

Volos L.İ., Dudaş A.P.

SÜD VƏZİSİ AXACAĞININ QEYRİ-ŞƏFFAF İNVAZİV KARSİNOMALARINDA LİMFOSİTAR İNFİLTRASİYA

D.Qalitski ad. Lvov Milli Tibb Universitetinin Patoloji anatomiya və məhkəmə təbabəti kafedrası, Lvov, Ukrayna

Məqalədə süd vəzisi axacaqlarının qeyri-invaziv molekulyar alttipləri (HER-2neu+ və üçqat neqativ) olan kimyaterapiya və şüa terapiyası tətbiq edilməmiş xəstələrdə şişin limfoid xarakterli ətrafının mikroskopik xüsusiyyətləri haqqında məlumat verilir. Tədqiqatın məqsədi şişə infiltrasiya edən T- və B-limfositlərin invaziv şişin qeyri-şəffaf alt-tiplərində yayılmasını və NK-hüceyrələrin proliferasiyasını öyrənmək olmuşdur.

Tədqiqat işinə 71 xəstədən alınmış patoloji toxuma nümunələrində histoloji, immunhistokimyəvi və morfometrik müayinələrin nəticələri daxil edilmişdir. 39 xəstədə süd vəzisi axacağının invaziv qeyri-şəffaf şişinin HER-2neu+, 32 xəstədə isə üçqat neqativ alt-tipi aşkar edilmişdir.

Tədqiqat göstərmişdir ki, süd vəzisinin invaziv qeyri-şəffaf xərçənginin səciyyəvi əlaməti – şişin kənarlarındakı limfoid infiltrasiyanın sərtliyidir. Bundan əlavə, şiş toxumasının kənarlarında T-limfositlər B-limfositlərə nisbətən 1,8-2,4 dəfə, daxilində isə 4 dəfə çox toplanır. T-limfositlərin və NK-hüceyrələrin morfometrik parametrlərində fərq daha böyük olur. HER-2neu+ və üçqat neqativ xərçəng şişinin invaziv sahəsinin kənar hissələrində T-limfositlər NK-hüceyrələrdən müvafiq olaraq 7,5 və 6,9 dəfə, şişin daxilində isə 11,5 və 14 dəfə çox olmuşdur.

Açar sözlər: şiş toxumasına infiltrasiya edən limfositlər, süd vəzisi xərçəngi, HER-2neu+, şişin neqativ molekulyar alt-tipi

Ключевые слова: инфильтрирующие опухоль лимфоциты, рак молочной железы, HER-2neu+, тройной негативный молекулярный подтип

Keywords: tumor-infiltrating lymphocytes, breast cancer, HER-2neu+, triple negative molecular subtype

Волос Л.И., Дудаш А.П.

ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИЕ ЛИМФОЦИТЫ В НЕЛЮМИНАЛЬНЫХ ИНВАЗИВНЫХ ПРОТОКОВЫХ КАРЦИНОМАХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кафедра патологической анатомии и судебной медицины Львовского национального медицинского университета имени Данила Галицкого, Львов, Украина

В статье представлены данные об особенностях лимфоидного микроокружения в нелюминальных (HER-2neu+ и тройном негативном) молекулярных подтипах инвазивного протокового рака молочной железы у больных, которым не применялось неоадъювантное химиолучевое лечение. Оценить распределение инфильтрирующих опухоль Т- и В-лимфоцитов и NK-клеток в нелюминальных подтипах инвазивного протокового рака молочной железы и послужило целью данной работы.

Проведено гистологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследование 71 наблюдения инвазивного нелюминального протокового рака молочной железы, из них Her2/neu+ молекулярный подтип составил 39 наблюдений и тройной негативный – 32 наблюдения.

В ходе работы установлено, что для инвазивного нелюминального протокового рака молочной железы характерна высокая плотность лимфоидного инфильтрата, причем на краю инвазии Т-лимфоцитов в 1,8-2,4 раза больше, чем В-лимфоцитов; внутри опухоли Т-лимфоцитов в 4,6 раза больше. Еще большая разница была в морфометрических параметрах между Т-лимфоцитами и NK-

клетками: в 7,5-6,9 раза больше выявлялось Т-лимфоцитов, нежели NK-клеток на краю инвазии, и в 11,5-14 раза – внутри опухоли в HER-2neu+ и тройном негативном раке соответственно.

