

С.А. Лялькін, М.С. Кротеви́ч, І.І. Смолянка, П.А. Шудрак, О.Є. Човган

Особливості імунного мікрооточення раку грудної залози з низьким рівнем експресії HER2/neu

Державне некомерційне підприємство «Національний інститут раку», Київ, Україна

Одержано 9.09.2024

Прийнято до друку 12.09.2024

DOI: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.55-3.33188

Рак грудної залози (РГЗ) є найпоширенішим онкологічним захворюванням у жінок у всьому світі. На сьогодні актуальним є питання виокремлення та дослідження особливостей імунного мікрооточення підтипу РГЗ з низькою експресією HER2/neu. **Матеріали і методи.** Проведено дослідження із залученням 95 хворих на естрогенпозитивний РГЗ, з них 46 пацієток Her2/neu-негативних, 49 — з Her2/neu з низьким статусом, які отримували неoad'ювантну поліхіміотерапію (НПХТ) за стандартним протоколом. Проаналізовані зміни рівня пухлино-інфільтрувальних лімфоцитів (ПІЛ) та їх субпопуляцій у хворих на момент встановлення діагнозу в матеріалі трепанобіопсії та післяопераційному матеріалі. **Результати.** У групі хворих з HER2 низьким РГЗ достовірно частіше траплялися пухлини з вираженою інфільтрацією лімфоїдними клітинами (ПІЛ) порівняно з хворими з HER2-негативними пухлинами ($p=0,002$). У пацієток з Her2/neu низьким РГЗ, які отримували НПХТ, виявлено статистично достовірне підвищення стромальних CD8+ лімфоцитів після завершення НПХТ ($p=0,01$) та зниження рівня CD4+ інтратуморальних лімфоцитів. Ці результати свідчать про здатність цитостатичної терапії підвищувати імуногенність РГЗ з низькою експресією Her2/neu. **Висновки.** Отримані результати дають попереднє уявлення про імунобіологічні характеристики РГЗ з низьким рівнем експресії HER2 та потребують подальшого вивчення.

Ключові слова: рак грудної залози; низька експресія HER2; негативна експресія HER2; імунне мікрооточення пухлини.

ВСТУП

РГЗ — найпоширеніша онкопатологія серед жінок. У структурі онкологічної захворюваності жінок у розвинених країнах злоякісні пухлини грудної залози посідають 1–2 місця (20–25% усіх випадків раку). За даними Всесвітнього фонду дослідження раку (World Cancer research fund), у 2018 р. у світі зареєстровано майже 2 млн нових випадків РГЗ [1]. Незважаючи на багаторічні дослідження та великий досвід у лікуванні цього виду раку, однією з основних проблем у діагностиці та лікуванні є його висока клінічна і генетична гетерогенність. На сьогодні з урахуванням особливостей експресії маркерних генів, з клінічної та терапевтичної точки зору, цю групу захворювань класифікують на 4 основних типи, критерієм розподілу на які є експресія рецепторів естрогену (ER), прогестерону (PR) та рецептора епідермального фактора росту (HER2/neu): люмінальний А, люмінальний Б, HER2-позитивний та тричі негативний типи [2]. Однак навіть у межах 1 типу також існує певна гетерогенність пухлин, які мають свій прогноз подальшого перебігу хвороби і чутливість до певного лікування.

Близько 15–20% усім пухлинам грудної залози притаманна гіперекспресія рецептора HER2, найчастіше за рахунок ампліфікації гена *ERBB2*. Враховуючи, що ген *ERBB2* є надзвичайно потужним протоонкогеном, пухлини з таким фенотипом характеризуються агресивним перебігом та несприятливим прогнозом [3–6]. Розробка та впровадження в клінічну практику, починаючи з 90-х років минулого сторіччя, таргетних препаратів, спрямованих на блокаду HER2-рецепторів, починаючи з моноклональних антитіл — трастузумабу, а пізніше — пертузумабу, інгібіторів тирозинкінази (лапатинібу, нератинібу, тукантинібу) та нового класу протипухлинних препаратів — кон'югатів моноклонального антитіла з цитостатиком (трастузумабу емтазину, трастузумабу дерукстекану, трастузумабу дуокармізину) драматично змінили перебіг та прогноз пацієток з HER2-позитивним РГЗ. У результатах численних клінічних досліджень виявлено, що лише хворі HER2-позитивним РГЗ отримують користь від додавання трастузумабу до хіміотерапії, це сприяло використанню дихотомічного розподілу для оцінки HER2-статусу пухлини (позитивна або негативна) як біомаркера при плануванні терапії РГЗ [7–9]. На сьогодні HER2-позитивний РГЗ згідно з рекомендаціями Американської

