

## Иммуногистохимическая характеристика сторожевых лимфатических узлов при разных молекулярно-биологических подтипах рака молочной железы

Е.В. Москвичев<sup>1,2</sup>, Л.М. Меркулова<sup>2</sup>, А.И. Кузнецова<sup>2</sup>,  
О.Ю. Кострова<sup>2</sup>, Е.Г. Драндрова<sup>2</sup>, Г.Ю. Стручко<sup>2</sup>, Е.М. Сперанская<sup>2</sup>

<sup>1</sup> АУ Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Чувашии, Чебоксары, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия

**Резюме.** *Введение.* Рак молочной железы у женщин является часто встречаемой злокачественной опухолью. Прогноз течения и тактика лечения этого новообразования зависят от клинической стадии и биологического подтипа опухоли. Цель исследования – изучить иммуногистохимическую характеристику сторожевых лимфатических узлов при различных молекулярно-биологических подтипах опухоли молочной железы.

*Материалы и методы.* С помощью гистологических и иммуногистохимических методов изучены 44 лимфатических узла пациенток с диагностированным раком молочной железы. В исследования были взяты регионарные подмышечные лимфатические узлы без признаков метастатического поражения. Проводилось окрашивание гематоксилином и эозином, использовались моноклональные антитела к белку S100, к кластеру дифференцировки лимфоцитов 4 и 8. Результаты оценивали при помощи методов световой микроскопии.

*Результаты.* В первую очередь были установлены молекулярно-биологические подтипы опухоли молочной железы. Выявлено, что в 45% случаев (n=20) у женщин диагностирован люминальный (Lum) подтип опухоли, у 25% пациенток (n=11) обнаружен Her2<sup>+</sup> вариант, остальные 29,5% случаев (n=13) составил T<sup>+</sup> (тройной негативный) рак. Более выраженная экспрессия S100-позитивных клеток наблюдается в паракортикальной зоне лимфатических узлов при подтипе «тройной негативный» по сравнению с люминальным. Обнаружено неравномерное распределение CD8<sup>+</sup> лимфоцитов при разных подтипах рака молочной железы. При этом наблюдается возрастание занимаемой ими площади в следующей последовательности: Lum (18,6%), Her2<sup>+</sup> (19,8%), T<sup>+</sup> (20,1%). Наименьшее количество CD4<sup>+</sup> лимфоцитов было обнаружено при люминальном подтипе рака. Наибольшее количество CD4<sup>+</sup> клеток отмечено при Her2<sup>+</sup> подтипе.

*Заключение.* Проведенные исследования показали, что на ранней стадии рака молочной железы не выявлено достоверных различий в реакции разных субпопуляций Т-лимфоцитов. В то же время нами установлено достоверное увеличение количества внутрифолликулярных S100<sup>+</sup> клеток, что указывает на активацию дендритных клеток при тройном негативном раке.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, иммуногистохимия, регионарный лимфатический узел, клеточный иммунитет, лимфоциты

**Для корреспонденции:** Евгений Васильевич Москвичев. E-mail: moskvichev@rambler.ru

**Для цитирования:** Москвичев Е.В., Меркулова Л.М., Кузнецова А.И., Кострова О.Ю., Драндрова Е.Г., Стручко Г.Ю., Сперанская Е.М. Иммуногистохимическая характеристика сторожевых лимфатических узлов при разных молекулярно-биологических подтипах рака молочной железы. Клин. экп. морфология. 2022;11(1):25–32. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.25-32.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

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

Статья поступила 09.08.2021. Получена после рецензирования 23.08.2021. Принята в печать 22.09.2021.

## Immunohistochemical characteristic of sentinel lymph nodes in various molecular subtypes of breast carcinoma

Е.В. Москвичев<sup>1,2</sup>, Л.М. Меркулова<sup>2</sup>, А.И. Кузнецова<sup>2</sup>, О.Ю. Кострова<sup>2</sup>,  
Е.Г. Драндрова<sup>2</sup>, Г.Ю. Стручко<sup>2</sup>, Е.М. Сперанская<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Republican Clinical Oncology Dispensary of the Ministry of Health of Chuvashia, Cheboksary, Russia

<sup>2</sup> IN Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russia

**Abstract.** *Introduction.* Breast cancer in women is a very common malignant tumor. The prognosis of the development and management of the disease depend on the clinical stage and biological subtype of the

tumor. The aim of the research was to study immunohistochemical characteristics of sentinel lymph nodes in various molecular and biological subtypes of breast cancer.

**Materials and methods.** We studied 44 lymph nodes of females with a diagnosed breast cancer using histological and immunohistochemical methods. Regional axillary lymph nodes without signs of metastatic lesions were taken into the investigation. Hematoxylin and eosin staining was performed; monoclonal antibodies to S100 protein and cluster of lymphocyte differentiation 4 and 8 were used. We used light microscopy to assess the results.

**Results.** We determined molecular and biological subtypes of breast cancer. In 45.5% of cases (n=20) women were diagnosed with luminal cancer (Lum); in 25% of cases (n=11), with Her2<sup>+</sup> variant; and in 29.5% of cases (n=13), with Tr<sup>-</sup> cancer (triple-negative). A more pronounced expression of S100-positive cells was observed in the paracortical zone of lymph nodes in triple-negative compared with the luminal one. We revealed uneven distribution of CD8<sup>+</sup> lymphocytes in various subtypes of breast cancer, with an increase in their area in the following sequence: Lum (18.6%), Her2<sup>+</sup> (19.8%), and Tr<sup>-</sup> (20.1%). The lowest number of CD4<sup>+</sup> lymphocytes was found in the luminal breast cancer. The largest number of CD4<sup>+</sup> cells was observed in the Her2<sup>+</sup> subtype.