Рак молочной железы – одна из самых распространенных злокачественных опухолей и ведущая причина смерти женщин от рака в современном мире [1]. На основе паттернов экспрессии генов и генетических закономерностей выделено несколько молекулярных подтипов, отличающихся по клиническому поведению, чувствительности к различным химиопрепаратам, и определяющих тактику лечения [2, 3]. Нелюминальные подтипы, включая раки с HER2-положительным статусом и тройные негативные, являются показателем более агрессивного течения опухоли, характеризуются более высокой мутационной нагрузкой по отношению к люминальным опухолям, крайне неблагоприятны с частым рецидивированием и низкой продолжительностью жизни [4, 5].

Иммуногенности рака молочной железы уделялось мало внимания в отличие от других злокачественных новообразований, для которых новые методы лечения, которые недавно были внедрены в клиническую практику, стимулируют противоопухолевый иммунный ответ и существенно влияют на прогноз заболевания [6, 7]. В последние годы были проведены многочисленные клинические исследования с целью изучения возможного индивидуального иммунного ответа влиять на клиническое поведение рака молочной железы [8]. Присутствие инфильтрирующих опухоль лимфоцитов в самой опухоли и в перитуморальных участках было признано важным иммунологическим биомаркером [9, 10], отражающим противоопухолевый иммунный ответ при раке молочной железы [11, 12], а также при других злокачественных новообразованиях женской половой системы [13, 14].

Появляется все больше доказательств того, что взаимодействие между неопластическими и иммунными клетками влияет на исход пациента [15, 16]. Опухолевая среда включает лимфоидные клетки, Т- и В-лимфоциты, инфильтрирующие опухоль, а также естественные киллеры (NK) [17, 18].

Они представляют собой как адаптивную, так и врожденную ветвь иммунного ответа [19, 20]. Повышение уровня инфильтрирующих опухоль лимфоцитов связано с лучшим ответом на неоадьювантную химиотерапию и с улучшением выживаемости для пациентов с тройными отрицательными (TNBC) и HER2-положительными карциномами молочной железы [21, 22].

В связи с вышеизложенным целью данного исследования явилась оценка распределения инфильтрирующих опухоль Т- и В-лимфоцитов и NK-клеток в нелюминальных подтипах инвазивного протокового рака молочной железы.

Материалы и методы исследования.

Материалом для настоящего морфологического исследования послужил 71 случай инвазивного нелюминального протокового рака молочной железы, из них Her2/neu молекулярный подтип составил 39 случаев и тройной негативный – 32 случая, определение молекулярных подтипов осуществлялось на основании экспрессии ER / PR / HER2/neu и Ki-67 согласно консенсусу St. Gallen 2015 [23]. Основными показателями, которые принимались во внимание, были характеристики онкологического процесса, в частности клинически, маммографически, ультразвукографически, МРТ и морфологически верифицированный инфильтративный протоковый рак молочной железы без отдаленных метастазов (M0), отсутствие (N0) или наличие лимфаденопатии с морфологически подтвержденным онкологическим происхождением, что соответствует критериям N1-3, исключение неоадьювантного лечения [1]. Степень злокачественности определялась по модифицированной схеме P. Scarff, H. Bloom и W. Richardson [24]. Гистологическая обработка образцов выполнялась в соответствии со стандартной методикой с дальнейшим морфометрическим исследованием [25].

Иммуногистохимические исследования для CD3 (Clone SP7, Thermo scientific), CD20 (Clone L26, Thermo scientific), CD56 (Clone 123C3, Thermo scientific), рецептора эстрогена ER (Clone SP1, Dako), рецептора прогестерона PR (PgR 636, Dako Flex), c-erbB2 (HER2-neu Clone SP3, Thermo scientific) и белка Ki-67 (clone MIB-1, Dako) проводили в соответствии с протоколом производителя. Для образцов со статусом HER2-neu 2+ по результатам иммуногистохимического исследования была проведена флуоресцентная гибридизация in situ (FISH).

