

І.П. Несіна¹
Н.П. Юрченко¹
С.В. Неспрядько²
Л.Г. Бучинська¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Національний інститут раку МОЗ України, Київ, Україна

Ключові слова: рак ендометрія, пухлиноасоційовані макрофаги, інтратуморальні FOXP3⁺-лімфоцити, щільність мікросудин.

ПУХЛИНОАСОЦІЙОВАНІ МАКРОФАГИ, FOXP3⁺-ЛІМФОЦИТИ І ЩІЛЬНІСТЬ МІКРОСУДИН В КАРЦИНОМАХ ЕНДОМЕТРІЯ ХВОРИХ ІЗ РІЗНИМ СТАНОМ МЕНСТРУАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ

Мета: визначити зв'язки між кількістю пухлиноасоційованих макрофагів (ПАМ), інтратуморальних FOXP3⁺-лімфоцитів (Лц) та щільністю мікросудин (ЩМС) у карциномах ендометрія і станом менструальної функції хворих. **Об'єкт і методи:** досліджували операційний матеріал 73 хворих на рак ендометрія (РЕ) з I–II стадією патологічного процесу віком від 26 до 75 років (середній вік 58,1 ± 1,8 року). Виявлення біомолекулярних маркерів здійснювали на депарафінованих зрізах пухлин ендометрія імуногістохімічним методом. **Результати:** встановлено, що 16 (21,9%) пацієнток (віком 26–49 років) мали збережену менструальну функцію (ЗМФ) і 57 (78,1%) хворих (віком 53–75 років) були у менопаузальному періоді (МП). У пухлинах хворих на РЕ зі ЗМФ відзначається менша кількість ПАМ (10,3 ± 2,0%), FOXP3⁺-інтратуморальних Лц (23,2 ± 3,1%) і нижча ЩМС (38,9 ± 1,4 судини/мм²) порівняно з пухлинами пацієнтів з тривалістю МП > 10 років (відповідно 21,1 ± 2,8%, p = 0,03; 34,2 ± 4,2%, p = 0,02; і 46,1 ± 1,9 судини/мм², p = 0,04). Визначено, що у хворих на РЕ низький ступінь диференціювання новоутворення, висока проліферативна активність та глибока інвазія пухлини у міометрій асоціюються зі збільшенням кількості FOXP3⁺-Лц, ПАМ і підвищенням ЩМС. **Висновки:** ендометріодні карциноми хворих у МП тривалістю > 10 років характеризуються певними змінами клітинного мікрооточення, які асоціюються з показниками більш агресивного перебігу захворювання порівняно з пацієнтками зі ЗМФ, що необхідно враховувати при визначенні стратегії лікування хворих на РЕ.

ВСТУП

Останніми роками все більше уваги приділяється мікрооточенню пухлинних клітин (МПК), складовими якого є сполучна тканина, кровоносні судини та імунокомпетентні клітини (ІК). Останні можуть проявляти як протипухлинну активність, так і призводити до прогресування злоякісного новоутворення, оскільки функціональні особливості ІК пов'язані з патофізіологічними характеристиками пухлини і асоційовані з активністю інших компонентів МПК [1, 2].

Відомо, що пухлинні клітини (ПК) продукують певний спектр цитокінів, у тому числі VEGF (vascular endothelia growth factor), IL-8, IL-10 (interleukin-8, -10) і TGF-β1 (transforming growth factor β), що зумовлює поляризацію макрофагів (Мф) I типу, яким властивий протипухлинний ефект, у Мф II типу (пухлиноасоційовані Мф — ПАМ), які здійснюють імуносупресуючу функцію, можуть підсилювати рухливість ПК й ангіогенез [1–4]. ПК сприяють утворенню лімфоцитів (Лц) із су-

пресорною активністю — Т-регуляторних (Т-рег) (CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺) Лц, які інгібують ефекторні функції ІК. Зокрема, FOXP3⁺-Лц можуть стимулювати конверсію CD4⁺, CD8⁺ Т-Лц в супресорні. FOXP3 (Forkhead box protein 3) є характерним маркером Т-рег Лц і визначає їх функціональні особливості [1, 5]. Відомо, що ПАМ і FOXP3⁺-Лц є проангіогенними чинниками, оскільки активують ген VEGF [4, 6]. Саме глікопротеїн VEGF через тирозинкіназні рецептори, розташовані у мембрані ендотеліальних клітин, стимулює проліферацію останніх з утворенням у пухлині розгалуженої судинної системи та значно посилює проникність судин, сприяючи дисемінації ПК [7]. Однією з характеристик ангіогенезу, поряд з експресією генів родини VEGF та їх рецепторів, є щільність мікросудин (ЩМС). За допомогою цього показника можна виявити найбільш васкуляризовані ділянки у гістологічних зрізах пухлинної тканини, і саме він відображає результативну дію усього комплексу проангіогенних факторів у пухлині.

