

Иммунологическая характеристика первичной опухоли и костного мозга у больных раком молочной железы

Д. А. Рябчиков¹, С. В. Чулкова^{1,2}, С. Д. Желтиков^{1,3}, А. А. Осипова³, Н. Н. Тупицын¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Минздрава России, Москва

РЕЗЮМЕ

Введение. Внедрение в практику иммунопрепаратов в терапии рака требует тщательного анализа биологических особенностей опухоли. Поэтому изучение иммунофенотипа опухоли является ведущим научным направлением. Молекулы главного комплекса гистосовместимости рассматриваются как перспективные маркеры для оценки возможности применения иммунотерапии.

Цель. Изучение иммунофенотипа первичной опухоли при молекулярных подтипах рака молочной железы и анализ его в зависимости от частоты поражения костного мозга.

Материалы и методы. В исследование включены 99 больных раком молочной железы. Изучены образцы опухолевой ткани и костного мозга. Стадии: T1 (51,5%), T2 (44,4%), T3 (2,0%). Метастатическое поражение лимфоузлов (N+) отмечено в 39,4% (n = 39) случаев. Иммунофенотипирование опухоли проводилось на криостатных срезах методом иммунофлуоресценции. Использованы антитела к HLA-I, HLA-II, KL1, FITC-меченые F(ab2) – фрагменты антисыворотки (Becton Dickinson, США). Костный мозг изучался морфологическим (микроскоп Zeiss, Axioskop, Германия) и иммунологическим методами (проточная цитометрия, FACS Canto II, США), анализ данных – программа Kaluza Analysis 2.1. Использованы моноклональные антитела CD45, EPCAM (Becton Dickinson, США). Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета IBM-SPSS Statistics 21.

Результаты. Антген HLA-I класса отсутствует или экспрессируется единичными опухолевыми клетками в 50,8% случаев люминального рака молочной железы. Выраженная или частичная экспрессия отмечена в 36,9% наблюдений. При Erb-B2 подтипе во всех образцах имелась экспрессия антигенов HLA-I класса. Утрата антигена HLA-I или слабая экспрессия наблюдались в 30% (3/10) случаев трижды-негативного подтипа, в таком же проценте случаев отмечена экспрессия молекул HLA-II класса. Достоверных различий в экспрессии молекул HLA между подтипами не выявлено. При помощи проточной цитометрии поражение костного мозга установлено в 40% (26/65) случаев. Не установлено значимых связей поражения костного мозга с размерами первичной опухоли, стадией, степенью злокачественности рака молочной железы, экспрессией молекул HLA.

Заключение. Экспрессия молекул HLA не различалась в зависимости от биологического подтипа. Частота поражения костного мозга составила 40% и не зависела от экспрессии молекул HLA-I, -II класса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак молочной железы, иммунофенотип, HLA-I, HLA-II, костный мозг.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Immunological characteristics of primary tumor and bone marrow in patients with breast cancer

D. A. Ryabchikov¹, S. V. Chulkova^{1,2}, S. D. Zheltikov^{1,3}, A. A. Osipova³, N. N. Tupitsyn¹

¹National Medical Research Centre of Oncology n.a. N. N. Blokhin, Moscow, Russia

²Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Moscow, Russia

³Moscow State University of Medicine and Dentistry n.a. A. I. Evdokimov, Moscow, Russia

SUMMARY

Introduction. The Implementation of immunotherapy in cancer requires a thorough analysis of the biological characteristics of the tumor. Therefore, the study of tumor immunophenotype is the leading scientific direction. Molecules of the major histocompatibility complex are considered as promising markers for evaluating the possibility of using immunotherapy.

Objective. To study the immunophenotype of the primary tumor in molecular subtypes of breast cancer and analyze it depending on the frequency of bone marrow damage.

Materials and methods. The study included 99 patients with breast cancer. Tumor tissue and bone marrow samples were studied. Stages: T1 (51.5%), T2 (44.4%), T3 (2.0%). Metastatic involvement of lymph nodes (N+) was noted in 39.4% (n = 39) of cases. Immunophenotyping of the tumor was carried out on cryostat sections by immunofluorescence. Antibodies to HLA-I, HLA-II, KL1, FITC-labeled F(ab2) antiserum fragments (Becton Dickinson, USA) were used. The bone marrow was studied by morphological (Zeiss microscope, Axioskop, Germany) and immunological methods (flow cytometry, FACS Canto II, USA), data analysis – Kaluza Analysis v2.1 software. Used monoclonal antibodies: CD45, EPCAM (Becton Dickinson, USA). Statistical data processing was performed using the IBM-SPSS Statistics 21 package.

