

Н.М. Глущенко,
Н.П. Юрченко,
Л.Г. Бучинська

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

Ключові слова: ендометріоїдна
карцинома ендометрію, лімфо-
цитарна інфільтрація, лімфо-
васкулярна інвазія, прогноз.

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2024.02.103>

ЗНАЧЕННЯ ЛІМФОЦИТАРНОЇ ІНФІЛЬТРАЦІЇ ТА ЛІМФО- ВАСКУЛЯРНОЇ ІНВАЗІЇ У ПРОГРЕСІЇ ЕНДОМЕТРІОЇДНОЇ КАРЦИНОМИ ЕНДОМЕТРІЮ

Мета: оцінити лімфоцитарну інфільтрацію та лімфоваскулярну інвазію у ендометріоїдній карциномі ендометрію залежно від клініко-морфологічних особливостей хворих. **Об'єкт і методи:** патогістологічні заключення (ПГЗ) операційного матеріалу 247 хворих на ендометріоїдну карциному ендометрію (ЕКЕ) та зразки післяопераційного матеріалу 67 хворих на ЕКЕ. **Методи дослідження:** імуногістохімічний, цитофлуорометричний, статистичний, біоінформатичний, ROC-аналіз. **Результати:** при аналізі ПГЗ визначено, що в 44,1% ЕКЕ спостерігається незначна лімфоцитарна інфільтрація (LI), у 55,9% — значна. В результаті оцінки клініко-морфологічних особливостей хворих на ЕКЕ залежно від рівня LI встановлено, що у групі карцином ендометрію з незначною LI спостерігається більша кількість G3-пухлин з глибокою інвазією у міометрій (26,0%) порівняно до групи новоутворень зі значною LI (17,0%, $p < 0,05$). Виявлено у G3- та глибокоінвазуючих пухлинах низький вміст CD8⁺-лімфоцитів, високу кількість FOXP3⁺-лімфоцитів і щільність мікросудин. У 63,3% таких пухлин спостерігали лімфоваскулярну інвазію (LVSI), що асоціювалась з високою експресією Snail1, низькою E-кадгерину і зменшенням загальної та безрецидивної виживаності пацієнток з цієї онкопатологією. **Висновок:** ступінь вираженості LI, її субпопуляційний склад та LVSI є факторами, що асоціюються з певними морфофункціональними характеристиками ЕКЕ (низький ступінь диференціювання, глибока інвазія пухлини у міометрій та висока проліферативна активність). Встановлено, що LVSI пов'язана з експресією Snail1 і E-кадгерину, які можуть бути предикторами перебігу захворювання пацієнток з ЕКЕ.

Проблема раку ендометрію (РЕ) залишається вельми актуальною в сучасній онкогінекології, оскільки, незважаючи на досягнуті успіхи у лікуванні, зафіксовано сталу тенденцію до зростання показників захворюваності та смертності пацієнток з цієї формою раку як в Україні, так і в інших розвинених країнах світу [1–3].

На сьогодні основними прогностичними факторами перебігу РЕ залишаються клініко-морфологічні, а саме стадія захворювання, гістологічний тип, ступінь диференціювання, рівень інвазії пухлини у міометрій та лімфоваскулярна інвазія (англ. lymphovascular space invasion — LVSI). Проте, враховуючи клінічний поліморфізм РЕ, що є суттєвим фактором як прогресування пухлини, так і низької ефективності терапії, об'єктивно передбачити перебіг пухлинного процесу лише за цими ознаками неможливо [4].

За даними літератури, компоненти пухлинного мікрооточення, зокрема лімфоцити, що інфільтрують пухлину, відіграють важливу роль у формуванні біологічних особливостей низки злоякісних

новоутворень [5–7]. Станом на сьогодні, лімфоцитарна інфільтрація (англ. lymphocytic infiltration — LI) є прогностичним маркером для багатьох солідних злоякісних новоутворень [8].

Проте, більшість досліджень LI у РЕ присвячені її вивченню у молекулярних підтипах визначених за результатами “The Cancer Genome Atlas” (TCGA). Встановлено, що висока LI притаманна для РЕ з молекулярними підтипами, що характеризуються відсутньою/зниженою експресією генів репарації неспарених основ (MMR-deficient) та POLE-mutant type [9, 10]. Деякі автори показали зв'язок високої LI зі сприятливим прогнозом перебігу РЕ низького ступеня диференціювання [11].

Натомість відомо, що LI гетерогенна за своїм популяційним складом. Переважання субпопуляції лімфоцитів з певними функціональними особливостями (цитотоксичні, хелперні, супресорні тощо) може виявляти як протипухлинну активність, так і сприяти прогресії злоякісного новоутворення [12, 13].

Відомо, що LVSI відіграє ключову роль в інвазуванні та метастазуванні злоякісних новоутворень. Суттєве значення у цих процесах має епітеліально-мезенхімальний перехід (ЕМП), одним із показників якого є активація експресії транскрипційного фактору Snail1, який інгібує експресію маркера епітеліальних клітин Е-кадгерину та сприяє підвищенню експресії маркерів мезенхімальних клітин (у тому числі Twist, ZEB, віментину та матриксних металопротеїназ), що призводить до підвищеної рухливості, міграції та інвазії пухлинних клітин [14–20].

Наведені вище дані свідчать, що вивчення експресії транскрипційного фактору Snail1 і маркера епітеліальних клітин Е-кадгерину у пухлинних клітинах ендометрію залежно від наявності LVSI у РЕ розширить розуміння ймовірних процесів інвазивності цієї форми раку та дозволить виявити маркери, що можуть мати прогностичне значення та асоційовані з агресивністю перебігу пухлинного процесу.

Мета дослідження — оцінити лімфоцитарну інфільтрацію та лімфоваскулярну інвазію у ендометріюїдній карциномі ендометрію залежно від клініко-морфологічних особливостей хворих.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

На основі ретроспективного аналізу патогістологічних заключень 247 хворих на ендометріюїдну карциному ендометрію (ЕКЕ), серед яких виявлено 68 випадків з наявністю LI та у 30 пухлинах ендометрію зафіксовано LVSI. У 149 випадках LVSI була відсутня. Пацієнтки перебували на лікуванні у відділенні онкогінекології Національного інституту раку МОЗ України в період з 2014 по 2021 р. та не отримували передопераційної терапії. Під час дослідження були дотримані усі необхідні етичні стандарти відповідно до вимог загально-визнаних міжнародних правил у рамках Гельсінської декларації 2008 р.

Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження експресії біомолекулярних маркерів здійснювали на депарафінованих зрізах пухлин ендометрію з використанням первинних антитіл до Snail1 (20C8, Invitrogen, США); Е-кадгерину (NCH-38, DakoCytomation, Данія). Візуалізацію експресії зазначених маркерів проводили із застосуванням системи детекції PolyVue (Diagnostic BioSystems, США). Результати ІГХ реакції оцінювали напівкількісним методом шляхом підрахунку кількості позитивно забарвлених клітин визначених у відсотках — індекс мітки (ІМ, %). У кожному випадку аналізували 800–1000 пухлинних клітин. При оцінці експресії Snail1 враховували кількість пухлинних клітин з ядерною локалізацією маркера.

Відсоток епітеліальних клітин ЕКЕ у фазах мітотичного циклу визначали за допомогою методу проточної цитометрії у суспензії пухлинних клітин

після їх фарбування флуорохромом (пропідіум йодид — PI, Sigma, США) з використанням проточного цитофлуориметра EPICS-XL (Beckman Coulter, США). Проліферацію пухлинних клітин ендометрію оцінювали за індексом проліферації — S+G₂+M (ІП, %).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою пакету програм Statistica 7.0 (StatSoft, Inc.). Застосовано стандартний описовий статистичний метод. Аналіз відмінностей між вибірками проводили з використанням непараметричного U-критерію Манна–Уїтні та точного критерію Фішера (F-тест), оскільки не було виконано вимоги щодо їх нормального розподілу згідно критерія Шапіро–Уїлка. Достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

На основі бази даних Kaplan–Meier (KM) plotter (<https://kmplot.com/>) оцінювали асоціацію між експресією *SNAIL* і *CDH1* на рівні мРНК та виживаністю хворих на ЕКЕ. ROC-аналіз з визначенням площі під кривими (AUC), їх статистичної значущості (p), чутливості (Se) та специфічності (Sp), 95% довірчих інтервалів (ДІ) проведено за допомогою MedCalc Software Ltd.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При дослідженні клініко-морфологічних характеристик 247 хворих на ЕКЕ встановлено, що пухлини були різного ступеня диференціювання (рис. 1; табл. 1, 2) та глибини інвазії у міометрій (табл. 1, 2), у яких спостерігалась лімфоцитарна інфільтрація (LI) та наявність/відсутність лімфоваскулярної інвазії (LVSI).

На основі бінарної системи оцінки визначено, що незначна LI склала 44,1% (30/68), значна — 55,9% (38/68). Аналіз клініко-морфологічних особливостей ЕКЕ залежно від рівня LI показав, що у карциномах ендометрію як зі значною, так

Таблиця 1

Клініко-морфологічна характеристика хворих на ЕКЕ залежно від рівня лімфоцитарної інфільтрації (LI) у пухлинах, n (%)

Показники	LI, n = 68 (100%)	
	LI-незначна, n = 30 (44,1%)	LI-значна, n = 38 (55,9%)
Ступінь диференціювання		
G1–G2	18 (60,0%)	31 (81,6%)
G3	12 (40,0%)	7 (18,4%)
p (F-тест)	<0,05	
Глибина інвазії у міометрій		
В межах ендометрію	0	3 (10,0%)
<1/2	11 (36,7%)	15 (39,5%)
>1/2	19 (63,3%)	20 (52,6%)
p (F-тест)	>0,05	

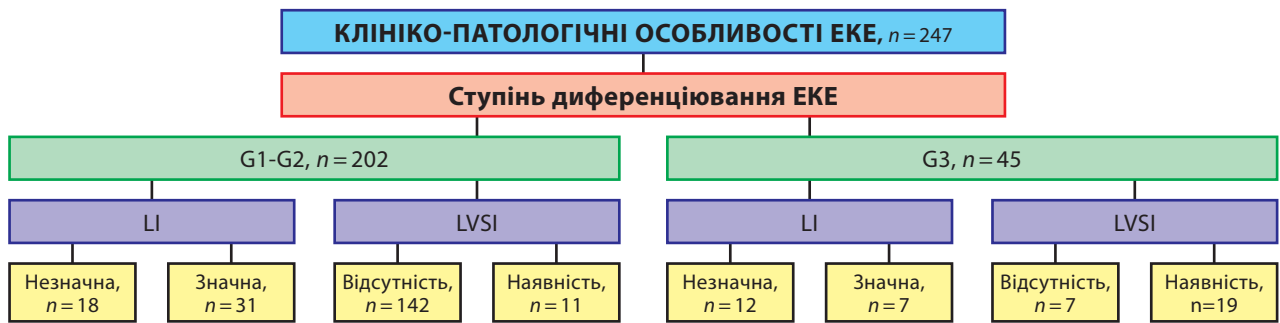


Рис. 1. Дослідження наявності лімфоцитарної інфільтрації (LI) та лімфоваскулярної інвазії (LVSI) в ЕКЕ асоційованих зі ступенем диференціювання пухлини

і незначною LI у більшості випадків спостерігали високо- і помірнодиференційовані пухлини (G1–G2) — у 81,6 і 60,0% відповідно. Треба зазначити, що кількість G3-карцином із незначною LI була достовірно більшою порівняно до групи новоутворень ендометрію зі значною LI. ЕКЕ з інвазією в межах ендометрію характеризувались значною LI. Не було встановлено статистично достовірної різниці між частотою пухлин ендометрію з глибиною інвазії у міометрій $<1/2$ та глибокою ($>1/2$) інвазією залежно від особливостей LI (табл. 1).

Аналіз ЕКЕ залежно від різних комбінацій ступеня диференціювання і глибини інвазії у міометрій, показав, що у групі пухлин із незначною LI виявлено у 1,5 рази більше випадків ЕКЕ низького ступеня диференціювання, які глибоко інвазували у міометрій (26%), порівняно до таких новоутворень з інвазією $<1/2$ (17%, $p < 0,05$) зі значною LI (рис. 2).

Натомість, за інших морфологічних ознак (G1–G2 $<1/2$, G1–G2 $>1/2$, G3 $<1/2$) не встановлено відмінностей за кількістю випадків ЕКЕ залежно від рівня LI. Виявлені особливості LI можуть бути пов'язані з гетерогенністю її популяційного складу, оскільки відомо, що окрім лімфоцитів CD8⁺

з цитотоксичними та CD4⁺ з хелперними функціями є субпопуляція Т-регуляторних лімфоцитів (T-regs) із супресорною активністю, які експресують фактор транскрипції FOXP3.