спільноти клінічних онкологів (American Society of Clinical Oncology — ASCO) та Коледжу американських патологів (College of American Pathologists — CAP) визначається за допомогою методів імуногістохімії (ІГХ) та/або гібридизації *in situ*. Відповідно до цих настанов пухлина грудної залози вважається HER2-позитивною у випадку, коли виявляється повне та інтенсивне периферичне забарвлення HER2 при ІГХ-дослідженні у $\geq 10\%$ клітин (оцінка 3+) та/або ампліфікація гена зі співвідношенням HER2 / CEP17 $\geq 2,0$ та середньою кількістю копій гена *HER2 (ERBB2)* $\geq 4,0$ сигналів на клітину, встановлених методом гібридизації *in situ* [10].

Останнім часом у науковій літературі обговорюють доцільність виділення підтипу РГЗ з низькою експресією HER2 з метою оцінки як потенційно прогностичного та/або предиктивного фактора при різних молекулярних підтипах РГЗ. Певний рівень експресії HER2-рецептора виявляється у 60–70% усіх новоутворень грудної залози. Згідно з новою концепцією пухлина належить до РГЗ з низьким статусом HER2/neu у тих випадках, коли виявляється повне помірне або слабке периферичне забарвлення HER2 при ІГХ-дослідженні в $\geq 10\%$ усіх клітин (оцінка 2+) та відсутня ампліфікація гена *HER2*, встановлена методом гібридизації *in situ*, або виявляється неповне слабке периферичне забарвлення HER2 при ІГХ-дослідженні в $\geq 10\%$ усіх клітин (оцінка 1+) та відсутня ампліфікація гена *HER2* [11].

При проведенні спеціального лікування (цитостатичної, таргетної, променевої терапії) значну роль у процесі реалізації ефекту відіграє імунна система організму [12]. Відомим фактом є те, що імунокомпетентні клітини (Т-лімфоцити, макрофаги, дендритні та НК-клітини) активно впливають на розвиток та прогресування пухлини.

Розглядаючи протипухлинний імунний цикл, логічно припустити, що інфільтрація пухлини цитотоксичними Т-лімфоцитами відбувається на останніх його етапах [13]. У склад лімфоїдного інфільтрату входять не тільки Т- та В-лімфоцити, а й інші імунокомпетентні клітини, такі як дендритні клітини, макрофаги, природні кілери, які можуть чинити як стимулювальний, так і інгібувальний вплив на пухлинний ріст [14–16].

Мікрооточення пухлини розглядається як один з ключових факторів, що відіграє важливу роль у пухлинній прогресії, а введення в клінічну практику методів якісного та кількісного виявлення елементів мікрооточення новоутворення може сприяти виокремленню групи хворих, яким показано використання нових методів лікування, а також для персоналізації терапії.

