

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(1)-22

УДК: 616.62-006.6-078:57.083.3

## ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ІМУНОКЛІТИННОЇ ІНФІЛЬТРАЦІЇ НЕІНВАЗИВНОГО УРОТЕЛІАЛЬНОГО РАКУ СЕЧОВОГО МІХУРА

Титов Є. В.

Харківська медична академія післядипломної освіти (вул. Амосова, 58, м. Харків, Україна, 61176)

Відповідальний за листування:  
e-mail: titovevgeniy@ukr.net

Статтю отримано 29 листопада 2018 р.; прийнято до друку 9 січня 2019 р.

**Анотація.** Агресивність уротеліальних раків сечового міхура може бути обумовлена реакціями з боку стромы. Імунокомпетентні клітини, які беруть участь у протипухлинній відповіді, також здатні впливати, стимулюючи пухлинний ріст. Мета дослідження - вивчення особливостей імуноклітинної інфільтрації неінвазивних уротеліальних раків сечового міхура (НУРСМ) для виявлення критеріїв прогнозу рецидивування і прогресії захворювання. Були сформовані три групи дослідження по 14 випадків: НУРСМ без рецидивування - I група, первинні НУРСМ з рецидивуванням без прогресії - II група і первинні НУРСМ з рецидивуванням і прогресією - III група. Імуногістохімічне дослідження проводили з використанням первинних моноклональних антитіл фірми DAKO до CD3, CD4, CD8, CD20 і CD68. Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням пакета "Statistica 6.0". Зв'язок між ознаками оцінювали за непараметричним критерієм  $\chi^2$ -квадрат Пірсона та критерієм Спірмана. Статистично значущим вважали значення  $p < 0,05$ . НУРСМ I групи асоціювалися зі слабкою інфільтрацією стромы імунокомпетентними клітинами: CD3 + лімфоцитами ( $p < 0,05$ ), CD8 + Т-кілерами ( $p < 0,005$ ) і CD68 + макрофагами ( $p < 0,005$ ). В раках III групи імуноклітинна інфільтрація була більш виражена, ніж в раках I і II груп ( $p < 0,001$  і  $p < 0,03$ ) і характеризувалася вираженою інфільтрацією CD3 + ( $p < 0,01$ ) і CD8 + клітинами ( $p < 0,03$ ). Таким чином, диференціювання, рецидивування і рецидивування з прогресією НУРСМ залежить від інфільтрації імунокомпетентними клітинами, яка може служити критерієм прогнозу захворювання. Перспектива подальших досліджень полягає в більш ґлибокому дослідженні значення мікрооточення НУРСМ, а саме імуних клітинних реакцій, неоангіогенезу, сполучнотканинного компоненту на молекулярно-біологічному рівні, дасть можливість для більш точного встановлення прогнозу НУРСМ і вибору адекватної лікувальної тактики.

**Ключові слова:** неінвазивні уротеліальні раки сечового міхура, CD3 +, CD4 +, CD8 +, CD 68+, CD20 + клітини.

### Вступ

Клінічний перебіг і прогноз уротеліального раку сечового міхура (УРСМ) залежить від реакції стромы [10]. Запальна інфільтрація може бути залучена в розвиток і прогресію УРСМ, мати значний вплив на її схильність до рецидиву і прогресії [4, 11]. З іншого боку, інфільтрація імунокомпетентними клітинами (ІКК) може носити захисний характер і бути прогностичною ознакою менш агресивної клінічної поведінки уротеліальних раків [10].

У новоутвореннях різної локалізації в реакцію на пухлинний ріст залучені Т-лімфоцити, які представлені гетерогенною групою імунних клітин. Цитотоксичні Т-лімфоцити (CD8 +) є основними клітинами протипухлинного імунітету і їх активність моделюється іншими підтипами Т-лімфоцитів, зокрема Т-хелперами (CD4 +). За даними наукової літератури інфільтрація УРСМ як CD8 + лімфоцитами, так і загалом Т-лімфоцитами (CD3 +) є критерієм перебігу захворювання та виживання пацієнтів [10, 3]. Є відомості, що для УРСМ на ранній стадії зростання Та-Т1 виражена дифузна лімфоцитарна інфільтрація є несприятливим критерієм прогнозу, а для стадій Т3 -Т4 інтенсивна інфільтрація пов'язана із сприятливим прогнозом [1].