Відмінною патогенетичною характеристикою раку ендометрія (РЕ) є його виражена гормонозалежність. У більшості випадків виникнення цієї патології відбувається при тривалому впливі естрогенів (та їх метаболітів) в умовах прогестеронової недостатності [8]. Генотоксичного впливу естрогенів зазнають не тільки тканини-мішені (молочна залоза, ендометрій, міометрій тощо), а й циркулюючі ІК, оскільки на більшості з них, у тому числі на Лц і Мф, є рецептори до естрогенів [9].

Основне джерело стероїдних гормонів — яєчник, причому їхній рівень у жінок зі збереженою менструальною функцією (ЗМФ) набагато вищий, ніж у жінок менопаузального періоду (МП), і циклічно змінюється залежно від фази менструального циклу. У пацієток МП функціональна активність яєчників знижується, що призводить до зменшення концентрації естрадіолу і прогестерону. Натомість підвищується концентрація неklasичних фенолстероїдів, які синтезуються з циркулюючого андростендіону, тестостерону, що продукуються корою надниркової залози, жировою, м'язовою тканиною, ендометрієм, міометрієм та деякими іншими тканинами [8]. У здорових жінок як репродуктивного віку, так і у МП концентрація цих гормонів знаходиться у збалансованому співвідношенні під контролем фізіологічних гормонозалежних реакцій. Секрція гормонів клітинами і тканинами, для яких не властива ендокринна функція, не контролюється і може призводити до стану гіперестрогенії та розвитку раку у тканинах-мішенях, зокрема в ендометрії [10–12].

Згідно з даними літератури збільшення кількості ПАМ в умовах гіперестрогенії зумовлює активацію рецепторів до естрогенів α , прискорення проліферації, рухливості ПК, ангиогенез і пухлинну прогресію [13]. Естрогени підвищують експресію FOXP3 у Лц, призводячи до розвитку імунологічної толерантності до пухлинних антигенів [14].

Зважаючи на результати наших попередніх досліджень, в яких виявлено відмінності концентрацій стероїдних гормонів у сироватці периферичної крові і співвідношенні естрадіолу до прогестерону у хворих зі ЗМФ та у МП [15], можна припустити, що кількість компонентів МПК карцином ендометрія пацієток із різним станом менструальної функції також буде відрізнятися і асоціюватися з різними біологічними особливостями пухлин. Цьому питанню присвячено поодинокі роботи, в яких автори вивчали значення Т-рег Лц у злоякісних новоутвореннях ендометрія хворих різного віку і та різним станом менструальної функції [16], а також роль ангиогенезу [17] і ПАМ в прогресуванні цього захворювання [13].

З урахуванням вищенаведеного мета дослідження полягала у визначенні зв'язків між кількістю ПАМ, інтратуморальних FOXP3⁺-Лц та ЩМС у карциномах ендометрія і станом менструальної функції хворих.

Робота виконана на операційному матеріалі 73 хворих на РЕ I–II стадії віком 26–75 років (середній вік $58,1 \pm 1,8$ року), які не отримували передопераційної терапії. Усі пацієтки перебували на лікуванні у відділенні онкогінекології Національного інституту раку Міністерства охорони здоров'я України. Дослідження проводили відповідно до міжнародних етичних засад. Заключний морфологічний діагноз верифіковано на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксилином та еозином. Імуногістохімічне (ІГХ) виявлення біомолекулярних маркерів здійснювали на депарафінізованих зрізах пухлин ендометрія з використанням таких МкАТ: для визначення ПАМ — CD68 (клон PG-M1, «DakoCytomation», Данія), FOXP3⁺-Лц — FOXP3 (клон 5H5L12, «Invitrogen», США), маркер проліферуючих клітин — Ki-67 (клон MIB-1, «DakoCytomation», Данія); наявність мікросудин визначали за допомогою МкАТ CD34 (клон QVEnd10, «DakoCytomation», Данія). Для детекції зазначених білків використовували систему візуалізації PolyVue («Diagnostic BioSystems», США). Забарвлення білка здійснювали за допомогою хромогену — 3-діамінобензидину тетраглідриду (ДАБ). Ядра клітин дофарбовували гематоксилином Майєра.