**Conclusion.** The research demonstrated no reliable differences in the reaction of various subpopulations of T-lymphocytes in early-stage breast cancer. At the same time, we revealed a reliable increase in the number of intrafollicular S100<sup>+</sup> cells that indicates dendrite cells activation in Tr<sup>-</sup> cancer.

**Keywords:** breast cancer, immunohistochemistry, regional lymph node, cellular immunity, lymphocytes

**Corresponding author:** Evgenii V. Moskvichev. E-mail: moskvichev@rambler.ru

**For citation:** Moskvichev E.V., Merkulova L.M., Kuznecova A.I., Kostrova O.Yu., Drandrova E.G., Struchko G.Yu., Speranskaya E.M. Immunohistochemical characteristic of sentinel lymph nodes in various molecular subtypes of breast carcinoma. Clin. exp. morphology. 2022;11(1):25–32. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.25-32 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

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

**Received** 09.08.2021. **Received in revised form** 23.08.2021. **Accepted** 22.09.2021.

## Введение

Несмотря на достигнутые успехи в диагностике и лечении пациентов онкологического профиля, заболеваемость раком молочной железы до сих пор остается высокой не только в России, но и во всем мире [1]. В последнее время наблюдается рост показателей злокачественных новообразований репродуктивной системы у женщин молодого возраста [2]. В лечении пациенток данной категории предпочтительно применять органосохраняющие и реконструктивно-пластические операции [3]. Безусловно, при выборе тактики лечения необходимо учитывать молекулярно-биологический подтип опухоли, основываясь на ее рецепторном статусе.

Всего выделяют пять молекулярных подтипов опухоли: 1. люминальный А (PЭ +, HER2 –, Ki67 <20%, PП >20%); 2. люминальный В/HER2 отрицательный (PЭ +, HER2 –, Ki67 >30%, PП <20%); 3. люминальный В/HER2 положительный (PЭ +, HER2 +, Ki67 любой, PП любые); 4. HER2 положительный (не люминальный) (PЭ –, HER2 +, PП –); 5. тройной негативный (PЭ –, HER2 –, PП –) [4].

Согласно клиническим рекомендациям, для каждого подтипа предложена наиболее рациональная и эффективная схема химио-, гормоно- и неoadъювантной терапии [5]. Известно, что разные биологические подтипы опухоли имеют существенные различия в клиническом течении, скорости роста и метастазировании [6].

Чаще всего исход заболевания зависит от наличия метастазов в лимфатических узлах. В настоящее время для определения злокачественности опухоли всем пациентам проводят интраоперационную биопсию сторожевого лимфатического узла [7, 8]. Тем не менее до сих пор мало изучены изменения в лимфатических узлах в зависимости от молекулярного подтипа рака молочной железы, их роль в росте и развитии первичной опухоли, а также скорости метастазирования. Изучение иммунных характеристик сторожевых лимфатических узлов с учетом их принадлежности к разным молекулярно-биологическим подтипам новообразований молочной железы может быть полезно в понимании прогноза заболевания, а также при назначении таргетной терапии и индивидуальных схем лечения.

Иммунотерапия на современном этапе развития онкологической помощи является одним из перспективных направлений. Известно, что экспрессия белка PDL-1 на опухолевых клетках и лимфоцитах реактивного окружения является благоприятным прогностическим фактором, улучшающим показатели терапевтического ответа и выживаемости [9].

Цель исследования – изучить иммуногистохимическую характеристику сторожевых лимфатических узлов при различных молекулярно-биологических подтипах опухоли молочной железы.

## Материалы и методы

Работа выполнена на архивном операционном материале, полученном у 44 пациенток с раком молочной железы с клинической стадией T1–2N0M0 в возрасте 39–65 лет, перенесших расширенную мастэктомию с диссекцией сторожевых регионарных лимфатических узлов. Ни одной из пациенток до операции химио- или лучевая терапия не проводилась. Письменное информированное согласие было получено от всех пациенток. Проведенное исследование согласовано и одобрено на заседании локального этического комитета медицинского факультета ЧГУ имени И.Н. Ульянова. В исследования были взяты регионарные подмышечные лимфатические узлы без признаков метастатического поражения. Лимфатические узлы разрезали через ворота, окрашивали гематоксилином и эозином и проводили иммуногистохимическое исследование в соответствии с алгоритмом, разработанным для фенотипирования структурных и клеточных элементов лимфатического узла [10, 11].

В работе применялись следующие методы.

1. Иммуногистохимический метод с использованием коммерческих моноклональных антител (МКАТ) фирмы Leica (Великобритания):

а) МКАТ к кластеру дифференцировки лимфоцитов 4 (CD4);

б) МКАТ к кластеру дифференцировки лимфоцитов 8 (CD8);

в) МКАТ к белку нейроэктодермы S100.

