

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНЬЕВ ИММУНИТЕТА В СТОРОЖЕВОМ ЛИМФАТИЧЕСКОМ УЗЛЕ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫА. Д. Неряхин¹, А. У. Галлямов², Д. Н. Камильянов³, Э. Х. Сунагатуллина⁴, Р. У. Камалов⁵, Л. А. Шарафутдинова⁶¹⁻⁶ Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия² Республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа, Россия¹ nereahins@mail.ru**Аннотация**

Введение. Морфофункциональный статус сторожевого лимфатического узла (СЛУ) является прогностическим фактором метастазирования опухоли. Согласно современным представлениям лимфогенное метастазирование опухоли наиболее высоко в СЛУ, а при отсутствии в нем метастазов высока вероятность отсутствия метастазов в других лимфатических узлах. В эпоху разработки новых иммунных методов лечения рака молочной железы важной задачей становится определение биомаркеров, которые могут предсказать статус лимфатических узлов. **Цель исследования** – изучить клиническую значимость относительного содержания CD3+, CD20+-клеток в сторожевых лимфатических узлах при раке молочной железы при отсутствии и наличии в них метастазов. **Материалы и методы.** При помощи иммуногистохимического метода изучены СЛУ без метастазов и с метастазами, полученные во время операции по поводу рака молочной железы у 18 пациентов. **Результаты.** Сравнительный морфологический анализ выявил, что число CD3- и CD20-иммунопозитивных клеток было значительно выше в СЛУ без метастазов. **Обсуждение.** В противоопухолевом иммунном ответе принимают участие гуморальная и клеточная системы иммунитета. Контроль над ростом опухоли осуществляют в основном Т-клетки. Результаты проведенного нами исследования показали сравнительно высокий их уровень в СЛУ без метастатического поражения. Сведения же о противоопухолевой активности В-лимфоцитов противоречивы, показана как положительная, так и отрицательная роль В-клеток в противоопухолевом иммунитете. Результаты исследований показали, что в СЛУ с вторичными очагами опухолевого роста число CD20+ В-клеток значительно ниже, что указывает на важную роль гуморального иммунитета в дополнение к клеточно-опосредованному иммунитету при раке молочной железы. **Заключение.** Количественная оценка (CD3+CD20)-клеток в СЛУ может быть использована в качестве возможного прогностического маркера при метастазировании опухоли молочной железы. **Ключевые слова:** рак молочной железы, сторожевой лимфатический узел, иммуногистохимия

Для цитирования: Неряхин А.Д., Галлямов А.У., Камильянов Д.Н. с соавт. Оценка состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета в сторожевом лимфатическом узле при раке молочной железы. Уральский медицинский журнал. 2022;21(6): 13-18.. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2022-21-6-13-18>.

@ Неряхин А.Д., Галлямов А.У., Камильянов Д.Н., Сунагатуллина Э.Х., Камалов Р.У., Шарафутдинова Л.А.
@ Neryakhin A.D., Gallyamov A.U., Kamilianov D.N., Sunagatullina E.Kh., Kamalov R.U., Sharafutdinova L.A.