Ще одними присутніми в пухлині імунокомпетентними клітинами (ІКК), що мають прогностичне значення, є пухлина-асоційовані макрофаги. Ці клітини здатні секретувати різні цитокіни та фактори росту, що регулюють імунну реакцію, ангіогенез і пухлинний ріст [8].

Загалом, відомості окремих авторів про прогностичне значення інфільтрації ІКК неінвазивних УРСМ (НУРСМ) і раків більш пізніх стадій суперечливі [1, 5, 7, 10]. Залишається неясним чи є запалення причиною і фактором, що впливає на біологічну поведінку УРСМ, або наслідком пухлинної прогресії.

Метою дослідження було вивчення особливостей імуноклітинної інфільтрації НУРСМ для виявлення критеріїв прогнозу рецидивування і прогресії захворювання.

### Матеріали та методи

Були сформовані три групи дослідження: НУРСМ без рецидивування - I група (14 випадків), первинні НУРСМ з рецидивуванням без прогресії - II група (14 випадків) та первинні НУРСМ з рецидивуванням і прогресією у вторинній пухлині у вигляді інвазії в м'язовий шар стінки - III група (14 випадків). Для виключення впливу на прогноз фактора диференціювання пухлини в I і II групах було відібрано рівне число НУРСМ з високим і низьким ступенем злоякісності (НУР ВС3 і НУР НС3): НУР ВС3 в I, II і III групах по 42,8% (6/14), НУР НС3 - по 57,2% (8/14).

Імуногістохімічне дослідження проводили з використанням первинних моноклональних антитіл фірми DAKO до CD3, CD4, CD8, CD20 і CD68.

Показники експресії маркерів, пов'язаних з імунною відповіддю, вивчали в 3 полях зору мікроскопа гістологічних зрізів з найбільш вираженою експресією при

збільшенні  $\times 400$ . Слабкою інфільтрацією вважали інфільтрацію від 1 до 50 клітин в полі зору, помірної - від 50 до 100 клітин і вираженою - понад 100 клітин у полі зору.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням пакета "Statistica 6.0". Зв'язок між ознаками оцінювали за непараметричними критеріями  $\chi$ -квадрат Пірсона та критерієм Спірмана. Статистично значущим вважали значення  $p < 0,05$ .

### Результати. Обговорення

Інфільтрація ІКК була присутня в стромі у всіх випадках НУРСМ, її слабка ступінь спостерігалася в 26,1% (11/42), помірна - в 40,4% (17/42), виражена - в 33,3% (14/42). Ступінь виразності імуноклітинної реакції залежала від диференціювання НУРСМ і приналежності до груп дослідження. Однак, густа інфільтрація ІКК могла бути присутня як в ділянках раку з інвазивним ростом, так і інфільтрувати строму при збереженій базальній мембрані.

Серед раків зі слабкою інфільтрацією були виключно НУР НС3. Таким чином, НУР НС3 асоціювалися зі слабким ступенем інфільтрації ІКК ( $\chi^2=12,3$ ,  $p < 0,001$ ). У 73,1% НУР ВС3 були з вираженою інфільтрацією, тоді як серед НУР НС3 виражена інфільтрація була присутня лише в 20% випадків ( $\chi^2=24,9$ ,  $p < 0,001$ ).

Порівняння груп дослідження за ознакою виразності інфільтрації ІКК показало наявність статистично значущої різниці ( $\chi^2=18,1$ ,  $p < 0,001$ ). У НУРСМ з рецидивуванням і прогресією (III група) інфільтрація ІКК більш виражена в порівнянні з НУРСМ без рецидивів (I група) ( $\chi^2=15,1$ ,  $p < 0,001$ ) і НУРСМ з рецидивом без прогресії (II група) ( $\chi^2=7,6$ ,  $p < 0,03$ ). Слабка інфільтрація ІКК асоціювалася з приналежністю НУРСМ до I групи ( $\chi^2=7,7$ ,  $p < 0,01$ ) і була не характерна для НУРСМ III групи ( $\chi^2=4,3$ ,  $p < 0,05$ ). Виражена інфільтрація була не характерна для I групи ( $\chi^2=8,1$ ,  $p < 0,005$ ).