Результати ІГХ реакції оцінювали напівкількісним методом, шляхом підрахунку кількості позитивно забарвлених клітин — індекс мітки (ІМ) у відсотках. Експресію маркерів визначали у 1000 ПК. Кількість FOXP3⁺-Лц та CD68⁺ Мф в МПК аналізували у 10 полях зору (ПЗ) та визначали у відсотках. Для визначення ЩМС у пухлинах ендометрія підраховували кількість судин у 10 ПЗ мікроскопа (збільшення $\times 100$), розмір одного ПЗ обмежувався вимірною квадратною сіткою зі стороною 0,79 мм. ЩМС (на 1 мм²) визначали за формулою:

$$\text{ЩМС} = n \cdot 1 \text{ мм}^2 / 0,625 \text{ мм}^2,$$

де n — середня кількість судин в одному ПЗ; 0,625 мм² — площа одного ПЗ. При значеннях ІМ та ЩМС менших за медіану (Ме) значення відповідного маркера вважали низьким, а при ІМ та ЩМС більших або рівних Ме — високими.

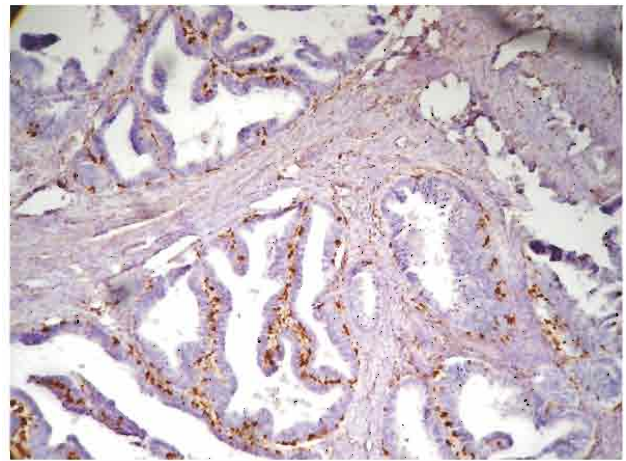
Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакета програм Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.) з використанням непараметричних критеріїв Манна — Уїтні та Крускала — Уолліса і кореляційного аналізу Спірмена. За достовірний рівень значущості приймали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

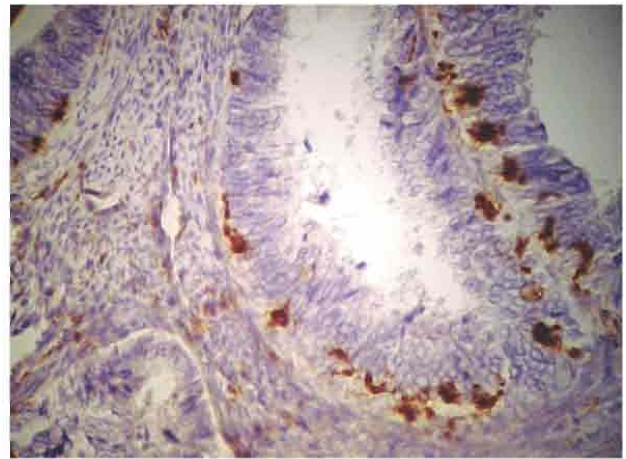
При клінічному обстеженні хворих на РЕ встановлено, що 16 (21,9%) пацієток (вік 26–49 років) мали ЗМФ, а 57 (78,1%) пацієток (вік 53–75 років) були у МП (31 хвора з тривалістю МП 2–9 років; 26 жінок — ≥ 10 років). Слід зазначити, що згідно з даними літератури РЕ у 75–80% випадків виникає у жінок у МП [8, 11]. Тому і в нашому дослідженні кількість хворих на РЕ зі ЗМФ була значно меншою, ніж хворих у МП. Враховуючи результати наших по-

передніх досліджень, згідно з якими статистично значущі зміни гормонального гомеостазу відзначали у хворих на РЕ з тривалістю МП ≥ 10 років [15], особливу увагу ми приділяли зіставленню кількості ПАМ, FOXP3⁺-Лц та ЩМС у хворих на РЕ зі ЗМФ та з тривалістю МП ≥ 10 років.

