

## Пухлиноінфільтруючі лімфоцити при тричі негативних карциномах молочної залози

Л. М. Захарцева \*, А,С,Е,Ф, М. О. Яновицька  А,В,С,Д

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна,

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; Е – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Мета роботи** – оцінювання прогностичного значення пухлиноінфільтруючих лімфоцитів при тричі негативних карциномах молочної залози, що не мають рецепторів до естрогена, прогестерону й ампліфікації Her2. Група тричі негативних карцином має гірші показники виживаності порівняно з іншими молекулярними підгрупами раку молочної залози, але одночасно вона є дуже гетерогенною, а тому потребує пошуку додаткових прогностичних факторів для уточнення прогнозу пацієнтів.

**Матеріали та методи.** У ретроспективне дослідження включили 350 зразків біопсій та операційного матеріалу пацієнтів із тричі негативними карциномами молочної залози I–III стадій, що не отримували хіміотерапію. Середній період спостереження становив 3,8 року для показника загальної виживаності та 3,2 року – для показника безрецидивної виживаності. Для оцінювання прогностичного значення пухлиноінфільтруючих лімфоцитів побудували криві виживаності Каплана–Мейєра з логранковим тестом, а також виконали однофакторний і багатofакторний регресійний аналіз за пропорційною моделлю ризиків Кокса.

**Результати.** Криві виживаності Каплана–Мейєра показали статистично вірогідний взаємозв'язок між пухлиноінфільтруючими лімфоцитами та загальною, безрецидивною виживаністю з загальною тенденцією до поліпшення цих показників для карцином із високим вмістом лімфоцитів. За побудованою моделлю пропорційних ризиків Кокса, пухлини, що мають велику кількість пухлиноінфільтруючих лімфоцитів, статистично вірогідно мають кращі показники загальної та безрецидивної виживаності (порівняно з пухлинами, що мають малу кількість пухлиноінфільтруючих лімфоцитів). Каппа-коефіцієнт дорівнював 0,79, що вказує на високий рівень погодженості між патологами під час оцінювання гістологічного матеріалу.

**Висновки.** Велика кількість пухлиноінфільтруючих лімфоцитів при тричі негативних карциномах молочної залози статистично вірогідно пов'язана з кращими показниками їхньої загальної та безрецидивної виживаності. Оцінювання пухлиноінфільтруючих лімфоцитів швидко та не потребує додаткової підготовки, що робить цей прогностичний маркер зручним для використання.

### Ключові слова:

тричі негативний рак молочної залози, пухлиноінфільтруючі лімфоцити, мікрооточення пухлини, прогноз.

Патологія. 2020. Т. 17, № 3(50). С. 287-294

\*E-mail: [lmzakhartseva@gmail.com](mailto:lmzakhartseva@gmail.com)

## Tumor-infiltrating lymphocytes in triple negative breast cancer

L. M. Zakhartseva, M. O. Yanovytka

**The aim** of this retrospective study is to assess the prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple negative breast carcinomas that lack both estrogen, progesterone receptors and Her2 amplification. The group of triple negative carcinomas has worse survival rates than other molecular subgroups of breast cancer, but at the same time it is very heterogeneous, and therefore requires the search for additional prognostic factors to improve the prognosis of patients.

**Materials and methods.** The study included 350 samples of biopsies and surgical material from patients with stage I–III triple negative breast cancer who had not previously received chemotherapy. The median follow-up was 3.8 years for overall survival and 3.2 years for relapse-free survival. The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes was evaluated by Kaplan–Meyer survival curves with a log-rank test, and one- and multifactor regression analysis according to the proportional risks Cox model.

**Results.** Kaplan–Meier survival curves showed statistically significant relationships between tumor-infiltrating lymphocytes and overall and recurrence-free survival with a general trend to improve data for tumors with high lymphocyte volume. Proportional risks Cox model showed that tumors with a high number of tumor-infiltrating lymphocytes have statistically significantly better overall and recurrence-free survival rates (compared with tumors with a low number of tumor-infiltrating lymphocytes). The Kappa coefficient for interobserver variability was 0.79. It indicates a high level of agreement between pathologists in the evaluation of histological material.

**Conclusions.** The high number of tumor-infiltrating lymphocytes in triple negative breast cancers is statistically significantly associated with better overall and recurrence-free survival rates. Assessment of tumor-infiltrating lymphocytes is rapid and does not require additional training, which makes this prognostic marker convenient to use.

### Key words:

triple negative breast cancer, tumor infiltrating lymphocytes, tumor microenvironment, prognosis.

Pathologia 2020; 17 (3), 287-294

## Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты при трижды негативном раке молочной железы

Л. М. Захарцева, М. А. Яновицкая

**Цель работы** – оценка прогностического значения опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов при трижды негативных карциномах молочной железы, не имеющих рецепторов к эстрогену, прогестерону и амплификации Her2.

**Ключевые слова:** трижды негативный рак молочной железы, опухоль-инфильтрирующие лимфоциты, микроокружение опухоли, прогноз.

**Патология. 2020.**  
**Т. 17, № 3(50).**  
**С. 287-294**

Группа трижды негативных карцином имеет худшие показатели выживаемости по сравнению с другими молекулярными подгруппами рака молочной железы, но одновременно она очень гетерогенна, а потому требует поиска дополнительных прогностических факторов для уточнения прогноза пациентов.

**Материалы и методы.** В ретроспективное исследование включены 350 образцов биопсий и операционного материала пациентов с трижды негативными карциномами молочной железы I–III стадий, не получавших химиотерапию. Средний период наблюдения составил 3,8 года для показателя общей выживаемости и 3,2 года для показателя безрецидивной выживаемости. Для оценки прогностического значения опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов построены кривые выживаемости Каплана–Мейера с логранковым тестом, а также проведен однофакторный и многофакторный регрессионный анализ по пропорциональной модели рисков Кокса.

**Результаты.** Кривые выживаемости Каплана–Мейера показали статистически достоверную взаимосвязь между опухоль-инфильтрирующими лимфоцитами и общей, безрецидивной выживаемостью с общей тенденцией к улучшению данных показателей для карцином с высоким содержанием лимфоцитов. По построенной модели пропорциональных рисков Кокса, опухоли, имеющие большое количество опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, статистически достоверно имеют лучшие показатели общей и безрецидивной выживаемости (по сравнению с опухолями, которые имеют низкое количество опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов). Каппа-коэффициент составил 0,79, что указывает на высокий уровень согласованности между патологами при оценке гистологического материала.