При гістологічному і ІГХ дослідженнях НУРСМ важливим компонентом є не тільки ступінь, але і якісний склад ІКК, що беруть участь в інфільтрації пухлинної тканини. У складі інфільтрату НУРСМ присутні Т-лімфоцити (CD3 +), серед яких Т-хелпери (CD4 +), частково представлені регуляторними Т-лімфоцитами (Foxp3 +), Т-кілери (CD8 +), натуральні кілери (CD56 +), В-лімфоцити (CD20 +), макрофаги (CD68 +), серед яких M1 і M2 (CD163 +) макрофаги, дендритні клітини (CD204 +, CD83 +), оградні клітини (CD117 +), в деяких випадках - мале число еозинофілів, плазматичних клітин, нейтрофілів лейкоцитів [11].

У складі інфільтрату ІКК переважали Т-лімфоцити, які становили понад 50% від загального числа його клітин. Виразність інфільтрації Т-лімфоцитами з CD3 +, CD4 +, CD8 + фенотипом, В-лімфоцитів і макрофагів залежала від виразності загальної інфільтрації ІКК. Є закономірна кореляційна залежність між інфільтрацією клітинами CD3 + і CD8 + ( $r=0,856$ ,  $p < 0,01$ ), CD3 + і CD4 + ( $r=0,299$ ,

$p < 0,01$ ), CD3 + і CD20+ ( $r=0,299$ ,  $p < 0,01$ ) і CD3 + і CD68 + ( $r=0,722$ ,  $p < 0,01$ ).

Інфільтрація CD3 + Т-лімфоцитами була неоднорідна і залежала від диференціювання раків. Слабка ступінь інфільтрації стромы CD3 + клітинами спостерігалася лише в НУР НС3 - в 41,7% (10/24) і не було жодного випадку слабкої інфільтрації серед НУР ВС3, в яких переважала виражена інфільтрація - в 72,2% (13/18). Відмінності між НУР НС3 і НУР ВС3 по виразності CD3 + клітинної інфільтрації достовірні ( $p < 0,001$ ). Для НУР НС3 характерна слабка інфільтрація ( $p < 0,005$ ) і не характерна виражена ( $p < 0,001$ ), відповідно НУР ВС3 - асоціюється з вираженою інфільтрацією ( $p < 0,001$ ) і для них не характерна слабка інфільтрація ( $p < 0,005$ ).

Виявлено також слабка залежність між ступенем CD3 + інфільтрації і приналежністю раків до груп дослідження. Найбільше абсолютне число CD3 + лімфоцитів було в стромі НУРСМ III групи ( $\chi^2=7,9$ ,  $p < 0,03$ ) (табл. 1). Виражена інфільтрація CD3 + лімфоцитами асоціювалася з приналежністю раків до III групи ( $\chi^2=7,4$ ,  $p < 0,01$ ), а слабка - I групі ( $\chi^2=4,2$ ,  $p < 0,05$ ).

Інфільтрація CD4 + клітинами в переважній кількості випадків була помірною, рідше слабкою. Відносне число випадків раків як зі слабкою, так і з помірною інфільтрацією було приблизно однаковим в кожній з груп дослідження (табл. 1).