Results. The HLA-I antigen is absent or expressed by single tumor cells in 50.8% of cases of luminal breast cancer. Pronounced or partial expression was noted in 36.9% of cases. With the Erb-B2 subtype, all samples had the expression of antigens of the HLA-I class. Loss of HLA-I antigen or weak expression was observed in 30% (3/10) of cases of the triple-negative subtype, in the same percentage of cases the expression of HLA-II molecules was noted. There were no significant differences in the expression of HLA molecules between subtypes. Using flow cytometry, bone marrow involvement was detected in 40% (26/65) of cases. There were no significant relationships between bone marrow damage and the size of the primary tumor, stage, grade of breast cancer, or expression of HLA molecules.

Conclusions. The expression of HLA molecules does not differ in significant differences depending on the biological subtype. The frequency of bone marrow damage did not depend on the expression of HLA-I, class II molecules.

KEYWORDS: breast cancer, immunophenotype, HLA-I, HLA-II, bone marrow.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was performed without external funding.

Введение

Рак молочной железы является одним из самых распространенных онкозаболеваний у женщин во всем мире. Благодаря внедрению современных стратегий лекарственной терапии в результате подразделения рака молочной железы на молекулярно-биологические подтипы показатели выживаемости больных раком молочной железы улучшились [1, 2]. Наравне с этим иммунологические показатели опухоли, такие как экспрессия молекул HLA-I и -II класса, в последнее время рассматриваются как ключевые в контексте предсказания эффективности иммунотерапии. Молекулы главного комплекса гистосовместимости, являясь примитивными рецепторами для антигенных пептидов, опосредуют Т-клеточный противоопухолевый ответ [3]. Антигены главного комплекса гистосовместимости экспрессируются на всех ядродержащих клетках, включая эпителиоциты молочной железы. Они обеспечивают реализацию противоопухолевого иммунного ответа Т-лимфоцитами, участвуя в процессах презентации антигенов.

При раке молочной железы, как и при многих других видах злокачественных опухолей, установлено изменение экспрессии данных молекул [4, 5]. Возможно снижение экспрессии HLA I класса на опухолевых клетках, что позволяет клеткам рака избежать цитотоксической атаки Т-лимфоцитами и делает возможным прогрессирование опухоли [4]. По данным ряда источников, экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости может коррелировать с клинико-морфологическими характеристиками опухоли, продолжительностью жизни больных [6]. Поэтому многочисленные научные исследования направлены на изучение клинической значимости экспрессии молекул HLA-I и -II класса при раке молочной железы, в особенности при разных биологических подтипах [7].

Все больше внимания в последнее время уделяется изучению костного мозга при злокачественных опухолях, поражение которого установлено при раке яичников, раке легкого, раке молочной железы, меланоме [8–11]. Показано важное прогностическое значение поражения костного мозга [10, 11]. Довольно часто метастазы в костном мозге наблюдаются на ранних стадиях опухолевого процесса, что может свидетельствовать о недостаточной эффективности иммунного надзора.

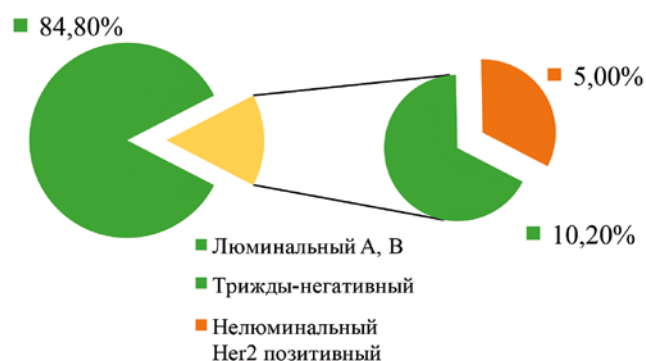


Рисунок 1. Распределение больных в зависимости от молекулярного подтипа рака молочной железы.

Целью данного исследования явилось изучение экспрессии молекул HLA I и II класса в зависимости от биологического подтипа и анализ связи экспрессионного подтипа с поражением костного мозга.