Материал для исследования иммуногистохимическими методами фиксировали 10% нейтральным забуференным формалином в течение 24 часа, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4 мкм. Срезы наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали при температуре +37°C 18 часов. Демаскировку и иммуногистохимическое окрашивание проводили на автостейнере Leica Bond Max (Германия). Контролем иммуногистохимической реакции служила неиммунизированная кроличья сыворотка. Из гистологических блоков регионарных лимфатических узлов формировали тканевые мультиблоки с числом исследуемых образцов не менее 20. В каждом образце была исследована экспрессия биологически значимых маркеров CD4, CD8, S100. Результат реакции оценивали с применением микроскопа Leica DM4000B (Германия).

2. Окрашивание гематоксилином и эозином с проведением морфометрических измерений.

3. Компьютерная морфометрия с использованием лицензионных программ Leica application suite 3.6.0 (Германия) и «Микроанализ» (Россия). Оценку экспрессии антигенов проводили в 10 полях зрения отдельно для каждой группы лимфатических узлов, принадлежащих пациенткам с конкретным биологическим подтипом опухоли. Рассчитывалась площадь, занимаемая дендритными клетками S100, CD4 и CD8 лимфоцитами, по отношению к общей площади

поля зрения в паракортикальной зоне лимфатических узлов.

4. Статистическая обработка с использованием лицензионного пакета программ STATISTICA Application версия 10.0.228.2, достоверность определялась t-критерием Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

При иммуногистохимическом исследовании биопсийного материала опухоли молочной железы определяли гистологический вариант, степень дифференцировки, экспрессию PЭ/П, HER2 и Ki67. Исходя из характера их распределения, устанавливали биологические подтипы опухоли. В 20 препаратах из 44 был диагностирован люминальный подтип опухоли, в 11 – Her2<sup>+</sup> вариант, остальные 13 случаев составил Tг<sup>-</sup> (тройной негативный) рак.

Нами обнаружено, что более выраженная экспрессия S100-позитивных клеток наблюдается в паракортикальной зоне лимфатических узлов, относящихся к подтипу «тройной негативный» (рис. 1) (p=0,017).

В регионарных сторожевых лимфатических узлах пациенток с раком молочной железы с подтипом «люминальный» S100<sup>+</sup> клетки диффузно распределены в паракортикальной зоне и в мозговых синусах, причем в некоторых лимфатических узлах распределение этих клеток в паракортикальной зоне позволяет визуально достаточно четко очертить границы данной зоны (рис. 2).

В подтипе Her2<sup>+</sup> помимо классического распределения интердигитирующих дендритных клеток

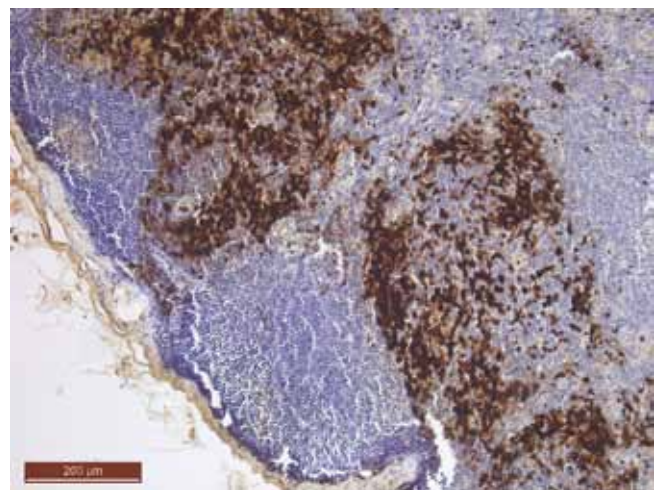
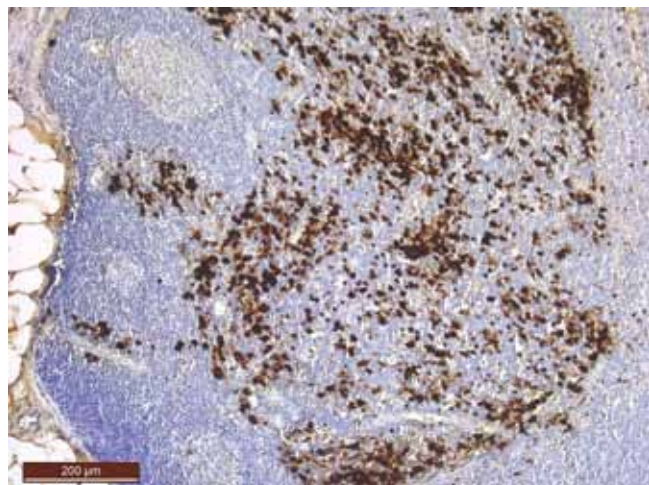


Рис. 1. Регионарный лимфатический узел при тройном негативном подтипе рака молочной железы. Увеличение числа и плотности распределения S100<sup>+</sup> клеток в паракортикальной зоне. Частичная атрофия корковой зоны. Иммуногистохимическая реакция к S100, ×10

Fig. 1. Regional lymph node in triple-negative breast cancer. Increase in the number and density of distribution of S100<sup>+</sup> cells in the paracortical zone. Partial atrophy of the cortical zone. Immunohistochemical staining for S100, ×10