**Выводы.** Большое количество опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов при трижды негативных карциномах молочной железы статистически достоверно связано с лучшими показателями их общей и безрецидивной выживаемости. Оценка опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов быстрая, не требует дополнительной подготовки, что делает этот прогностический маркер удобным для использования.

Рак молочної залози (РМЗ) – глобальна онкологічна проблема у світі за показниками захворюваності та смертності. Тричі негативний рак молочної залози (ТНР), в якому відсутня експресія рецепторів естрогену, прогестерону та людського епідермального фактора росту 2 (HER2), має найгірші показники виживаності [1,2] та вищий рівень мутаційного навантаження порівняно з іншими молекулярними підтипами РМЗ [3]. Можливості в лікуванні таких пацієнтів залишаються обмеженими, незважаючи на загальний прогрес щодо засобів терапії РМЗ [4]. Серед осіб із тричі негативними карциномами є пацієнти зі сприятливим прогнозом. Це зумовлює необхідність використання додаткових факторів для уточнення прогнозу. В цьому аспекті викликають інтерес пухлиноінфільтруючі лімфоцити (ПІЛ), які є частиною пухлинного мікрооточення.

Підвищена кількість ПІЛ характерна для тричі негативних карцином [5], і в цьому контексті імунотерапія також є актуальною темою досліджень як можлива додаткова опція лікування таких хворих [6].

Більшість досліджень імунного інфільтрату пов'язані з оцінюванням саме їхнього імуністохімічного профілю [7–9], морфологічне дослідження залишається дещо другорядним. Частково це можна пояснити розвитком комерційних програм, як-от *Immunoscore* (підраховує інтенсивність специфічного лімфоцитарного інфільтрату, зокрема CD3+ та CD8+, використовуючи комп'ютеризовані програми [10]; нині її використовують для вивчення раку товстої кишки [11]). Саме простота та легкість дослідження ПІЛ на гематоксилін-еозиновому скельці роблять цей прогностичний фактор пріоритетним.

### Мета роботи

Оцінювання прогностичного значення пухлиноінфільтруючих лімфоцитів при тричі негативних карциномах молочної залози, що не мають рецепторів до естрогена, прогестерону й ампліфікації Her2.

### Матеріали і методи дослідження

Обрали 350 зразків від пацієнтів зі встановленим діагнозом тричі негативного раку молочної залози, що перебували на лікуванні в Київському міському клінічному онкологічному центрі протягом 2010–2018 рр. Стадію встановили згідно з сьомим виданням TNM класифікації злоякісних пухлин [12]. Пацієнтів із 4 стадією захворювання та іншими злоякісними пухлинами виключили з дослідження. Рак молочної залози визначений як тричі негативний за відсутності імуністохімічної експресії рецепторів естрогену (Clone EP1, Dako, USA), рецепторів прогестерону (Clone PgR 636, Dako, USA) та Her2 (Clone SP3, ThermoScientific, USA). Гістологічне дослідження виконували для біопсій та операційного матеріалу пацієнтів, які не отримували специфічне лікування.

ПІЛ оцінили згідно з рекомендаціями, що розроблені Міжнародною робочою групою з питань ПІЛ [13]. Вивчали тільки стромальні ПІЛ у ділянці інвазивної пухлини та лише як одноядерний інфільтрат, гранулоцити не оцінювали. Кількість стромальних ПІЛ визначили у відсотках щодо площі стромального компонента. Останній визначили як безперервний параметр з приростом 5 % і поділили на групи А (0–9 %), В (10–40 %) і С (41–100 %). Брали до уваги середні значення стромальних ПІЛ, не зосереджуючись на «гарячих точках». Усі зразки проаналізували два патологи, яким не надавали клінічну інформацію про пацієнтів. Додаткові гістопатологічні параметри, які оцінювали: ступінь диференціювання, гістологічний підтип, наявність некрозу, дуктальної або лобулярної карциноми *in situ* (DCIS або LCIS), визначення Ki-67. Дані наведені в таблиці 1.

Дослідження погоджене комісією з питань біоетичної експертизи (експертний висновок від № 108 від 01.02.2018 р.).

Статистичний аналіз виконали за допомогою програмного пакета EZR 1,35 (R statistical software version 3.4.3, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) [14]. Коефіцієнт Каппа Коена використали

стали для обчислення узгодженості між патологами. Для побудови кривих виживаності використали метод Каплана–Мейєра з логранковим тестом. Модель пропорційних ризиків Кокса застосували для обчислення одноваріантних і багатоваріантних коефіцієнтів ризику (HR) для параметрів із довірчим інтервалом 95 % (CI). Інформаційний критерій Акаїке (ІКА) використали для обрання мінімального набору параметрів для багатofакторного аналізу. Р-значення менше ніж 0,05 вважали значущими. Груповий розподіл для ПІЛ виконали до статистичного аналізу.

## Результати

У дослідження залучили 350 пацієнтів. У деяких випадках (n = 29) було занадто мало інвазивного компонента або недостатньо клінічної інформації, тому їх виключили. Отже, вивчили матеріал 321 пацієнта, з-поміж них 71 хворий помер, 102 особи мали рецидив захворювання. Середній період спостереження становив 3,8 року (діапазон – від 0,3 до 9,3) для загальної виживаності та 3,2 (діапазон – від 0,2 до 9,3) для безрецидивної виживаності.

За кількістю лімфоцитів пухлини класифікували на групи: А – відсутні або невелика кількість ПІЛ, n = 38; В – середня кількість ПІЛ, n = 169; С – висока кількість ПІЛ, n = 114 (рис. 1–3).

Трирічна виживаність пацієнтів для групи С становила 89,4 %, для групи В – 80,5 %, для групи А – 73,6 % (p = 0,001). Безрецидивна трирічна виживаність для групи С дорівнювала 77,6 %, для групи В – 69,9 %, для А групи – 57,9 % (p = 0,03) (рис. 4, 5). За кривими виживаності Каплана–Мейєра, різниця за загальною та безрецидивною виживаністю пацієнтів групи А, В і С статистично вірогідна.