ASSESSMENT OF CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY IN SENTINEL LYMPH NODE IN BREAST CANCER

A. D. Neryakhin¹, A. U. Gallyamov², D. N. Kamilianov³, E. Kh. Sunagatullina⁴, R. U. Kamalov⁵, L. A. Sharafutdinova⁶

¹⁻⁶ Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

² Republican Clinical Oncological Dispensary, Ufa, Russia

¹ nereahins@mail.ru

Abstract

Introduction The morphofunctional status of the sentinel lymph node (SLN) is a prognostic factor of tumor metastasis. According to the modern concept, lymphogenic metastasis of the tumor is highest in the SLN, and in the absence of metastases in it, the probability of the absence of metastases in other lymph nodes is high. In the era of the development of new immune treatments for breast cancer, the identification of biomarkers that can predict the status of lymph nodes becomes an important task. **The aim** is immunohistochemical study of the expression level of T- and B-lymphocyte markers in breast cancer in the absence and presence of metastases in them. **Materials and methods** Sentinel lymph nodes without metastases and with metastases obtained during breast cancer surgery in 18 patients were studied using the immunohistochemical method. **Results** Comparative morphological analysis revealed that the number of CD3- and CD20-immunopositive cells was significantly higher in the SLN without metastases. **Discussions** The humoral and cellular immune systems take part in the antitumor immune response. Control over the growth of the tumor is carried out mainly by T cells. The results of our study showed a relatively high level of them in the SLN without metastatic lesion. The information about the antitumor activity of B-lymphocytes is contradictory since both the positive and negative role of B-cells in anticancer immunity is shown. The results of the studies showed that in the case of secondary foci of tumor growth, the number of CD20+ B cells is significantly lower, which indicates the important role of humoral immunity in addition to cell-mediated immunity in breast cancer. **Conclusion** Quantitative evaluation of (CD3+CD20) cells in the SLN can be used as a possible prognostic marker for breast tumor metastasis. **Keywords:** breast cancer, sentinel lymph node, immunohistochemistry

For citation:

Neryakhin A.D., Gallyamov A.U., Kamilianov D.N. et al. Assessment of cellular and humoral immunity in sentinel lymph node in breast cancer. Ural medical journal. 2022;21(6): 13-18. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2022-21-6-13-18>.

ВВЕДЕНИЕ

Морфофункциональный статус сторожевого лимфатического узла (СЛУ) является прогностическим фактором метастазирования опухоли [1–9]. Согласно современным представлениям лимфогенное метастазирование опухоли наиболее высоко в СЛУ, а при отсутствии в нем метастазов высока вероятность отсутствия метастазов в других лимфатических узлах опухоли [10–12]. В эпоху разработки новых иммунных методов лечения рака молочной железы важной задачей становится определение биомаркеров, которые могут предсказать статус лимфатических узлов [13]. Противораковые иммунные механизмы играют важную роль в индукции, развитии и распространении злокачественных заболеваний у человека [14, 15]. Клетки как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа были обнаружены при широком спектре солидных форм рака человека (молочной железы, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, головы и шеи и меланомы), и наличие выраженного лимфоцитарного инфильтрата коррелирует с хорошим долгосрочным клиническим исходом [16–30]. У женщин с раком молочной железы, проходящих неоадъювантную химиотерапию, было показано, что значительное число опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TILs) коррелирует с увеличением частоты полного па-

тологического ответа опухоли (признанный суррогатный маркер улучшения клинического исхода) в первичной опухоли молочной железы [31–33]. Однако наличие и состав TILs в дренирующих опухоль сторожевых лимфатических узлах как косвенного отражения состояния противоопухолевого иммунитета изучены недостаточно. Оценка TILs в метастатических опухолевых поражениях, безусловно, является важной областью для будущих исследований, и имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют о том, что распределение TILs в лимфатических узлах может представлять прогностическую ценность [34]. Лимфатические узлы с метастазами имеют важные иммунологические и структурные отличия от узлов, не пораженных опухолевым процессом, еще до распространения первичного новообразования [35–38].

Цель исследования – изучить клиническую значимость относительного содержания CD3+, CD20+-клеток в сторожевых лимфатических узлах при раке молочной железы при отсутствии и наличии в них метастазов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучены сторожевые лимфатические узлы, полученные во время операции по поводу рака молочной железы от 18 пациентов ГАУЗ Республиканского клинического онкологического диспансера (г. Уфа).