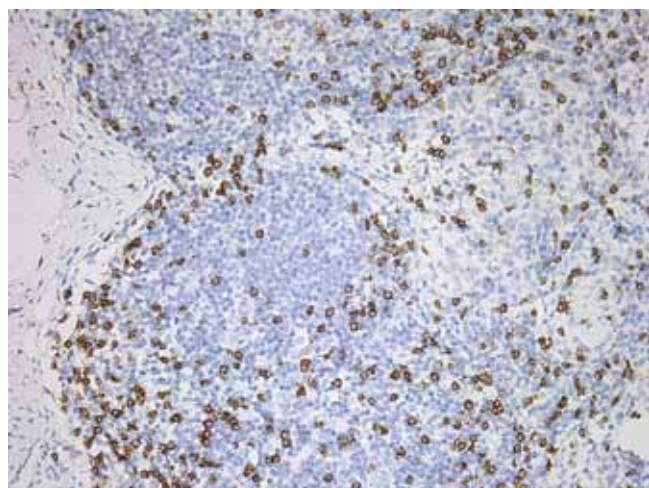
*Рис. 2.* Регионарный лимфатический узел при люминальном подтипе рака молочной железы. Распределение S100<sup>+</sup> клеток в мозговых синусах и паракортикальной зоне. Иммуногистохимическая реакция к S100, ×10

*Fig. 2.* Regional lymph node in the luminal breast cancer. Distribution of S100<sup>+</sup> cells in medullary sinuses and the paracortical zone. Immunohistochemical staining for S100, ×10

в паракортикальной зоне и синусах лимфатического узла обнаружена их локализация внутри герминативных центров (рис. 3).

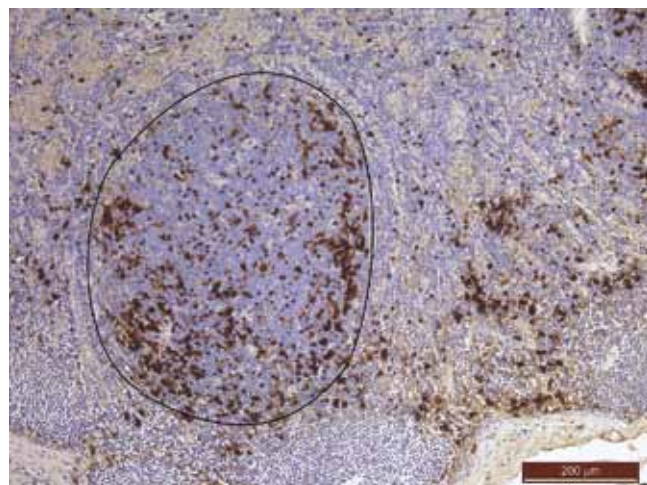
CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> лимфоциты в изучаемых нами образцах обнаружены в паракортикальной и интерфолликулярной зонах лимфатических узлов.

Выявлено неравномерное распределение CD8<sup>+</sup> лимфоцитов при разных подтипах рака молочной железы (рис. 4, 5). При этом наблюдается незначительное



*Рис. 4.* Регионарный лимфатический узел при люминальном подтипе рака молочной железы. Распределение CD8<sup>+</sup> клеток вокруг фолликулов. Иммуногистохимическая реакция к CD8, ×20

*Fig. 4.* Regional lymph node in luminal breast cancer. Distribution of CD8<sup>+</sup> cells around the follicles. Immunohistochemical staining for CD8, ×20

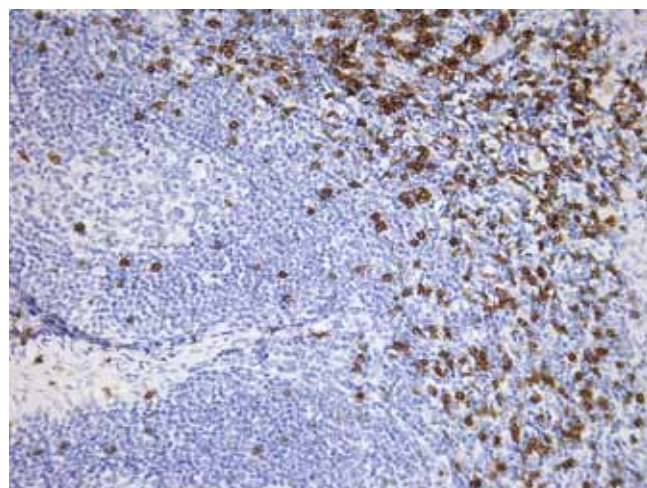


*Рис. 3.* Регионарный лимфатический узел при Her2<sup>+</sup> подтипе рака молочной железы. Распределение S100<sup>+</sup> клеток внутри фолликулов. Иммуногистохимическая реакция к S100, ×10

*Fig. 3.* Regional lymph node in Her2<sup>+</sup> breast cancer. Distribution of S100<sup>+</sup> cells inside follicles. Immunohistochemical staining for S100, ×10

возрастание занимаемой ими площади в следующей последовательности: Lum, Her2<sup>+</sup>, Tr<sup>-</sup> (18,6%, 19,8%, 20,1%). Однако при сравнении интенсивности характера их экспрессии не обнаружено достоверно значимой разницы между разными подгруппами.