Материалы и методы

В работу включены 99 больных раком молочной железы, которые прошли обследование и получили лечение в условиях ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина» Минздрава России. Диагноз у всех больных был поставлен на основании клинических, рентгенологических и морфологических данных. Средний возраст больных составил $54,9 \pm 1,2$ года. По результатам патоморфологического исследования в 51,5% опухоль соответствовала T1, в 44,4% – T2, в 2,0% – T3. Метастатическое поражение лимфоузлов (N+) установлено в 39,4% ($n = 39$), в остальных случаях лимфоузлы были интактны (N0). В основном опухоли были II степени злокачественности, что составило 80,8%. Подтипы рака молочной железы распределились следующим образом: люминальный подтип – 84,8% ($n = 83$) больных, Erb-B2 сверхэкспрессирующий (HER2+) подтип – 5,0% случаев ($n = 5$), трижды негативный подтип – 10,2% ($n = 10$). У 39,7% ($n = 33$) выявлен подтип А; у 49,5% ($n = 41$) – В-HER2-негативный подтип; у 10,8% ($n = 9$) – В-HER2-позитивный подтип (рис. 1).

Исследование экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I, HLA-II на клетках первичной опухоли и исследование костного мозга выполнено в лаборатории иммунологии гемопоэза НИИ КО ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина». Материал для исследования был получен до начала лечения. Для оценки экспрессии HLA-I, HLA-II детерминант применялся метод непрямой иммунофлуоресценции. Из первичной опухоли приготавливали криостатные срезы. Их помещали на предметные стекла, фиксировали в течение в ацетоне 10 минут при температуре 4 °C, отмывали в среде 199 (pH: 7,2–7,4). После этого на срезы наносили моноклональные антитела к HLA-I, HLA-II, KL, не конъюгированные с флюорохромами (Becton Dickinson, США), инкубировали 30 минут. Отмывали с помощью среды 199, а затем наносили ФИТЦ-меченые F(ab2) фрагменты антисыворотки, инкубировали 30 минут. Препараты отмывали, консервировали 50%-ным глицерином. Готовые препараты закрывали покровными стеклами. Реакция оценивалась полуквантитативным методом (микроскоп Zeiss, Axioskop, Германия). Выделяли два типа реакции:

- 1) отрицательная: единичные антигенположительные опухолевые клетки либо полное отсутствие экспрессии изучаемого антигена;
- 2) частичная или выраженная: 10–80% клеток или все опухолевые клетки экспрессируют анализируемый антиген.

Костный мозг был получен путем стеральной пункции. Изучение костного мозга проводили двумя методами – морфологическим и иммунофлуоресцентным. Для морфологического исследования костного мозга из каждого пункта приготавливали по шесть мазков-препаратов, которые окрашивали по Романовскому. Оценка клеточности костного мозга осуществлялась на гематологическом анализаторе (Micros ES 60 HORIBA ABX). При световой микроскопии врачами-

морфологами производились подсчет клеточных элементов миелиграммы, а также поиск опухолевых клеток. Костный мозг для реакции иммунофлуоресценции после доставки в лабораторию переливали в пробирку, добавляли раствор PBS, отмывали, центрифугировали, надосадочную жидкость сливали. В полученную суспензию клеток добавляли лизирующий раствор для устранения примеси эритроцитов. После инкубации проводили отмывание раствором PBS, центрифугировали, надосадочную жидкость сливали. Суспензию клеток вносили в пробирки и добавляли антитела CD45, CD326, конъюгированные напрямую с флюорохромами (табл. 1). Инкубировали 30 минут, отмывали раствором PBS. Сбор клеток осуществляли на проточном цитометре FACSCanto II (США). Всего собирали 20 млн миеокариоцитов или все клетки образца. Оценку экспрессии антигенов проводили с помощью программы Kaluza Analysis 2.1 (Beckman Coulter, США). За пороговый уровень была принята 1 клетка на 10 млн миеокариоцитов. Диссеминированные опухолевые клетки в костном мозге определялись на основании яркой экспрессии антигена ЕрСAM и отсутствию антигена CD45.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета IBM SPSS Statistics 21. Осуществляли анализ корреляций по Пирсону или Спирмену, подсчет распределения частот по категориям с непрерывными и дискретными переменными (критерий Фишера и χ^2 по Пирсону). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При оценке экспрессии мономорфных HLA детерминант I и II класса при молекулярных подтипах рака молочной железы установлено следующее. В 50,8% (31/61) случаев на мембране опухолевых клетках молекулы HLA-I класса отсутствовали или определялись на единичных клетках при люминальном подтипе. В остальных случаях отмечена выраженная или частичная экспрессия данного антигена. Снижение уровней экспрессии молекул HLA I класса сочеталось с отсутствием на мембране опухолевых клеток антигенов HLA II класса, что наблюдалось в 63,1% (36/57) случаев люминального рака молочной железы. Выраженная или частичная реакция отмечена в 36,9% (21/57) наблюдений. Таким образом, частота экспрессии HLA-II класса при люминальном подтипе сходна с экспрессией HLA-I класса.