Наші дослідження [12] показали, що зі зниженням ступеня диференціювання новоутворення достовірно збільшувалась кількість FOXP3⁺-лімфоцитів, зменшувався вміст CD8⁺-лімфоцитів та зростала щільність мікросудин (ЩМС) (рис. 3, 4).

Зазначені відмінності за кількістю FOXP3⁺-і CD8⁺-лімфоцитів у різних за ступенем диференціювання пухлинах чітко відображаються у змінах співвідношення CD8⁺/FOXP3⁺, яке у G1-новоутвореннях складало — 2,7, у G2-пухлинах — 1,5, а у G3-пухлинах знижувалось до 0,7. У низькодиференційованих РЕ спостерігали зростання ЩМС [21].

При зіставленні кількості імунопетентних клітин та ЩМС в карциномах ендометрію з різним інвазивним потенціалом пухлини у міометрій нами визначено, що у РЕ з глибокою ($>1/2$) інвазією спостерігалось достовірне збільшення кількості FOXP3⁺-лімфоцитів і, на рівні тенденції, зростала ЩМС порівняно з пухлинами, які інвазували

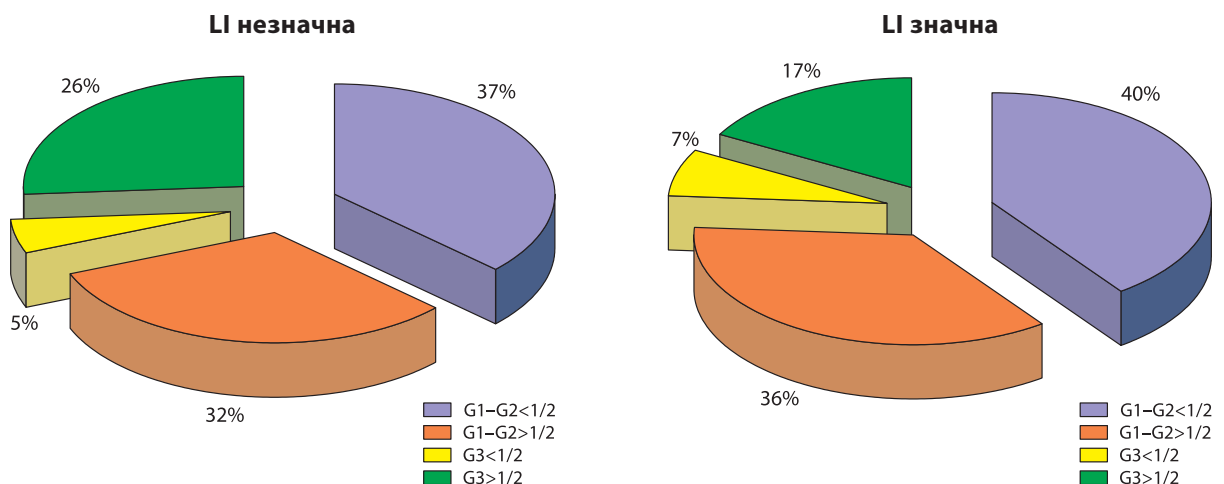


Рис. 2. Розподіл ЕКЕ за різними клініко-морфологічними характеристиками залежно від рівня лімфоцитарної інфільтрації

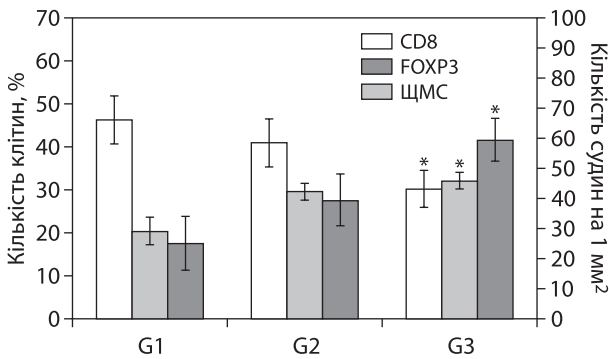


Рис. 3. Вміст деяких компонентів мікрооточення пухлин хворих на ЕКЕ в залежності від ступеня диференціювання

* — $p < 0,05$ порівняно з G1-новоутвореннями.

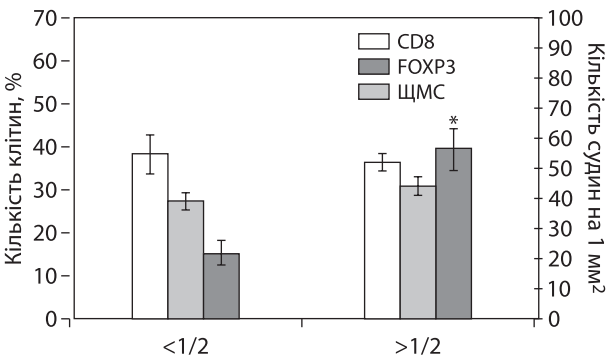


Рис. 4. Вміст деяких компонентів мікрооточення пухлин хворих на ЕКЕ в залежності від глибини інвазії пухлини в міометрії

* — $p < 0,05$ порівняно з <1/2 інвазією у міометрії.

міометрії <1/2. Тобто, зміна саме співвідношення складових ЛІ відіграє важливу роль у механізмах уникнення пухлинними клітинами імунної відповіді, сприяє зростанню ангіогенного, інвазивного і метастатичного потенціалу злоякісного новоутворення [22].

Отже, результати проведеного дослідження дозволили виявити відмінності ЛІ за ступенем вираженості, клітинним складом (CD8⁺- і FOXP3⁺-лімфоцити) та ангіогенним потенціалом залежно від морфологічного ступеня злоякісності ЕКЕ.

Треба зазначити, що окрім інвазії пухлинних клітин у міометрії поширення пухлинного процесу, зокрема метастазування солідних злоякісних новоутворень пов'язано з LVSI, яка характеризується проникненням пухлинних клітин у просвіт кровоносних або лімфатичних судин (емболія) і може бути прогностичним фактором прогресування раку ендометрію [23].

Показано, що більшість випадків ЕКЕ з LVSI були низького ступеня диференціювання та гли-

бокоінвазуючими у міометрії (>1/2) пухлинами, порівняно до карцином ендометрію за відсутності LVSI (табл. 2).

Більш детальний аналіз різних морфологічних варіантів ЕКЕ, показав значно більше випадків пухлин ендометрію G3>1/2 (54%) з наявністю LVSI, порівняно до пухлин G2<1/2 (23%), G2>1/2 (13%) та G3<1/2 (10%) (рис. 5).