Оценка иммуногистохимической окраски включала плотность CD3-, CD20, CD56-положительных клеток (Т-, В-, NK-клеток) внутриопухолево и на инвазивном крае. Плотность клеток оценивали как среднее значение (%), полученное в 5 полях

наибольшего лимфоидного инфильтрата; интенсивность опухоль-инфильтрирующих Т-, В-лимфоцитов и NK-клеток (от 0 до 3+) оценивали в соответствии с визуально-аналоговой шкалой, степень интенсивности определяли в процентах к положительно окрашенным клеткам инфильтрата.

Соответствие распределения нормальному определяли по критерию Shapiro-Wilk's test, который показал, что выборки близки к нормальному распределению. Корреляционный анализ осуществлялся с применением рангового коэффициента корреляции Спирмена. Статистическая разница между исследуемыми показателями считалась достоверной при $p < 0,05$.

Исследование проведено с соблюдением основных биоэтических положений Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (04.04.1997), Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения научных медицинских исследований с участием человека (1964-2008 гг.), Приказа МЗ Украины № 690 от 23.09.2009 г.

Результаты исследования. В настоящем исследовании при анализе данных было установлено, что у пациенток с тройным негативным молекулярным подтипом инвазивного протокового рака молочной железы средний возраст составил 59 лет (диапазон от 31 до 79 лет), 11 (34,4%) были моложе 55 лет. У большинства пациенток ($n=14$; 43,74%) диагностирована II клиническая стадия, тогда как III и IV стадии составляли 34,38% ($n=11$) и 12,5% ($n=4$) больных соответственно. Распределение по степени гистологической дифференцировки опухоли (G) было следующим: G1 - 0 (0%), G2 - 17 (53,13%) и G3 - 14 (43,74%), G4 - 1 (3,13%) случаев. Менопаузальный статус был в 65,6% случаев.

Средний возраст пациенток с HER-2neu+ (нелюминальным) инвазивным протоковым раком молочной железы составил 50,5 лет и был значимо ниже, чем у пациенток с тройным негативным раком (59 и 50,5 соответственно, $p < 0,001$), с диапазоном 28–78 лет, а 56,8% больных были моложе 55 лет, 22 из 39 (56,4%) пациенток на момент операции находились в пременопаузе. Распределение по степени гистологической дифференцировки HER-2neu+ опухолей отличалось от тройного негативного рака и было следующим: G1 - 3 (7,69%), G2 - 28 (71,80%) и G3 - 8 (20,51%), G4 - 0 (0%) случаев. Плотность Т-клеток, В-клеток и NK-клеток внутри опухоли и на краю инвазии представлена в таблице.

Плотность лимфоцитов была значительно достоверно выше у инвазивного края, чем внутри опухоли как в HER-2neu+, так и в тройном негативном фенотипе, но плотность внутриопухолевых Т-лимфоцитов была достоверно выше в тройном негативном раке ($p < 0,05$), а у инвазивного края отличия между HER-2neu+ и тройным негативным фенотипами статистически не значимы ($p > 0,05$). Но, если сравнить морфометрические параметры Т- и В-лимфоцитов, то можно с высокой достоверностью сказать, что на краю инвазии Т-лимфоцитов было в 1,8-2,4 раза больше, чем В-лимфоцитов, а внутри опухоли – в 4,6 раза больше в HER-2neu+ и тройном негативном раке молочной железы. Еще большая разница была в морфометрических параметрах между Т-лимфоцитами и NK-клетками. В 7,5-6,9 раза больше выявлялось Т-лимфоцитов, нежели NK-клеток на краю инвазии, и в 11,5-14 раза – внутри опухоли в HER-2neu+ и тройном негативном раке соответственно ($p < 0,01$).

Для субпопуляции В-лимфоцитов плотность CD20 также увеличивалась к инвазивному краю, при этом В-клеточный инфильтрат был более выражен в HER-2neu+опухолях. Внутри опухоли В-лимфоциты наоборот преобладали в тройном негативном раке ($p < 0,05$). Но по сравнению с плотностью Т-лимфоцитов, В-клеточный инфильтрат был достоверно ($p < 0,01$) менее выражен в HER-2neu+ и тройном негативном фенотипах инвазивного протокового рака молочной железы, а, если, сравнить с морфометрическими параметрами NK-клеток, то на краю инвазии В-лимфоцитов было в 2,86-4,17 раза больше, а внутри опухоли также – в 2,56 раза больше.