При морфологічному аналізі новоутворень ендометрія встановлено, що досліджені пухлини були ендометріюїдними карциномами різного ступеня диференціювання: у більшості (33 випадки, 45,2%) — помірно диференційовані (G2); у 12 (16,4%) — високо- (G1) і 28 (38,4%) — низькодиференційовані пухлини (G3). Більшість новоутворень ендометрія хворих зі ЗМФ були високого (25,0%) і помірного (56,3%) ступеня диференціювання з неглибокою інвазією пухлини у міометрій (68,8%). У хворих з тривалістю МП > 10 років кількість низькодиференційованих карцином становила 50,0% та пухлин, що глибоко інвазували міометрій, — 69,2% (табл. 1).



а



б

Рис. 1. Виявлення ПАМ в карциномі ендометрія помірного ступеня диференціювання (G2). ІГХ метод, додаткове забарвлення гематоксилином Майєра. 36. $\times 200$ (а) та $\times 400$ (б)

Таблиця 1
Клініко-морфологічні особливості хворих на РЕ із різним станом менструальної функції

Досліджені параметри	Кількість випадків у групах хворих на РЕ, n (%)		
	ЗМФ (n = 16)	МП 2–9 років (n = 31)	МП ≥ 10 років (n = 26)
Ступінь диференціювання пухлини:			
G1	4 (25,0)	4 (12,9)	2 (7,7)
G2	9 (56,3)	14 (45,2)	11 (42,3)
G3	3 (18,7)	13 (41,9)	13 (50,0)
Глибина інвазії пухлини у міометрій:			
< 1/2	11 (68,8)	16 (51,6)	8 (30,8)
> 1/2	5 (31,2)	15 (48,4)	18 (69,2)

У результаті проведеного ІГХ дослідження встановлено, що ПАМ виявляли в усіх проаналізованих зразках РЕ з частотою 0,85–27,6% та середнім значенням $15,5 \pm 1,5\%$ (рис. 1).

Відмічено, що при ЗМФ у пухлинах хворих на РЕ була менша кількість ПАМ ($10,3 \pm 2,0\%$) порівняно з їх відсотком у пухлинах пацієнок з тривалістю МП 2–9 років ($15,3 \pm 2,4\%$) і > 10 років ($21,1 \pm 2,8\%$, $p = 0,03$) (рис. 2).

Результати ІГХ виявлення інтратуморальних FOXP3⁺-Лц показали, що позитивна експресія цього білка наявна у 98,0% випадків РЕ (рис. 3), із середнім відсотком FOXP3⁺-Лц — у $27,8 \pm 2,4\%$ і значенням Me — у 25,4%.

У пухлинах хворих на РЕ з МП > 10 років (на відміну від хворих зі ЗМФ) визначено зростання кількості FOXP3⁺-Лц та маркера проліферуючих клітин Ki-67 (табл. 2).

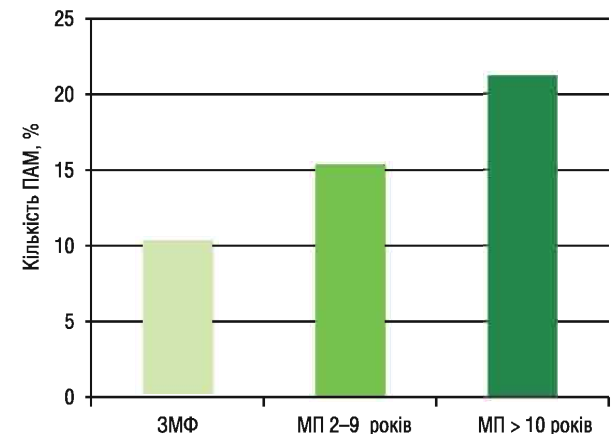


Рис. 2. Кількість ПАМ у пухлинах хворих на РЕ з різним станом менструальної функції

Таблиця 2
Оцінка експресії біомолекулярних маркерів у карциномах ендометрія у хворих з різним станом менструальної функції

Досліджені ІГХ маркери	Кількість ПІК з експресією білків, M \pm m, %		Манна – Уїтні тест
	Хворі на РЕ зі ЗМФ	Хворі на РЕ у МП > 10 років	
FOXP3	23,2 \pm 3,1	34,2 \pm 4,2*	0,02
Ki-67	25,4 \pm 3,1	37,3 \pm 3,1*	0,002