У імуноклітинному інфільтраті серед CD3 + лімфоцитів основними клітинами були CD8 + лімфоцити, які могли спостерігатися не тільки в стромі, але і серед ракового епітелію. Подібно CD3 + лімфоцитів, ступінь інфільтрації пухлин CD8 + клітинами залежала від диференціювання і приналежності до груп дослідження. Так НУР ВС3 асоціювалися з вираженою інфільтрацією CD8 + лімфоцитів ( $\chi^2=9,2$ ,  $p < 0,003$ ), а для НУР НС3 характер-

**Таблиця 1.** Експресія імунних клітин в НУРСМ і групи дослідження.

Групи маркер, експресія	I група, n=14	II група, n=14	III група, n=14	Достовірність, критерій $\chi^2$
Інфільтрація ІКК	1+ 6 (42,8%) 2+ 6 (42,8%) 3+ 2 (14,3%)	2 (14,3%) 7 (50,0%) 5 (35,7%)	0 2 (14,3%) 12 (85,7%)	$\chi^2=18,1$ $p < 0,001$
CD3+	1+ 6 (42,9%) 2+ 6 (42,9%) 3+ 2 (14,2%)	3 (21,4%) 7 (50%) 4 (28,6%)	1 (7,1%) 4 (28,4%) 9 (64,5%)	$\chi^2=9,8$ $p < 0,05$
CD8+	1+ 8 (57,2%) 2+ 4 (28,6%) 3+ 2 (14,2%)	2 (14,2%) 4 (28,6%) 8 (57,2%)	2 (14,2%) 3 (21,4%) 9 (64,5%)	$\chi^2=10,7$ $p < 0,05$
CD4+	1+ 4 (28,6%) 2+ 10 (71,4%) 3+ 0	3 (21,4%) 11 (78,6%) 0	3 (21,4%) 11 (78,6%) 0	$\chi^2=0,26$ $p > 0,05$
CD20+	1+ 11 (78,6%) 2+ 3 (21,4%) 3+ 0	9 (64,3%) 5 (35,7%) 0	10 (71,4%) 4 (28,6%) 0	$\chi^2=0,7$ $p > 0,05$
CD68+	1+ 10 (71,4%) 2+ 4 (28,6%) 3+ 0	3 (21,4%) 11 (78,6%) 0	4 (28,6%) 10 (71,4%) 0	$\chi^2=8,4$ $p < 0,03$

**Примітка.** ІКК - імункомпетентні клітини.

на слабка їх інфільтрація ( $\chi^2=4,7$ ,  $p<0,05$ ). Нерезидивуючі НУРСМ (I група) асоціювалися зі слабкою інфільтрацією CD8 + лімфоцитами ( $\chi^2=8,4$ ,  $p<0,005$ ). Інфільтрація CD8 + лімфоцитів I групи менше виражена в порівнянні з II групою ( $\chi^2=7,2$ ,  $p<0,03$ ) і III групою ( $\chi^2=8,1$ ,  $p<0,03$ ). Для раків III групи характерна виражена інфільтрація CD8 + клітинами ( $p<0,03$ ).

CD20 + В-лімфоцити за деякими даними є маркером хронічного запалення, які не впливають на рівень диференціювання і клінічний перебіг НУРСМ [9]. Однак В-лімфоцити можуть брати участь в антигенпрезентуючій функції і за даними деяких авторів формування фолікулів з В-лімфоцитів пов'язане з більш агресивним ростом пухлини [6].

У нашому матеріалі інфільтрація В-лімфоцитами, експресуючими маркер CD20 +, в 71,4% (30/42) випадків була слабкою, в інших 28,6% (12/42) раків спостерігалася помірна інфільтрація. У НУРСМ HC3 відносне число CD20 + клітин було трохи більшим. Так слабка інфільтрація CD20 + клітинами в НУРСМ BC3 була присутня в 83,3% (15/18) випадків, а в НУРСМ HC3 - в 62,5% (15/24). Відносне число випадків слабкої і помірної інфільтрації CD20 + лімфоцитів у досліджених групах приблизно однакова (табл. 1).

Інфільтрація CD68 + макрофагами в 59,5% (25/42) була помірною, в 40,5% (17/42) - слабкою. У НУРСМ HC3 помірна інфільтрація CD68 + клітинами була в 41,7% (10/24), в НУРСМ BC3 - в 83,3% (15/18) ( $\chi^2=7,41$   $p=0,005$ ). Виявлено також слабкі достовірно значимі відмінності ступеня інфільтрації макрофагами в залежності від приналежності НУРСМ до груп дослідження ( $\chi^2=8,4$ ,  $p<0,03$ ). Інфільтрація макрофагами в II і III групах більше, ніж в I ( $p<0,01$  і  $p<0,03$  відповідно). Нерезидивуючі НУРСМ асоціювалися зі слабкою інфільтрацією CD68 + клітинами ( $\chi^2=8,3$ ,  $p<0,005$ ).