В одноваріантному регресійному аналізі за моделлю Кокса, високий показник ПІЛ (40–100 %, група С) мав статистично вірогідне прогностичне значення з кращими показниками загальної (ВР 0,4, 95 % ДІ 0,19–0,86, p = 0,019) і безрецидивної виживаності (ВР 0,42, 95 % ДІ 0,22–0,78, p = 0,005). Однак щодо групи В (ПІЛ 10–40 %) не виявили статистично вірогідну різницю як прогностичний фактор для загальної (ВР 0,74, 95 % ДІ 0,38–1,44, p = 0,370) і безрецидивної (ВР 0,65, 95 % ДІ 0,38–1,15, p = 0,140) виживаності (табл. 2).

Під час багатofакторного аналізу з використанням інформаційного критерію Акаїке для відбору найбільш значущих прогностичних ознак розмір пухлини (pT), регіональні лімфатичні вузли (pN) та пухлиноінфільтруючі лімфоцити обрали як параметри, що статистично вірогідно пов'язані з загальною та безрецидивною виживаністю. Інші параметри (вік, ступінь диференціювання пухлин і гістологічний підтип) не визначені як прогностичні фактори після поетапного відбору параметрів (табл. 3).

За мультифакторним аналізом, пухлини, що мають велику кількість ПІЛ (41 % і більше), статистично вірогідно мають кращі показники загальної (ВР 0,42, 95 % ДІ 0,19–0,91, p = 0,029) та безрецидивної (ВР 0,50, 95 % ДІ 0,26–0,95, p = 0,036) виживаності.

Пухлини групи В (із кількістю ПІЛ 10–40 %) не показали статистично вірогідних значень впливу ПІЛ

**Таблиця 1.** Загальна характеристика гістологічних параметрів пухлин і лікувальних процедур

Параметр	Кількість	
	n (321)	%
<b>Вік</b>		
≤40	30	9,4
>40<60	159	49,5
>60	132	41,1
<b>Стадія</b>		
I	78	24,3
II	163	50,8
III	80	24,9
<b>pT (пухлина)</b>		
pT1	97	30,2
pT2	183	57,0
pT3	17	5,3
pT4	24	7,5
<b>pN (лімфатичні вузли)</b>		
pN0	178	55,5
pN1	81	25,2
pN2	40	12,5
pN3	17	5,2
pNx	5	1,6
<b>Гістологічний тип</b>		
NST (неспецифічний тип)	282	87,9
Дольковий	14	4,4
Папілярний	9	2,8
З медулярним патерном	9	2,8
Інші	7	2,1
<b>Ступінь диференціювання</b>		
G1	1	0,3
G2	189	58,9
G3	114	35,5
Не визначено	17	5,3
<b>Ki-67</b>		
≤15 %	15	4,7
>16 %≤30 %	65	20,2
>30 %	190	59,2
Не визначено	51	15,9
<b>Некроз</b>		
Так	118	36,8
Ні	203	63,2
<b>ПІЛ</b>		
A (0–10 %)	38	11,8
B (10–40 %)	169	52,6
C (40–100 %)	114	35,5
<b>DCIS (LCIS)</b>		
Так	20	6,2
Ні	301	93,8
<b>Неоад'ювантна хіміотерапія</b>		
Так	136	42,4
Ні	185	57,6
<b>Оперативне втручання</b>		
Органозберігальна операція	168	52,3
Мастектомія	153	47,7
<b>Ад'ювантна хіміотерапія</b>		
Так	296	92,2
Ні	25	7,8
<b>Променева терапія</b>		
Так	292	91
Ні	29	9

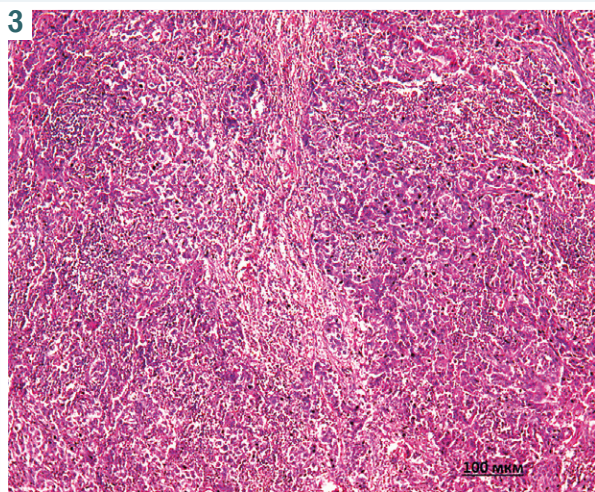
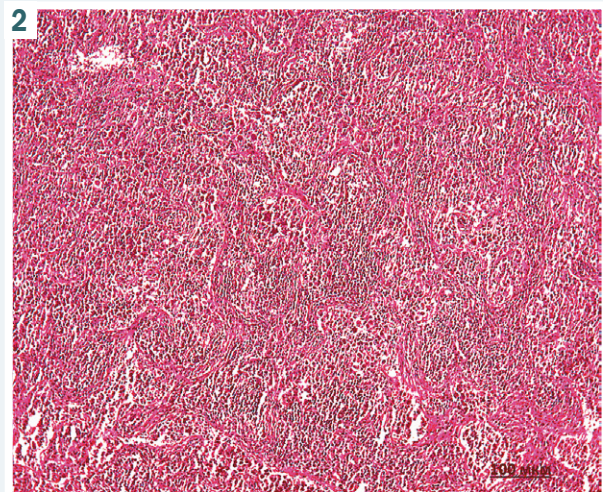
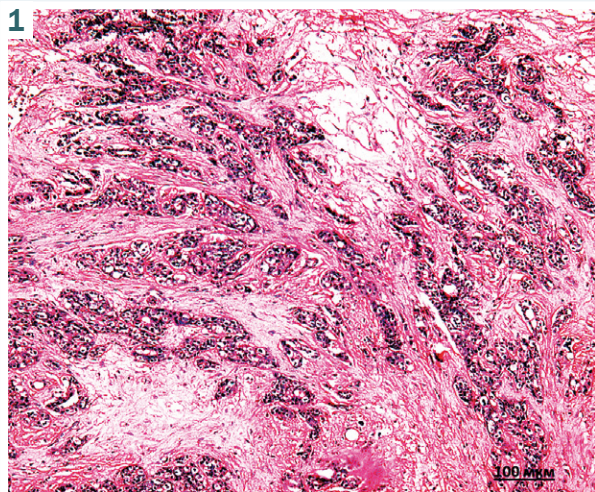