Слід зазначити, що у 5 з 30 (16,7%) хворих, пухлини яких мали LVSI зафіксовано метастази у регіонарні лімфатичні вузли.

Втрата пухлинними клітинами адгезивних властивостей, яка може сприяти їх підвищеній рухливості (і, як наслідок, проникненню в оточуючі тканини, кров'яне і лімфатичне русло), може бути результатом змін експресії білків, що задіяні в міжклітинній адгезії, зокрема Е-кадгерину і регулятора його експресії Snail [24].

У групі ЕКЕ з LVSI встановлено нижчу експресію Е-кадгерину ($p = 0,0047$) та вищу експресію Snail ($p = 0,00065$) порівняно зі зразками пухлин без наявності LVSI (рис. 6 А, Б). При цьому, в клітинах ЕКЕ з LVSI визначався значно вищий ІП ($p = 0,0059$) (рис. 6 В).

Згідно результатів біоінформатичного аналізу виживаності хворих на ЕКЕ встановлено, що високий рівень експресії мРНК *SNAIL* і низький *CDH1* асоціювався з нижчою як загальною, так і безрецидивною виживаністю пацієнтів з цією формою раку (рис. 7).

Отже, в клітинах ЕКЕ більш висока експресія Snail, низька експресія Е-кадгерину та висока проліферація пухлинних клітин асоціюється з LVSI, яка у більшості випадків характерна для карцином ендометрію низького ступеня диференціювання з глибокою інвазією у міометрій, що обумовлює формування більш агресивних форм РЕ. Не виключено, що виявлені зміни експресії досліджених маркерів створюють умови для інтравазації пухлинних клітин ендометрію, що обумовлено високою експресією Snail1 (активація якого ха-

Таблиця 2

Клініко-морфологічна характеристика хворих на ЕКЕ залежно від наявності у пухлинах лімфоваскулярної інвазії (LVSI), n (%)

Показники	Кількість пухлин без наявності LVSI, n = 149 (83,2%)	Кількість пухлин з наявністю LVSI, n = 30 (16,8%)
Ступінь диференціювання		
G1	21 (14,1%)	0
G2	121 (81,2%)	11 (36,7%)
G3	7 (4,7%)	19 (63,3%)
p (F-тест)	<0,05	
Глибина інвазії у міометрії		
В межах ендометрію	13 (8,7%)	0
<1/2	110 (73,8%)	9 (30,0%)
>1/2	26 (17,5%)	21 (70,0%)
p (F-тест)	<0,05	

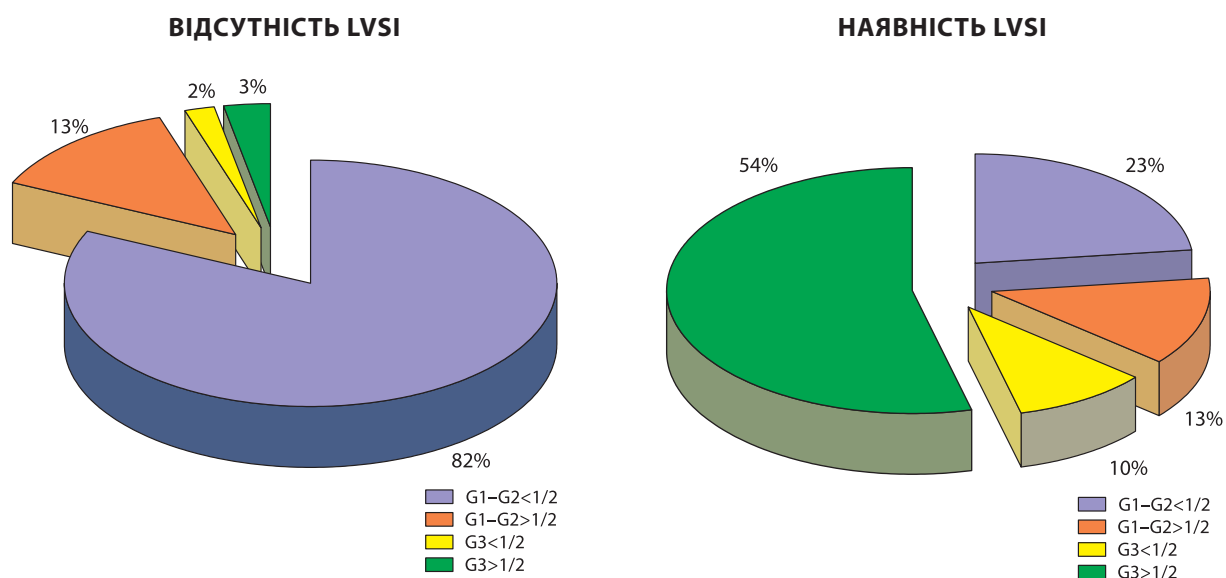


Рис. 5. Розподіл ЕКЕ за різними клініко-морфологічними характеристиками залежно від наявності LVSI