Отримані результати залежності між ступенем інфільтрації CD3 +, CD8 + Т-лімфоцитами і макрофагами, з одного боку, і диференціюванням і рецидивуванням з прогресією НУРСМ - з іншого, можуть пояснюватися протипухлинною відповіддю ІКК, що залежать від характеру пухлинного росту і стимулюючого впливу мікрооточення. Відомо, що на м'язово-інвазивній стадії УРСМ інфільтрація ІКК носить захисний характер - виражена Т-клітинна інфільтрація є критерієм менш агресивного перебігу захворювання [1, 12]. У нашій роботі підтверджені дані деяких авторів про пряму залежність між агресивною поведінкою УРСМ на ранній неінвазивній стадії і ступенем інфільтрації як Т-лімфоцитами, так і макрофагами [2, 10].

Відомо, що макрофаги здатні впливати на пухлинні клітини уротеліальних раків через активацію ряду сигнальних шляхів, що викликають проліферацію, ангио-

нез, інвазію і метастазування. Макрофаги здійснюють свій вплив на пухлину через сигнальні шляхи M1 і M2. M1 шлях, індукований фактором некрозу пухлини (TNF- $\alpha$ ), інтерфероном- $\gamma$ , поруч прозапальних цитокінів (IL1 $\beta$ , IL6, IL23) і хемокинів, надає інгібуючу активність на розвиток і прогресію УРСМ. M2 шлях переважно активується за участю IL-4, IL-10, IL-13 або трансформуючого фактору росту- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) і асоціюється з високою проліферативною активністю ракових клітин, міграцією, інвазією, метастазуванням і механізмами уникнення пухлинних клітин від імунного нагляду [11].

Таким чином, інфільтрація ІКК асоціюється з карциногенезом, прогресією і рецидивуванням УРСМ, проте молекулярні механізми, за допомогою яких макрофаги і лімфоцити здійснюють свої пухлино-інгібуючі або стимулюючі пухлинний ріст ефекти, залишаються невстановленими [3, 11].

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Диференціація, рецидивування і рецидивування з прогресією НУРСМ залежить від інфільтрації імункомпетентними клітинами, яка може служити критерієм прогнозу захворювання.

2. НУРСМ BC3 асоціюються з вираженою інфільтрацією імункомпетентними клітинами, вираженою інфільтрацією CD3 + і CD8 + лімфоцитами ( $p<0,001$ ,  $p<0,001$  і  $p<0,003$  відповідно), помірною інфільтрацією CD68 + макрофагами ( $p<0,01$ ), для НУРСМ HC3 характерна слабка їх інфільтрація ( $p<0,001$ ,  $p<0,005$ ,  $p<0,05$  і  $p<0,01$  відповідно).

3. Нерезидивуючі НУРСМ асоціювалися зі слабкою інфільтрацією стромі імункомпетентними клітинами ( $p<0,01$ ), Т-лімфоцитами (CD3 +) ( $p<0,05$ ), CD8 + Т-лімфоцитами ( $p<0,005$ ) і CD68 + макрофагами ( $p<0,005$ ). Для раків цієї групи не характерні виражена інфільтрація імункомпетентними клітинами ( $p<0,005$ ), Т-лімфоцитами (CD3 +) ( $p<0,05$ ) і CD8 + лімфоцитами ( $p<0,005$ ). Первинні НУРСМ пацієнтів, у яких у подальшому розвинувся рецидив з прогресією, асоціювалися з більш вираженою імунклітинною інфільтрацією, ніж нерезидивуючі НУРСМ ( $p<0,001$ ) і первинні НУРСМ з рецидивом без прогресії ( $p<0,03$ ). Для раків цієї групи характерна виражена інфільтрація Т-лімфоцитами ( $p<0,01$ ) і CD8 + клітинами ( $p<0,03$ ).