Достовірне збільшення кількості FOXP3⁺-Лц і Ki-67 у хворих на РЕ у МП тривалістю > 10 років може бути зумовлено наявністю у них абсолютної гіперестрогенії з високим значенням коефіцієнта співвідношення естрадіолу до прогестерону [15], оскільки естрадіол може сприяти збільшенню кількості FOXP3⁺-Лц у периферичній крові, призводити до порушень імуноло-

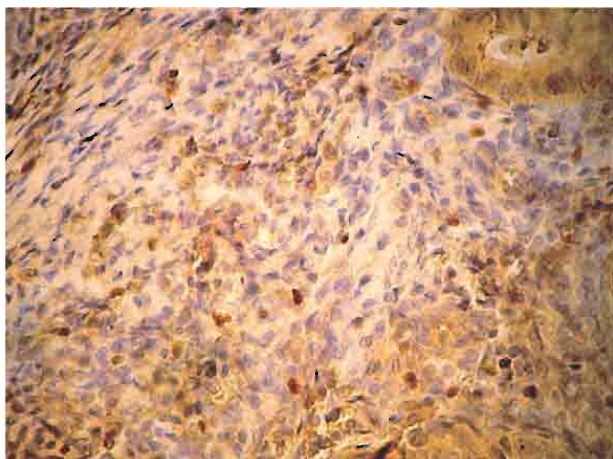


Рис. 3. Позитивна експресія FOXP3 в лімфоцитарному інфільтраті низькодиференційованої (G3) карциноми ендометрія, ІГХ метод, додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра. 36. × 400

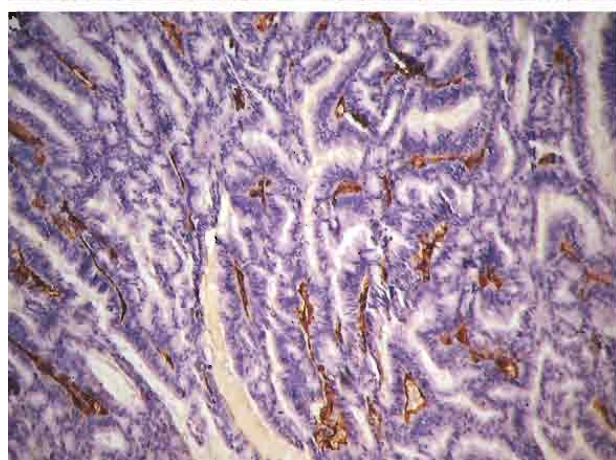


Рис. 4. Детекція мікросудин в карциномі ендометрія (G2). ІГХ метод, додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра. 36. × 200

гічного гомеостазу та зумовлювати зростання проліферативної активності новоутворень [18].

Водночас виявлено зв'язок між кількістю інтра-туморальних FOXP3⁺-Лц, станом менструальної функції хворих і глибиною інвазії пухлини в міометрії. Показано, що у хворих зі ЗМФ переважали пухлини з малою кількістю FOXP3⁺-Лц (IM < Me) та з неглибокою інвазією в міометрії, тоді як в пухлинах паці-

єнток у МП відмічалися велика кількість FOXP3⁺-Лц (IM > Me) та глибока інвазія в міометрії. Тобто, у хворих на РЕ у МП тривалістю > 10 років велика кількість (100%) FOXP3⁺-Лц у пухлинному інфільтраті асоціюється з глибокою інвазією пухлини у міометрії (табл. 3).

Таблиця 3

Зв'язок між кількістю інтра-туморальних FOXP3⁺-Лц і глибиною інвазії пухлини у міометрії у хворих на РЕ із різним станом менструальної функції

Стан менструальної функції хворих на РЕ	Кількість інтра-туморальних FOXP3 ⁺ -Лц, %			
	IM < Me		IM > Me	
	Кількість пухлин з різною глибиною інвазії у міометрії, n (%)			
	< ½	> ½	< ½	> ½
ЗМФ	11 (91,6)	1 (8,4)	5 (41,6)	7 (58,3)
МП > 10 років	5 (50,0)	5 (50,0)	0	9 (100,0)
p (F-тест)	0,05		0,04	

Встановлено, що велика кількість ПАМ і FOXP3⁺-Лц у МПК карцином ендометрія асоціювалася з одночасним підвищенням ЩМС. Індивідуальні показники ЩМС коливалися у межах 18,4–88,0 судини/мм², що в середньому становило 52,2 ± 5,8 судини/мм² при значеннях Me 50,2 судини/мм² (рис. 4).