Плотность распределения натуральных киллеров была самой низкой по сравнению с субпопуляциями Т- и В-лимфоцитов, как интратуморально, так и на инвазивном крае опухолей ($p < 0,001$).

Обсуждение. Развитие патологических процессов женской половой системы зависит от многих факторов [26, 27], что реализуется в многообразии морфологических проявлений [28, 29] и их последствий [30, 31], трудностях с моделированием эпидемиологических прогнозов [32].

Таблица. Морфометрические параметры Т-, В- и NK-клеток в HER-2neu+ и тройном негативном фенотипах инвазивного протокового рака молочной железы

Молекулярный подтип	Т-лимфоциты (CD3)		В-лимфоциты (CD20)		NK (CD56)	
	Внутри опухоли (%)	Инвазивный край (%)	Внутри опухоли (%)	Инвазивный край (%)	Внутри опухоли (%)	Инвазивный край (%)
HER2-neu +/- нелюминальный	23,73±1,34	45,94±2,13	5,76±0,13	25,82±1,19	2,25±0,06	6,39±0,11
Тройной негативный (TNBC)	28,15±2,13	48,57±2,25	6,31±0,19	20,15±0,72	2,42±0,08	7,76±0,13

На современном этапе определение молекулярных подтипов является золотым стандартом для лечения рака молочной железы, в то же время информация о взаимосвязи между молекулярным и иммунным фенотипами опухоли недостаточная и, в определенной степени, неубедительная, а иногда и противоречивая. Было высказано предположение, что более обильный лимфоцитарный инфильтрат, наблюдаемый некоторыми авторами в нелюминальных опухолях рака молочной железы, по сравнению с люминальными, связан с их более агрессивным профилем, генетической нестабильностью, экспрессией HLA-G и различным метаболизмом [33]. Более того, интенсивная иммунная инфильтрация, а также более высокий уровень цитокинов были зарегистрированы в опухолях молочной железы высокой степени злокачественности и отрицательных в отношении рецепторов гормонов [34, 35] и со сверхэкспрессией HER-2 [36].

В отдельных исследованиях было показано, что клинико-патологическое значение лимфоидного микроокружения при раке молочной железы зависит от фенотипа опухоли и варьирует от их противоопухолевых к протуморогенным свойствам, поскольку более выраженный лимфоцитарный инфильтрат был связан или с более благоприятным прогнозом при тройном негативном или ER-/ HER2-neu+ раке молочной железы, или с неблагоприятным результатом для пациентов с ER+ раком [15, 33, 36].

Некоторые авторы постулируют связь между количеством Т-клеток, инфильтрирующих опухоль, и гормоноотрицательностью [37], что согласуется с нашими результатами. В нашем исследовании обиль-

ный инфильтрат Т-клеток был связан с более агрессивными молекулярными подтипами рака грудной железы, в частности, тройным негативным и HER2-neu+.

На сегодняшний день роль В-лимфоцитов в инвазивной карциноме до конца не определена. Случаи инвазивного протокового рака молочной железы с В-лимфоцитами высокой плотности, независимо от их расположения или топографического распределения, существенно ассоциировались с неблагоприятным прогнозом, включая большие размеры, низкую степень дифференциации, лимфо-сосудистую инвазию, метастазы в лимфатические узлы, ER/ PR-негативный и HER2-neu+ статус, что согласуется с результатами нашего исследования [11]. Это говорит о том, что гуморальный иммунитет, помимо клеточно-опосредованного иммунитета, может иметь важное значение, что также следует учитывать в стратегии иммунотерапии рака молочной железы.

Опубликованная литература о взаимосвязи между количеством NK-клеток и молекулярным подтипом инвазивного протокового рака молочной железы немногочисленна. Более высокая внутриопухолевая инфильтрация NK-клеток, которая наблюдается при раке молочной железы, была связана со степенью G3 и поражением лимфатических узлов. Также высокий гистологический класс был связан с большим количеством NK-клеток на инвазивном крае. Кроме того, некоторые авторы отметили отсутствие NK-клеток в инвазивных опухолях молочной железы [38], что противоречит нашим исследованиям.