Далее проведен анализ экспрессии мономорфных детерминант главного комплекса гистосовместимости при нелюминальных подтипах. При анализе Erb-B2 сверхэкспрессирующего подтипа получены иные данные. Он характеризовался отсутствием экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости HLA II класса в 100% случаев. При этом во всех образцах имелась экспрессия опухолевыми клетками антигенов HLA I класса. Оценка экспрессии HLA-I на клетках трижды негативного подтипа рака молочной железы установила, что в 70% (7/10) исследуемых образцов опухоли молекулы присутствовали на мембране опухолевых клеток. Утрата антигена HLA-I класса или слабая экспрессия наблюдались в 30% (3/10) случаев. Молекула HLA-II не экспрессировалась в 70,0% (7/10) наблюдений, а экспрессия ее отмечена в 30% (3/10), что сопоставимо с данными, полученными при люминальном подтипе рака молочной железы. По данным литературы, отсутствие экспрессии молекул

Таблица 1
Моноклональные антитела для исследования костного мозга, первичной опухоли

№	Антитело	Флуоресцентная метка	Производитель
1	CD45	V500-A, V450, PerCP	Becton Dickinson, США
2	ЕрСAM	FITC, PE,	Becton Dickinson, США
3	HLA I класса	–	Becton Dickinson, США
4	HLA II класса	–	Becton Dickinson, США
5	KL-1	–	Immunotech, Marseille, Франция
6	F(ab2)-фрагменты антисыворотки	FITC	Becton Dickinson, США

Таблица 2
Экспрессия молекул HLA-I, HLA-II класса при различных молекулярных подтипах рака молочной железы

Экспрессия антигена	Молекулярный подтип рака молочной железы					
	ЛРМЖ		Erb-B2		ТНРМЖ	
	Абс. число	Процент	Абс. число	Процент	Абс. число	Процент
HLA-I (–)	31	50,8	0	0	3	30,0
HLA-I (+)	30	49,2	2	100	7	70,0
HLA-II (–)	36	63,1	3	100	7	70,0
HLA-II (+)	21	36,9	–	–	3	30,0

Примечание: ЛРМЖ – люминальный (А- и В-подтипы) рак молочной железы, ТНРМЖ – трижды негативный рак молочной железы; $p > 0,05$.

HLA I, HLA II класса при раке молочной железы отмечается довольно часто, что согласуется с нашими данными [12–14]. Изученные молекулярные подтипы рака молочной железы характеризуются снижением экспрессии молекул HLA I класса, кроме Erb-B2 сверхэкспрессирующего, при котором все случаи были антигенпозитивными. Считается, что сохранение экспрессии HLA-I может быть связано с ранними стадиями рака [13]. С другой стороны, такое различие может быть признаком отдельного подтипа рака молочной железы. Сообщается, что экспрессия антигенов HLA I класса при трижды негативном подтипе составила 81%, что, по сравнению с другими подтипами, значительно выше [14]. В нашей работе антигенпозитивные случаи данного подтипа достигли 70%. Однако различия не являются достоверными.

Таким образом, проведенный нами анализ HLA-иммунофенотипа опухолевых клеток установил отсутствие статистически значимых различий между изученными молекулярными подтипами рака молочной железы.

Далее нами изучена экспрессия молекул гистосовместимости HLA-I, HLA-II в пределах люминальных подтипов рака молочной железы (табл. 3). Оказалось, что частота утраты антигенов HLA-I класса опухолевыми клетками при люминальном А- и В-подтипах не различалась и составила 54,5, 51,4 и 25,0% соответственно. Отсутствие на мембране HLA-II антигенов чаще наблюдалось (в 100% случаев) при люминальном В-HER2+ подтипе, тогда как при люминальном А раке молочной железы – в 70%, однако данные недостоверны.