У хворих на РЕ в МП ЩМС становила 46,1 ± 1,9 судини/мм² (p = 0,04), що було вище порівняно з таким показником у пацієнток зі ЗМФ — 38,9 ± 1,4 судини/мм².

При цьому підвищення ЩМС у карциномах ендометрія хворих у МП також було пов'язане з низьким ступенем диференціювання пухлини (рис. 5).

Слід зазначити, що між ЩМС і кількістю інтра-туморальних FOXP3⁺-Лц встановлено пряму залежність. При малій кількості інтра-туморальних FOXP3⁺-Лц (IM < Me = 20,7%) ЩМС була низькою і становила 38,2 ± 8,0 судини/мм², а при значеннях кількості FOXP3⁺-Лц > Me — ЩМС була вірогідно вищою (52,4 ± 8,6 судини/мм²; p = 0,05).

Підсумовуючи отримані дані, слід зазначити, що процес неоангіогенезу в карциномах ендометрія асоціюється зі станом менструальної функції хворих та корелює з кількістю інтра-туморальних FOXP3⁺-Лц та ПАМ, які, згідно з роботами інших дослідників, генерують високий локальний рівень проангіогенних факторів і можуть зумовлювати збільшення васкуляризації пухлин ендометрія [18–20].

За даними літератури, з віком відбувається ослаблення імунологічної реактивності організму за рахунок зростання кількості Т-рег Лц, хоча механізм зростання залишається незрозумілим. Знижується здатність тимуса генерувати нові Т-Лц, тому гомеостаз імунної системи підтримується їх утворенням у периферичних органах. Порушення такого гомеостазу у людей похилого віку підвищує ризик розвитку імунних захворювань, а також злоякісних новоутворень [21, 22]. Згідно з даними S. Sawan та співавторів у пухлинах хворих на РЕ у МП виявляють збільшену кількість Т-рег Лц [16]. Саме цим можна пояснити показану в наших дослідженнях вищу ЩМС у пухлинах пацієнток із РЕ у МП порівняно з хворими зі ЗМФ. Висока ЩМС у випадках РЕ низького ступеня диференціювання і пухли-

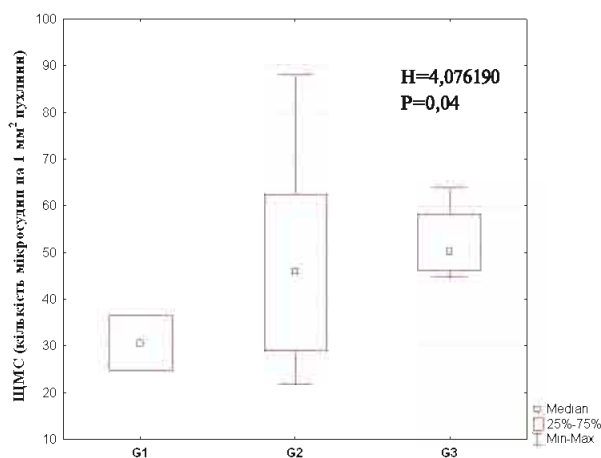


Рис. 5. Порівняльний аналіз ЩМС у карциномах ендометрія G1, G2 та G3 (критерій Крускала — Уолліса). $p = 0,04$ між G1- і G3-пухлинами

нах, що глибоко інфільтрують міометрій, також знаходить підтвердження в роботах інших дослідників, які показали існування прямого кореляційного зв'язку між високою експресією VEGF і ЩМС та низьким ступенем диференціювання злоякісних новоутворень ендометрія [19, 23].

На думку низки авторів, наявність FOXP3⁺ Т-рег Лц у пухлинному мікрооточенні пов'язана з агресивністю пухлинного процесу та несприятливим прогнозом багатьох солідних пухлин, у тому числі раку молочної та підшлункової залози, легені, яєчника та ін. [6, 24–27]. У нашому попередньому дослідженні кількість інтратуморальних FOXP3⁺-Лц корелює з такими показниками прогресування пухлини, як висока проліферативна активність, низький ступінь диференціювання і глибока інвазія у міометрій [28].