Известно, что CD8<sup>+</sup> Т-клетки обладают цитотоксическими функциями, в том числе с киллерной и супрессивной активностью [12, 13]. Т-киллеры оказывают прямое антигенобусловленное цитолитическое



*Рис. 5.* Регионарный лимфатический узел при тройном негативном подтипе рака молочной железы. Распределение CD8<sup>+</sup> клеток в паракортикальной зоне лимфатического узла. Иммуногистохимическая реакция к CD8, ×20

*Fig. 5.* Regional lymph node in triple-negative breast cancer. Distribution of CD8<sup>+</sup> cells in the paracortical zone of the lymph node. Immunohistochemical staining for CD8, ×20



действие на поврежденные клетки, а Т-супрессоры ответственны за подавление антителообразования В-лимфоцитами [14]. Велика роль  $CD8^+$  лимфоцитов в противоопухолевом иммунном ответе. Так,  $CD8^+$  Т-киллер распознает чужеродный антиген в составе HLA I на поверхности опухолевой клетки и активизируется под воздействием интерлейкина-2, после чего он разрушает чужеродную опухолевую клетку путем продукции перфоринов, гранзимов или индукции апоптоза через Fas-лиганды [15].

При изучении особенностей распределения  $CD4^+$  лимфоцитов нами выявлена экспрессия этого маркера в паракортикальной и интерфолликулярной зонах, а также в небольшом количестве в подкапсульных синусах и в мозговых тяжах.  $CD4^+$  Т-хелперы управляют противоопухолевым иммунным ответом, влияя на разные этапы его развития путем продукции цитокинов.

При оценке экспрессии  $CD4^+$  Т-лимфоцитов обнаружена выраженная разница в степени их распределения при разных подтипах рака молочной железы. Площадь, занимаемая  $CD4^+$  Т-лимфоцитами в паракортикальной зоне лимфатических узлов, возрастает в ряду Lum, Tg, Her2<sup>+</sup> – 25,9%, 30,4%, 33,9% (рис. 6, 7).

Лимфатические узлы, относящиеся к периферическим органам иммунной системы, играют важную роль в сложном взаимодействии между опухолью и организмом. Доказано влияние состояния регионарных к опухоли лимфатических узлов на прогноз заболевания, в частности на срок 5-летней выживаемости при раке молочной железы [16]. К тому же все основные методы лечения в настоящее время определяются наличием или отсутствием метастазов, их числом, размерами в регионарных к опухоли лимфатических узлах [17].

На ранних стадиях опухолевого роста происходит манифестация клеточных и гуморальных иммунных реакций, а также макрофагальной системы. Отмечается гиперплазия паракортикальной зоны с увеличением количества и активности Т-клеток [18]. Возрастает пролиферативная активность клеток. В большом количестве обнаруживается белок S100, выявляющий интердигитирующие дендритные клетки, перерабатывающие антиген для Т-лимфоцитов [19]. Усиливается рециркуляция клеточных элементов через посткапиллярные венулы. Гуморальные иммунные реакции проявляются в виде гиперплазии фолликулов с появлением крупных центров размножения и плазматизации коркового плато с мягкотными тяжами [20]. Фагоцитарная система активируется за счет фиксированных и свободных макрофагов [18]. На более поздних стадиях опухолевого развития реактивные процессы направлены на перераспределение иммунокомпетентных клеток со сдвигом иммунных реакций в сторону В-клеточного гуморального иммунитета и инактивации Т-клеточного иммунитета. Известно, что благоприятный прогноз ассоциируется с наличием Т-клеточной паракортикальной реакции, а неблагоприятный коррелирует с преобладанием фолликулов с реактивными центрами

и В-клеток, что в конечном счете способствует метастазированию опухоли и дальнейшей генерализации процесса [21].

Наши исследования показали, что нет существенной разницы в степени распределения  $CD8^+$  лимфоцитов в паракортикальной зоне регионарных лимфатических

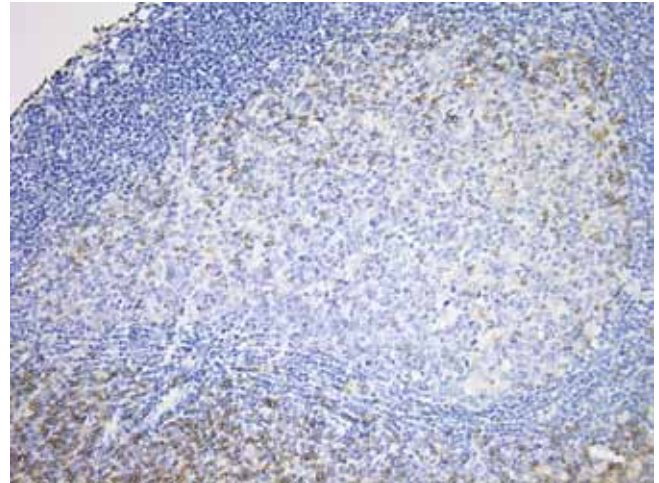


Рис. 6. Регионарный лимфатический узел при тройном негативном подтипе рака молочной железы. Неоднородное распределение  $CD4^+$  клеток в интерфолликулярной зоне лимфатического узла и в зоне мантии светлого центра. Иммуногистохимическая реакция к  $CD4$ ,  $\times 20$

Fig. 6. Regional lymph node in triple-negative breast cancer. Uneven distribution of  $CD4^+$  cells in the interfollicular zone of the lymph node and the mantle zone of the germinal center. Immunohistochemical staining for  $CD4$ ,  $\times 20$

