

І.П. Несіна<sup>1</sup>  
 Н.П. Юрченко<sup>1</sup>  
 О.М. Мовчан<sup>2</sup>  
 Н.М. Глущенко<sup>1</sup>  
 Л.Г. Бучинська<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

<sup>2</sup>Національний інститут раку, Київ, Україна

**Ключові слова:** ендометріодна карцинома ендометрія, CD68<sup>+</sup>- і CD163<sup>+</sup>-макрофаги, щільність мікросудин, ERα, Ki-67.

## СПІВВІДНОШЕННЯ CD-68<sup>+</sup> І CD-163<sup>+</sup>-МАКРОФАГІВ В ЕНДОМЕТРІОЇДНІЙ КАРЦИНОМІ ЕНДОМЕТРІЯ

**Мета:** оцінити локалізацію та вміст CD163<sup>+</sup>- та CD68<sup>+</sup>-макрофагів в ендометріодних карциномах ендометрію (ЕКЕ) з урахуванням клініко-патологічних характеристик прогресування пухлинного процесу. **Об'єкт і методи:** операційний матеріал 65 хворих на рак ендометрію I–II стадії віком від 32–78 років (середній вік — 58,3±1,9 року). **Методи:** клінічний, морфологічний, імуногістохімічний. **Результати:** встановлено гетерогенність субпопуляції CD68<sup>+</sup>- і CD163<sup>+</sup>-макрофагів в ЕКЕ як в осередках пухлини, так і у стромальному мікрооточенні. Показано, що в ЕКЕ з високим вмістом CD163<sup>+</sup>-макрофагів у стромальному компоненті пухлини зростає експресія рецептора естрогенів α (71,9±5,6%) і маркера проліферації клітин Ki-67 (55,3±4,6%) порівняно з експресією цих біомолекулярних маркерів (відповідно 43,4±4,2 і 38,0±3,4%,  $p < 0,05$ ) у ЕКЕ з низьким вмістом цих макрофагів. Співвідношення кількості стромальних CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>-макрофагів у низькодиференційованих ЕКЕ і таких, що глибоко інвазують міометрій та характеризуються високою щільністю мікросудин, становило відповідно 2,6; 3,5 і 3,5, що перевищує такі показники ЕКЕ з меншим потенціалом злоякісності (G2-пухлини, інвазія пухлини  $< 1/2$  міометрію, низька щільність мікросудин) — 1,8; 1,4 і 1,7 відповідно. **Висновки.** Підвищення вмісту CD163<sup>+</sup>-макрофагів з одночасним зменшенням кількості CD68<sup>+</sup>-макрофагів у стромальному компоненті ЕКЕ асоціюється з такими показниками прогресування новоутворення, як низький ступінь диференціювання, глибока інвазія пухлини у міометрій, високий проліферативний і ангіогенний потенціал. Отримані результати доцільно враховувати під час визначення стратегії лікування хворих на рак ендометрію, залежно від поляризації макрофагів.

На сьогодні добре відомо, що одним з факторів прогресування злоякісного новоутворення є формування у пухлинному мікрооточенні певного пулу імунних клітин, що змінюють патофізіологічні характеристики пухлини, створюючи умови для розвитку її імунної толерантності. При цьому суттєвого значення набувають клітини пухлинної строми, а саме пухлиноасоційовані макрофаги (ПАМ), що характеризуються дуалістичними властивостями і вираженою пластичністю, яка залежить від шляхів їх поляризації. Макрофаги можуть обернено змінювати свій фенотип у відповідь на внутрішньоклітинні сигнали мікрооточення, у тому числі гіпоксію, стимули, отримані від інших імунних клітин, пухлинних клітин і позаклітинного матриксу [1]. ПАМ представлені макрофагами як I (M1), так і II (M2) типу. Відомо, що M1-макрофаги характеризуються прозапальним фенотипом, експресуючи цитокіни (інтерлейкін (ІЛ)-1, ІЛ-6 та фактор некрозу пухлини-α (tumor necrosis factor-α — TNFα), ефекторні молекули і хемокіни CXCL9 та CXCL10, що забезпечує їх протипухлинні властивості. На відміну від цього, функціонування M2-макрофагів спричиняє протизапальний ефект і може безпосередньо впливати на кілька етапів розвитку пухлини, включаючи виживання пухлинних