Метою цієї роботи є вивчення імуногенності РГЗ з низьким статусом HER2/neu, впливу цитостатичної терапії на імунне мікрооточення пухлини та виявлення факторів щодо сприятливого перебігу хвороби, для здійснення залучення хворих для персоналізованого лікування.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведено на базі науково-клінічного відділу хіміотерапії солідних пухлин ДНП «Національний інститут раку» з дотриманням сучасних етичних норм та стандартів. У дослідження залучено 95 хворих на естрогенпозитивний РГЗ, 46 пацієток — Her2/neu-негативні, 49 — з Her2/neu з низьким статусом. Усім хворим застосовано діагностичний клініко-інструментально-лабораторний комплекс досліджень. Також використовувалися мамографія, рентгенографія органів грудної порожнини (ОГП), ультразвукова діагностика (УЗД) грудної залози та органів черевної порожнини (ОЧП) або комп'ютерна томографія (КТ) ОГП, ОЧП та малого таза з контрастним підсиленням з метою об'єктивної оцінки відповіді пухлини на хіміотерапевтичне лікування, яке проводилося відповідно до сучасних вимог за шкалою RECIST 1.1.

Усім пацієткам призначено курс НПХТ за протоколом 4 AC (доксорубіцин 60 мг/м² + ендоксан 600 мг/м² в 1-шу добу) кожен 21-й день, 4 введення; та 12 щотижневих введень Т (паклітаксел 80 мг/м²).

Після проведення НПХТ пацієткам проведено оперативне лікування в обсязі радикальної мастектомії або квадрантектомії із регіонарною лімфодисекцією.

Аналізували зміни рівня ПІЛ та їх субпопуляцій у хворих на момент встановлення діагнозу в матеріалі трепанобіопсії та післяопераційному матеріалі.

Вік хворих на момент залучення їх у дослідження коливався в межах від 28 до 70 років.

Як представлено в табл. 1, переважна більшість пацієток в обох групах були віком 40–60 років. Обидві групи не мали статистично достовірних розбіжностей щодо віку.

Розподіл хворих за менопаузальним статусом представлений у табл. 2. У табл. 2 наведено, що переважна більшість хворих знаходилися в періоді менопаузи. Обидві групи не мали статистично достовірних розбіжностей щодо менструального статусу.

Розподіл пацієток за стадіями захворювання на момент встановлення діагнозу представлено в табл. 3.

В обох групах не виявлено статистично достовірних розбіжностей щодо стадії захворювання.

Таблиця 1. Розподіл хворих на РГЗ за віком, n=95

Вік, років	Група хворих, n (%)		p
	Her2/neu-негативні, n=46	Her2/neu-низькі, n=49	
20–29	2 (4,3)	1 (2,0)	>0,05
30–39	10 (21,7)	12 (24,5)	>0,05
40–49	21 (45,6)	18 (36,7)	>0,05
50–59	10 (21,7)	14 (28,5)	>0,05
>60	3 (6,5)	4 (8,2)	>0,05
Усього	46 (100,0)	49 (100,0)	

Таблиця 2. Розподіл хворих за станом менструальної функції, n=95

Менструальний статус	Група хворих, n (%)		p
	Her2/neu-негативні, n=46	Her2/neu-низькі, n=49	
Пременопауза	34 (73,9)	33 (67,3)	>0,05
Менопауза	12 (26,1)	16 (32,7)	>0,05

Таблиця 3. Розподіл хворих за стадіями (TNM) на момент встановлення діагнозу

Стадія	Група хворих, n (%)		p
	Her2/neu-негативні, n=46	Her2/neu-низькі, n=49	
I (T1N0M0)	4 (8,7)	4 (8,2)	>0,05
Ia (T1N1M0, T2N0M0)	13 (28,2)	15 (30,6)	>0,05
Ib (T2N1M0, T3N0M0)	17 (36,9)	18 (36,7)	>0,05
IIa (T0-3N2M0, T3N1-2M0)	8 (17,4)	9 (18,4)	>0,05
IIb-c (T4N0-3M0, T0-4N3M0)	4 (8,5)	3 (6,1)	>0,05
Усього	46 (100,0)	49 (100,0)	

Таблиця 4. Розподіл хворих за ступенем диференціювання пухлини

Ступінь диференціювання	Група хворих, n (%)		p
	Her2/neu-негативні, n=46	Her2/neu-низькі, n=49	
G2	32 (69,5)	34 (69,4)	>0,05
G3	14 (30,5)	15 (30,6)	>0,05

При гістологічному дослідженні у всіх випадках мала місце «інфільтрувальна аденокарцинома» або «інвазивна карцинома неспецифічного типу».