Следующим этапом выполнялось исследование костного мозга. При микроскопии препаратов костного мозга опухолевые клетки ни в одном аспирате обнаружены не были. При помощи проточной цитометрии поражение костного

Таблица 3
Сравнение экспрессии HLA-I, HLA-II при люминальных А- и В-подтипах

Экспрессия антигена	А		В- Her2-		В- Her2+	
	Абс. число	Процент	Абс. число	Процент	Абс. число	Процент
HLA-I (-)	12	54,5	18	51,4	1	25,0
HLA-I (+)	10	45,5	17	48,6	3	75,
HLA-II (-)	14	70,0	19	55,9	3	100,0
HLA-II (+)	6	30,0	15	44,1	–	–

Примечание: $p > 0,05$

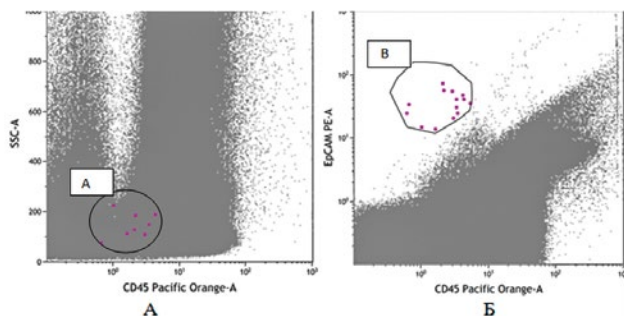


Рисунок 2. Детекция диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге (пример проточно-цитометрического анализа).

мозга установлено в 40% (26/65) случаев. Диссеминированные опухолевые клетки, выявленные в костном мозге, определялись на основании яркой экспрессии антигена эпителиально-клеточного антигена EpCAM и отсутствия экспрессии панлейкоцитарного антигена CD45. Пример анализа приведен на рисунке 2. На первом этапе оценивалась экспрессия панлейкоцитарного антигена CD45⁺ против параметра бокового светорассеяния лазерного луча, характеризующего гранулярность клетки: диссеминированные опухолевые клетки имеют низкие характеристики бокового светорассеяния SSC (гейт А). Следующим шагом выполнена оценка экспрессии панэпителиального клеточного антигена EpCAM против экспрессии панлейкоцитарного антигена CD45⁺. Клетки, позитивные по EpCAM в сочетании с отсутствием экспрессии CD45, располагались в гейте В.

Нами не установлено статистически значимых связей поражения костного мозга с размерами первичной опухоли, стадией, степенью злокачественности рака молочной железы. Отметим, что минимальная частота поражения костного мозга наблюдалась при G1, а максимальная – при G2: 25,0 и 43,1% соответственно. Сравнение поражения костного мозга в зависимости от пролиферативной активности клеток рака молочной желез также не обнаружило достоверных различий. По результатам работ зарубежных авторов известно, что

Таблица 4
Частота поражения костного мозга в зависимости от экспрессии молекул HLA

Экспрессия молекул HLA на опухолевых клетках		Диссеминированные опухолевые клетки в костном мозге		p
		Не обнаружены	Обнаружены	
HLA-I (-)	Абс. число (%)	10 (38,5)	7 (43,8)	> 0,05
HLA-I (+)	Абс. число (%)	16 (61,5)	9 (56,3)	
HLA-II (-)	Абс. число (%)	16 (64,0)	10 (62,5)	> 0,05
HLA-II (+)	Абс. число (%)	9 (36,0)	6 (37,5)	

наличие опухолевых клеток в костном мозге ассоциировано с более крупными по размеру опухолями [15]. Также имеется указание на связь поражения костного мозга с рецепторным статусом опухоли к стероидным гормонам. В большинстве случаев обнаружения опухолевых клеток в костном мозге опухоли имели рецептор-негативный статус [15]. В работе отечественных авторов подтверждается достоверная связь высокой частоты поражения костного мозга и отсутствия экспрессии рецепторов стероидных гормонов [16].

Известно, что диссеминированные опухолевые клетки обладают отличительными биологическими свойствами, придающими им способность к выживанию даже в условиях лекарственной и лучевой терапии [17–19]. За счет упрощения антигенной структуры (снижение экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости) первичной опухоли осуществляется уклонение от иммунного контроля. Это обеспечивает возможность дальнейшего развития опухолевых клеток и через ряд микроразвитий приобретения иного экспрессионного профиля, за счет которого, как полагают исследователи, диссеминированные опухолевые клетки способны к длительной персистенции в костном мозге [20–24].