клітин, посилення проліферації, набуття інвазивних, ангіогенних і імуносупресивних властивостей [1–3]. M2-макрофаги виконують ці функції через взаємодію з іншими клітинами стромального мікрооточення, що пов'язані з пухлинною прогресією, у тому числі з пухлиноасоційованими фібробластиками, регуляторними Т-лімфоцитами (Tregs), а також через перехресні зв'язки з цитотоксичними Т-лімфоцитами та природними клітинами-кілерами [4–6].

Відомо, що макрофаги M1 і M2 відрізняються не тільки за функціональними властивостями, а й за фенотиповими ознаками. За даними одних авторів, макрофаги M1 детектують за експресією антигенів CD68<sup>+</sup>, CD80/CD86<sup>+</sup> і CD25<sup>+</sup>, макрофаги M2 — за експресією CD68<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup>, CD204<sup>+</sup> і CD206<sup>+</sup> [3]. Тобто частина CD68<sup>+</sup>-макрофагів реалізує функції як M1, так і M2. Проте інші дослідники вважають, що маркером макрофагів M1 є CD68, а макрофаги M2 визначають за експресією білка CD163 [4, 7].

Згідно з даними багатьох досліджень, саме CD163<sup>+</sup>-макрофаги залучені до прогресування і погіршення клінічного перебігу низки солідних карцином людини, у тому числі раку молочної залози (PM3), легені, товстої кишки, шлунка тощо [2, 4, 7, 8]. Поряд із цим

при прогресії злоякісного новоутворення змінюється розподіл M1- і M2-макрофагів у осередках пухлинних клітин і стромальному компоненті новоутворення. Так, при багатофакторному аналізі недрібноклітинного раку легені встановлено, що висока інтратуморальна інфільтрація макрофагами M1 є незалежним сприятливим прогностичним показником. Висока стромальна інфільтрація макрофагами M2 асоціюється зі зниженням виживаності хворих [9]. Наведені авторами результати дослідження тричі негативного РМЗ свідчать, що CD68<sup>+</sup>-макрофаги локалізуються у межах пухлинних осередків, прилеглий стромі, тоді як CD163<sup>+</sup>-макрофаги переважно визначаються у стромі. Крім того, встановлено, що вміст CD163<sup>+</sup>-макрофагів у метастатичних ураженнях лімфатичних вузлів корелював зі зниженням виживаності хворих на РМЗ [7].

Японськими дослідниками у ході вивчення вмісту CD68<sup>+</sup>- і CD163<sup>+</sup>-макрофагів у разі тричі негативного РМЗ не було виявлено кореляційних зв'язків між співвідношенням CD163/CD68-макрофагів та клініко-патологічними особливостями хворих. Проте показано, що високий вміст саме CD163<sup>+</sup>-макрофагів при тричі негативному РМЗ пов'язаний з несприятливим прогнозом у таких пацієнтів [10].

Під час дослідження особливостей інфільтрації макрофагами новоутворень ендометрію отримано неоднозначні результати. Виявлено відмінності у вмісті і розташуванні CD68<sup>+</sup>- і CD163<sup>+</sup>-макрофагів у зразках комплексної атипової гіперплазії і карциномах ендометрію. Встановлено, що у стромальному компартменті ендометріодної карциноми ендометрію (ЕКЕ), які у більшості випадків є гормонезалежними пухлинами, вміст CD68<sup>+</sup>-макрофагів був вищим порівняно з неендометріодними карциномами ендометрію, тоді як за атипової гіперплазії ендометрію спостерігалось збільшення кількості CD163<sup>+</sup>-макрофагів [11]. У той же час інші дослідники доводять, що наявність асоційованих з пухлиною CD163<sup>+</sup>-макрофагів вказує на агресивний характер карциноми ендометрію і є негативним прогностичним фактором безрецидивної виживаності хворих [12]. Окрім того показано, що секретований CD163<sup>+</sup>-макрофагами цитокін IL-17A, який через TET1 (Tet methylcytosine dioxygenase 1)-опосередковану епігенетичну модуляцію посилює експресію рецептора естрогенів (estrogen receptor- $\alpha$  — ER- $\alpha$ ) в умовах гіперестрогенії, яка характерна для ЕКЕ, сприяє підвищеній проліферації пухлинних клітин [13].