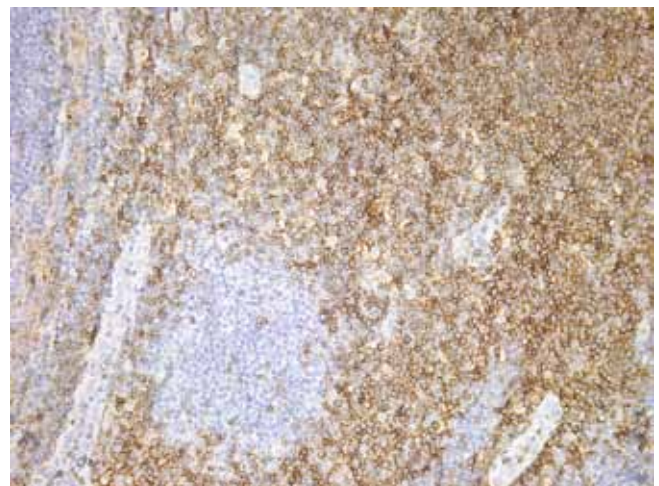


Рис. 7. Регионарный лимфатический узел при Her2<sup>+</sup> подтипе рака молочной железы. Выраженное мембранное окрашивание  $CD4^+$  клеток в паракортикальной зоне лимфатического узла. Иммуногистохимическая реакция к  $CD4$ ,  $\times 20$

Fig. 7. Regional lymph node in Her2<sup>+</sup> subtype breast cancer. Well-pronounced membrane staining of  $CD4^+$  cells in the paracortical zone of the lymph node. Immunohistochemical staining for  $CD4$ ,  $\times 20$

узлов рака молочной железы при разных биологических подтипах. Вероятно, на ранних сроках опухолевого роста, которые мы изучали, еще не наблюдается значимых различий иммунной реактивности со стороны Т-киллеров.

В одном из исследований [22] было замечено, что количество CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> клеток в непораженных регионарных лимфатических узлах при раке молочной железы уменьшается по сравнению со здоровой группой. Независимо от наличия метастазов популяция CD4<sup>+</sup> клеток и дендритных клеток в подмышечных лимфатических узлах, не относящихся к сторожевым, коррелировала с безрецидивной выживаемостью.

В исследованиях *in vitro* показано, что популяция натуральных регуляторных Т-клеток (CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>), активизированная антигеном, способна подавлять противоопухолевый ответ [23]. Мишенями для супрессивной активности выступают CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>-</sup>, CD8<sup>-</sup> клетки, NK, В-клетки, дендритные клетки и моноциты.

Полученные нами данные о степени распределения CD4<sup>+</sup> клеток в сторожевых лимфатических узлах при разных подтипах рака молочной железы частично соотносятся с имеющимися клиническими данными о характере течения этих различных молекулярных видов рака. Так, наименьшее количество CD4<sup>+</sup> лимфоцитов было обнаружено в люминальном подтипе рака, который, как известно, обладает наиболее благоприятным клиническим течением [6], тогда как увеличение CD4<sup>+</sup> клеток было отмечено в Her2<sup>+</sup> подтипе, которому присущи агрессивный рост и высокая скорость метастазирования [24].

Известно, что МКАТ к белку S100 позволяет обнаружить в паракортикальной зоне лимфатических узлов интердигитирующие дендритные клетки, определяющие стимуляцию Т-клеточного ответа [25]. По видимому, тройному негативному раку присуща самая выраженная активация клеточного иммунного ответа по сравнению с другими подтипами рака. Тем не менее корреляции между степенью распределения S100<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> клетками нами не замечено.

Установлено, что в подтипе Her2<sup>+</sup> помимо классического распределения интердигитирующих дендритных клеток в паракортикальной зоне и синусах лимфатического узла обнаружена их локализация внутри герминативных центров. В литературе есть данные, что S100 экспрессируют не только интердигитирующие дендритные клетки, располагающиеся в паракортикальной зоне, но и активированные фолликулярные дендритные клетки [26]. Выявленный нами факт активации фолликулярных дендритных клеток при метастазе рака молочной железы Her2<sup>+</sup> представляет научный и практический интерес.

## Заключение

Проведенное исследование показало, что на ранней стадии рака молочной железы не выявлено достоверных различий в реакции различных субпопуля-

ций Т-лимфоцитов. В то же время нами установлено достоверное увеличение количества внутрифолликулярных S100<sup>+</sup> клеток, что указывает на активацию дендритных клеток при тройном негативном раке. Это, возможно, обусловлено более выраженной утратой молекул главного комплекса гистосовместимости HLA в тройном негативном раке по сравнению с другими подтипами.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Е.В. Москвичев, А.И. Кузнецова.

Сбор и обработка материала – А.И. Кузнецова, Е.М. Сперанская.

Написание текста – Е.В. Москвичев, А.И. Кузнецова, О.Ю. Кострова, Е.Г. Драндрова.

Редактирование – Л.М. Меркулова, Г.Ю. Стручко.

## Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – E.V. Moskvichev, A.I. Kuznecova.

Collected the data and performed the analysis – A.I. Kuznecova, E.M. Speranskaya.

Wrote the paper – E.V. Moskvichev, A.I. Kuznecova, O.Yu. Kostrova, E.G. Drandrova.

Edited the manuscript – L.M. Merkulova, G.Yu. Struchko.