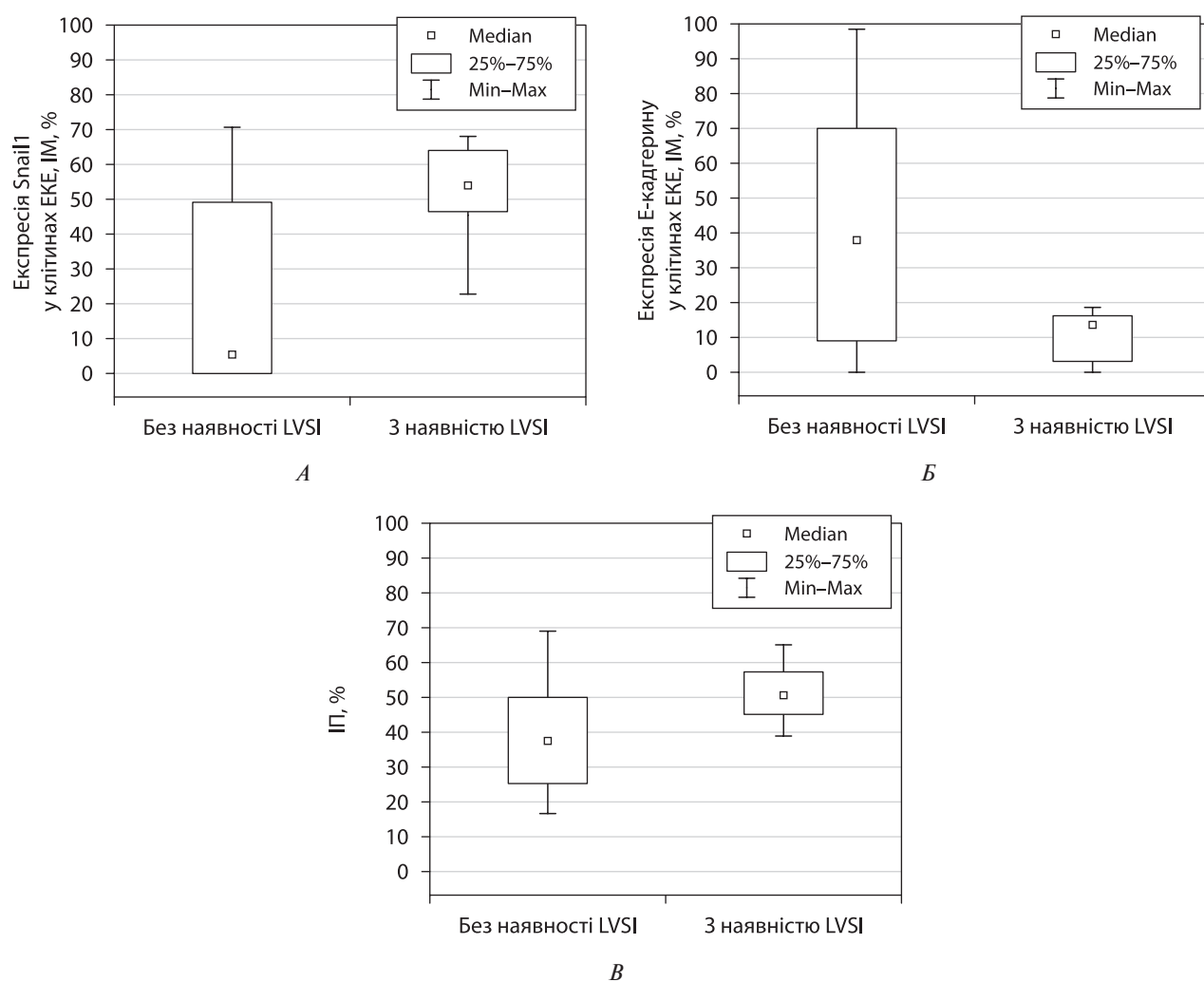


Рис. 6. Особливості експресії Snail1 (А), Е-кадгерину (Б), ІП (В) у пухлинних клітинах залежно від наявності LVSI в ЕКЕ

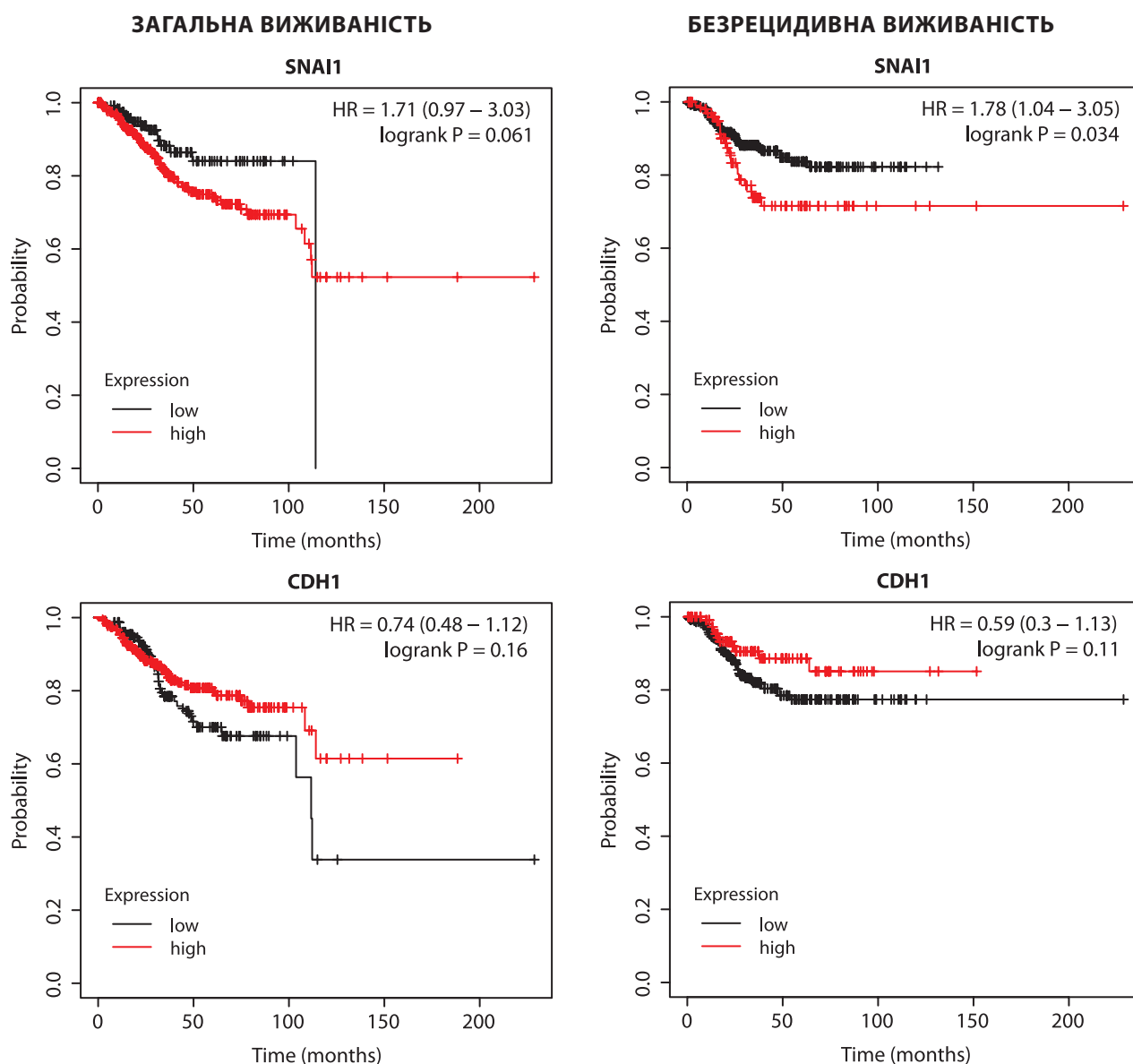


Рис. 7. Аналіз показників виживаності хворих на ЕКЕ залежно від експресії *SNAI1* та *CDH1* на рівні мРНК

рактерна для початкових етапів ЕМП при злоякісному процесі) та інгібуванням експресії маркера епітеліальних клітин Е-кадгерину [22].