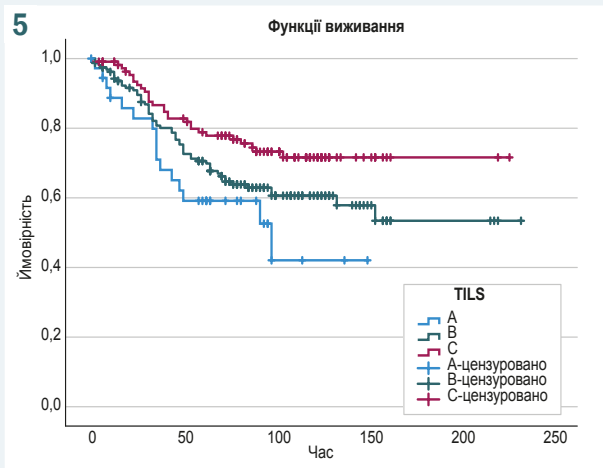
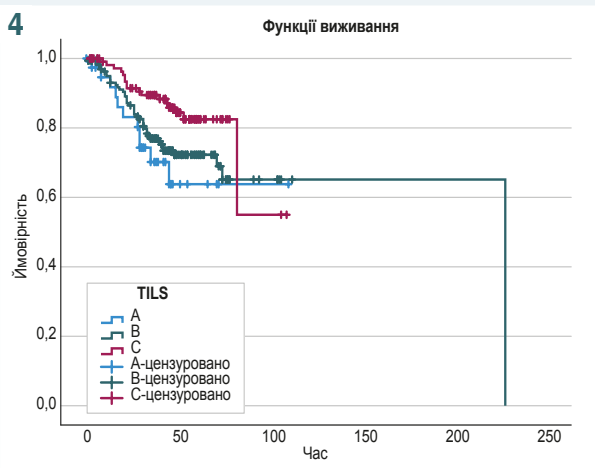
Рис. 1. Інвазивна карцинома молочної залози, неспецифічна, група А (0–10 %) за кількістю пухлиноінфільтруючих лімфоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Шб.:  $\times 10$ .

Рис. 2. Інвазивна карцинома молочної залози, неспецифічна, група В (10–40 %) за кількістю пухлиноінфільтруючих лімфоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Шб.:  $\times 10$ .

Рис. 3. Інвазивна карцинома молочної залози, неспецифічна, група С (40–100 %) за кількістю пухлиноінфільтруючих лімфоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Шб.:  $\times 10$ .

Рис. 4. Крива Каплана–Мейера (загальна виживаність), стратифікована за групою ПІЛ,  $p = 0,03$ .

Рис. 5. Крива Каплана–Мейера (безрецидивна виживаність), стратифікована за групою ПІЛ,  $p = 0,01$ .



як прогностичного фактора на загальну (ВР 0,68, 95 % ДІ 0,35–1,35,  $p = 0,275$ ) і безрецидивну (ВР 0,75, 95 % ДІ 0,42–1,33,  $p = 0,335$ ) виживаність порівняно з групою А.

Інтенсивний лімфоцитарний інфільтрат (41 % і більше) – незалежний прогностичний фактор для загальної та безрецидивної виживаності, вказує на сприятливіший прогноз.

Коефіцієнт Каппа дорівнював 0,79, що свідчить про високий рівень узгодженості між двома патологами, які вивчали препарати.

### Обговорення

Мікросередовище пухлини відіграє важливу роль у прогресії пухлин [15]. Пухлиноінфільтруючі лімфоцити

**Таблиця 2.** Одноваріантний регресійний аналіз за моделлю Кокса прогностичного значення ППЛ для загальної та безрецидивної виживаності для тричі негативного раку молочної залози

Параметр	Загальна виживаність			Безрецидивна виживаність		
	Коефіцієнт відносного ризику (ВР)	95 % довірчий інтервал коефіцієнта відносного ризику (ДІ)	р-значення	Коефіцієнт відносного ризику (ВР)	95 % довірчий інтервал коефіцієнта відносного ризику (ДІ)	р-значення
<b>Вік</b>			0,097			0,580
<40	референтний			референтний		
40–60	1,2	0,38–2,14	0,827	0,9	0,47–3,04	0,705
>60	1,47	0,61–3,28	0,428	1,41	0,57–3,75	0,425
<b>Ступінь диференціювання</b>						
II	референтний			референтний		
III	1,09	0,65–1,47	0,916	0,98	0,66–1,81	0,738
<b>Гістологічний підтип</b>			0,637			0,321
Долькова карцинома	референтний			референтний		
Неспецифічна	0,517	0,28–1,33	0,213	0,613	0,22–1,20	0,124
З медулярним патерном	<0,001	<0,001	0,994	<0,001	<0,001	0,995
Папілярна карцинома	1,049	0,26–4,20	0,732	1,049	0,26–4,20	0,946
Інші	1,219	0,28–4,26	0,888	1,102	0,25–6,06	0,808
<b>Первинна пухлина (розмір)</b>			<0,001			<0,001
T1 (до 2 см)	референтний			референтний		
T2 (2–5 см)	1,48	0,71–1,82	0,591	1,14	0,73–2,37	0,179
T3 (понад 5 см)	4,4	2,93–11,30	<0,001	5,75	2,04–11,36	<0,001
T4 (інвазія у шкіру/грудну стінку)	3,4	1,12–4,64	0,023	2,28	3,26–7,44	0,002
<b>Регіонарні лімфатичні вузли</b>			<0,001			0,003
N0	референтний			референтний		
N1	1,68	1,00–2,61	0,049	1,62	0,96–2,92	0,066
N2	2,9	1,41–4,18	0,001	2,43	1,60–5,27	<0,001
N3	3,038	1,10–5,00	0,026	2,39	1,33–6,93	0,008
<b>Пухлинноінфільтруючі лімфоцити</b>			0,017			0,038
A (0–9 %)	референтний			референтний		
B (10–40 %)	0,74	0,38–1,15	0,140	0,65	0,38–1,44	0,370
C (41–100 %)	0,4	0,22–0,78	0,005	0,42	0,19–0,86	0,019