Таким чином, були визначені певні відмінності біологічних особливостей ендометріюїдних карцином ендометрія у хворих із різним станом менструальної функції. Встановлено, що пухлини, які виникли у пацієнток у МП тривалістю > 10 років, характеризуються більш агресивним клініко-морфологічним фенотипом за рахунок зростання кількості ПАМ, інтратуморальних FOXP3⁺-Лц та підвищення ЩМС.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на РЕ такі показники агресивності пухлинного процесу, як низький ступінь диференціювання новоутворення, висока проліферативна активність та глибока інвазія у міометрій асоціюються з певними змінами клітинного мікрооточення, а саме збільшенням кількості інтратуморальних FOXP3⁺-Лц, ПАМ та підвищенням ЩМС.

2. Ендометріюїдні карциноми хворих у МП тривалістю > 10 років характеризуються більш високими значеннями кількості ПАМ, інтратуморальних FOXP3⁺-Лц і вищою ЩМС порівняно з цими показниками у пухлинах пацієнток зі ЗМФ, що, напевно, необхідно враховувати при визначенні стратегії лікування хворих із цією патологією.

1. Бережная НМ. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. Онкология 2009; 11 (1): 6–17.

2. Лееман ЕЕ, Мужина МС. Клеточное микроокружение злокачественных опухолей и его значение в их прогнозе. Вопр онкол 2013; 59: 444–52.

3. Бабышкіна НН, Малиновская ЕА, Стахеева МН и др. Роль трансформирующего ростового фактора TGF- β 1 в патогенезе рака молочной железы. Сиб онкол журн 2010; 42 (6): 63–70.

4. Chanmee T, Ontong P, Konno K, Itano N. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. Review Cancers 2014; 6: 1670–90.

5. Tanchot C, Terme M, Pere H, et al. Tumor-infiltrating regulatory T cells: phenotype, role, mechanism of expansion *in situ* and clinical significance. Cancer Microenviron 2013; 6 (2): 147–57.

6. Zhan H-L, Gao X, Pu X-Y, Wang D-J. Presence of tumour-infiltrating FOXP3⁺ lymphocytes correlates with immature tumour angiogenesis in renal cell carcinomas. Asian Pacific J Cancer Prevention 2012; 13: 867–72.

7. Wang L, Liu X, Wang H. Correlation of the expression of vascular endothelial growth factor and its receptors with microvessel density in ovarian cancer. Oncol Lett 2013; 6: 175–80.

8. Ахрафян ЛА, Киселев ВИ. Опухоли репродуктивных органов (этиология и патогенез). Москва: Изд-во Димитрейд График Групп, 2007. 214 с.

9. Полетаева АВ. Иммуномодулирующее влияние гормонов на фенотипическую структуру лимфоцитов в условиях «*in vitro*» [Автореф дис ... канд биол наук]. Архангельск, 2010. 130 с.

10. Чернышова АЛ, Коломиец ЛА, Юнусова НВ, Шаншаевы ЕВ. Особенности гормонального-энергетического обмена у больных с гиперпластическими процессами и раком эндометрия на фоне метаболического синдрома. Сиб онкол журн 2015; (1): 5–12.

11. Yang TY, Cairns BJ, Allen N, et al. Postmenopausal endometrial cancer risk and body size in early life and middle age: prospective cohort study. Br J Cancer 2012; 107: 169–75.

12. Печерский АВ, Лоран ПБ, Печерский ВИ и др. Роль тестостерона в регуляции экспрессии генов некоторых факторов пролиферации. Цитология 2006; 48 (10): 856–61.

13. Kühler K, Ayub TH, Weber SK, et al. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in endometrial adenocarcinoma. Gynecol Oncol 2014; 135 (2): 176–83.

14. Tanchot C, Terme M, Pere H, et al. Tumor-infiltrating regulatory T cells: phenotype, role, mechanism of expansion *in situ* and clinical significance. Cancer Microenv 2013; 6 (2): 147–57.

15. Несіна ІІ, Юрченко НІ, Брєєва ОВ та ін. Рівень стероїдних гормонів у сироватці крові хворих на рак ендометрія з різним станом менструальної функції та показниками нестабільності геному. Онкология 2016; 18 (3): 210–5.

16. Sawan S, Burt DJ, Stern C, et al. Circulating regulatory T cells in endometrial cancer: a role for age and menopausal status. Immunol Investig 2011; 40: 62–75.

17. Hvingel B, Lieng M, Roald B, Ørbo A. Vascular markers CD31, CD34, actin, VEGFB, and VEGFR2, are prognostic markers for malignant development in benign endometrial polyps. Open J Obstet Gynecol 2012; 2: 18–26.