Есть ли связь между исходной экспрессией HLA-I, HLA-II детерминант клетками первичной опухоли и частотой обнаружения в костном мозге диссеминированных опухолевых клеток, мы проанализировали на следующем этапе нашей работы. При сопоставлении результатов оказалось, что существенных различий нет, данные представлены в таблице 4. Таким образом, согласно полученным результатам, похоже, что экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости клетками первичной опухоли не является определяющей в степени инвазивности и жизнеспособности клеток, которые способны достигнуть костного мозга. В то же время отсутствие экспрессии рецепторов к стероидным гормонам предоставляет опухолевым клеткам преимущество в выживании, что ассоциировано с частым поражением костного мозга [15, 16].

Сохраняется ли статус экспрессии рецепторов стероидных гормонов у диссеминированных клеток по сравнению с первичной опухолью? Известно, что многие клеточные факторы сопутствуют повышению метастатического потенциала, и очевидно, что рецептор-негативный статус опухоли не является определяющим. Показано, что рецептор-позитивный рак молочной железы характеризуется рядом неблагоприятных фенотипических признаков [25]. Кроме того, в эксперименте установлена способность дифференцированных опухолевых клеток рака молочной железы к стволовой пластичности и потенциальной возможности формирования метастатических колоний [26]. Это, безусловно, является интересным аспектом и может стать предметом дальнейших исследований.

Заключение

В работе проанализирована экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости (HLA-I, HLA-II) на мембране клеток при молекулярных подтипах рака молочной железы. Снижение экспрессии молекул HLA-I класса сочеталось с отсутствием на мембране опухолевых клеток антигенов HLA-II, что наблюдалось в более чем

половине случаев. При трижды негативном раке частота экспрессии выше, чем при люминальном подтипе, но различия недостоверны. Частота поражения костного мозга не зависела от экспрессии первичной опухолью молекул HLA-I, HLA-II.

Список литературы / References

1. American Cancer Society. Cancer Fact and Figures. 2020. 27 p.
2. Коваленко Е.И., Артамонова Е.В. Неoadъювантная терапия рака молочной железы. Значение резидуальной болезни. Медицинский алфавит. 2020; (20): 30–33. DOI: 10.33667/2078-5631-2020-20-30-33.
3. Kovalenko E.I., Artamonova E.V. Neoadjuvant therapy for breast cancer. Significance of residual disease. Medical Alphabet. 2020; (20): 30–33. DOI: 10.33667/2078-5631-2020-20-30-33.
4. Sabbatino F., Liguori L., Polcaro G. et al. Role of Human Leukocyte Antigen System as a Predictive Biomarker for Checkpoint-Based Immunotherapy in Cancer Patients. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 7295. DOI:10.3390/ijms21197295.
5. Bevilacqua G.R.F. da S., Giabardo T.A.S., Aparecida R.D. et al. Expression of the Classical and Nonclassical HLA Molecules in Breast Cancer. *International Journal of Breast Cancer*, vol. 2013. DOI: 10.1155/2013/250435.
6. Shukla A., Cloutier M., Santharam A.M. et al. The MHC Class-I Transactivator NLRC5: Implications to Cancer Immunology and Potential Applications to Cancer Immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 17; 22 (4): 1964. DOI: 10.3390/ijms22041964.PMID: 33671123.
7. Martin H.P., Brian L.H., Hans Ch.B. et al. Downregulation of antigen presentation-associated pathway proteins is linked to poor outcome in triple-negative breast cancer patient tumors. *Oncol Immunology*, 2017; 6:5, e1305531. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1305531.
8. Habashy H.O., Powe D.G., Staka C.M. et al. Transferrin receptor (CD71) is a marker of poor prognosis in breast cancer and can predict response to tamoxifen. *Breast Cancer Res Treat* 119, 283 (2010). DOI: 10.1007/s10549-009-0345-X.
9. Chernysheva O., Markina I., Demidov L. et al. Bone marrow involvement in melanoma. Potentials for detection of disseminated tumor cells and characterization of their subsets by flow cytometry. *Cells* 2019; 8: 627. DOI: 10.3390/cells8060627. PMID: 31234438.
10. Чулкова С.В., Кожоналиева А.М., Стилиди И.С., и др. Характеристика эритроидного ростка костного мозга у больных раком яичников. Мед. алфавит. 2021; 1:39–45. Chulkova S.V., Kozhonalieva A.M., Stilidi I.S., et al. Characteristics of the erythroid germ of the bone marrow in patients with ovarian cancer. *Med. Alfab.* 2021; 1: 39–45 (in Russian).
11. Чулкова С.В., Тупицын Н.Н., Джуманазаров Т.М. и др. Обнаружение диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге у больных немелкоклеточным раком легкого. Рос. биотерапевт. журн. 2020; 19 (3): 29–37. Chulkova S.V., Tupitsyn N.N., Dzumanazarov T.M., et al. Detection of disseminated tumor cells in the bone marrow in patients with non-small cell lung cancer. *Rus. Biotherapeut. Journ.* 2020; 19 (3): 29–37 (in Russian).
12. Ryabchikov D.A., Beznos O.A., Dudina I.A., et al. Disseminated tumor cells in patients with luminal breast cancer. *Rus. Biotherapeut. Journ.* 2018; 17 (1): 53–7 (in Russian).
13. Kaneko et al.: Clinical implication of HLA class I expression in breast cancer. *BMC Cancer* 2011, 11: 454. DOI: 10.1186/1471-2407-11-454.
14. Engai D.A., Poddubnaya I.V., Tupitsyn N.N. Особенности иммунофенотипа клеток рака молочной железы IIb стадии. Сибирский онкологический журнал. 2007; 4 (24): 66–69. Engai D.A., Poddubnaya I.V., Tupitsyn N.N. Features of the immunophenotype of stage IIb breast cancer cells. *Siberian Journal of Oncology*. 2007; 4 (24): 66–69.