## Литература/References

1. Якобс О.Э., Рожкова Н.И., Каприн А.Д., Муйжнек Е.Л., Бурдина И.И., Запирова С.Б. и др. Диагностика микрокальцинатов как фактора, провоцирующего развитие рака молочной железы. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2019;8(5):327–332. DOI: 10.17116/onkolog20198051327. Yakobs OE, Rozhkova NI, Kaprin AD, Muizhnek EL, Burdina II, Zapirova SB et al. Diagnosis of microcalcifications as a factor initiating the development of breast cancer. P.A. Herzen Journal of Oncology. 2019;8(5):327–332 (In Russ.). DOI: 10.17116/onkolog20198051327.
2. Mashekova A, Zhao Y, Ng E, Zarikas V, Mukhmetov O. Recent advances on artificial intelligent techniques for breast cancer diagnosis. Bulletin of Almaty University of Power Engineering and Telecommunications. 2020;4(51):126–35. DOI: 10.51775/1999-9801\_2020\_51\_4\_126.
3. Зирияходжаев А.Д., Рассказова Е.А., Ермошченкова М.В., Куприянов П.И., Токаев В.К. Особенности комбинированного лечения рака молочной железы с изолированным метастатическим поражением надключичных или парастеральных лимфатических узлов. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2019;8(5):394–401. DOI: 10.17116/onkolog20198051394. Zikiryakhodzhaev AD, Rasskazova EA, Ermoshchenkova MV, Kupriyanov PI, Tokaev VK. Features of combined treatment for breast cancer with isolated supraclavicular or parasternal lymph node metastasis. P.A. Herzen Journal of Oncology. 2019;8(5):394–401 (In Russ.). DOI: 10.17116/onkolog20198051394.
4. Vasconcelos I, Hussainzada A, Berger S, Fietze E, Linke J, Siedentopf F et al. The St. Gallen surrogate classification for breast cancer subtypes successfully predicts tumor presenting features, nodal involvement, recurrence patterns and disease free survival. Breast. 2016;29:181–5. DOI: 10.1016/j.breast.2016.07.016.