Заключение. Her2/neu+ и тройной негативный молекулярные подтипы характеризуются более высокой мутационной

нагрузкой по отношению к люминальным опухолям, следовательно, в этих подтипах присутствует более высокий уровень иммунной инфильтрации. Плотность лимфоцитов значительно достоверно выше у инвазивного края, чем внутри опухоли как в HER-2neu+, так и в тройном негативном фенотипе. Обильный инфильтрат Т-лимфоцитов достоверно в 1,8-2,4 раза больше, чем В-лимфоцитов, а внутри опухоли – в 4,6

раза больше в HER-2neu+ и тройном негативном раке молочной железы. Более выражена разница установлена в морфометрических параметрах между Т-лимфоцитами и НК-клетками. В 7,5-6,9 раза больше выявлялось Т-лимфоцитов, нежели НК-клеток на краю инвазии, и в 11,5-14 раза – внутри опухоли в HER-2neu+ и тройном негативном раке соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO Classification of Tumors Editorial Board, ed. WHO classification of tumors, 5th edition – Breast tumors. Lyon: International Agency for Research on Cancer 2019 DOI: 10.1111/his.14091
2. Strehl J.D., Wachter D.L., Fasching P.A., Beckmann M.W., Hartmann A. Invasive breast cancer: recognition of molecular subtypes // *Breast Care*, 2011; 6: 258-64. DOI: 10.1159/000331339
3. Lytvynenko M.V., Narbutova T.Ye., Oliynyk N.N., Lantukh I.V., Katsap O.V. Gargin V.V. Estrogen and progesterone receptors in endometrial, cervical and breast tissues in immunodefficient conditions. // *Azerbaijan Med J* 2021(3):70-77. doi: 10.34921/amj.2021.3.010
4. Luen S., Virassamy B., Savas P., Salgado R., Loi S. The genomic landscape of breast cancer and its interaction with host immunity // *The Breast*. 2016; Vol. 29:241-250. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2016.07.015>.
5. Kravtsova O.I., Lyndin M.S., Sikora V.V., Hyriavenko N.I., Kuzenko Y.V., Moskalenko R.A., Sikora K.O., Lyndina Y.M., Romaniuk A.M. The role of Hsp70 and Hsp90 in the endometrial carcinomas progression // *Azerbaijan Medical Journal (ATJ)*. 2021;3:136–46. DOI: 10.34921/amj.2021.3.019
6. Romaniuk A., Gyryavenko N., Lyndin M., Piddubnyi A., Sikora V., Korobchanska A. Primary cancer of the fallopian tubes: histological and immunohistochemical features // *Folia Medica Cracoviensia*. 2016;4:71–80.
7. Klyuchko K.O., Gargin V.V. Influence of neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced cervical cancer // *Pol Merkur Lekarski*. 2020;48(288):406-409.
8. Denkert C., Von Minckwitz G., Darb-Esfahani S. et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: A pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy // *Lancet Oncol*. 2018, 19, 40–50. DOI:[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30904-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30904-X)
9. Vynnychenko I.O., Pryvalova A.O., Vynnychenko O.I., Lyndin M.S., Sikora V.V., Romaniuk A.M. PIK3CA-mutant circulating tumor DNA in patients with breast cancer // *Azerbaijan Med J*. 2020;3:79-88. doi:10.34921/amj.2020.3.010
10. Kon K., Rai M. Antibiotic Resistance: Mechanisms and New Antimicrobial Approaches. // *Antibiotic Resistance: Mechanisms and New Antimicrobial Approaches*; 2016. p. 1-413.
11. Romaniuk A., Lyndin M., Sikora V., Lyndina Y., Panasovska K. Histological and immunohistochemical features of medullary breast cancer // *Folia Med Cracov*. 2015;55(2):41-48.
12. Volos L., Dudash A., Guley R., Petronchak O. Lymphoid environment in Luminal A subtype invasive ductal breast carcinoma // *The Breast*. 2021; Vol. 56 (1S): S27. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0960-9776\(21\)00112-0](https://doi.org/10.1016/S0960-9776(21)00112-0)
13. Lytvynenko M., Shkolnikov V., Bocharova T., Sychova L., Gargin V. Peculiarities of proliferative activity of cervical squamous cancer in HIV infection // *Georgian Med News*. 2017;(270):10-15.
14. Lytvynenko M.V., Narbutova T.Ye., Vasylyev V.V., Gargin V.V. Indicators of proliferative activity of endometrium in women with immunodeficiency // *Azerbaijan Medical Journal* 2021(2):53-60. doi: 10.34921/amj.2021.2.008
15. Lyndin M., Hyriavenko N., Sikora V., Lyndina Y., Soroka Y., Romaniuk A. Invasive breast carcinoma of no special type with medullary pattern: morphological and immunohistochemical features // *Turk Patoloji Derg*. 2021. DOI: 10.5146/tjpath.2021.01559
16. Shepherd L., Borges Á., Ledergerber B., et al. Infection-related and -unrelated malignancies, HIV and the aging population // *HIV Med*. 2016;17(8):590-600. doi: 10.1111/hiv.12359