Сведения об авторах

Рябчиков Денис Анатольевич, д.м.н., зав. отделением хирургического лечения опухолей молочной железы № 16 НИИ клинической онкологии¹. E-mail: dr.denis@mail.ru. ORCID: 0000-0003-2670-236

Чулкова Светлана Васильевна, к.м.н., доцент, с.н.с. лаборатории иммунологии гемопоэза НИИ клинической онкологии¹, доцент кафедры онкологии и лучевой терапии². E-mail: chulkova@mail.ru. ORCID: 0000-0003-4412-5019

Желтиков Сергей Дмитриевич, ординатор хирургического отделения № 16 НИИ клинической онкологии¹, ординатор кафедры ФДПО онкологии³. E-mail: dr.zheltikov@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5292-5924

Осипова Александра Александровна, аспирант кафедры ФДПО онкологии³. ORCID: 0000-0002-5292-5924

Тупицын Николай Николаевич, д.м.н., проф., рук. лаборатории иммунологии гемопоэза¹. E-mail: nntca@yahoo.com. ORCID: 0000-0003-3966-128X

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва

Автор для переписки: Рябчиков Денис Анатольевич. E-mail: dr.denis@mail.ru

Для цитирования: Рябчиков Д.А., Чулкова С.В., Желтиков С.Д., Осипова А.А., Тупицын Н.Н. Иммунологическая характеристика первичной опухоли и костного мозга у больных раком молочной железы. Медицинский алфавит. 2022; (31): 23–27. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-31-23-27>.