Средний возраст женщин составил $60,9 \pm 26$ года. Критерием включения в исследование являлось наличие у больных раннего (T1–T2) рака молочной железы с клинически негативными регионарными лимфатическими узлами, люминальным A, B Her2/неу-негативным иммуногистохимическим подтипом рака молочной железы. Всем больным на предоперационном этапе проводили трепан-биопсию молочной железы с последующим гистологическим и иммуногистохимическим исследованием. Из исследования были исключены больные с внутритротоковым гистологическим типом рака, мультицентричной или мультифокальной формой роста, а также больные, которым ранее выполняли какое-либо хирургическое вмешательство в зонах регионарного лимфооттока, а также неoadъювантное лечение. Для идентификации СЛУ использовался радиоизотопный метод, предполагающий применение радиощупа Gamma Finder II. Пациентам со стадией T1-2N0M0 параареолярно вводили препарат Технефит (Tc99) в дозе 60–75 МБк (0,5–1,0 мл) за 12–14 часов до начала операции. Интраоперационный поиск сигнального лимфатического узла осуществлялся гамма-зондом Gamma Finder® II. Кусочки тканей фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, обезживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Иммуногистохимические исследования осуществляли на парафиновых срезах толщиной 5 мкм с помощью сканирующего микроскопа 3DHISTECH PANNORAMIC 250 Flash (3DHISTECH Ltd, Hungary) программой анализа изображений 3DHISTECH. Окраску проводили на иммуногистохестейне Roche Ventana BenchMark Ultra (Roche Diagnostics) с применением первичных моноклональных антител против CD3 (Roche Diagnostics, клон SP7, 1:15), CD20 (Roche Diagnostics, клон L26, 1:125). Оценку специфичности реакции проводили при окрашивании срезов без первичных антител с применением реагента отрицательного контроля. Результаты иммуногистохимического окрашивания препаратов изученных тканей оценивали визуально под световым микроскопом ZEISS Primo Star с программным обеспечением ZEISS Labscore. Количество клеток, экспрессирующих изучаемые

маркеры, выражали в виде среднего числа иммунопозитивных клеток на 100 мкм^2 , подсчет которых производили в 20 полях зрения каждого образца при увеличении $\times 400$ [39]. Сравнительное морфологическое исследование проводилось в двух группах: СЛУ без метастазов (СЛУ-, $n = 9$), СЛУ с метастазами различного объема (СЛУ+, $n = 9$).

Статистическую обработку данных производили в пакете прикладных программ STATISTICA V.7.0 («StatSoftInc», США). Вид распределения признаков в группах оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Поскольку распределение количественных признаков подчинялось закону нормального распределения, данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего арифметического. Сравнение проводили с помощью параметрических методов (t-критерий Стьюдента). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты проведенного иммуногистохимического исследования показали, что CD3+ Т-клетки обнаруживались преимущественно в паракортикальной зоне СЛУ (табл. 1). Сравнительный анализ выявил, что число CD3+ клеток значительно выше в паракортикальной зоне, мягкотных тяжах и области капсулы СЛУ, не пораженного метастазами.

CD20+ В-лимфоцитов выявлено больше всего в лимфоидных фолликулах, чуть меньше – в паракортикальной зоне, некоторое количество клеток встречалось в промежуточных синусах и единичные клетки выявлялись в капсуле узла. Выявлено, что при метастатическом поражении во всех изученных зонах СЛУ число CD20-иммунопозитивных клеток значительно ниже (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

В противоопухолевом иммунном ответе принимают участие гуморальная (В-лимфоциты) и клеточная (Т-лимфоциты) системы иммунитета. Контроль над ростом опухоли осуществляют в основном Т-клетки, роль которых в различных типах опухоли установлена. В многочисленных исследованиях in vitro показано, что популяция Т-клеток,

Таблица 1
Клеточный состав структурных компонентов лимфатических узлов без метастатического поражения и при метастазировании рака молочной железы (среднее число клеток на 100 мкм^2 ; $M \pm m$)

Показатель	Группа	Первичный фолликул	Паракортикальная зона	Мякотные тяжи	Капсула
CD3+	СЛУ-	0,374 $\pm 0,087$	1,116 $\pm 0,335$	0,879 $\pm 0,196$	0,137 $\pm 0,031$
	СЛУ+	0,458 $\pm 0,022$	0,861 $\pm 0,024^*$	0,577 $\pm 0,002^*$	0,125 $\pm 0,021^*$
CD20+	СЛУ-	2,352 $\pm 0,023$	1,153 $\pm 0,172$	1,528 $\pm 0,033$	0,106 $\pm 0,036$
	СЛУ+	1,884 $\pm 0,117^*$	0,722 $\pm 0,39^*$	0,686 $\pm 0,522^*$	0,055 $\pm 0,024^*$

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с группой (СЛУ-) при $p < 0,05$.