17. Pelchen-Matthews A., Ryom L., Borges Á.H., et al. Aging and the evolution of comorbidities among HIV-positive individuals in a European cohort // *AIDS*. 2018;32(16):2405-2416. doi:10.1097/QAD.0000000000001967
18. Grint D., Peters L., Rockstroh J.K., et al. Liver-related death among HIV/hepatitis C virus-co-infected individuals: implications for the era of directly acting antivirals // *AIDS*. 2015;29(10):1205-1215. doi:10.1097/QAD.0000000000000674
19. Avilova O., Shyian D., Marakushin D., Erokhina V., Gargin V. Ultrastructural changes in the organs of the immune system under the influence of xenobiotics // *Georgian Med News*. 2018;(279):132-137.
20. Bondarenko A.V., Pokhil S.I., Lytvynenko M.V., Bocharova T.V., Gargin V.V. Anaplasmosis: experimental immunodeficient state model // *Wiad Lek*. 2019;72(9 cz 2):1761-1764.
21. Matsumoto H, Koo SL, Dent R, Tan PH, Iqbal J. Role of inflammatory infiltrates in triple negative breast cancer // *J Clin Pathol*. 2015 Jul;68(7):506-10. doi: 10.1136/jclinpath-2015-202944.
22. Polyvianna Y., Chumachenko D., Chumachenko T. Computer aided system of time series analysis methods for forecasting the epidemics outbreaks // 2019 15th International Conference on the Experience of Designing and Application of CAD Systems, CADSM 2019:1-4. doi: 10.1109/CADSM.2019.8779344
23. Coates A.S., Winer E.P., Goldhirsch A., Gelber R.D., Gnant M., Piccart-Gebhart M., Thürlimann B., Senn H.J.; Panel Members. Tailoring therapies – improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015 // *Ann Oncol*. 2015 Aug;26(8):1533-46. doi: 10.1093/annonc/mdv221.
24. Elston C.W., Ellis I.O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19: 403–10.
25. Gargin V., Radutny R., Titova G., Bibik D., Kirichenko A., Bazhenov O. Application of the computer vision system for evaluation of pathomorphological images // 2020 IEEE 40th International Conference on Electronics and Nanotechnology, ELNANO 2020 - Proceedings; 2020. 469-473, doi:10.1109/ELNANO50318.2020.9088898.
26. Lyngsø J., Ramlau-Hansen C.H., Høyer B.B., et al. Menstrual cycle characteristics in fertile women from Greenland, Poland and Ukraine exposed to perfluorinated chemicals: a cross-sectional study // *Hum Reprod*. 2014;29(2):359-367. doi:10.1093/humrep/det390
27. Ludwicki J.K., Góralczyk K., Struciński P., et al. Hazard quotient profiles used as a risk assessment tool for PFOS and PFOA serum levels in three distinctive European populations // *Environ Int*. 2015;74:112-118. doi:10.1016/j.envint.2014.10.001
28. Lytvynenko M., Bocharova T., Zhelezniakova N., Narbutova T., Gargin V. Cervical transformation in alcohol abuse patients // *Georgian Med News*. 2017;(271):12-17.
29. Lytvynenko M., Bondarenko A., Gargin V. The effect of alcohol on ovarian state in HIV-infected women // *Azerbaijan Med J* 2021(1):61-68. doi:10.34921/amj.2021.1.008
30. Gargin V., Muryzina I., Shcherbina N., Nechyporenko A., Baryshevska V., Vorobyova O., Alekseeva V. // Relationship between bone density of paranasal sinuses and adrenal steroids pattern in women during menopausal transition. *Anthropological Review*. 2020;83(4):407–418. doi: 10.2478/anre-2020-0031
31. Trullas J.C., Mocroft A., Cofan F., et al. Dialysis and renal transplantation in HIV-infected patients: a European survey // *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010;55(5):582-589. doi:10.1097/QAI.0b013e3181efbe59
32. Chumachenko D., Chumachenko T. Intelligent Agent-Based Simulation of HIV Epidemic Process // *Adv Intell Sys Comput* 2020;1020:175-188. doi: 10.1007/978-3-030-26474-1_13
33. Stanton S.E., Disis M.L. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer // *J Immunother Cancer*. 2016 Oct 18; 4:59. doi: 10.1186/s40425-016-0165-6. PMID: 27777769; PMCID: PMC5067916.
34. Kim J.Y., Heo S.H., Choi S.K., Song I.H. et al. Glutaminase expression is a poor prognostic factor in node-positive triple-negative breast cancer patients with a high level of tumor-infiltrating lymphocytes // *Virchows Arch*. 2017 Apr; 470(4):381-389. doi: 10.1007/s00428-017-2083-5. Epub 2017 Feb 9. PMID: 28185053.
35. Romaniuk A., Lyndin M., Moskalenko R., Kuzenko Y., Gladchenko O., Lyndina Y. Pathogenetic mechanisms of heavy metals effect on proapoptotic and proliferative potential of breast cancer // *Interv Med Appl Sci*. 2015 Jun;7(2):63-8. doi: 10.1556/1646.7.2015.2.4.
36. Tsang J.Y., Hui S.W., Ni Y.B., Chan S.K. Lymphocytic infiltrate is associated with favorable biomarkers profile in HER2-overexpressing breast cancers and adverse biomarker profile in ER-positive