У наших попередніх дослідженнях визначено, що пухлини хворих на рак ендометрію зі збереженою менструальною функцією містять меншу кількість CD68<sup>+</sup>-макрофагів, ніж у пацієнтів з тривалістю менопаузи більше 10 років. Підвищений вміст цієї субпопуляції макрофагів у хворих асоціюється з показниками більш агресивного перебігу захворювання [14]. Встановлено достовірне підвищення вмісту CD163<sup>+</sup>-макрофагів у стромальному компоненті Twist<sup>+</sup>-карцином ендометрію порівняно з їх

кількістю у Twist<sup>-</sup>-пухлинах, тобто без ознак епітеліально-мезенхімального переходу [15].

Враховуючи зазначене, **мета** цього дослідження полягала в оцінці локалізації та вмісту CD163<sup>+</sup>- та CD68<sup>+</sup>-макрофагів в ЕКЕ з урахуванням клініко-патологічних характеристик прогресування пухлинного процесу.

## ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Матеріалом дослідження були операційні зразки 65 хворих на ЕКЕ I–II стадії захворювання віком від 32–78 років (середній вік — 58,3 $\pm$ 1,9 року). Усі хворі перебували на лікуванні у відділенні онкогінекології Національного інституту раку МОЗ України в період 2014–2018 рр. (завідувач науководослідним відділенням онкогінекології — доктор медичних наук професор В.С. Свінцицький), не отримували передопераційної терапії і дали інформовану згоду на використання їх біологічного матеріалу для проведення наукових досліджень, які виконували відповідно до міжнародних етичних засад.

Заключний морфологічний діагноз було верифіковано на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозинном. Імуногістохімічне виявлення біомолекулярних маркерів здійснювали на депарафінованих зрізах пухлин ендометрію, з використанням моноклональних антитіл (МкАТ) для наступних білків: CD163, клон Моб460-05 («Diagnostic BioSystems», США), інші МкАТ: CD68, клон PG-M1; маркера проліферації клітин — Ki-67, клон MIB-1; ER- $\alpha$ , клон ID5; наявність і щільність мікросудин (ЩМС) визначали за допомогою МкАТ до CD34, клон QVEnd10 («DakoCytomation», Данія) та системи візуалізації PolyVue HRP/DAB Detection System («Diagnostic BioSystems», USA). Забарвлення білка здійснювали за допомогою хромогену — 3-діамінобензидину тетраклориду. Ядра клітин дофарбовували гематоксиліном Майєра.

Результати імуногістохімічної реакції оцінювали напівкількісним методом шляхом підрахунку позитивно забарвлених клітин — індекс мітки (ІМ, %). Проліферативний потенціал визначали під час підрахунку кількості клітин з експресією білка Ki-67 (індекс проліферації — ІП, %). У кожному препараті аналізували до 800–1000 пухлинних клітин. Кількість CD68<sup>+</sup>- і CD163<sup>+</sup>-макрофагів підраховували у 10 полях зору за збільшення мікроскопу  $\times 400$  з подальшою оцінкою кількості клітин на одне поле зору (кл/пз). Під час аналізу враховували їх вміст у стромальних ділянках та осередках пухлинних клітин.