**Таблиця 3.** Мультиваріантний регресійний аналіз за моделлю Кокса прогностичного значення ППЛ для загальної та безрецидивної виживаності з поетапним відбором параметрів за ІКА

Параметр	Загальна виживаність			Безрецидивна виживаність		
	Коефіцієнт відносного ризику (ВР)	95 % довірчий інтервал коефіцієнта відносного ризику (ДІ)	р-значення	Коефіцієнт відносного ризику (ВР)	95 % довірчий інтервал коефіцієнта відносного ризику (ДІ)	р-значення
<b>Первинна пухлина (розмір)</b>			0,006			0,001
T1 (до 2 см)	референтний			референтний		
T2 (2–5 см)	1,18	0,65–0,17	0,574	0,96	0,65–2,17	0,888
T3 (понад 5 см)	3,28	1,24–8,68	0,016	4,37	1,99–9,58	<0,001
T4 (інвазія у шкіру/грудну стінку)	2,08	0,77–4,98	0,155	1,06	0,45–2,49	0,896
<b>Регіонарні лімфатичні вузли</b>			0,035			0,006
N0	референтний			референтний		
N1	1,31	0,68–2,53	0,064	1,33	0,77–2,30	0,296
N2	2,09	1,01–4,34	0,045	2,09	1,12–3,88	0,018
N3	2,56	1,10–5,95	0,028	2,24	1,03–4,86	0,041
<b>Пухлинноінфільтруючі лімфоцити</b>			0,079			0,083
A (0–9 %)	референтний			референтний		
B (10–40 %)	0,68	0,35–1,35	0,275	0,75	0,42–1,33	0,335
C (41–100 %)	0,42	0,19–0,91	0,029	0,50	0,26–0,95	0,036

як основна складова імунного інфільтрату – прогностичний фактор для тричі негативних карцином молочної залози, за результатами багатьох досліджень [16,17], з вищими показниками виживаності для пухлин, багатих на лімфоцитарний інфільтрат. Ohtani et al. [18], ввели поняття раку молочної залози з переважанням лімфоцитів у стромі, продемонструвавши, що такі пухлини мають кращу безрецидивну виживаність,

ніж контрольна група. Дослідження, яке виконали, підтверджує результати інших авторів, показавши, що кількість ППЛ має вплив на показники загальної та безрецидивної виживаності з вищими показниками для пухлин, які мають високий рівень стромальних лімфоцитів.

За даними F. Pages et al. [19], спеціалізовані комп'ютерні програми – ефективний інструмент для

коректного підрахунку ПІЛ, але наше дослідження показує (аналогічно до інших [20,21]) високий рівень погодженості між патологами.

За даними Criscitiello et al., ПІЛ також має значення як незалежний предиктивний маркер для відповіді на неoad'юванту хіміотерапію для всіх молекулярних підгруп молочної залози [22], проте найбільш виражений зв'язок спостерігали для тричі негативних і Her2-позитивних пухлин. Це підтверджують інші дослідження [23].

Крім імунного інфільтрату, мікросередовище пухлини включає такі складові, як пухлиноасоційовані фібробласти, ендотеліальні клітини та перичити. Разом вони формують строму пухлини, дослідження котрої як прогностичного фактора є метою багатьох досліджень, за даними огляду фахової літератури, що опублікований Kramer et al. [24]. За результатами досліджень, що представлені в огляді, строма пухлини має протилежний до ПІЛ ефект і пов'язана з нижчими показниками виживаності для пухлин, що багаті на стромальний компонент.

Тому можна припустити, що пухлини з високим показником ПІЛ і низьким стромально-пухлинним співвідношенням (СПС) і пухлини з низькою кількістю ПІЛ і високим СПС при однаковій стадії та ступені диференціації можуть мати прогноз, що суттєво відрізняється.

У кількох дослідженнях зроблена спроба поєднати параметри стромально-пухлинного співвідношення та імунного інфільтрату. Результати є суперечливими. Vangangel et al. [25] встановили: істотна різниця у прогнозі пухлин із великим і малим СПС – тільки для пухлин із низьким рівнем імунного інфільтрату.

Zhang et al. [26,27] запропонували оцінювання так званого об'єму лімфоцитів, що інфільтрують пухлину (Tumor Infiltrative Lymphocyte Volume – TIVL). Це також комбіноване оцінювання лімфоцитів, що інфільтрують строму пухлини, та стромально-пухлинного співвідношення. Формула передбачає, що  $TILV = \% \text{ строми в пухлині} \times \% \text{ стромальних TIL}$ . Ця формула проста у використанні, але передбачає множення параметрів СПС і ПІЛ, а загальна тенденція показує, що ці параметри мають протилежний вплив на прогноз. Щобільше, якщо один із цих параметрів дорівнює нулю, він нівелює значення іншого параметра. Отже, комбіноване оцінювання цих факторів (за формулою, що наведена) може істотно знизити їхнє прогностичне значення. Але окремо вони можуть доповнювати один одного як прогностичні фактори.

Дослідження, що виконали, має кілька обмежень. По-перше, це тривале ретроспективне дослідження (2010–2018 рр.), протягом якого могли частково змінюватися протоколи лікування. По-друге, хіміотерапевтичні схеми не були однаковими та включали таксани, антрацикліни, платинові препарати.

### Висновки

1. Велика кількість пухлиноінфільтруючих лімфоцитів статистично вірогідно пов'язана з кращими показниками загальної та безрецидивної виживаності для тричі негативних карцином молочної залози.

2. Оцінювання пухлиноінфільтруючих лімфоцитів просте і не потребує додаткової підготовки.

3. Рівень погодженості між патологами під час оцінювання цього прогностичного фактора високий.

**Перспективи подальших досліджень.** Оцінювання пухлиноінфільтруючих лімфоцитів може індивідуалізувати лікування пацієнтів із тричі негативним раком молочної залози, група якого дуже гетерогенна, та допомогти визначити хворих зі сприятливим прогнозом. Використання цього прогностичного маркера просте та доцільне в рутинній практиці патолога.

### Фінансування

Робота виконана в рамках НДР «Розробка гістологічних і молекулярно-біологічних критеріїв диференційної діагностики пухлин і передпухлинних змін в органах і їх прогностичне значення» (№ держреєстрації 0119U101131).