18. Polanczyk MJ, Carson BD, Subramanian S, et al. Cutting edge: estrogen drives expansion of the CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell compartment. J Immunol 2004; 173: 2227–30.

19. Guset G, Costt, Lazàr E, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and assessment of microvascular density with CD34 as prognostic markers for endometrial carcinoma. Romanian J Morphol Embriol 2010; 51 (4): 677–82.

20. Giatromanolaki A, Bates GJ, Koukourakis MI, et al. The presence of tumor-infiltrating FOXP3⁺ lymphocytes correlates with intratumoral angiogenesis in endometrial cancer. Gynecol Oncol 2008; 110 (2): 216–21.

21. Haynes L, Maue AC. Effects of aging on T cell function. *Curr Opin Immunol* 2009; **21**: 414–7.
22. DeJaco C, Duftner C, Schirmer M. Are regulatory T-cells linked with aging? *Exp Gerontol* 2006; **41**: 339–45.
23. Czekierdowski A, Czekierdowska S, Czuba B, *et al.* Microvessel density assessment in benign and malignant endometrial changes. *J Physiol Pharmacol* 2008; **39**: 45–51.
24. Takenaka M, Seki N, Toh U, *et al.* FOXP3 expression in tumor cells and tumor-infiltrating lymphocytes is associated with breast cancer prognosis. *Molecul Clinic Oncol* 2013; **1**: 625–32.
25. Sayour EJ, McLendon P, McLendon R, *et al.* Increased proportion of FoxP3+ regulatory T cells in tumor infiltrating lymphocytes is associated with tumor recurrence and reduced survival in patients with glioblastoma. *Cancer Immunol Immunother* 2015; **64** (4): 419–27.
26. Wang WH, Jiang CL, Yan W, *et al.* FOXP3 expression and clinical characteristics of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; **16**: 5502–9.
27. Miyay M, Schmidt-Mende J, Kiessling R, *et al.* Differential tumor infiltration by T-cells characterizes intrinsic molecular subtypes in breast cancer. *J Transl Med.* 2016; **14** (1): 227.
28. Iurchenko NP, Glushchenko NM, Buchynska LG. Comprehensive analysis of intratumoral lymphocytes and FOXP3 expression in tumor cells of endometrial cancer. *Exp Oncol* 2014; **36** (4): 262–6.

TUMOR-ASSOCIATED MACROPHAGES, FOXP3⁺-LYMPHOCYTES AND MICROVESSEL DENSITY IN ENDOMETRIAL CARCINOMA OF PATIENTS WITH VARIOUS MENSTRUAL STATUS

I.P. Nesina, N.P. Yurchenko, S.V. Nespryadko,
L.H. Buchynska

Summary. Aim: to determine the relationships between the number of tumor-associated macrophages (TAM), intratumoral FOXP3⁺-lymphocytes, microvessel density (MVD) in endometrial carcinomas and menstrual status of patients.
Object and methods: tumor tissue samples of 73 endometrial

cancer (EC) patients with clinical stage I–II aged 26 to 75 (mean age 56.3 ± 7.3 years) were investigated. **Results:** it was found that 16 (21.9%) patients (aged 26 to 49 years) had preserved menstrual function (PMF) and 57 (78.1%) patients (aged 53 to 75 years) were postmenopausal. There was less amount of TAM ($10.3 \pm 2.0\%$), FOXP3⁺-lymphocytes ($23.2 \pm 3.1\%$) and MVD (38.9 ± 1.4 vessels/mm²) in tumors of EC patients with PMF compared to the tumors of patients with duration of menopause more than 10 years ($21.1 \pm 2.8\%$, $p = 0.03$; $34.2 \pm 4.2\%$, $p = 0.02$, and 46.1 ± 1.9 vessels/mm², $p = 0.04$, respectively). It was shown that high proliferative activity in endometrial carcinomas, low degree of tumor differentiation and deep tumor invasion into the myometrium were associated with an increased number of FOXP3⁺-lymphocytes, TAM and MVD. **Conclusion:** it was found that endometrial carcinomas of postmenopausal patients with duration of menopause more than 10 years are characterized by certain changes in the cellular microenvironment that are associated with indicators of more aggressive disease compared to patients with PMF that probably should be considered when determining treatment strategy for EC patients.

Key Words: endometrial cancer, tumor-associated macrophages, intratumoral FOXP3⁺ lymphocytes, microvessel density.

Адреса для листування:

Несіна І.П.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

E-mail: inesina@mail.ru

Одержано: 28.02.2017