Розподіл пацієток за ступенем диференціації пухлини представлено в табл. 4. Більшість пацієток — 66 (69,5%) мали помірнодиференційовані пухлини (G2). Обидві групи не мали статистично достовірних розбіжностей щодо ступеня диференціювання пухлини.

Морфологічні та ІГХ-дослідження проводилися в патологоанатомічному відділенні ДНП «Національний інститут раку» (кандидатом медичних наук Кротевицем М.С.).

Морфологічне дослідження проводилося за стандартною методикою. У матеріалі трепанобіопсії та післяопераційному матеріалі пухлини грудної залози виявили стандартні показники: гістологічний тип пухлини, ступінь диференціювання G, рецептори ER, PR, онкопротеїн HER-2/neu, а також індекс проліферативної активності Ki-67.

ІГХ-дослідження молекулярних маркерів пухлинних клітин здійснювали з використанням таких моноклональних антитіл: Estrogen Receptor α — (Dako IS657 Monoclonal Mouse Anti-Human Clone 1D5), Progesterone Receptor — (Dako IS068 Monoclonal Mouse Anti-Human Clone PgR 636), c-erbB-2 Oncoprotein — (DBS DS-PDR003-A Rabbit Polyclonal Antibody to Human), маркер проліферувальних клітин Ki-67 — (Dako IS626, Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen Clone MIT-1), CD4+ лімфоцити — MoHu anti CD4 T-Cell Clone MT310, CD8+ лімфоцити — MoHu anti-CD8, T-Cell Clone C8/144B (Dako, Данія). Застосовано систему візуалізації з використанням системи детекції En Vision TM FLEX (Dako, Данія). Демаскування антигену проводили в цитратному буфері pH 6,0 за температури 95° C. Первинні антитіла інкубували при кімнатній температурі 30 хв, вторинні — 20 хв. Зрізи дозбарвлювали гематоксиліном Gill. Для позитивного контролю використовували тканинні зразки з визначеною позитивною реактивністю, для негативного — проводили процедуру без застосування первинних антитіл.

РГЗ з низьким статусом HER2/neu фіксувався у тих випадках, коли виявляється повне помірне або слабке периферичне забарвлення HER2 при ІГХ-дослідженні в $\geq 10\%$ усіх клітин (оцінка 2+) та відсутня ампліфікація гена HER2, встановлена методом гібридизації *in situ*, або виявляється неповне слабке периферичне забарвлення HER2 при ІГХ-дослідженні в $\geq 10\%$ усіх клітин (оцінка 1+).

Результати ІГХ оцінювали напівкількісним методом за допомогою підрахунку кількості позитивно забарвлених клітин — індекс мітки (IM) у відсотках.

У матеріалі трепанобіопсії та післяопераційному матеріалі виявили кількість ПІЛ у стромі пухлини грудної залози, субпопуляції: CD4+, CD8+ лімфоцити ідентифікували в стромі пухлини (стромальні CD4+ та CD8) та зоні пухлинних клітин

(інтратуморальні CD4+, CD8+). Кількість CD4+ та CD8+ лімфоцитів аналізували в препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином, оцінювали у 10 полях зору та підраховували у відсотках наступним чином: відсутня (0), слабо виражена (+) <10%, помірна (++) — 10–30% та висока (+++) — >30%.

РЕЗУЛЬТАТИ

Першим етапом у нашому дослідженні було встановлено кількість ПЛЛ та співвідношення субпопуляцій лімфоцитів (CD4+, CD8+) в імунному інфільтраті в матеріалі трепанобіопсії у 95 хворих на HER2-низький та -негативний РГЗ (табл. 5 та 6).

У табл. 5 наведено, що у групі хворих з HER2-низьким РГЗ достовірно частіше діагностували пухлини з вираженою інфільтрацією лімфоїдними клітинами (ПЛЛ) порівняно з хворими з HER2-негативними пухлинами (p=0,002).