### Подяка

Висловлюємо подяку Гур'янову Віталію Григоровичу за надану консультацію щодо статистичного опрацювання матеріалу, Муравйову Андрію Володимировичу за допомогу в роботі з архівним матеріалом.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflict of interest:** authors have no conflict of interests to declare.

Надійшла до редакції / Received: 07.09.2020

Після доопрацювання / Revised: 24.09.2020

Прийнято до друку / Accepted: 29.10.2020

### Відомості про авторів:

Захарцева Л. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.  
ORCID ID: [0000-0001-6838-9970](https://orcid.org/0000-0001-6838-9970)

Яновицька М. О., асистент каф. патологічної анатомії № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.  
ORCID ID: [0000-0002-5919-081X](https://orcid.org/0000-0002-5919-081X)

### Information about authors:

Zakhartseva L. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy No. 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Yanovyt'ska M. O., Assistant of the Department of Pathological Anatomy No. 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

### Сведения об авторах:

Захарцева Л. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической анатомии № 1, Национальный университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина  
Яновицкая М. А., ассистент каф. патологической анатомии № 1, Национальный университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

### Список літератури

- [1] Grybach S. M., Polishchuk L. Z., Chekhun V. F. Analysis of the survival of patients with breast cancer depending on age, molecular subtype of tumor and metabolic syndrome. *Experimental Oncology*. 2018. Vol. 40, Iss. 3. P. 243-248. [https://doi.org/10.31768/2312-8852.2018.40\(3\):243-248](https://doi.org/10.31768/2312-8852.2018.40(3):243-248)
- [2] Survival Study of Triple-Negative and Non-Triple-Negative Breast Cancer in a Brazilian Cohort / H. Jr. Gonçalves, M. R. Guerra, J. R. Duarte Cintra et al. *Clinical Medicine Insights. Oncology*. 2018. Vol. 12. P. 1-10. <https://doi.org/10.1177/1179554918790563>

- [3] The 2019 WHO classification of tumours of the breast / H. P. Tan, I. Ellis, K. Allison et al. *Histopathology*. 2020. P. 10.1111/his.14091. <https://doi.org/10.1111/his.14091>
- [4] Wahba H. A., El-Hadaad H. A. Current approaches in treatment of triple-negative breast cancer. *Cancer biology & medicine*. 2015. Vol. 12, Iss. 2. P.106-116. <https://doi.org/10.7497/j.issn.2095-3941.2015.0030>
- [5] Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy / C. Denkert, G. von Minckwitz, S. Darb-Esfahani et al. *The Lancet. Oncology*. 2018. Vol. 19, Iss. 1. P. 40-50. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(17\)30904-x](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(17)30904-x)
- [6] Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Triple Negative Breast Cancer: The Future of Immune Targeting / P. García-Tejido, M. L. Cabal, I. P. Fernández et al. *Clinical Medicine Insights. Oncology*. 2016. Vol. 10, Iss. 1. P. 31-39. <https://doi.org/10.4137/CMO.S34540>
- [7] Higher densities of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells are associated with better prognosis in triple-negative breast cancer / J. Yeong, A. A. Thike, J. C. Lim et al. *Breast cancer research and treatment*. 2017. Vol. 163, Iss. 1. P. 21-35. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4161-4>
- [8] Heterogeneity of tumour-infiltrating lymphocytes in breast cancer and its prognostic significance / M. Althobiti, M. A. Aleskandarany, C. Joseph et al. *Histopathology*. 2018. Vol. 73, Iss. 6. P. 887-896. <https://doi.org/10.1111/his.13695>
- [9] Intratumoral CD103-positive tumour-infiltrating lymphocytes are associated with favourable prognosis in patients with triple-negative breast cancer / M. H. Park, S. Y. Kwon, J. E. Choi et al. *Histopathology*. 2020. Vol. 74, Iss. 4. P. 560-569. <https://doi.org/10.1111/his.14126>
- [10] The Immunoscore: Colon Cancer and Beyond / H. K. Angell, D. Bruni, J. C. Barrett et al. *Clinical Cancer Research*. 2020. Vol. 26, Iss. 2. P. 332-339. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1851>
- [11] Bibeau F., Galon J., Mlecnik B., Mariot F., et al (2016). Validation of the immunoscore (IM) as a prognostic marker in stage I/II/III colon cancer: results of a worldwide consortium-based analysis of 1,336 patients. *J. Clin. Oncol.* 34(suppl): abstr 3500. *Colon Rectum*. 2016. Vol. 10. P. 197-199. <https://doi.org/10.1007/s11725-016-0664-4>
- [12] Greene F. L., Sobin L. H. A worldwide approach to the TNM staging system: collaborative efforts of the AJCC and UICC. *Journal of surgical oncology*. 2009. Vol. 99, Iss. 5. P. 269-272. <https://doi.org/10.1002/jso.21237>
- [13] The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014 / R. Salgado, C. Denkert, S. Demaria et al. *Annals of Oncology*. 2015. Vol. 26, Iss. 2. P. 259-271. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdl450>
- [14] Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZ' for medical statistics. *Bone marrow transplantation*. 2013. Vol. 48, Iss. 3. P. 452-458. <https://doi.org/10.1038/bmt.2012.244>
- [15] Soysal S. D., Tzankov A., Muenst S. E. Role of the Tumor Microenvironment in Breast Cancer. *Pathobiology*. 2015. Vol. 82, Iss. 3-4. P. 142-152. <https://doi.org/10.1159/000430499>
- [16] Clinicopathological predictors of long-term benefit in breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy / M. Galvez, C. A. Castaneda, J. Sanchez et al. *World Journal of Clinical Oncology*. 2018. Vol. 9, Iss. 2. P. 33-41. <https://doi.org/10.5306/wjco.v9.i2.33>
- [17] Prognostic and predictive impacts of tumor-infiltrating lymphocytes differ between Triple-negative and HER2-positive breast cancers treated with standard systemic therapies / A. I. Hida, Y. Sagara, D. Yotsumoto et al. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2016. Vol. 158, Iss. 1. P. 1-9. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3848-2>
- [18] Defining lymphocyte-predominant breast cancer by the proportion of lymphocyte-rich stroma and its significance in routine histopathological diagnosis / H. Ohtani, K. Mori-Shiraishi, M. Nakajima et al. *Pathology International*. 2015. Vol. 65, Iss. 12. P. 644-651. <https://doi.org/10.1111/pin.12355>
- [19] International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study / F. Pagès, B. Mlecnik, F. Mariot et al. *Lancet*. 2018. Vol. 39, Iss. 10135. P. 2128-2139. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30789-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30789-X)
- [20] Comprehensive evaluation of methods to assess overall and cell-specific immune infiltrates in breast cancer / I. Nederlof, D. De Bortoli, Y. Bareche et al. *Breast Cancer Research*. 2019. Vol. 21, Iss. 1. P. 151. <https://doi.org/10.1186/s13058-019-1239-4>
- [21] Interobserver Variability in Scoring Percentages of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Core Needle Biopsies / B. Hatfield, M. Idowu, P. Zot, V. Robila. *American Journal of Clinical Pathology*. 2018. Vol. 150, Suppl. 1. P. S27-S28. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqy090.068>
- [22] Prognostic and predictive value of tumor infiltrating lymphocytes in early breast cancer / C. Criscitello, A. Esposito, D. Trapani, G. Curigliano *Cancer Treatment Review*. 2016. Vol. 50. P. 205-207. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2016.09.019>
- [23] Predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes to pathological complete response in neoadjuvant treated triple-negative breast cancers / M. Ruan, T. Tian, J. Rao et al. *Diagnostic Pathology*. 2018. Vol. 13, Iss. 1. P. 66. <https://doi.org/10.1186/s13000-018-0743-7>
- [24] The prognostic value of tumour-stroma ratio in primary breast cancer with special attention to triple-negative tumours: a review / C. Kramer, K. Vangangelt, G. W. van Pelt et al. *Breast cancer research and treatment*. 2019. Vol. 173, Iss. 1. P. 55-64. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4987-4>
- [25] Prognostic value of tumor-stroma ratio combined with the immune status of tumors in invasive breast carcinoma / K. M. Vangangelt, G. W. van Pelt, C. C. Engels et al. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2018. Vol. 168, Iss. 3. P. 601-612. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4617-6>
- [26] Zhang L., Wang X. I., Zhang S. Tumor-infiltrating lymphocyte volume is a better predictor of neoadjuvant therapy response and overall survival in triple-negative invasive breast cancer. *Human Pathology*. 2018. Vol. 80. P. 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.05.024>
- [27] Tumor-Infiltrating Lymphocyte Volume Is a Better Predictor of Disease-Free Survival Than Stromal Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Invasive Breast Carcinoma / E. V. Fard, Y. Ali, X. I. Wang et al. *American Journal of Clinical Pathology*. 2019. Vol. 152, Iss. 5. P. 656-665. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqz088>