Для оцінки прогностичного потенціалу досліджених факторів при ЕКЕ визначено AUC, яка склала для експресії *Snail1* 0,816 (95% ДІ 0,698–0,903) з чутливістю (Se) 95,0% та специфічністю (Sp) 68,6%. Для Е-кадгерину цей показник склав 0,765 (95% ДІ 0,644–0,861), Se=95,0% і Sp=68,5%. Найвищий показник AUC — 0,864 (95% ДІ 0,754–0,937) — встановлено для ІП, його чутливість у диференціюванні випадків з наявністю лімфоваскулярної інвазії та без неї становила 98,0%, а специфічність — 69,2% (рис. 8).

При виборі можливих порогових значень класифікації в моделі прогнозування рівня експресії досліджених маркерів у групах пухлин з наявністю та без наявності LVSI з використанням методу

аналізу кривих операційних характеристик (ROC) встановлено, що для *Snail1* показник склав 19,3, Е-кадгерину — 18,6, ІП — 35,7.

Таким чином, встановлено, що ЕКЕ низького ступеня диференціювання з глибокою інвазією в ендометрій асоціюються з наявністю LVSI, незначною LI, високим вмістом FOXP3⁺ та зниженим CD8⁺-лімфоцитів, а також зі зростанням ШМС. Виявлено, що LVSI корелює з високою експресією *Snail1*, низькою експресією Е-кадгерину та високим проліферативним потенціалом, які можуть бути прогностичними маркерами прогресування ЕКЕ.

Існує думка що не тільки пухлина може індукувати імуносупресію організму, а й імунікомпетентні клітини, які інфільтрують пухлину, можуть сприяти прогресії злоякісного новоутворення, оскільки відбувається селекція і виживання клонів пухлин-

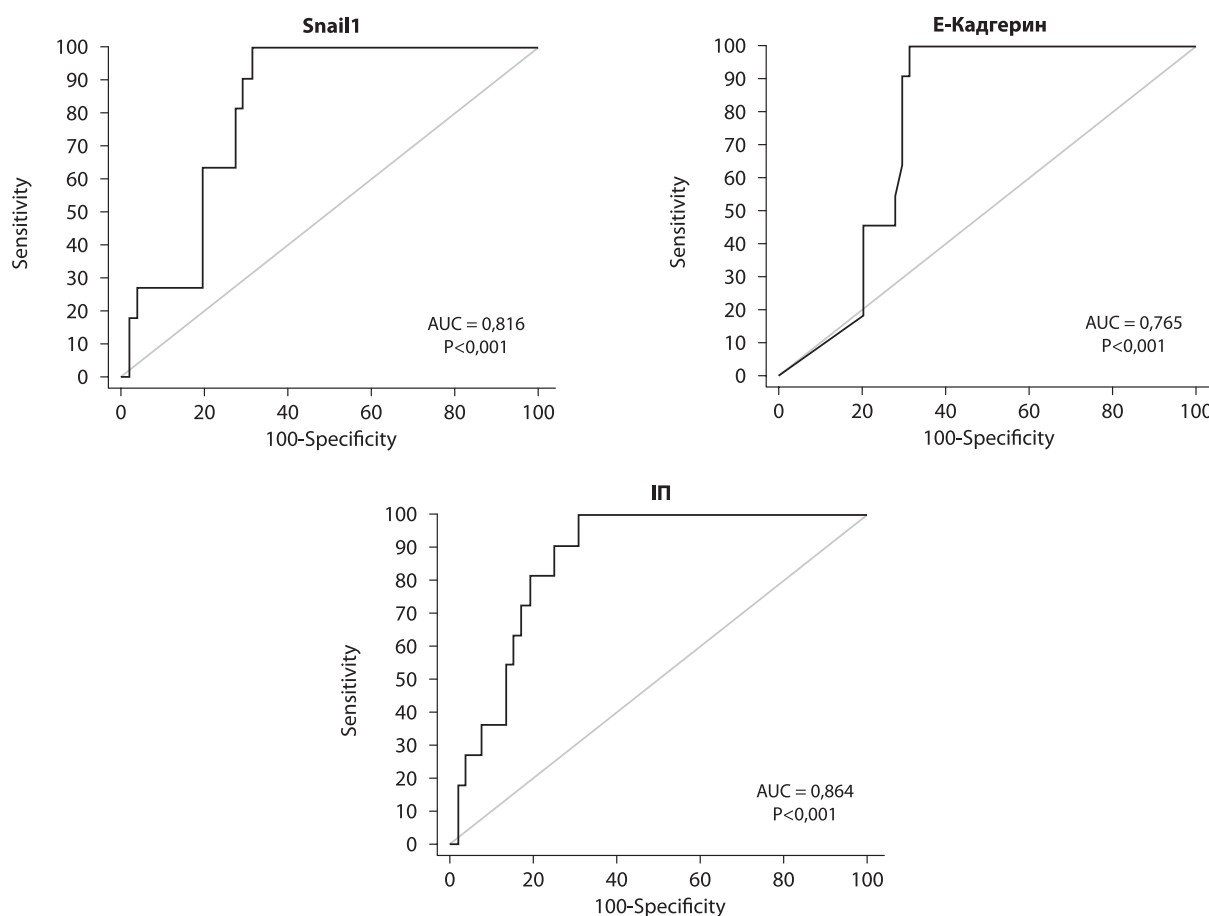


Рис. 8. ROC-криві прогнозування ризику виникнення рецидиву за показниками експресії Snail1, Е-кадгерину та індексу проліферації (ІП) в клітинах ЕКЕ

них клітин здатних до уникнення імунологічного контролю. Такі дослідження ролі лімфоцитів, що інфільтрують пухлину, в основному зосереджені на взаємозв'язку між молекулярними MMR-deficient та POLE-mutant підтипами РЕ [9, 10].

Враховуючи гетерогенність популяційного складу ЛІ не завжди можна об'єктивно оцінити її прогностичне значення щодо перебігу злоякісного новоутворення лише завдяки аналізу гістологічних препаратів забарвлених гематоксилін-еозином. У зв'язку з чим, у пухлинній тканині доцільно досліджувати не тільки морфологічні особливості ЛІ, а і її фенотипові складові [8].

В ході роботи було встановлено, що у групі пухлин з незначною ЛІ переважали низькодиференційовані ЕКЕ. Проте, не було виявлено відмінностей за кількістю випадків ЕКЕ з різним інвазивним потенціалом залежно від особливостей ЛІ.