Крім того, за результатами нашого дослідження, Her2/neu-низький та -негативний РГЗ відрізняються не тільки за рівнем ПЛЛ, а і за кількістю різних субпопуляцій лімфоцитів (табл. 6) в імунному інфільтраті пухлини.

У табл. 6 наведено, що у Her2/neu-низьких випадках у пацієнток достовірно вищий рівень інфільтрації CD8-S лімфоцитами.

На наступному етапі нашої роботи проаналізовано зміни рівня ПЛЛ та їх субпопуляцій у хворих на момент встановлення діагнозу в матеріалі трепанобіопсії та післяопераційному матеріалі (табл. 7 та 8).

Як представлено в табл. 7, не виявлено статистично достовірних відмінностей між показниками рівнів інтратуморальних CD8+ та стромальних та інтратуморальних CD4+ лімфоцитів у матеріалі трепанобіопсії та післяопераційному матеріалі у пацієнток з Her2/neu-негативним РГЗ, які отримували НПХТ. Варто зазначити, що в нашому дослідженні виявлено лише тенденцію до збільшення кількості стромальних CD8+ лімфоцитів після операції порівняно з їх рівнем у матеріалі трепанобіопсії: (Δ) -6 (-15–22); p=0,08.

У табл. 8 наведено, що у пацієнток з Her2/neu-низьким РГЗ, які отримували НПХТ, виявлено статистично достовірне підвищення рівня стромальних CD8+ лімфоцитів після завершення НПХТ (p=0,01) та зниження рівня CD4+ інтратуморальних лімфоцитів. Ці результати свідчать про здатність цитостатичної терапії підвищувати імуногенність Her2/neu-низького РГЗ.

ВИСНОВКИ

У групі хворих з HER2-низьким РГЗ достовірно частіше траплялися пухлини з вираженою інфільтрацією лімфоїдними клітинами (ПЛЛ) порівняно з хворими з HER2-негативними новоутвореннями (p=0,002).

У пацієнток з Her2/neu-негативним РГЗ, які отримували НПХТ, не виявлено статистично достовірних відмінностей між

Таблиця 7. Динаміка змін різних субпопуляцій лімфоцитів в імунному інфільтраті навколо пухлини до та після НПХТ у хворих на Her2/neu-негативний РГЗ, n=46

Показник	Медіана (Ме (Q ₁ –Q ₃)), %			p
	до	після	зміна (Δ)	
CD4S	5 (1,8–15)	15 (0–20,3)	0 (–1–9,8)	0,15
CD4T	7,5 (2–20)	5,5 (0–9)	-5 (–20–0)	0,3
CD8S	9 (2–20)	15 (3–35)	6 (–5–22)	0,08
CD8T	12 (1–25)	14 (5–30)	-2,5 (–11–8)	0,92
Ki-67	32 (32,3–54,6)	26 (20,5–49,5)	1 (–21,3–14,5)	0,9

Примітка. Для проведення порівняння використано критерій Т-Вілкоксона для пов'язаних вибірок.

Таблиця 8. Динаміка змін різних субпопуляцій лімфоцитів в імунному інфільтраті навколо пухлини до та після НПХТ у хворих на Her2/neu-низький РГЗ, n=49

Показник	Медіана (Ме (Q ₁ –Q ₃)), %			p
	до	після	зміна (Δ)	
CD4S	5 (1,8–15)	15 (0–20,3)	0 (–1–9,8)	0,15
CD4T	6,5 (2–20)	1,0 (0–5)	-5 (–20–0)	0,003
CD8S	7 (2–20)	18 (3–35)	7 (–5–22)	0,01
CD8T	14 (1–25)	12 (5–30)	-2,5 (–11–8)	0,60
Ki-67	36 (32,3–54,3)	25 (19,5–49,5)	1 (–21,3–14,5)	0,96

Примітка. Для проведення порівняння використано критерій Т-Вілкоксона для пов'язаних вибірок.

значеннями рівнів інтратуморальних CD8+ та стромальних та інтратуморальних CD4+ лімфоцитів у матеріалі трепанобіопсії та післяопераційному матеріалі.