активизированная антигеном, способна подавлять противоопухолевый ответ [40–44]. Результаты проведенного нами исследования показали сравнительно высокий их уровень в СЛУ без метастатического поражения.

Сведения же о противоопухолевой активности В-лимфоцитов противоречивы. Результаты ряда исследований свидетельствуют как о положительной, так и отрицательной роли В-клеток в противоопухолевом иммунитете. С одной стороны, В-клетки могут положительно регулировать клеточные иммунные ответы, выступая в качестве антигенпрезентирующих клеток для CD4+ и CD8+ лимфоцитов, индуцируя специфическую для опухоли цитотоксическую активацию Т-клеток [45–47]. Показано, что дефицит CD20-экспрессирующих В-клеток вызывает прогрессирование опухолевого процесса в легких мышей, внутривенно инъецированных меланомой B16-F10 [48]. С другой стороны, В-клетки продуцируют цитокины (IL-10 и TGF- β), за счет которых ингибируют функцию Th1/CD8+ Т-клеток и способствуют пролиферации опухоли [49].

Результаты наших исследований показали, что в СЛУ с вторичными очагами опухолевого роста число CD20+ В-клеток значительно ниже.

Это может свидетельствовать о том, что гуморальный иммунитет в дополнение к клеточно-опосредованному иммунитету, возможно, имеет значение при раке молочной железы, что следует учитывать при иммунотерапии этого онкологического заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Любой анализ прогностического значения опухоли-инфильтрирующих лимфоцитов при солидных опухолях не может основываться на изучении образцов первичной опухоли и должен учитывать другие факторы, такие как состав TILs, распределение в различных анатомических участках, связанных с первичной опухолью. Ввиду ограниченных данных, имеющихся в этом отношении при раке молочной железы, целью данного исследования была оценка морфологического распределения Т-клеток (CD3+) и В-клеток (CD20+) в отсутствии метастазов и при метастатическом поражении в сторожевых лимфатических узлах при раке молочной железы. Показано снижение числа (CD3+CD20)-клеток в СЛУ при метастазировании опухоли молочной железы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ganaraj A., Kuhn J.A., Jones R.C. et al. Predictors for nonsentinel node involvement in breast cancer patients with micrometastases in the sentinel lymph node. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2003;16(1):3–6. <https://doi.org/10.1080/08998280.2003.11927881>.
2. Herrero M., Cíervide R., Calle-Purón M.E. et al. Macrometastasis at selective lymph node biopsy: A practical going-for-the-one clinical scoring system to personalize decision making. *World J Clin Oncol*. 2021;12(8):675–687. <https://doi.org/10.5306/wjco.v12.i8.675>.
3. Wang G., Zhang S., Wang M. et al. Prognostic significance of occult lymph node metastases in breast cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 2021;21(1):875. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08582-1>.
4. Houvenaeghel G., de Nonneville A., Cohen M. et al. Lack of prognostic impact of sentinel node micro-metastases in endocrine receptor-positive early breast cancer: results from a large multicenter cohort. *ESMO Open*. 2021;6(3):100151. <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2021.100151>.
5. Apple S.K. Sentinel Lymph Node in Breast Cancer: Review Article from a Pathologist's Point of View. *J Pathol Transl Med*. 2016;50(2):83–95. <https://doi.org/10.4132/jptm.2015.11.23>.
6. Антонова И.Б., Алешикова О.И., Ригер А.Н., Мамурова Г.А. Диагностическая значимость лимфаденэктомии и биопсии сторожевого лимфоузла у пациенток с I и II стадией рака тела матки. *Доктор.Ру*. 2021;20(8):59–63. <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2021-20-8-59-63>.
7. Зикиряходжаев А.Д., Грушина Т.И., Старкова М.В. с соавт. Методы диагностики сторожевого лимфатического узла у больных раком молочной железы. *Сибирский онкологический журнал*. 2020;19(5):88–96. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-5-88-96>.
8. Семиглазов В.Ф., Криворотько П.В., Жильцова Е.К. с соавт. Двадцатилетний опыт изучения биопсии сигнальных лимфатических узлов при раке молочной железы. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2020;16(1):12–20.
9. Старкова М.В., Зикиряходжаев А.Д., Грушина Т.И. с соавт. Диагностическая значимость биопсии сторожевого лимфатического узла у больных ранним раком молочной железы. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2019;8(6):422–427.
10. Ermakov A.V., Zikiryahodzhaev A.D., Saribekyan E.K. et al. The biological conceptualization of the sentinel lymph node. *Malignant Tumours*. 2016;4:5–13. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2016-4-5-13>.
11. Maguire A., Brogi E. Sentinel Lymph Nodes for Breast Carcinoma: A Paradigm Shift. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140(8):791–798. <https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0140-RA>.
12. Faries M.B., Morton D.L. Chapter 5. The clinical significance of lymph node metastasis. *Lymphangiogenesis in Cancer Metastasis*. Stacker SA, Achen MG (eds.). ©Springer Science+Business Media B.V. 2009;83–118.
13. Mascarel I., MacGrogan G., Picot V., Mathoulin-Pelissier S. Prognostic significance of immunohistochemically detected breast cancer node metastases in 218 patients. *Br J Cancer*. 2002;87(1):70–74. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600420>.
14. Мельников В.Л., Митрофанова Н.Н., Мельников Л.В. Противоопухолевый иммунитет: учеб. пособие. Пенза: Изд-во ПГУ, 2015. 84 с.
15. Шубина И.Ж., Сергеев А.В., Мамедова Л.Т. с соавт. Современные представления о противоопухолевом иммунитете. *Российский биотерапевтический журнал*. 2015;14(3):19–28. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2015-14-3-19-28>.
16. Berghoff A.S., Fuchs E., Ricken G. et al. Density of tumor-infiltrating lymphocytes correlates with extent of brain edema and overall survival time in patients with brain metastases. *Oncoimmunology*. 2016;5:e1057388. <https://doi.org/10.1080/2162402x.2015.1057388>.
17. Bremnes R.M., Busund L.T., Kilvaer T.L. et al. The Role of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Development, Progression, and Prognosis of Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2016;11:789–800. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.01.015>.