5. Schmid P, Cortes J, Puztai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J et al. Pembrolizumab for early triple-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2020;382(9):810–21. DOI: 10.1056/NEJMoa1910549.
6. Darwish A, latif AA, Abdallah D. Biological subtypes of breast cancer and pattern of locoregional relapse. *Int J Cancer Treat.* 2019;2(1):47–53. DOI: 10.3619/FRCM.1000117
7. Волченко Н.Н., Борисова О.В., Мельникова В.Ю., Ермолаева А.Г., Глухова Ю.К. Срочное интраоперационное цитологическое исследование сторожевых лимфатических узлов при раннем раке молочной железы. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2019;8(3):169–174. DOI: 10.17116/onkolog2019803115169.  
Volchenko NN, Borisova OV, Melnikova VYu, Ermolaeva AG, Glukhova YuK. Urgent intraoperative cytological examination of sentinel lymph nodes in early breast cancer. *P.A. Herzen Journal of Oncology.* 2019;8(3):169–174 (In Russ.). DOI: 10.17116/onkolog2019803115169.
8. Старкова М.В., Зикийходжаев А.Д., Грушина Т.И., Суркова В.С., Славнова Е.Н., Леонтьев А.В. Диагностическая значимость биопсии сторожевого лимфатического узла у больных ранним раком молочной железы. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2019;8(6):422–427. DOI: 10.17116/onkolog20198061422.  
Starkova MV, Zikiryakhodzaev AD, Grushina TI, Surkova VS, Slavnova EN, Leontyev AV. Diagnostic value of sentinel lymph node biopsy in patients with early breast cancer. *P.A. Herzen Journal of Oncology.* 2019;8(6):422–427 (In Russ.). DOI: 10.17116/onkolog20198061422.
9. Chandrasekaran D, Sundaram S, Kadhiresan N, Ramaswami P. Programmed death ligand 1; An immunotarget for renal cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2019;20(10):2951–7. DOI: 10.31557/APJCP.2019.20.10.2951.
10. Белянин В.Л., Цыплаков Д.Э. Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов. Санкт-Петербург–Казань: Чувашия, 1999. 328 с.  
Belyanin VL, Tsyplakov DE. Diagnosis of reactive lymph node hyperplasia. St. Petersburg–Kazan: Chuvashia, 1999. 328 p. (In Russ.).
11. С.В. Петров, Н.Т. Райхлин (ред.). Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. 4-е изд. Казань: DESIGNstudio “RED”, 2012. 624 с.  
SV Petrov, NT Raykhlin (eds.). Manual on immunohistochemical diagnosis of human tumors. 4<sup>th</sup> ed. Kazan: DESIGNstudio “RED”, 2012. 624 p. (In Russ.).
12. Feng F, Liu Y, Liu G, Zhu P, Zhu M, Zhang H et al. Human CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T suppressor cells expanded by IL-15 *in vitro* suppress in an allospecific and programmed cell death protein 1-dependent manner. *Front Immunol.* 2018;9:1442. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01442.
13. Rashed HE, Abdelrahman AE, Abdelgawad M, Balata S, Shabrawy ME. Prognostic significance of programmed cell death ligand 1 (PD-L1), CD8<sup>+</sup> tumor-infiltrating lymphocytes and p53 in non-small cell lung cancer: An immunohistochemical study. *Turk Patoloji Derg.* 2017;1(1):211–22. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01398.
14. Tunland B. Role of gut microbiota in immune homeostasis. In: B Tunland (ed.). *Human Microbiota in Health and Disease: From Pathogenesis to Therapy.* Academic Press, 2018. P. 135–154. DOI: 10.1016/B978-0-12-814649-1.00004-1.
15. Kalia V, Sarkar S. Regulation of effector and memory CD8 T cell differentiation by IL-2–A balancing act. *Front Immunol.* 2018;9:2987. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02987.
16. Vrabie EM, Alecu M, Cirimbei C, Daha C, Prunoiu VM, Stanculeanu DL et al. The management of axillary lymph nodes in breast cancer – A retrospective single-centre study. *Chirurgia (Bucur).* 2021;116(2):186–92. DOI: 10.21614/chirurgia.116.2.186.
17. Takalkar UV, Advani S. Prognostic indicators in breast cancer patients. *J Cancer Res Forecast.* 2018;1(1):1011.
18. Komohara Y, Anami T, Asano K, Fujiwara Y, Yatsuda J, Kamba T. Anti-cancer immune reaction and lymph node macrophage; A review from human and animal studies. *Immuno.* 2021;1:223–30. DOI: 10.3390/immuno1030014.
19. Komohara Y, Ohnishi K, Takeya M. Possible functions of CD169-positive sinus macrophages in lymph nodes in anti-tumor immune responses. *Cancer Sci.* 2017;108(3):290–5. DOI: 10.1111/cas.13137.
20. Seidl M, Bader M, Vaihinger A, Wellner UF, Todorova R, Herde B et al. Morphology of immunomodulation in breast cancer tumor draining lymph nodes depends on stage and intrinsic subtype. *Sci Rep.* 2018;8(1):5321. DOI: 10.1038/s41598-018-23629-3.
21. Kuroda H, Jamiyan T, Yamaguchi R, Kakumoto A, Abe A, Harada O et al. Tumor-infiltrating B cells and T cells correlate with postoperative prognosis in triple-negative carcinoma of the breast. *BMC Cancer.* 2021;21(1):286. DOI: 10.1186/s12885-021-08009-x.
22. Kohrt HE, Nouri N, Nowels K, Johnson D, Holmes S, Lee PP. Profile of immune cells in axillary lymph nodes predicts disease-free survival in breast cancer. *PLoS Med.* 2005;2(9):e284. DOI: 10.1371/journal.pmed.0020284.
23. Скотаренко Л.В., Воротников И.К., Кадагидзе З.Г., Шамилов Ф.А. Особенности Т-клеточного иммунитета при раке молочной железы. *Опухоли женской репродуктивной системы.* 2011;4:24–28.  
Skotarenko LV, Vorotnikov IK, Kadagidze ZG, Shamilov FA. The specific features of T cell immunity in breast cancer. *Tumors of Female Reproductive System.* 2011;4:24–28 (In Russ.).
24. Poorolajal J, Nafissi N, Akbari ME, Mahjub H, Esmailnasab N, Babaee E. Breast cancer survival analysis based on immunohistochemistry subtypes (ER/PR/HER2): A retrospective cohort study. *Arch Iran Med.* 2016;10:680–6. PMID: 27743431.
25. Rouillé E, Bilbault H, Levin C, Lezmi S. Characterization of an interdigitating dendritic cell hyperplasia case in a lymph node of a control C57BL/6 mouse. *J Toxicol Pathol.* 2021;34(1):101–6. DOI: 10.1293/tox.2020-0039.
26. Romero-Palomo F, Rivalde MA, Molina V, Sánchez-Cordón PJ, Pedrera M, Gómez-Villamandos JC. Immunohistochemical detection of dendritic cell markers in cattle. *Vet Pathol.* 2013;50(6):1099–108. DOI: 10.1177/0300985813482951.

**Информация об авторах**

Евгений Васильевич Москвичев – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова, заведующий патологоанатомическим отделением Республиканского клинического онкологического диспансера Минздрава Чувашии.

Лариса Михайловна Меркулова – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Анна Ивановна Кузнецова – ассистент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Ольга Юрьевна Кострова – кандидат медицинских наук, заведующая кафедрой инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Елена Геннадьевна Драндрова – кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Глеб Юрьевич Стручко – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Екатерина Михайловна Сперанская – ассистент кафедры общей и клинической морфологии ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

**Author information**

Evgenij V. Moskvichev – Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University; Head of the Pathology Department, Republican Clinical Oncology Dispensary of the Ministry of Health of Chuvashia.  
<https://orcid.org/0000-0002-2850-5487>.

Larisa M. Merkulova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University.  
<https://orcid.org/0000-0001-7460-6791>

Anna I. Kuznecova – Assistant, Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University.  
<https://orcid.org/0000-0003-1418-5037>

Olga Yu. Kostrova – Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of the Instrumental Diagnostics with Phthysiology Course, IN Ulyanov Chuvash State University.  
<https://orcid.org/0000-0002-7057-9834>

Elena G. Drandrova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of the the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University.  
<https://orcid.org/0000-0003-3341-3373>

Gleb Yu. Struchko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University.  
<https://orcid.org/0000-0002-0549-5116>

Ekaterina M. Speranskaya – Assistant, General and Clinical Morphology Department, IN Ulyanov Chuvash State University.  
<https://orcid.org/0000-0003-0946-3434>