Кількість судин підраховували у 10 полях зору мікроскопу за збільшення  $\times 100$ , розмір одного поля зору обмежувався вимірювальною квадратною сіткою зі стороною 0,79 мм). ЩМС (кількість судин на 1 мм<sup>2</sup>) визначали за формулою:  $ЩМС = n \cdot 1 \text{ мм}^2 : 0,625 \text{ мм}^2$ , де (n) — середня кількість судин в одному полі зору; 0,625 мм<sup>2</sup> — площа одного поля зору. Визначені показники, менші за медіану (Me) вважали низькими, а ЩМС  $\geq$  Me — високими.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакету програм Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.) з використанням непараметричного U-критерію Манна—Уїтні та кореляційного аналізу (коефіцієнт рангової кореляції Спірмена). За достовірний рівень значущості приймали  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Під час проведення дослідження встановлено, що CD68<sup>+</sup>- і CD163<sup>+</sup>-макрофаги виявляли в усіх досліджених пухлинах ендометрію зі значною варіабельністю їх вмісту в окремих ділянках новоутворення: в осередках пухлинних клітин (інтратуморальні), відповідно, 1,1–27,6 та 3,1–26,1 кл/пз; у стромі, відповідно, 4,2–18,8 та 4,0–33,2 кл/пз. Кількість як інтратуморальних, так і стромальних CD163<sup>+</sup>-макрофагів в ЕКЕ була майже вдвічі більшою, ніж CD68<sup>+</sup>-макрофагів, тобто переважав вміст макрофагів M2. Так, середній вміст інтратуморальних CD68<sup>+</sup>- і CD163<sup>+</sup>-макрофагів становив відповідно 7,7±1,8 та 14,5±2,2 кл/пз, стромальних — 10,8±2,0 та 21,6±3,4 кл/пз. Значення Me інтратуморальних CD68<sup>+</sup>- і CD163<sup>+</sup>-макрофагів дорівнювали відповідно 6,7 та 14,1 кл/пз, стромальних — 10,2 та 17,2 кл/пз.

Дослідження вмісту двох субпопуляцій макрофагів згідно з клініко-патологічними характеристиками пухлинного процесу показало значну варіабельність кількості CD68<sup>+</sup>-макрофагів в осередках пухлинних клітин і стромі залежно від ступеня диференціювання, глибини інвазії пухлини у міометрій і ЩМС в ЕКЕ (табл. 1).

Таблиця 1

**Вміст CD68<sup>+</sup>- і CD163<sup>+</sup>-макрофагів у карциномах ендометрію з різним ступенем диференціювання, глибиною інвазії пухлини у міометрій і ЩМС**

Досліджені параметри	Кількість CD68 <sup>+</sup> -макрофагів, кл/пз		Кількість CD163 <sup>+</sup> -макрофагів, кл/пз	
	в осередках пухлинних клітин	у стромі	в осередках пухлинних клітин	у стромі
Ступінь диференціювання ЕКЕ:				
G2	6,7±0,7	10,4±1,3	9,7±1,2	18,9±3,0
G3	10,2±1,3	9,8±1,2	17,4±2,9	26,0±3,2
Інвазія пухлини у міометрій:				
<1/2	10,7±1,7	14,0±2,4	19,1±2,7	20,1±2,4
>1/2	6,6±0,8	9,3±1,3	12,2±2,8	29,3±3,4
ЩМС:				
<Me	6,8±0,7	8,7±1,4	13,6±2,7	15,2±2,4
≥Me	11,3±1,8	8,3±1,3	12,0±1,9	29,2±3,4*

Примітка: \* $p < 0,05$  порівняно з вмістом CD163<sup>+</sup>-макрофагів в ЕКЕ з низькою ЩМС.

Кількість CD163<sup>+</sup>-макрофагів у осередках пухлинних клітин мала тенденцію до збільшення у ЕКЕ низького ступеня диференціювання і до зниження у пухлинах, що інвазували >1/2 міометрія, та була майже однаковою у пухлинах з високою і низькою ЩМС.

На відміну від цього, кількість CD163<sup>+</sup>-макрофагів у стромі ЕКЕ мала тенденцію до збільшення при таких показниках прогресії пух-

лини, як низький ступінь диференціювання (26,0±3,2 кл/пз), глибока інвазія пухлини у міометрій (29,3±3,4 кл/пз), і достовірно зростала у пухлинах з ЩМС (29,2±3,4 кл/пз) порівняно з їх вмістом у G2-пухлинах (18,9±3,0 кл/пз), що інвазують <1/2 міометрію (20,1±2,4 кл/пз) і з низькою ЩМС (15,2±2,4 кл/пз,  $p < 0,05$ ), що, ймовірно, може свідчити про зв'язок між прогресуванням ЕКЕ і вмістом CD163<sup>+</sup>-макрофагів у стромі.