При аналізі деяких фенотипових характеристик складових ЛІ визначено більший вміст FOXP3⁺-лімфоцитів, зниження кількості CD8⁺-лімфоцитів та зростання ШМС у ЕКЕ, що глибоко інвазують у міометрій порівняно з новоутвореннями з інвазією <1/2 міометрію. Треба зазначити, що у ЕКЕ низького ступеня диференціювання та таких, що

глибоко інвазують у міометрій, спостерігався високий вміст M2-макрофагів [21]. Згідно з даними літератури, M2-макрофаги і FOXP3⁺-лімфоцити продукують високий рівень фактору росту ендотеліальних клітин VEGF, який сприяє ангиогенезу і росту пухлин [25, 26]. Саме VEGF через тирозинкіназні рецептори, що розташовані у мембрані ендотеліальних клітин, стимулює проліферацію останніх з утворенням у пухлині розгалуженої судинної системи та значно посилює проникність судин, сприяючи дисемінації пухлинних клітин [27]. Слід зазначити, що підвищена інфільтрація пухлини макрофагами M2 пов'язана зі стадійним прогресуванням за класифікацією Міжнародної федерації акушерів-гінекологів (International Federation of Gynecology and Obstetrics — FIGO), підвищеною щільністю судин, інвазією лімфоваскулярного простору та метастазами у лімфатичні вузли [28].

У поточному дослідженні показано, що LVSI характерна для більшості (63,3%) низькодиференційованих карцином ендометрію, що глибоко інвазують у міометрій. Крім того, у 16,7% хворих, пухлини яких були LVSI-позитивними, виявлено метастази у регіонарні лімфатичні вузли.

За даними наукової літератури спостерігається значна кореляція LVSI з гістологічним ступенем диференціювання, глибокою інфільтрацією міометрію карцином ендометрію [29]. Згідно оновленої класифікації ESMO наявність LVSI може сприяти стратифікації груп ризику виникнення рецидиву РЕ у хворих з I–II стадіями захворювання [30].

Результати нашого дослідження показали, що LVSI-позитивні пухлини ендометрію характеризуються високою експресією Snail1, що корелює зі зниженням експресії Е-кадгерину і зростанням проліферативного потенціалу пухлинних клітин. Не виключено, що пухлинні клітини із виявленими молекулярними особливостями обумовлюють міграційно-інвазивний потенціал ЕКЕ.

Резюмуючи наведене вище, необхідно зазначити, що вираженість LI та її субпопуляційний склад, наявність/відсутність LVSI є факторами, що визначають перебіг пухлинного процесу ЕКЕ.

ВИСНОВКИ

1. Виявлено відмінності LI за ступенем вираженості, клітинним складом (CD8⁺- і FOXP3⁺-лімфоцити) в залежності від морфологічних ознак злякисності ЕКЕ.

2. Встановлено, що незначна LI асоціюється з високим вмістом FOXP3⁺- і низьким вмістом CD8⁺-лімфоцитів, зростанням ЩМС у пухлинному мікрооточенні, низьким ступенем диференціювання та глибокою інвазією пухлини у міометрій.

3. Показано, що LVSI характерна для карцином ендометрію низького ступеня диференціювання і пов'язана з високою експресією Snail1, низькою Е-кадгерину та високою проліферацією пухлинних клітин. Вірогідно, що виявлені зміни експресії Snail1 і Е-кадгерину створюють умови для інвазивних процесів у ендометрії.

4. Встановлено, що показники експресії Snail1, Е-кадгерину та ІІІ можуть слугувати незалежними маркерами прогнозування перебігу ЕКЕ та стратифікації хворих за групами ризику, оскільки їх ефективність підтверджено результатами ROC-аналізу.

Робота виконана в рамках НДР “Гормонально-рецепторний статус клітин пухлинного мікрооточення як фактор модуляції онкогенезу в ендометрії та молочній залозі” (№ держреєстрації 0123U100100).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Cancer in Ukraine 2021–2022: Incidence, mortality, prevalence and other relevant statistics. Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine; **24**. Kyiv — 2023. http://ncru.inf.ua/publications/BULL_24/index_e.htm.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne, *et al*. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021; **71**: 209–49.
3. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin* 2023; **73** (1): 17–48. doi: 10.3322/caac.21763.
4. Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I, *et al*. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2021; **31** (1): 12–39. doi: 10.1136/ijgc-2020-002230.
5. Loi S, Michiels S, Adams S, *et al*. The journey of tumor-infiltrating lymphocytes as a biomarker in breast cancer: clinical utility in an era of checkpoint inhibition. *Ann Oncol* 2021; **32** (10): 1236–44. doi: 10.1016/j.annonc.2021.07.007.
6. Fu Q, Chen N, Ge C, *et al*. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Oncoimmunology* 2019; **8** (7): 1593806. doi: 10.1080/2162402X.2019.1593806.
7. Guo F, Dong Y, Tan Q, *et al*. Tissue Infiltrating Immune Cells as Prognostic Biomarkers in Endometrial Cancer: A Meta-Analysis. *Dis Markers* 2020; **2020**: 1805764. doi: 10.1155/2020/1805764.
8. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, *et al*. Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumors: A practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the international immunooncology biomarkers working group. Part 1: Assessing the host immune response, TILs in invasive breast carcinoma and ductal carcinoma *in situ*, metastatic tumor deposits and areas for further research. *Adv Anat Pathol* 2017; **24** (5): 235–51. doi: 10.1097/PAP.000000000000162.
9. Fan CT, Hsu ST, Sun L, *et al*. Improved progression-free survival associated with tumor-infiltrating lymphocytes in high-grade endometrial cancer. *J Clin Med* 2023; **12** (2): 603. doi: 10.3390/jcm12020603.
10. Van Gool IC, Ubachs JEH, Stelloo E, *et al*. Blinded histopathological characterisation of POLE exonuclease domain-mutant endometrial cancers: sheep in wolf's clothing. *Histopathology* 2018; **72** (2): 248–58. doi: 10.1111/his.13338.
11. Willvonseder B, Stögbauer F, Steiger K, *et al*. The immunologic tumor microenvironment in endometrioid endometrial cancer in the morphomolecular context: Mutual correlations and prognostic impact depending on molecular alterations. *Cancer Immunol Immunother* 2021; **70**: 1679–89. doi: 10.1007/s00262-020-02813-3.
12. Iurchenko NP, Glushchenko NM, Buchynska LG. Comprehensive analysis of intratumoral lymphocytes and FOXP3 expression in tumor cells of endometrial cancer. *Exp Oncol* 2014; **36** (3): 262–66.
13. Hudry D, Le Guellec S, Meignan S, *et al*. Tumor-Infiltrating lymphocytes (TILs) in epithelial ovarian cancer: Heterogeneity, prognostic impact, and relationship with immune checkpoints. *Cancers (Basel)* 2022; **14** (21): 5332. doi: 10.3390/cancers14215332.
14. Guntupalli SR, Zigelboim I, Kizer NT, *et al*. Lymphovascular space invasion is an independent risk factor for nodal disease and poor outcomes in endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2012; **124** (1): 31–5. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.09.017.
15. Bosse T, Peters EE, Creutzberg CL, *et al*. Substantial lymphovascular space invasion (LVSI) is a significant risk factor for recurrence in endometrial cancer — a pooled analysis of PORTEC 1 and 2 trials. *Eur J Cancer* 2015; **51** (13): 1742–50. doi: 10.1016/j.ejca.2015.05.015.
16. Pei Q, Zhu H, Tan F, *et al*. Intravascular emboli is an independent risk factor for the prognosis of stage III colorectal cancer patients after radical surgery. *Oncotarget* 2016; **7** (35): 57268–76. doi: 10.18632/oncotarget.11266.
17. Briët JM, Hollema H, Reesink N, *et al*. Lymphovascular space involvement: an independent prognostic factor in endo-