18. Burugu S., Asleh-Aburaya K., Nielsen T.O. Immune infiltrates in the breast cancer microenvironment: detection, characterization and clinical implication. *Breast Cancer*. 2017;24(1):3–15. <https://doi.org/10.1007/s12282-016-0698-z>.
19. Nguyen N., Bellile E., Thomas D. et al. Tumor infiltrating lymphocytes and survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2016;38:1074–1084. <https://doi.org/10.1002/hed.24406>.
20. Zeng D.Q., Yu Y.F., Ou Q.Y. et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes for clinical therapeutic research in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2016;7:13765–13781. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7282>.
21. Zikich D., Schachter J., Besser M.J. Predictors of tumor-infiltrating lymphocyte efficacy in melanoma. *Immunotherapy*. 2016;8:35–43. <https://doi.org/10.2217/imt.15.99>.
22. Aasebø K., Bruun J., Bergsland C.H. et al. Prognostic role of tumour-infiltrating lymphocytes and macrophages in relation to MSI, CDX2 and BRAF status: a population-based study of metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer*. 2022;126(1):48–56. <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01586-5>.
23. Chen D.S., Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature*. 2017;541(7637):321–330. <https://doi.org/10.1038/nature21349>.
24. Schalper K.A., Brown J., Carvajal-Hausdorf D. et al. Objective measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2015;107(3). <https://doi.org/10.1093/jnci/dju435>.
25. Kayser G., Schulte-Uentrop L., Sienel W. et al. Stromal CD4/CD25 positive T-cells are a strong and independent prognostic factor in non-small cell lung cancer patients, especially with adenocarcinomas. *Lung Cancer*. 2012;76(3):445–451. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2012.01.004>.
26. Donnem T., Hald S.M., Paulsen E.E. et al. Stromal CD8+ T-cell density—a promising supplement to TNM staging in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2015;21(11):2635–2643. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1905>.
27. Zou W., Zhou M.L., Zhang L.Y. et al. Immune Score Predicts Outcomes of Gastric Cancer Patients Treated with Adjuvant Chemoradiotherapy. *J Oncol*. 2021;9344124. <https://doi.org/10.1155/2021/9344124>.
28. Barbosa A.M., Martinho O., Nogueira R. et al. Increased CD3+, CD8+, or FoxP3+ T Lymphocyte Infiltrations Are Associated with the Pathogenesis of Colorectal Cancer but Not with the Overall Survival of Patients. *Biology (Basel)*. 2021;10(8):808. <https://doi.org/10.3390/biology10080808>.
29. Стенина М.Б., Царева Е.В., Жаров А.А. с соавт. Инфильтрирующие опухоль лимфоциты: биологическая суть и клиническое значение при раке молочной железы. *Российский онкологический журнал*. 2016;1–2:92–100.
30. Abousamra S., Gupta R., Hou L. et al. Deep Learning-Based Mapping of Tumor Infiltrating Lymphocytes in Whole Slide Images of 23 Types of Cancer. *Front Oncol*. 2022;11:806603.
31. Eiró N., Pidal I., Fernandez-Garcia B. et al. Impact of CD68/(CD3+CD20) ratio at the invasive front of primary tumors on distant metastasis development in breast cancer. *PLoS One*. 2012;7(12):e52796. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052796>.
32. Van Berckelaer C., Vermeiren I., Vercauteren L. et al. The Evolution and Prognostic Role of Tumour-Infiltrating Lymphocytes and Peripheral Blood-Based Biomarkers in Inflammatory Breast Cancer Patients Treated with Neoadjuvant Chemotherapy. *Cancers*. 2021;13(18):4656. <https://doi.org/10.3390/cancers13184656>.