Подальше дослідження значення мікрооточення НУРСМ, а саме імунних клітинних реакцій, неопангіогенезу, сполучнотканинного компоненту на молекулярно-біологічному рівні, дасть можливість більш точному встановленню прогнозу НУРСМ і вибору адекватної лікувальної тактики.

### Список посилань

1. Люлько, А. В. (2011). Рак мочевого пузыря в свете теории иммунного редактирования (литературный обзор). *Урология*, 15 (1), 55-62.
2. Ayari, C., La Rue, H., Hovington, H., Decobert, M., Harel, F.,

- Bergeron, A., ... Fradet, Y. T. (2009). Bladder tumor infiltrating mature dendritic cells and macrophages as predictors of response to bacillus Calmette-Guerin immunotherapy. *Eur. Urol.*, 55, 1386-95. doi: 10.1016/j.eururo.2009.01.040.

3. Desgrandchamps, F., LeMaout, J., Goujon, A., Riviere, A., Rivero-Juarez, A., Djouad, M., ... Carosella, E. (2018). Prediction of non-muscle-invasive bladder cancer recurrence by measurement of checkpoint HLA's receptor ILT2 on peripheral CD8+ T cells. *Oncotarget*, 9 (69), 33160-33169. doi: 10.18632/oncotarget.26036.
4. Erdurak, K., Dundar, P. E., Ozyurt, B. C., Negri, E., La Vecchia, C., & Tay, Z. (2013). Smoking, occupation, history of selected diseases and bladder cancer risk in Manisa, Turkey. *European journal of cancer prevention*, 23 (1), 58-61. doi: 10.1097/CEJ.0b013e3283631dde.
5. Jozwicki, W., Brozyna, A. A., Siekiera, J., & Slominski, A. T. (2016). Changes in Immunogenicity during the Development of Urinary Bladder Cancer: A Preliminary Study. *Int. J. Mol. Sci.*, 17, 285. doi:10.3390/ijms17030285.
6. Koti, M., Xu, A. S., Ren, K. Y. M., Visram, K., Ren, R., Berman, D. M., & Siemens, D. R. (2017). Tertiary Lymphoid Structures Associate with Tumour Stage in Urothelial Bladder Cancer. *Bladder Cancer*, 3 (4), 259-267. doi: 10.3233/BLC-170120.
7. Krpina, K., Babarovic, E., Dordevic, G., Fuckar, Z., & Jonjic, N. (2012). The association between the recurrence of solitary non-muscle invasive bladder cancer and tumor infiltrating lymphocytes. *Croatian medical journal*, 53 (6), 598-604. Epub 2013/01/01. PubMed PMID: 23275325.
8. Mantovani, A. (2011). Tumor-associated macrophages in cancer-related inflammation. *Immunotherapy*, 3(4 Suppl. 1), 21-22. Retrieved from <https://www.futuremedicine.com/doi/pdfplus/10.2217/imt.11.32>.
9. Pichler, R., Fritz, J., Zavadil, C., Schafer, G., Culig, Z., & Brunner, A. (2016). Tumor-infiltrating immune cell subpopulations influence the oncologic outcome after intravesical Bacillus Calmette-Guerin therapy in bladder cancer. *Oncotarget*, 7 (26), 39916-39930. doi: 10.18632/oncotarget.9537.
10. Sjodahl, G., Lovgren, K., Lauss, M., Chebil, G., Patschan, O., Gudjonsson, S., ... Hoglund, M. (2014). Infiltration of CD3 and CD68 cells in bladder cancer is subtype specific and affects the outcome of patients with muscle-invasive tumors. *Urologic oncology*, 32 (6), 791-7. doi: 10.1016/j.urolonc.2014.02.007.
11. Sui, X., Lei, L., Chen, L., Xie, T., & Li, T. (2017). Inflammatory microenvironment in the initiation and progression of bladder cancer. *Oncotarget*, 8 (54), 93279-93294. doi: 10.18632/oncotarget.21565.