- metrial cancer. *Gynecol Oncol* 2005; **96** (3): 799–804. doi: 10.1016/j.ygyno.2004.11.033.
18. Nofech-Mozes S, Ackerman I, Ghorab Z, *et al.* Lymphovascular invasion is a significant predictor for distant recurrence in patients with early-stage endometrial endometrioid adenocarcinoma. *Am J Clin Pathol* 2008; **129** (6): 912–7. doi: 10.1309/CP3HGX7H753QQU8T.
 19. Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; **15**: 178–96. <https://www.elsevier.com/locate/tranon>.
 20. Buchynska LG, Glushchenko NM, Nespryadko SV, *et al.* The significance of the expression of the epithelial–mesenchymal transition marker Snail1 and its regulator TGF- β 1 in the progression of endometrioid carcinoma of the endometrium. *Oncology* 2023; **25** (3): 194–99. doi: <https://doi.org/10.15407/oncology.2023.03.194>. (in Ukrainian).
 21. Nesina IP, Yurchenko NP, Nespryadko SV, Buchynska LG. Tumor-associated macrophages, FOXP3⁺-lymphocytes and microvessel density in endometrial carcinoma of patients with various menstrual status. *Oncology* 2017; **19** (1): 52–57. (in Ukrainian).
 22. Wang Q, Shao X, Zhang Y, *et al.* Role of tumor microenvironment in cancer progression and therapeutic strategy. *Cancer Med* 2023; **12** (10): 11149–65. doi: 10.1002/cam4.5698.
 23. Singh Naveena, Hirschowitz L, Zaino R, *et al.* Pathologic prognostic factors in endometrial carcinoma (other than tumor type and grade). *Int J Gynecol Pathol* 2019; **38** (1): S93–S113. doi: 10.1097/PGP.0000000000000524.
 24. Škovierová H, Okajčková T, Strnádel J, *et al.* Molecular regulation of epithelial-to-mesenchymal transition in tumorigenesis (Review). *Int J Mol Med* 2018; **41**: 1187–200. doi: 10.3892/ijmm.2017.3320.
 25. Chanmee T, Ontong P, Konno K, Itano N. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. *Cancers (Basel)* 2014; **6** (3): 1670–90. doi: 10.3390/cancers6031670.
 26. 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 Pac J Cancer Prev* 2012; **13** (3): 867–72. doi: 10.7314/apjcp.2012.13.3.867.
 27. 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** (1): 175–80. doi: 10.3892/ol.2013.1349.
 28. Kübler K, Ayub TH, Weber SK, *et al.* Prognostic significance of tumor-associated macrophages in endometrial adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 2014; **135** (2): 176–83. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.08.028.
 29. Tortorella L, Restaino S, Zannoni GF, *et al.* Substantial lymph-vascular space invasion (LVSI) as predictor of distant relapse and poor prognosis in low-risk early-stage endometrial cancer. *J Gynecol Oncol* 2021; **32** (2): e11. doi: 10.3802/jgo.2021.32.e11.
 30. Bendifallah S, Canlorbe G, Raimond E, *et al.* A clue towards improving the European Society of Medical Oncology risk group classification in apparent early stage endometrial cancer? Impact of lymphovascular space invasion. *Br J Cancer* 2014; **110** (11): 2640–6. doi: 10.1038/bjc.2014.237.

THE SIGNIFICANCE OF LYMPHOCYTIC INFILTRATION AND LYMPHOVASCULAR INVASION IN THE PROGRESSION OF ENDOMETRIOID CARCINOMA OF THE ENDOMETRIUM

N.M. Glushchenko, N.P. Iurchenko,
L.G. Buchynska

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine,
Kyiv, Ukraine

Summary. Aim: to evaluate lymphocytic infiltration and lymphovascular invasion in endometrioid carcinoma of the endometrium depending on the clinical and morphological features of the patients. **Object and methods:** pathohistological findings of samples of surgical material of 247 patients with endometrioid carcinoma of the endometrium (ECE). **Methods:** immunohistochemical, cytofluorometric, statistical, bioinformatics, ROC analysis. **Results:** in the analysis of pathohistological findings, it was established that 44.1% of ECE have slight lymphocytic infiltration (LI), 55.9% have significant LI. In the group of endometrial carcinoma with a insignificant LI it is established a larger amount of G3 tumors with deep invasion in the myometrium (26.0%) compared to the group of tumors with significant LI (17.0%, $p < 0.05$). A low content of CD8⁺-lymphocytes, a large number of

FOXP3⁺-lymphocytes and a density of microvessels are found in G3- and deeply invasive tumors. Lymphovascular invasion (LVSI) was observed in 63.3% of such tumors, which was associated with high Snail1 expression, low E-cadherin, a decrease overall and recurrence-free survival of patients with this oncopathology. **Conclusion:** the severity of LI, its subpopulation composition, and LVSI are factors associated with certain morphofunctional characteristics of ECE (low degree of differentiation, deep invasion of the tumor into the myometrium, and high proliferative activity). It was established that LVSI is associated with the expression of Snail1 and E-cadherin, which may be predictors of the course of the disease in patients with ECE.

Keywords: endometrioid carcinoma of the endometrium, lymphocytic infiltration, lymphovascular invasion, prognosis.

Адреса для листування:

Глушенко Н.М.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: laboncogen@gmail.com

Одержано: 29.05.2024