокачественности – метастатического поражения аксиллярных лимфоузлов [28]. Ожидаемо размер опухоли менее 2 см (pT1) в нашем исследовании сочетался с отсутствием метастатического поражения аксиллярных лимфоузлов. Что касается субпопуляций ИКК, то обнаружена лишь тенденция повышения M1 и M2 макрофагов в инвазивном крае у пациенток с HER2-low РМЖ и лимфогенным метастазированием. В качестве одной из причин, не позволившей, как нам кажется, установить достоверную взаимосвязь между высоким уровнем ОАМ и лимфогенным метастазированием, мы рассматриваем принцип формирования группы pN+, не предусматривающий дифференцировку пациенток по количеству аксиллярных метастазов. Вместе с тем, уже известно, что только метастатическое поражение двух и более аксиллярных лимфоузлов оказывает существенно негативное влияние на безрецидивную выживаемость пациенток с РМЖ [29, 30]. Работа в этом направлении также будет продолжена.

Заключение

Хочется еще раз отметить, что до 19 % пациенток с РМЖ имеют низкую/неопределенную экспрессию HER2/neu (HER2-low РМЖ) и в подавляющем числе случаев характеризуются позитивным гормональным статусом. Частота выявляемости высокого уровня TiLs в этой группе пациенток характерна для больных HER2+ РМЖ. Высокий уровень M2 ОАМ в инвазивном крае, обнаруженный у 58 % пациенток с HER2-low РМЖ, сочетается с ростом экспрессии большинства иных маркеров ИИК во всех участках опухоли. Периневральная инвазия, один из уже известных