Враховуючи дані літератури щодо зв'язку між високим вмістом CD163<sup>+</sup>-макрофагів і підвищеною експресією ER- $\alpha$ , що асоціюється зі зростанням проліферативного потенціалу пухлинних клітин [13], нами було проведено порівняльне дослідження експресії ER- $\alpha$  і Ki-67 з різним вмістом стромальних CD163<sup>+</sup>-макрофагів в ЕКЕ. Встановлено, що в ЕКЕ з високим вмістом CD163<sup>+</sup>-макрофагів вірогідно зростає як експресія ER- $\alpha$  (71,9±5,6%), так і маркера проліферації клітин Ki-67 (55,3±4,6%) порівняно зі значеннями цих показників (відповідно 43,4±4,2 і 38,0±3,4%,  $p < 0,05$ ) у ЕКЕ з низьким вмістом CD163<sup>+</sup>-макрофагів (табл. 2).

Таблиця 2

**Експресія ER і маркера проліферації клітин Ki-67 залежно від вмісту CD163<sup>+</sup>-макрофагів у стромальному компоненті ЕКЕ**

Вміст стромальних CD163 <sup>+</sup> -макрофагів, кл/пз	Експресія біомолекулярних маркерів	
	ER $\alpha$ , ІМ, %	Ki-67, ІП, %
Me <17,2	43,4±4,2	38,0±3,4
Me ≥17,2	71,9±5,6*	55,3±4,6*

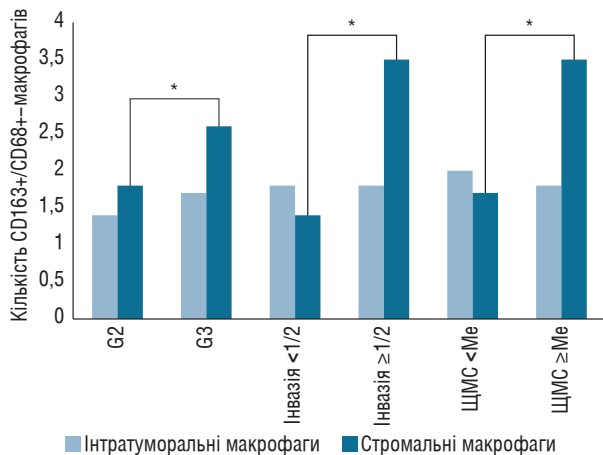
Примітка: \* $p < 0,05$  порівняно з експресією маркерів в ЕКЕ з низьким вмістом CD163<sup>+</sup>-макрофагів

На відміну від цього, в ЕКЕ з високим вмістом CD68<sup>+</sup>-макрофагів експресія маркера проліферації клітин Ki-67 була нижчою (29,2±2,9%), ніж у пухлинах з низьким вмістом CD68<sup>+</sup>-макрофагів (43,3±4,8%).

Під час оцінки асоціації вмісту компонентів мікрооточення пухлини з експресією маркера проліферації клітин Ki-67 встановлено існування прямого корелятивного зв'язку з кількістю CD163<sup>+</sup>-макрофагів ( $R = 0,66$ ,  $p < 0,05$ ) та оберненого — з числом CD68<sup>+</sup>-макрофагів ( $R = -0,54$ ,  $p < 0,05$ ). Отримані дані дозволяють припустити, що велика кількість CD163<sup>+</sup>-макрофагів є суттєвою ознакою агресивності ЕКЕ.

Для оцінки внеску досліджених субпопуляцій макрофагів у прогресування ЕКЕ нами було визначено співвідношення кількості CD163<sup>+</sup>-до CD68<sup>+</sup>-макрофагів залежно від клініко-морфологічних особливостей ЕКЕ. З'ясувалося, що в осередках G2-пухлин значення співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> не суттєво відрізнялося від цього показника в G3-новоутвореннях та в ЕКЕ з інвазією більше 1/2 міометрія. Проте у стромі низькодиференційованих ЕКЕ і таких, що глибоко інвазують міометрій і мають високу ЩМС, співвідношення кількості CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>-макрофагів становило 2,6; 3,5 і 3,5 відповідно, тоді як у пухлинах з нижчим потенціалом злоякісності (G2-пухлини, інва-

зія <1/2 міометрія, низька ЩМС) становило відповідно 1,8; 1,4, і 1,7 (рисунок).