## References

- [1] Grybach, S. M., Polishchuk, L. Z., & Chekhun, V. F. (2018). Analysis of the survival of patients with breast cancer depending on age, molecular subtype of tumor and metabolic syndrome. *Experimental oncology*, 40(3), 243-248. [https://doi.org/10.31768/2312-8852.2018.40\(3\):243-248](https://doi.org/10.31768/2312-8852.2018.40(3):243-248)
- [2] Gonçalves, H., Jr, Guerra, M. R., Duarte Cintra, J. R., Fayer, V. A., Brum, I. V., & Bustamante Teixeira, M. T. (2018). Survival Study of Triple-Negative and Non-Triple-Negative Breast Cancer in a Brazilian Cohort. *Clinical Medicine Insights. Oncology*, 12, 1179554918790563. <https://doi.org/10.1177/1179554918790563>
- [3] Tan, H. P., Ellis, I., Allison, K., Brogi, E., Fox, S. B., Lakhani, S., Lazar, A. J., Morris, E. A., Sahin, A., Salgado, R., Sapino, A., Sasano, H., Schnitt, S., Sotiriou, C., van Diest, P., White, V. A., Lokuhetty, D., Cree, I. A., & WHO Classification of Tumours Editorial Board (2020). The 2019 WHO classification of tumours of the breast. *Histopathology*, 10.1111/his.14091. Advance online publication. <https://doi.org/10.1111/his.14091>
- [4] Wahba, H. A., & El-Hadaad, H. A. (2015). Current approaches in treatment of triple-negative breast cancer. *Cancer biology & medicine*, 12(2), 106-116. <https://doi.org/10.7497/j.issn.2095-3941.2015.0030>
- [5] Denkert, C., von Minckwitz, G., Darb-Esfahani, S., Lederer, B., Heppner, B. I., Weber, K. E., ... Loibl, S. (2018). Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *The Lancet. Oncology*, 19(1), 40-50. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30904-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30904-X)
- [6] García-Tejido, P., Cabal, M. L., Fernández, I. P., & Pérez, Y. F. (2016). Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Triple Negative Breast Cancer: The Future of Immune Targeting. *Clinical Medicine Insights. Oncology*, 10(Suppl 1), 31-39. <https://doi.org/10.4137/CMO.S34540>
- [7] Yeong, J., Thike, A. A., Lim, J. C., Lee, B., Li, H., Wong, S. C., Hue, S. S., Tan, P. H., & Iqbal, J. (2017). Higher densities of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells are associated with better prognosis in triple-negative breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 163(1), 21-35. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4161-4>
- [8] Althobiti, M., Aleskandarany, M. A., Joseph, C., Toss, M., Mongan, N., Diez-Rodriguez, M., Nolan, C. C., Ashankyti, I., Ellis, I. O., Green, A. R., & Rakha, E. A. (2018). Heterogeneity of tumour-infiltrating lymphocytes in breast cancer and its prognostic significance. *Histopathology*, 73(6), 887-896. <https://doi.org/10.1111/his.13695>
- [9] Park, M. H., Kwon, S. Y., Choi, J. E., Gong, G., & Bae, Y. K. (2020). Intratumoral CD103-positive tumour-infiltrating lymphocytes are associated with favourable prognosis in patients with triple-negative breast cancer. *Histopathology*, 77(4), 560-569. <https://doi.org/10.1111/his.14126>
- [10] Angell, H. K., Bruni, D., Barrett, J. C., Herbst, R., & Galon, J. (2020). The Immunoscore: Colon Cancer and Beyond. *Clinical cancer research*, 26(2), 332-339. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1851>
- [11] Bibeau, F. (2016). Galon J., Mlecnik B., Mariot F., et al. (2016) Validation of the immunoscore (IM) as a prognostic marker in stage I/II/III colon cancer: Results of a worldwide consortium-based analysis of 1,336 patients. *J. clin. oncol.* 34(suppl): Abstr 3500. *Colon and Rectum*, 10(3), 197-199. <https://doi.org/10.1007/s11725-016-0664-4>
- [12] Greene, F. L., & Sobin, L. H. (2009). A worldwide approach to the TNM staging system: collaborative efforts of the AJCC and UICC. *Journal of surgical oncology*, 99(5), 269-272. <https://doi.org/10.1002/jso.21237>
- [13] Salgado, R., Denkert, C., Demaria, S., Sirtaine, N., Klauschen, F., Pruneri, G., Wienert, S., Van den Eynden, G., Baehner, F. L., Penault-Llorca, F., Perez, E. A., Thompson, E. A., Symmans, W. F., Richardson, A. L., Brock, J., Criscitello, C., Bailey, H., Ignatiadis, M., Floris, G., Sparano, J., ... International TILs Working Group 2014 (2015). The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast

- cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of oncology*, 26(2), 259-271. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu450>
- [14] Kanda, Y. (2013). Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZ' for medical statistics. *Bone marrow transplantation*, 48(3), 452-458. <https://doi.org/10.1038/bmt.2012.244>
- [15] Soysal, S. D., Tzankov, A., & Muenst, S. E. (2015). Role of the Tumor Microenvironment in Breast Cancer. *Pathobiology*, 82(3-4), 142-152. <https://doi.org/10.1159/000430499>
- [16] Galvez, M., Castaneda, C. A., Sanchez, J., Castillo, M., Rebaza, L. P., Calderon, G., Cruz, M., Cotrina, J. M., Abugattas, J., Dunstan, J., Guerra, H., Mejia, O., & Gomez, H. L. (2018). Clinicopathological predictors of long-term benefit in breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *World journal of clinical oncology*, 9(2), 33-41. <https://doi.org/10.5306/wjco.v9.i2.33>
- [17] Hida, A. I., Sagara, Y., Yotsumoto, D., Kanemitsu, S., Kawano, J., Baba, S., Rai, Y., Oshiro, Y., Aogi, K., Sagara, Y., & Ohi, Y. (2016). Prognostic and predictive impacts of tumor-infiltrating lymphocytes differ between Triple-negative and HER2-positive breast cancers treated with standard systemic therapies. *Breast cancer research and treatment*, 158(1), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3848-2>
- [18] Ohtani, H., Mori-Shiraishi, K., Nakajima, M., & Ueki, H. (2015). Defining lymphocyte-predominant breast cancer by the proportion of lymphocyte-rich stroma and its significance in routine histopathological diagnosis. *Pathology international*, 65(12), 644-651. <https://doi.org/10.1111/pin.12355>
- [19] Pagès, F., Mlecnik, B., Marliot, F., Bindea, G., Ou, F. S., Bifulco, C., Lugli, A., Zlobec, I., Rau, T. T., Berger, M. D., Nagtegaal, I. D., Vink-Börger, E., Hartmann, A., Geppert, C., Kolweller, J., Merkel, S., Grützmann, R., Van den Eynde, M., Jouret-Mourin, A., Kartheuser, A., ... Galon, J. (2018). International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet*, 391(10135), 2128-2139. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30789-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30789-X)
- [20] Nederlof, I., De Bortoli, D., Bareche, Y., Nguyen, B., de Maaker, M., Hooijer, G., Buisseret, L., Kok, M., Smid, M., Van den Eynden, G., Brinkman, A. B., Hudecek, J., Koster, J., Sotiriou, C., Larsimont, D., Martens, J., van de Vijver, M. J., Horlings, H. M., Salgado, R., Biganzoli, E., ... Desmedt, C. (2019). Comprehensive evaluation of methods to assess overall and cell-specific immune infiltrates in breast cancer. *Breast cancer research*, 21(1), 151. <https://doi.org/10.1186/s13058-019-1239-4>
- [21] Hatfield, B., Idowu, M., Zot, P., & Robila, V. Interobserver Variability in Scoring Percentages of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Core Needle Biopsies, *American Journal of Clinical Pathology*, 150(suppl\_1), S27-S28. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aaq090.068>
- [22] Criscitiello, C., Esposito, A., Trapani, D., & Curigliano, G. (2016). Prognostic and predictive value of tumor infiltrating lymphocytes in early breast cancer. *Cancer treatment reviews*, 50, 205-207. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2016.09.019>
- [23] Ruan, M., Tian, T., Rao, J., Xu, X., Yu, B., Yang, W., & Shui, R. (2018). Predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes to pathological complete response in neoadjuvant treated triple-negative breast cancers. *Diagnostic pathology*, 13(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s13000-018-0743-7>
- [24] Kramer, C., Vangangelt, K., van Pelt, G. W., Dekker, T., Tollenaar, R., & Mesker, W. E. (2019). The prognostic value of tumour-stroma ratio in primary breast cancer with special attention to triple-negative tumours: a review. *Breast cancer research and treatment*, 173(1), 55-64. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4987-4>
- [25] Vangangelt, K., van Pelt, G. W., Engels, C. C., Putter, H., Liefers, G. J., Smit, V., Tollenaar, R., Kuppen, P., & Mesker, W. E. (2018). Prognostic value of tumor-stroma ratio combined with the immune status of tumors in invasive breast carcinoma. *Breast cancer research and treatment*, 168(3), 601-612. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4617-6>
- [26] Zhang, L., Wang, X. I., & Zhang, S. (2018). Tumor-infiltrating lymphocyte volume is a better predictor of neoadjuvant therapy response and overall survival in triple-negative invasive breast cancer. *Human pathology*, 80, 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.05.024>
- [27] Vaziri Fard, E., Ali, Y., Wang, X. I., Saluja, K., Covinsky, M. H., Wang, L., & Zhang, S. (2019). Tumor-Infiltrating Lymphocyte Volume Is a Better Predictor of Disease-Free Survival Than Stromal Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Invasive Breast Carcinoma. *American journal of clinical pathology*, 152(5), 656-665. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aaq088>