морфологических предикторов злокачественного течения опухолевого процесса, также значительно чаще имела место при высоком уровне M2 макрофагов в инвазивном крае, что теоретически может свидетельствовать о высоком риске прогрессирования у таких пациенток. Данные о специфичности инфильтрации иммунокомпетентными клетками, полученные в ходе исследования, в перспективе могут стать, в комплексе с другими известными предикторами, важным звеном в выборе метода локального лечения или схемы лекарственной терапии у пациенток с HER2-low РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Pernas S., Tolaney S.M. Clinical trial data and emerging strategies: HER2-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2022; 193(2): 281–91. doi: 10.1007/s10549-022-06575-7.
2. Denkert C., Seither F., Schneeweiss A., Link T., Blohmer J.U., Just M., Wimberger P., Forberger A., Tesch H., Jackisch C., Schmatloch S., Reinisch M., Solomayer E.F., Schmitt W.D., Hanusch C., Fasching P.A., Lübke K., Solbach C., Huober J., Rhiem K., Marmé F., Reimer T., Schmidt M., Sinn B.V., Janni W., Stickeler E., Michel L., Stötzer O., Hahnen E., Furlanetto J., Seiler S., Nekljudova V., Untch M., Loibl S. Clinical and molecular characteristics of HER2-low-positive breast cancer: pooled analysis of individual patient data from four prospective, neoadjuvant clinical trials. *Lancet Oncol.* 2021; 22(8): 1151–61. doi: 10.1016/S1470-2045(21)00301-6.
3. Jin J., Li B., Cao J., Li T., Zhang J., Cao J., Zhao M., Wang L., Wang B., Tao Z., Hu X. Analysis of clinical features, genomic landscapes and survival outcomes in HER2-low breast cancer. *J Transl Med.* 2023; 21(1): 360. doi: 10.1186/s12967-023-04076-9.
4. Вторушин С.В., Крахмаль Н.В., Завалишина Л.Э., Кузнецова О.А., Москвина Л.В., Франк Г.А. Определение HER2-статуса карцином различных локализаций. *Архив патологии.* 2023; 85(6): 31–46. [Vtorushin S.V., Krakhmal N.V., Zavalishina L.E., Kuznetsova O.A., Moskvina L.V., Frank G.A. Assessment of HER2 status of carcinomas of various localizations. *Russian Journal of Archive of Pathology.* 2023; 85(6): 31–46. (in Russian)]. doi: 10.17116/patol20238506131.
5. Schlam I., Tolaney S.M., Tarantino P. How I treat HER2-low advanced breast cancer. *Breast.* 2023; 67: 116–23. doi: 10.1016/j.breast.2023.01.005.
6. Moy B., Wolff A.C., Rumble R.B., Allison K.H., Carey L.A. Chemotherapy and Targeted Therapy for Endocrine-Pretreated or Hormone Receptor-Negative Metastatic Breast Cancer and Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: ASCO Guideline Rapid Recommendation Update Q and A. *JCO Oncol Pract.* 2023; 19(8): 547–50. doi: 10.1200/OP.23.00047.
7. Vaziri Fard E., Ali Y., Wang X.I., Saluja K., H Covinsky M., Wang L., Zhang S. Tumor-Infiltrating Lymphocyte Volume Is a Better Predictor of Disease-Free Survival Than Stromal Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Invasive Breast Carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2019; 152(5): 656–65. doi: 10.1093/ajcp/aqz088.
8. García-Martínez E., Gil G.L., Benito A.C., González-Billalabeitia E., Conesa M.A., García García T., García-Garre E., Vicente V., Ayala de la Peña F. Tumor-infiltrating immune cell profiles and their change after neoadjuvant chemotherapy predict response and prognosis of breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2014; 16(6): 488. doi: 10.1186/s13058-014-0488-5.
9. Skriver S.K., Jensen M.B., Knoop A.S., Ejlersen B., Laenkholm A.V. Tumour-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant letrozole in patients with early oestrogen receptor-positive breast cancer: analysis from a nationwide phase II DBCG trial. *Breast Cancer Res.* 2020; 22(1): 46. doi: 10.1186/s13058-020-01285-8.
10. Salgado R., Denkert C., Campbell C., Savas P., Nuciforo P., Aura C., de Azambuja E., Eidtmann H., Ellis C.E., Baselga J., Piccart-Gebhart M.J., Michiels S., Bradbury I., Sotiriou C., Loi S. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Associations With Pathological Complete Response and Event-Free Survival in HER2-Positive Early-Stage Breast Cancer Treated With Lapatinib and Trastuzumab: A Secondary Analysis of the NeoALTTO Trial. *JAMA Oncol.* 2015; 1(4): 448–54. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.0830. Erratum in: *JAMA Oncol.* 2015; 1(4): 544. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.1805. Erratum in: *JAMA Oncol.* 2015; 1(8): 1172. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.4229. Nuciforo, Paolo [corrected to Nuciforo, Paolo]. Erratum in: *JAMA Oncol.* 2019; 5(1): 122. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.5678.
11. Perez E.A., Ballman K.V., Tenner K.S., Thompson E.A., Badve S.S., Bailey H., Baehner F.L. Association of Stromal Tumor-Infiltrating Lymphocytes With Recurrence-Free Survival in the N9831 Adjuvant Trial in Patients With Early-Stage HER2-Positive Breast Cancer. *JAMA Oncol.* 2016; 2(1): 56–64. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.3239.
12. Fernandez-Martinez A., Pascual T., Singh B., Nuciforo P., Rashid N.U., Ballman K.V., Campbell J.D., Hoadley K.A., Spears P.A., Pare L., Brasó-Maristany F., Chic N., Krop I., Partridge A., Cortés J., Llombart-Cussac A., Prat A., Perou C.M., Carey L.A. Prognostic and Predictive Value of Immune-Related Gene Expression Signatures vs Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Early-Stage ERBB2/HER2-Positive Breast Cancer: A Correlative Analysis of the CALGB 40601 and PAMELA Trials. *JAMA Oncol.* 2023; 9(4): 490–9. doi: 10.1001/jamaoncol.2022.6288.
13. Pruneri G., Gray K.P., Vingiani A., Viale G., Curigliano G., Criscitiello C., Láng I., Ruhstaller T., Gianni L., Goldhirsch A., Kammler R., Price K.N., Cancellaro G., Munzone E., Gelber R.D., Regan M.M., Colleoni M. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) are a powerful prognostic marker in patients with triple-negative breast cancer enrolled in the IBCSG phase III randomized clinical trial 22-00. *Breast Cancer Res Treat.* 2016; 158(2): 323–31. doi: 10.1007/s10549-016-3863-3.
14. Киселевский М.В., Власенко Р.Я., Заботина Т.Н., Кадагидзе З.Г. Прогностическая значимость опухолю-инфильтрирующих лимфоцитов. *Иммунология.* 2019; 40(1): 73–82. [Kiselevskiy M.V., Vlasenko R.Ya., Zabolina T.N., Kadagidze Z.G. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes. *Immunology.* 2019; 40(1): 73–82. (in Russian)]. doi: 10.24411/0206-4952-2019-11009.
15. Lundgren C., Bendahl P.O., Ekholm M., Fernö M., Forsare C., Krüger U., Nordenskjöld B., Stål O., Rydén L. Tumour-infiltrating lymphocytes as a prognostic and tamoxifen predictive marker in premenopausal breast cancer: data from a randomised trial with long-term follow-up. *Breast Cancer Res.* 2020; 22(1): 140. doi: 10.1186/s13058-020-01364-w.
16. Gwak J.M., Jang M.H., Kim D.I., Seo A.N., Park S.Y. Prognostic value of tumor-associated macrophages according to histologic locations and hormone receptor status in breast cancer. *PLoS One.* 2015; 10(4). doi: 10.1371/journal.pone.0125728.
17. Mehrj U., Qayoom H., Mir M.A. Prognostic significance and targeting tumor-associated macrophages in cancer: new insights and future perspectives. *Breast Cancer.* 2021; 28(3): 539–55. doi: 10.1007/s12282-021-01231-2.
18. Hendry S., Salgado R., Gevaert T. et al. Assessing Tumor-infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method From the International Immunooncology Biomarkers Working Group: Part 1: Assessing the Host Immune Response, TILs in Invasive Breast Carcinoma and Ductal Carcinoma In Situ, Metastatic Tumor Deposits and Areas for Further Research. *Adv Anat Pathol.* 2017; 24(5): 235–51. doi: 10.1097/PAP.0000000000000162.
19. Wei C., Yang C., Wang S., Shi D., Zhang C., Lin X., Liu Q., Dou R., Xiong B. Crosstalk between cancer cells and tumor associated macrophages is required for mesenchymal circulating tumor cell-mediated colorectal cancer metastasis. *Mol Cancer.* 2019; 18(1): 64. doi: 10.1186/s12943-019-0976-4.
20. Anderson S., Bartow B.B., Siegal G.P., Huang X., Wei S. The dynamics of HER2-low expression during breast cancer progression. *Breast Cancer Res Treat.* 2023; 201(3): 437–46. doi: 10.1007/s10549-023-07020-z.
21. van den Ende N.S., Nguyen A.H., Jager A., Kok M., Debets R., van Deurzen C.H.M. Triple-Negative Breast Cancer and Predictive Markers of Response to Neoadjuvant Chemotherapy: A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(3): 2969. doi: 10.3390/ijms24032969.
22. Takada K., Kashiwagi S., Asano Y., Goto W., Kouhashi R., Yabumoto A., Morisaki T., Shibutani M., Takashima T., Fujita H., Hirakawa K.,