**Рисунок.** Співвідношення кількості CD163+/CD68+-макрофагів у карциномах ендометрію різного ступеня диференціювання, глибини інвазії пухлини у міометрії та ЩМС \**p* < 0,05 порівняно з клініко-морфологічними показниками у стромальному компоненті ЕКЕ.

Таким чином, проведене дослідження дозволило виявити асоціацію високого вмісту CD163+-макрофагів у стромальному компоненті ЕКЕ з показниками прогресування пухлинного процесу (низький ступінь диференціювання, глибока інвазія пухлини у міометрії, високий проліферативний та ангіогенний потенціал), тобто кількість CD163+-макрофагів у стромальному компоненті пухлини певною мірою відображає агресивність ЕКЕ і ця субпопуляція макрофагів функціонально відповідає поляризованому макрофагам II типу. На це вказують і дослідження інших авторів, які показали, що підвищена інфільтрація асоційованих з пухлиною CD163+-макрофагів 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 [12]. Останнє вірогідно зумовлено продукцією макрофагами низки протизапальних цитокінів і хемокінів, у тому числі IL-10, CCL18, CXCL12, різноманітних білків позаклітинного матриксу і ферментів для його моделювання і руйнування, зокрема фібронектину, тенасцину С, матриксних металопротеїназ, що стимулює проліферацію пухлинних клітин, підвищує їх міграційну здатність, активує ангіогенні процеси [1–6].

Поряд з наведеним встановлено зниження імунної відповіді, у тому числі вмісту CD68+-макрофагів у інвазивних карциномах ендометрію, що асоціюється з несприятливим клінічним прогнозом цього захворювання [16].

Натомість при вивченні співвідношення CD68+/CD163+-макрофагів у новоутвореннях іншого генезу, зокрема у первинних пухлинах і метастазах РМЗ різних молекулярних підтипів, було показано, що менш агресивний перебіг люмінального А підтипу РМЗ асоціюється зі збільшенням кількості CD68+

макрофагів як в первинних пухлинах, так і в метастазах у лімфатичні вузли. При високотроякісних підтипах РМЗ у первинній пухлині і метастазах у лімфатичні вузли спостерігається значне підвищення кількості CD163+-макрофагів, що, на думку авторів, відображає значення макрофагів М2 в прогресуванні РМЗ [7]. Інші дослідники підкреслюють, що підвищений вміст CD163+-макрофагів є одним із факторів, які модулюють перебіг тричі негативного РМЗ шляхом регуляції імунної реакції у стромі пухлини та безпосередньо впливаючи на пухлинні клітини [8].

Не виключено, що підвищений вміст макрофагів М2 поряд з продукуванням ними хемокіну CXCL12 і високим вмістом CXCL12+-фібробластів у пухлинному мікрооточенні ЕКЕ та експресією хемокінового рецептора CXCR4 у пухлинних клітинах спричиняє рухливість клітин і прогресування злоякісного новоутворення [17]. У той же час високий вміст CXCL12+-фібробластів у карциномах ендометрію може бути причиною збільшеної кількості CD163+-макрофагів, оскільки відомо, що саме хемокін CXCL12 є потужним хемоатрактантом, що залучає М2-подібні макрофаги у пухлину [4]. Поряд із цим у більшості досліджень показано, що пухлиноасоційовані фібробласти і макрофаги є одними з найбільш важливих складових мікрооточення пухлини, які знаходяться у динамічному взаємозв'язку один з одним та з пухлинними клітинами і здатні їх функціонально змінювати [18, 19].