33. König L., Mairinger F.D., Hoffmann O. et al. Dissimilar patterns of tumor-infiltrating immune cells at the invasive tumor front and tumor center are associated with response to neoadjuvant chemotherapy in primary breast cancer. *BMC Cancer*. 2019;19(1):120. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5320-2>.
34. Luen S., Salgado R., Fox S.B. et al. Tumour-infiltrating lymphocytes in advanced HER2-positive breast cancer treated with pertuzumab or placebo in addition to trastuzumab and docetaxel: a retrospective analysis of the CLEOPATRA study. *Lancet Oncology*. 2017;18:52–62.
35. Волченко Н.Н., Борисова О.В., Мельникова В.Ю. с соавт. Срочное интраоперационное цитологическое исследование сторожевых лимфатических узлов при раннем раке молочной железы. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2019;8(3):169–174. <https://doi.org/10.17116/onkolog20198031169>.
36. Старкова М.В., Зикийходжаев А.Д., Грушина Т.И. с соавт. Диагностическая значимость биопсии сторожевого лимфатического узла у больных ранним раком молочной железы. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2019;8(6):422–427. <https://doi.org/10.17116/onkolog20198061422>.
37. Цыплаков Д.Э., Бажанов А.Б. Морфометрическое и иммуногистохимическое исследование регионарных лимфатических узлов при раке желудка. *Казанский медицинский журнал*. 2015;96(6):971–978. <https://doi.org/10.17750/KMJ2015-971>.
38. Ermakov A.V., Saribekyan E.K., Ablitsova N.V., Usov F.N. Sentinel lymph nodes in malignant tumors. *Malignant Tumours*. 2017;1:70–77. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2017-1-70-77>.
39. Шарафутдинова Л.А. Морфофункциональные изменения нервной, иммунной и репродуктивной систем при воздействии наноразмерного диоксида титана в форме рутила: дис. ... докт. биол. наук. Казань, 2019. 258 с.
40. Ганцев Ш.Х., Рустамханов Р.А., Кзыргалин Ш.Р., Турсуметов Д.С. Неоплазматическое и иммуногистохимическое исследование лимфатических узлов при раке молочной железы. *Креативная хирургия и онкология*. 2019;9(4):266–272.
41. Kwak Y., Koh J., Kim D.W. et al. Immunoscore encompassing CD3+ and CD8+ T cell densities in distant metastasis is a robust prognostic marker for advanced colorectal cancer. *Oncotarget*. 2016;7(49):81778–81790. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13207>.
42. Gabrielson A., Wu Y., Wang H. et al. Intratumoral CD3 and CD8 T-cell Densities Associated with Relapse-Free Survival in HCC. *Cancer Immunol Res*. 2016;4:419–430. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.cir-15-0110>.
43. Salgado R., Denkert C., Demaria S. et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol*. 2015;26:259–271. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu450>.
44. Topalian S.L., Taube J.M., Anders R.A., Pardoll D.M. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(5):275–278. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.36>.
45. Lee W.S., Park S., Lee W.Y. et al. Clinical impact of tumor-infiltrating lymphocytes for survival in stage II colon cancer. *Cancer*. 2010;116:5188–99. <https://doi.org/10.1002/cncr.25293>.
46. Van den Bosch G.A., Ponsaerts P., Nijs G. et al. Ex vivo induction of viral antigen-specific CD8 T cell responses using mRNA-electroporated CD40-activated B cells. *Clin Exp Immunol*. 2005;139(3):458–467. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02733.x>.
47. DiLillo D.J., Yanaba K., Tedder T.F. B cells are required for optimal CD4+ and CD8+ T cell tumor immunity: therapeutic B cell depletion enhances B16 melanoma growth in mice. *J Immunol*. 2010;184(7):4006–4016.
48. Sorrentino R., Morello S., Forte G. et al. B cells contribute to the antitumor activity of CpG-oligodeoxynucleotide in a mouse model of metastatic lung carcinoma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(10):1369–1379.