Ohira M. Prediction of lymph node metastasis by tumor-infiltrating lymphocytes in T1 breast cancer. BMC Cancer. 2020; 20(1): 598. doi: 10.1186/s12885-020-07101-y.

23. Jeong H., Hwang I., Kang S.H., Shin H.C., Kwon S.Y. Tumor-Associated Macrophages as Potential Prognostic Biomarkers of Invasive Breast Cancer. J Breast Cancer. 2019; 22(1): 38–51. doi: 10.4048/jbc.2019.22.e5.

24. Kashyap D., Bal A., Irinike S., Khare S., Bhattacharya S., Das A., Singh G. Heterogeneity of the Tumor Microenvironment Across Molecular Subtypes of Breast Cancer. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2023; 31(8): 533–43. doi: 10.1097/PAI.0000000000001139.

25. Allison E., Edirimanne S., Matthews J., Fuller S.J. Breast Cancer Survival Outcomes and Tumor-Associated Macrophage Markers: A Systematic Review and Meta-Analysis. Oncol Ther. 2023; 11(1): 27–48. doi: 10.1007/s40487-022-00214-3.

26. Zhao X., Qu J., Sun Y., Wang J., Liu X., Wang F., Zhang H., Wang W., Ma X., Gao X., Zhang S. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in breast cancer: a meta-analysis of the literature. Oncotarget. 2017; 8(18): 30576–86. doi: 10.18632/oncotarget.15736.

27. Muraro E., Martorelli D., Turchet E., Miolo G., Scalone S., Comaro E., Talamini R., Mastorci K., Lombardi D., Perin T., Carbone A.,

Veronesi A., Crivellari D., Dolcetti R. A different immunologic profile characterizes patients with HER-2-overexpressing and HER-2-negative locally advanced breast cancer: implications for immune-based therapies. Breast Cancer Res. 2011; 13(6). doi: 10.1186/bcr3060.

28. Mohamed R.F., Abdelhameed D.H., Mohamed M.A. Combination of Anatomical and Biological Factors to Predict Disease-Free Survival in Breast Cancer. JCO Glob Oncol. 2023; 9. doi: 10.1200/GO.22.00269.

29. Wang X., Zhang L., Zhang X., Luo J., Wang X., Chen X., Yang Z., Mei X., Yu X., Zhang Z., Guo X., Shao Z., Ma J. Impact of clinical-pathological factors on locoregional recurrence in mastectomy patients with T1-2N1 breast cancer: who can omit adjuvant radiotherapy? Breast Cancer Res Treat. 2021; 190(2): 277–86. doi: 10.1007/s10549-021-06378-2.