Підсумовуючи, необхідно відмітити варіабельність вмісту М1 і М2-макрофагів залежно від морфологічних характеристик ЕКЕ і, відповідно, їх інтегрального впливу на показники ступеня злоякісності пухлини. Визначене переважання макрофагів М2 при зниженні ступеня диференціювання і глибокій інвазії ендометрію, вірогідно, відображає провідне значення цієї субпопуляції у прогнозі перебігу раку ендометрію. Проте, враховуючи дихотомію макрофагів, дослідження співвідношення кількості М1/М2 у пухлинах ендометрію дозволить більш об'єктивно оцінити агресивність новоутворення і може стати підґрунтям для пошуку терапевтичних засобів, мішенню яких є компоненти пухлинного мікрооточення.

## ВИСНОВКИ

1. Підвищення вмісту CD163+-макрофагів з одночасним зменшенням кількості CD68+-макрофагів у стромальному компоненті ЕКЕ асоціюється з такими показниками прогресування новоутворення, як низький ступінь диференціювання, глибока інвазія пухлини у міометрії, високий проліферативний і ангіогенний потенціал.

2. Отримані результати свідчать, що субпопуляції макрофагів М1 і М2 за їх кількісним співвідношенням залежать від локального мікросередовища ЕКЕ та мають важливе значення не тільки для розуміння функціонування цих клітин, а й для розробки ефективних методів лікування на основі моделювання поляризаційного їх статусу.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Poh AR, Ernst M. Targeting macrophages in cancer: from bench to bedside. *Front Oncol* 2018; **8**:49. doi.org/10.3389/fonc.2018.000493.
- Najafi M, Gorade NH, Farhood B, *et al.* Macrophage polarity in cancer: A review. *J Cell Biochem* 2019; **120** (3): 2756–65. doi: 10.1002/jcb.27646.
- Karaman OM, Ivanchenko AV, Chekhun VF. Macrophages — a perspective target for antineoplastic immunotherapy. *Exp Oncol* 2019; **41** (4): 282–90.
- Zhou K, Cheng T, Zhan J, *et al.* Targeting tumor-associated macrophages the tumor microenvironment (Review). *Oncol Lett* 2020; **20** (5): 234. doi: 10.3892/ol.2020.12097.
- Owen JL, Mohamadzadeh M. Macrophages and chemokines as mediators of angiogenesis. *Front Physiol* 2013; **4**: 159.
- Sahoo SS, Zhang XD, Hondermarck H, Tanwar PS. The emerging role of the microenvironment in endometrial cancer. *Cancers* 2018; **10**: 408; doi:10.3390/cancers10110408.
- Aikian AZ, Shynkevych VI, Kaidashev IP. Quantitative assessment of CD68+ and CD163+ macrophages in the primary focus and metastatic lesions of regional lymph nodes in non-luminal her2-positive invasive breast carcinoma. *Wiadomosci Lekarskie* 2019; **72** (10): 1861–5.
- Chen Y, Song Y, Du W, *et al.* Tumor-associated macrophages: an accomplice in solid tumor progression. *J Biomedical Science* 2019; **26**: 78 <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0568-z>.
- Jackute J, Zemaitis M, Pranys D, *et al.* Distribution of M1 and M2 macrophages in tumor islets and stroma in relation to prognosis of non-small cell lung cancer. *BMC Immunology* 2018; **19**: 3. doi: 10.1186/s12865-018-0241-4.
- Jamiyan T, Kuroda H, Yamaguchi R, *et al.* CD68- and CD163-positive tumor-associated macrophages in triple negative cancer of the breast. *Virchows Arch* 2020; **477** (6): 767–75. doi: 10.1007/s00428-020-02855-z.
- Kelly MG, Francisco AMC, Cimic A, *et al.* Type 2 endometrial cancer is associated with a high density of tumor-associated macrophages in the stromal compartment. *Reprod Sci* 2015; **22** (8): 948–53. doi: 10.1177/1933719115570912.
- 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.
- Ning Ch, Xie B, Zhang L, *et al.* Infiltrating macrophages induce ER $\alpha$  expression through an IL17A-mediated epigenetic mechanism to sensitize endometrial cancer cells to estrogen. *Cancer Res* 2016; **76** (6): 1354–6 doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1260.
- Nesina I, Iurchenko N, Nespriadko S, Buchynska L. Tumor-associated macrophages, FOXP3+ lymphocytes and microvessel density in endometrial carcinoma of patients with various menstrual status. *Oncology* 2017; **19** (1): 52–7 (in Ukrainian).
- Nesina I, Iurchenko N, Nespriadko S, Buchynska L. Twist expression and content of tumour-associated macrophages in endometrial carcinoma. *Oncol Clin Pract* 2021; **17** (4): 139–47. doi: 10.5603/OCP.2021.0026.
- Zinovkin DA, Pranol ZI, Bilsky IA, Zmushko VA. Tumor-associated t-lymphocytes and macrophages are decreased in endometrioid endometrial carcinoma with MELF-pattern stromal changes. *Cancer Microenviron* 2018; **11** (2–3): 107–14. doi: 10.1007/s12307-018-0213-5.
- Buchynska LG, Movchan OM, Iurchenko NP. Expression of chemokine receptor CXCR4 in tumor cells and content of CXCL12+ fibroblasts in endometrioid carcinoma of endometrium. *Exp Oncol* 2021; **43** (2): 135–41. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-43-no-2.16240.
- Gunaydin G. CAFs Interacting with TAMs in tumor microenvironment to enhance tumorigenesis and immune evasion. *Front Oncol* 2021; **11**: 668349. doi: 10.3389/fonc.2021.668349.
- Li C, Xu X, Wei S, *et al.* Tumor-associated macrophages: potential therapeutic strategies and future prospects in cancer. *J Immunother Cancer* 2021; **9** (1): e001341. doi:10.1136/jitc-2020-001341.