У хворих з Her2/neu-низьким РГЗ, яким проведено НПХТ, виявлено статистично достовірне підвищення рівня стромальних CD8+ лімфоцитів після завершення НПХТ (p=0,01) та зниження рівня CD4+ інтратуморальних лімфоцитів. Ці результати свідчать про здатність цитостатичної терапії підвищувати імуногенність РГЗ з низькою експресією Her2/neu.

Отримані результати дають попереднє уявлення про імунобіологічні характеристики РГЗ з низьким рівнем експресії HER2 та потребують подальшого вивчення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
- Perou, C. M., Sorlie, T., Eisen, M. B., van de Rijn, M., Jeffrey, S. S., Rees, C. A., ... Botstein, D. (2000). Molecular portraits of human breast tumors. *Nature*, 406(6797), 747–752. doi: 10.1038/35021093.
- Ross, J. S., & Fletcher, J. A. (1998). The HER-2/neu Oncogene in Breast Cancer: PrognosticFactor, Predictive Factor, and Target for Therapy. *Stem Cells*, 16(6), 413–28. doi: 10.1002/stem.160413.
- Arteaga, C. L., & Engelman, J. A. (2014). ERBB receptors: from oncogene discovery to basic science to mechanism-based cancer therapeutics. *Cancer Cell*, 25(3), 282–303. doi: 10.1016/j.ccr.2014.02.025.
- Yarden, Y., & Peles, E. (2012). The ERBB network: at last, cancer therapy meets systems biology. *Nature Reviews Cancer*, 12(8), 553–563. doi: 10.1038/nrc3309.
- Silvickowski, M. X., Schaefer, G., Akita, R. W., Lofgren, J. A., Fitzpatrick, V. D., Nuijens, A., ... Carraway K. L. (1994). Coexpression of erbB2 and erbB3 proteins reconstitutes a high affinity receptor for heregulin. *Journal of Biological Chemistry*, 269, 14661–14665.
- Slamon, D. J., Leyland-Jones, B., Shak, S., Fuchs, H., Paton, V., Bajamonde, A., ... Norton, L. (2001). Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *New England Journal of Medicine*, 344, 783–792. doi: 10.1056/NEJM200103153441101.
- Marty, M., Cognetti, F., Maraninchi, D., Snyder, R., Mauriac, L., Tubiana-Hulin, M., ... Extra, J. M. (2005). Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: the M77001 study group. *Journal of Clinical Oncology*, 23, 4265–4274. doi: 10.1200/JCO.2005.04.173.
- Gianni, L., Eiermann, W., Semiglazov, V., Manikhas, A., Lluch, A., Tjulandin, S., ... Baselga, J. (2014). Neoadjuvant and adjuvant trastuzumab in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (NOAH): follow-up of a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet Oncology*, 15, 640–647. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70080-4.
- Wolff, A. C., Hammond, M. E. H., Allison, K. H., Harvey, B. E., Mangu, P. B., Bartlett, J. M. S., ... Dowsett, M. (2018). Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *Journal of Clinical Oncology*, 36(20), 2105–2122. doi: 10.1200/JCO.2018.77.8738.
- Schalper, K. A., Kumar, S., Hui, P., Rimm, D. L., & Gershkovich, P. (2014). A retrospective population-based comparison of HER2 immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization in breast carcinomas: impact of 2007 American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists criteria. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 138, 213–219. doi: 10.5858/arpa.2012-0617-0A.