30. Mittendorf E.A., Ballman K.V., McCall L.M., Yi M., Sahin A.A., Bedrosian I., Hansen N., Gabram S., Hurd T., Giuliano A.E., Hunt K.K. Evaluation of the stage IB designation of the American Joint Committee on Cancer staging system in breast cancer. J Clin Oncol. 2015; 33(10): 1119–27. doi: 10.1200/JCO.2014.57.2958.

Поступила/Received 03.04.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 01.10.2024

Принята к публикации/Accepted 28.10.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Михайлов Илья Владимирович, кандидат медицинских наук, заведующий отделением противоопухолевой лекарственной терапии, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-6963-5472.

Еремеева Елизавета Романовна, патологоанатом патологоанатомического отделения, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5775-8648. Author ID (Scopus): 57220175791. ORCID: 0000-0003-0635-8743.

Глазков Алексей Андреевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории медико-физических исследований, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3250-1882. Author ID (Scopus): 57199329515. Researcher ID (WOS): R-7373-2016. ORCID: 0000-0001-6122-0638.

Тележникова Инесса Михайловна, младший научный сотрудник лаборатории инновационной патоморфологии, ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова» ДЗМ; младший научный сотрудник отделения морфологической диагностики отдела онкологии, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3465-3188. Author ID (Scopus): 57215100072. ORCID: 0000-0002-1491-2882.

Сетдикова Галия Равиловна, доктор медицинских наук, руководитель отделения морфологической диагностики, заведующая курсом патологии и морфологии, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6551-0854. Author ID (Scopus): 25422894200. ORCID: 0000-0002-5262-4953.

Балканов Андрей Сергеевич, доктор медицинских наук, руководитель отделения радиотерапии, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5757-4455. Author ID (Scopus): 6508333085. ORCID: 0000-0002-1601-9780.

ВКЛАД АВТОРОВ

Михайлов Илья Владимирович: разработка концепции и дизайна научной работы, сбор материала исследования, обработка данных, написание статьи.

Еремеева Елизавета Романовна: получение, анализ и интерпретация результатов исследования.

Глазков Алексей Андреевич: статистическая обработка результатов исследования, работа с графическим материалом.

Тележникова Инесса Михайловна: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания, обработка данных.

Сетдикова Галия Равиловна: написание черновика статьи, критический пересмотр результатов исследования с внесением ценного интеллектуального содержания, утверждение окончательного варианта статьи.

Балканов Андрей Сергеевич: общее руководство проектом, разработка концепции научной работы, разработка дизайна исследования, утверждение окончательного варианта статьи, подбор и анализ литературных источников.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом «Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского» (Россия, 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2), протокол № 13 от 28.09.23 г.

Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных и фотоматериалов в медицинском журнале, включая его электронную версию.

ABOUT THE AUTHORS

Ilya V. Mikhailov, MD, PhD, Head of the Department of Antitumor Drug Therapy, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-6963-5472.

Elizaveta R. Eremeeva, MD, Pathologist, Department of Pathology, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57220175791. ORCID: 0000-0003-0635-8743.

Alexey A. Glazkov, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Medical and Physical Research, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57199329515. Researcher ID (WOS): R-7373-2016. ORCID: 0000-0001-6122-0638.

Inessa M. Telezhnikova, Junior Researcher, Laboratory of Innovative Pathomorphology, A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific and Practical Center; Junior Researcher, Department of Morphological Diagnostics, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57215100072. ORCID: 0000-0002-1491-2882.

Galiya R. Setdikova, MD, DSc, Head of the Department of Morphological Diagnostics, Head of the Pathology and Morphology Course, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 25422894200. ORCID: 0000-0002-5262-4953.

Andrey S. Balkanov, MD, DSc, Head of the Radiotherapy Department, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6508333085. ORCID: 0000-0002-1601-9780.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Ilya V. Mikhailov: study conception and design, data collection, data analysis, writing of the manuscript.

Elizaveta R. Eremeeva: obtaining, analyzing and interpreting research results.

Alexey A. Glazkov: statistical processing of research results, work with graphic material.

Inessa M. Telezhnikova: critical revision of the manuscript with the introduction of valuable intellectual content, data processing.

Galiya R. Setdikova: drafting of the manuscript, critical revision of the research results with the introduction of valuable intellectual content, approval of the final version of the article.

Andrey S. Balkanov: general project management, development of the concept of scientific work, development of research design, approval of the final version of the article, selection and analysis of literary sources.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (61/2, Shchepkina St., Moscow, 129110, Russia), protocol No. 13 dated September 28, 2023.

Voluntary informed consent

Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data and photographs in medical journal.