breast cancers // Breast Cancer Res Treat. 2014 Jan;143(1):1-9. doi: 10.1007/s10549-013-2781-x. Epub 2013 Nov 24. PMID: 24272079.

37. Gao, Zh., Li, Cx., Liu, M. et al. Predictive and prognostic role of tumour-infiltrating lymphocytes in breast cancer patients with different molecular subtypes: a meta-analysis. BMC Cancer, 2020; 20, 1150. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07654-y>

38. Roncati L, Barbolini G, Piacentini F, Pisciolli F, Pusiol T, Maiorana A. Prognostic Factors for Breast Cancer: an Immunomorphological Update. Pathol Oncol Res. 2016 Jul;22(3):449-52. doi: 10.1007/s12253-015-0024-7

Volos L.I., Dudash A.P.

TUMOR-INFILTRATING LYMPHOCYTES IN NONLUMINAL INVASIVE DUCTAL BREAST CARCINOMA

*Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine,
Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine*

Summary. The article presents data on the features of the lymphoid microenvironment in non-luminal (HER-2neu+ and triple negative) molecular subtypes of invasive ductal breast cancer in patients without use neoadjuvant chemoradiotherapy. The purpose of this work was to assess the distribution of T and B lymphocytes and NK cells infiltrating the tumor in the non-luminal subtypes of invasive ductal breast cancer.

A histological, immunohistochemical and morphometric study of 71 cases of invasive non-luminal ductal breast cancer was carried out, of which Her2 / neu + molecular subtype included 39 cases and triple negative - 32 cases.

It was found that invasive non-luminal ductal breast cancer is characterized by a high density of lymphoid infiltrate, and at the invasive margin T-lymphocytes were 1.8-2.4 times more than B-lymphocytes, inside the tumor T-lymphocytes were 4,6 times more than B cells. An even greater difference was in the morphometric parameters between T-lymphocytes and NK-cells, and T-lymphocytes were detected 7.5-6.9 times more than NK-cells at the invasive margin, and 11.5-14 times more inside tumors in HER-2neu + and triple negative cancers, respectively.

Автор для корреспонденции:

Волос Лилия Ивановна, профессор кафедры патологической анатомии и судебной медицины Львовского национального медицинского университета имени Данила Галицкого, Львов, Украина. E-mail: Liliya.volos@gmail.com

Author for correspondence:

Volos Liliya, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Foreign Medicine, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.
E-mail: Liliya.volos@gmail.com