12. Winerdal, M. E., Marits, P., Winerdal, M., Hasan, M., Rosenblatt, R., Tolf, A., ... Winqvist, O. (2011). FOXP3 and survival in urinary bladder cancer. *BJU Int.*, 108 (10), 1672-1678. doi: 10.1111/j.1464-410X.2010.10020.x.
2. Ayari, C., La Rue, H., Hovington, H., Decobert, M., Harel, F., Bergeron, A., ... Fradet, Y. T. (2009). Bladder tumor infiltrating mature dendritic cells and macrophages as predictors of response to bacillus Calmette-Guerin immunotherapy. *Eur. Urol.*, 55, 1386-95. doi: 10.1016/j.eururo.2009.01.040.
3. Desgrandchamps, F., LeMaout, J., Goujon, A., Riviere, A., Rivero-Juarez, A., Djouad, M., ... Carosella, E. (2018). Prediction of non-muscle-invasive bladder cancer recurrence by measurement of checkpoint HLA's receptor ILT2 on peripheral CD8+ T cells. *Oncotarget*, 9 (69), 33160-33169. doi: 10.18632/oncotarget.26036.
4. Erdurak, K., Dundar, P. E., Ozyurt, B. C., Negri, E., La Vecchia, C., & Tay, Z. (2013). Smoking, occupation, history of selected diseases and bladder cancer risk in Manisa, Turkey. *European journal of cancer prevention*, 23 (1), 58-61. doi: 10.1097/CEJ.0b013e3283631dde.
5. Jozwicki, W., Brozyna, A. A., Siekiera, J., & Slominski, A. T. (2016). Changes in Immunogenicity during the Development of Urinary Bladder Cancer: A Preliminary Study. *Int. J. Mol. Sci.*, 17, 285. doi:10.3390/ijms17030285.
6. Koti, M., Xu, A. S., Ren, K. Y. M., Visram, K., Ren, R., Berman, D. M., & Siemens, D. R. (2017). Tertiary Lymphoid Structures Associate with Tumour Stage in Urothelial Bladder Cancer. *Bladder Cancer*, 3 (4), 259-267. doi: 10.3233/BLC-170120.
7. Krpina, K., Babarovic, E., Dordevic, G., Fuckar, Z., & Jonjic, N. (2012). The association between the recurrence of solitary non-muscle invasive bladder cancer and tumor infiltrating lymphocytes. *Croatian medical journal*, 53 (6), 598-604. Epub 2013/01/01. PubMed PMID: 23275325.
8. Mantovani, A. (2011). Tumor-associated macrophages in cancer-related inflammation. *Immunotherapy*, 3(4 Suppl. 1), 21-22. Retrieved from <https://www.futuremedicine.com/doi/pdfplus/10.2217/imt.11.32>.
9. Pichler, R., Fritz, J., Zavadil, C., Schafer, G., Culig, Z., & Brunner, A. (2016). Tumor-infiltrating immune cell subpopulations influence the oncologic outcome after intravesical Bacillus Calmette-Guerin therapy in bladder cancer. *Oncotarget*, 7 (26), 39916-39930. doi: 10.18632/oncotarget.9537.
10. Sjodahl, G., Lovgren, K., Lauss, M., Chebil, G., Patschan, O., Gudjonsson, S., ... Hoglund, M. (2014). Infiltration of CD3 and CD68 cells in bladder cancer is subtype specific and affects the outcome of patients with muscle-invasive tumors. *Urologic oncology*, 32 (6), 791-7. doi: 10.1016/j.urolonc.2014.02.007.
11. Sui, X., Lei, L., Chen, L., Xie, T., & Li, T. (2017). Inflammatory microenvironment in the initiation and progression of bladder cancer. *Oncotarget*, 8 (54), 93279-93294. doi: 10.18632/oncotarget.21565.
12. Winerdal, M. E., Marits, P., Winerdal, M., Hasan, M., Rosenblatt, R., Tolf, A., ... Winqvist, O. (2011). FOXP3 and survival in urinary bladder cancer. *BJU Int.*, 108 (10), 1672-1678. doi: 10.1111/j.1464-410X.2010.10020.x.