15. Sinn B.V., Weber K.E., Schmitt W.D. et al. Human leucocyte antigen class I in hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer: association with response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res* 21, 142, 2019. DOI: 10.1186/s13058-019-1231-Z.
16. Braun S., Vogl F.D., Naume B. et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *N Engl J Med.* 2005; 353: 793–802. DOI: 10.1056/NEJMoa050434.
17. Крохина О.В., Лелягин В.П., Тупицын Н.Н. и др. Иммуноморфологическая диагностика микрометастазов рака молочной железы в костный мозг. Опухоли женской репродуктивной системы 2005; (1): 70–3. Krokina O.V., Lelyagin V.P., Tupitsyn N.N. Immunomorphological diagnosis of micrometastases of breast cancer in the bone marrow. *Tumors of the Female Reproductive System* 2005; (1): 70–3.
18. Чулкова С.В., Чернышева О.А., Маркина И.Г. и др. Стволовые опухолевые клетки меланомы. Поражение костного мозга. Обзор и представление собственных данных. Вестник российского научного центра рентгенодиагностики. 2019; 4: 182–197. Chulkova S.V., Chernysheva O.A., Markina I.G. and other Stem tumor cells of melanoma. Bone marrow damage. Review and presentation of your own data. *Bulletin of the Russian Scientific Centre for Roentgen Radiology*. 2019; 4: 182–197.
19. Bartkowiak K., Effenberger K.E., Harder S., et al. Discovery of a novel unfolded protein response phenotype of cancer stem/progenitor cells from the bone marrow of breast cancer patients. *J Proteome Res* 2010; 9: 3158–3168. DOI: 10.1021/pr100039d. PMID: 20423148.
20. Sai B., Xiang J. Disseminated tumour cells in bone marrow are the source of cancer relapse after therapy *J Cell Mol Med.* 2018; 22: 5776–5786. DOI: 10.1111/jcmm.13867. PMID: 30255991.
21. Тупицын Н.Н. Циркулирующие и диссеминированные раковые клетки при раке молочной железы и раке яичников. Онкогинекология 2013; (1): 12–8. Tupitsyn N.N. Circulating and disseminated cancer cells in breast and ovarian cancer. *Oncogynecology* 2013; (1): 12–8.
22. Чулкова С.В., Маркина И.Г., Антипова А.С., Грищенко Н.В., Пустынский И.В., Егорова А.В., Рыбчиков Д.А., Синельников И.Е. Роль стволовых опухолевых клеток в канцерогенезе и прогнозе меланомы. Вестник Российского научного центра рентгенодиагностики. 2018; 18 (4): 100–16. Chulkova S.V., Markina I.G., Antipova A.S., Grishchenko N.V., Pustynsky I.V., Egorova A.V., Ryabchikov D.A., Sinelnikov I.E. The role of tumor stem cells in carcinogenesis and melanoma prognosis. *Bulletin of the Russian Scientific Center for Roentgen Radiology*. 2018; 18 (4): 100–16.
23. De Sousa VML, Carvalho L Heterogeneity in Lung Cancer. *Pathobiology*. 2018; 85 (1–2): 96–107. DOI: 10.1159/000487440. Epub 2018 Apr 10.
24. Wimberger P., Heubner M., Otterbach F., Fehm T., Kimmig R., Kasimir-Bauer S: Influence of platinum-based chemotherapy on disseminated tumor cells in blood and bone marrow of patients with ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2007, 107 (2): 331–338.
25. Чулкова С.В. Биомаркеры стволовых клеток желудка. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018; 21 (10): 11–7. DOI: 10.29296/25877313-2018-10-02. Chulkova S.V. Biomarkers of gastric stem cells. *Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2018; 21 (10): 11–7. DOI: 10.29296/25877313-2018-10-02.
26. Артамонова Е.В. Роль иммунофенотипирования в диагностике и прогнозе рака молочной железы. Иммунология гемопоэза. 2009; 1 (9): 8–52. Artamonova E.V. The role of immunophenotyping in the diagnosis and prognosis of breast cancer. *Immunology of Hematopoiesis*. 2009; 1 (9): 8–52.
27. Ибрагимова М.К. Изменение генетического ландшафта опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии: связь с метастазированием 14.01.12–онкология (биологические науки). Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. 2021. Ibragimova M.K. Changes in the genetic landscape of breast tumors during neoadjuvant chemotherapy: association with metastasis 14.01.12–Oncology (biological sciences). Thesis for the degree of candidate of biological sciences, 2021.

Статья поступила: 04.10.22

Получена после рецензирования: 21.11.22

Принята в печать: 24.11.22

About authors

Ryabchikov Denis A., DM Sci (habil.), head of Dept of Surgical Treatment of Breast Tumors No. 16¹. E-mail: dr.denis@mail.ru. ORCID: 0000-0003-2670-236

Chulkova Svetlana V., PhD, associate professor, senior researcher at Laboratory of Immunology of Haematopoiesis¹, associate professor at Dept of Oncology and Radiotherapy². E-mail: chulkova@mail.ru. ORCID: 0000-0003-4412-5019

Zheltikov Sergei D., resident at Surgical Dept No. 16 of Research Institute of Clinical Oncology¹, resident at Dept of Clinical Oncology³. E-mail: dr.zheltikov@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5292-5924

Osipova Aleksandra A., postgraduate student of Dept of Oncology³. ORCID: 0000-0002-5292-5924

Tupitsyn Nikolai N., DM Sci (habil.), professor, head of Laboratory of Immunology of Haematopoiesis¹. E-mail: nntca@yahoo.com. ORCID: 0000-0003-3966-128X

¹National Medical Research Centre of Oncology n.a. N.N. Blokhin, Moscow, Russia

²Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Moscow, Russia

³Moscow State University of Medicine and Dentistry n.a. A.I. Evdokimov, Moscow, Russia

Corresponding author: Ryabchikov Denis A. E-mail: dr.denis@mail.ru

For citation: Ryabchikov D. A., Chulkova S. V., Zheltikov S. D., Osipova A. A., Tupitsyn N. N. Immunological characteristics of primary tumor and bone marrow in patients with breast cancer. Medical alphabet. 2022; (31):23–27. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-31-23-27>.