49. Taghavi N., Mohsenifar Z., Baghban A.A., Arjomandkhah A. CD20+ Tumor Infiltrating B Lymphocyte in Oral Squamous Cell Carcinoma: Correlation with Clinicopathologic Characteristics and Heat Shock Protein 70 Expression. Patholog Res Int. 2018;4810751. <https://doi.org/10.1155/2018/4810751>.

Сведения об авторах:

Александр Дмитриевич Неряхин – студент;
Артур Уралович Галлямов – врач-маммолог;
Демир Нуртимирович Камильянов – студент;
Элина Халитовна Сунагатуллина – студент;
Роберт Усманович Камалов – студент;
Люция Ахтямовна Шарафутдинова – доктор биологических наук, профессор.

Information about the authors

Artur D. Neryakhin – Student;
Alexander U. Gallyamov – Mammologist;
Demir N. Kamilianov – Student;
Elina H. Sunagatullina – Student;
Robert U. Kamalov – Student;
Ljucija A. Sharafutdinova – Doctor of Science (Biology), Professor.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests. The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Ethics approval The study complies is approved by the local ethics committee.

Информированное согласие не требуется.

Informed consent is not required.

Статья поступила в редакцию 24.05.2022; одобрена после рецензирования 08.08.2022; принята к публикации 08.11.2022.

The article was submitted 24.05.2022; approved after reviewing 08.08.2022; accepted for publication 08.11.2022.