THE RATIO OF CD-68<sup>+</sup> AND CD-163<sup>+</sup> MACROPHAGES IN ENDOMETRIAL ENDOMETRIOID CARCINOMA

I.P. Nesina<sup>1</sup>, N.P. Iurchenko<sup>1</sup>, O.M. Movchan<sup>2</sup>,  
N.M. Glushchenko<sup>1</sup>, L.G. Buchynska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,  
Oncology and Radiobiology NAS of Ukraine

<sup>2</sup>National Cancer Institute of the Ministry of Health  
of Ukraine, Kyiv, Ukraine

**Summary. Aim:** to evaluate the localization and content of CD163<sup>+</sup> and CD68<sup>+</sup> macrophages in endometrial endometrioid carcinoma (EEC) considering the clinicopathological characteristics of tumor progression. **Object and methods:** surgical samples of 65 patients with I–II stage endometrial cancer aged from 32 to 78 years (average age 58.3±1.9 years). **Methods:** clinical, morphological, immunohistochemical. **Results:** the heterogeneity of CD68<sup>+</sup> and CD163<sup>+</sup> macrophage subpopulations in the EEC was detected both in the tumor niche and in stromal microenvironment. It was shown that the expression of estrogen receptor  $\alpha$  (71.9±5.6%) and the cell proliferation marker Ki-67 (55.3±4.6%) increases in the stromal component of EEC with a high content of CD163<sup>+</sup> macrophages compared to the expression of these biomolecular markers (respectively 43.4±4.2 and 38.0±3.4%,  $p < 0.05$ ) in EEC with the low content of CD163<sup>+</sup> macrophages. The ratio of stromal CD163<sup>+</sup>-/CD68<sup>+</sup>-macrophages in the poorly differentiated EEC or in the tumor with deep myometrial invasion or with the high microvessel density was 2.6, 3.5, and 3.5, respectively. This ratio was smaller in EEC with a lower malignant potential (G2-tumors, tumor invasion  $< 1/2$  of myometrium, low high microvessel density) — 1.8, 1.4, and 1.7. **Conclusions:** an increase in the content of CD163<sup>+</sup>-macrophages with a simultaneous decrease in the number of CD68<sup>+</sup>-macrophages in the stromal component of EEC is associated with such indicators of neoplasm progression as a low degree of differentiation, deep myometrial invasion, high proliferative and angiogenic potential. The obtained results should be considered when choosing the treatment strategy for endometrial cancer patients depending on the polarization of macrophages.

**Key words:** endometrial endometrioid carcinoma, CD68<sup>+</sup> and CD163<sup>+</sup> macrophages, microvessel density, ER $\alpha$ , Ki-67.

## 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: laboncogen@gmail.com

Одержано: 07.09.2022