Таблиця 5. Рівень ПЛЛ у хворих на РГЗ, n=95

Рівень ПЛЛ	Група хворих, n (%)		p
	Her2/neu-негативні, n=46	Her2/neu-низькі, n=49	
ПЛЛ 0	5 (8,3)	3 (6,2)	>0,05
ПЛЛ +	10 (21,7)	12 (24,5)	>0,05
ПЛЛ ++	24 (52,2)	19 (38,8)	>0,05
ПЛЛ +++	7 (15,2)	15 (30,6)	<0,05
Усього	46 (100,0)	49 (100,0)	

Таблиця 6. Середні показники різних субпопуляцій лімфоцитів в імунному інфільтраті у хворих на РГЗ, n=95

Субпопуляції лімфоцитів	Група хворих, n (%)		p
	Her2/neu-негативні, n=46	Her2/neu-низькі, n=49	
CD4-S	6 (13,0)	3 (6,1)	>0,05
CD4-T	15 (32,6)	12 (24,5)	>0,05
CD8-S	15 (32,6)	22 (44,9)	<0,05
CD8-T	10 (21,7)	12 (24,5)	>0,05
Усього	46 (100,0)	49 (100,0)	

12. Zitvogel, L., Keop, O., & Kroemer, G. (2011). Immune parameters affecting the efficacy of chemotherapeutic regimens. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 8(3), 151–160. doi: 10.1038/nrclinonc.2010.223.

13. Denkert, C., Darb-Esfahani, S., Loibl, S., Anagnostopoulos, I., & Jöhrens, K. (2011). Anti-cancer immune response mechanisms in neoadjuvant and targeted therapy. *Seminars in Immunopathology*, 33(4), 341–351. doi: 10.1007/s00281-011-0261-0.

14. Andre, F., Dieci, M., Dubsky, P., Sotiropoulos, C., Curigliano, G., Denkert, C., & Loi, S. (2012). Molecular Pathways: Involvement of Immune Pathways in the Therapeutic Response and Outcome in Breast Cancer. *Clinical Cancer Research*, 19(1), 28–33. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2701.

15. Hamy, A. S., Pierga, J. Y., Sabaila, A., Laas, E., Bonsang-Kitzis, H., Laurent, C., ... Reyat, F. (2017). Stromal lymphocyte infiltration after neoadjuvant chemotherapy is associated with aggressive residual disease and lower disease-free survival in HER2-positive breast cancer. *Annals of Oncology*, 28(9), 2233–2240. doi: 10.1093/annonc/mdx309.

16. Salgado, R., Denkert, C., Campbell, C., Savas, P., Nuciforo, P., Aura, C., ... Loi, S. (2015). 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 Oncology*, 1(4), 448–454. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.0830.

Features of immune microenvironment in Her2 low breast cancer

S.A. Lyalkin, M.S. Krotevich, I.I. Smolanka, P.A. Shudrak, O.Y. Chovgan

Nonprofit Organization National Cancer Institute, Kyiv, Ukraine

Summary. Breast cancer (BC) is one of the leading causes of cancer-related morbidity in female worldwide. **Materials and methods.** 95 patients with estrogen positive BC were included in the study, 46 patients were HER2/neu negative and 49 — HER2/neu low. All patients received neoadjuvant chemotherapy

with AC-T regimen. Tumor infiltrating lymphocytes (TIL) were assessed in core biopsy and surgical specimens, stromal and intratumoral CD4+, CD8+ were evaluated. **Results.** Tumors in patients with HER2 low BC had higher level of TILs compared to HER2 negative tumors ($p=0.002$). In patients with HER2 low BC after neoadjuvant chemotherapy was observed statistically significant increase of stromal CD8+ lymphocytes ($p=0.01$) and decrease of intratumoral CD4+ lymphocytes. These findings indicate the possibility of chemotherapy to increase HER2 low BC immunogenicity. **Conclusion.** The results of the study show the preliminary features of immune microenvironment in Her2 low BC and require further evaluation.

Key words: breast cancer; HER2 low expression; HER2 negative expression; tumor immune microenvironment.

Адреса для листування:

Лялькін Сергій Анатолійович

03022, Київ, вул. Здановської Юлії, 33/43

Державне некомерційне підприємство «Національний інститут раку»

E-mail: slyalkin@yahoo.com

Correspondence:

Sergii Lyalkin

33/43 Yulii Zdanovskoi str., Kyiv, 03022

Nonprofit Organization National Cancer Institute

E-mail: slyalkin@yahoo.com