## References

1. Lyulko, A. V. (2011). Rak mochevogo puzyrya v svete teorii immunnogo redaktirovaniya (literaturniy obzor) [Bladder cancer in the light of the theory of immune editing (literature review)]. *Urologiya - Urology*, 15 (1), 55-62.

## ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОКЛЕТОЧНОЙ ИНФИЛТРАЦИИ НЕИНВАЗИВНОГО УРОТЕЛИАЛЬНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Тумов Е. В.

**Аннотация.** Агрессивность уротелиальных раков мочевого пузыря может быть обусловлена реакциями со стороны стромы. Имунокомпетентные клетки, участвующие в противоопухолевом ответе, также способны оказывать влияния, стимулирующие опухолевый рост. Цель исследования - изучение особенностей иммунноклеточной инфильтрации неинвазивных уротелиальных раков мочевого пузыря (НУРМП) для выявления критериев прогноза рецидивирования и прогрессии заболевания. Были сформированы три группы исследования по 14 случаев: НУРМП без рецидивирования - I группа, первичные НУРМП с рецидивированием без прогрессии - II группа и первичные НУРМП с рецидивированием и прогрессией - III группа. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием первичных моноклональных антител фирмы DAKO к CD3, CD4, CD8, CD20 и CD68. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета "Statistica 6.0". Связь между признаками оценивали по непараметрическому критерию  $\chi^2$ -квадрат Пирсона и критерию Спирмана. Статистически значимым считали значение  $p < 0,05$ . НУРМП I группы ассоциировались со слабой инфильтрацией стромы имунокомпетентными клетками: CD3+ лимфоцитами ( $p < 0,05$ ), CD8+ Т-киллерами ( $p < 0,005$ ) и CD68+

макрофагами ( $p < 0,005$ ). В раках III группы иммуноклеточная инфильтрация была более выраженная, чем в раках I и II групп ( $p < 0,001$  и  $p < 0,03$ ) и характеризовалась выраженной инфильтрацией CD3+ ( $p < 0,01$ ) и CD8+ клетками ( $p < 0,03$ ). Таким образом, дифференцировка, рецидивирование и рецидивирование с прогрессией НУРМП зависит от инфильтрации иммунокомпетентными клетками, которая может служить критерием прогноза заболевания. Перспектива дальнейших исследований состоит в более глубоком исследовании значения микроокружения НУРМП, а именно иммунных клеточных реакций, неоангиогенеза, соединительнотканного компонента на молекулярно-биологическом уровне, даст возможность более точному установлению прогноза НУРМП и выбору адекватной лечебной тактики.

**Ключевые слова:** неинвазивные уротелиальные раки мочевого пузыря, CD3+, CD4+, CD8+, CD 68+, CD20+ клетки.

#### THE PROGNOSTIC VALUE OF IMMUNOCYTOCELLULAR INFILTRATION OF NON-INVASIVE UROTHELIAL BLADDER CANCER

*Titov E.V.*

**Annotation.** The aggressiveness of urothelial bladder cancers can be caused by reactions of stroma. Immunocompetent cells, which involved in antitumor response, are also able to stimulate tumor growth. Aim of the study: to study the features of immunocellular infiltration of non-invasive urothelial bladder cancers (NIUBC) to identify criteria for recurrence and progression prediction. Materials and methods: we formed three groups of studies, each of them contained 14 cases: NIUBC without recurrence - Group I, primary NIUBC with recurrence, but without progression - Group II, and primary NIUBC with recurrence and with progression - Group III. Immunohistochemistry was performed using primary monoclonal antibodies from DAKO to CD3, CD4, CD8, CD20 and CD68 cells. Statistical processing of research results was performed using the "Statistica 6.0" package. The relationship between parameters was studied by non-parametric Pearson  $\chi$ -square test and Spearman test. A value of  $p < 0.05$  was considered statistically significant. Results: NIUBC I group was associated with weak stromal infiltration of immunocompetent cells: CD3 + lymphocytes ( $p < 0.05$ ), CD8 + T-killers ( $p < 0.005$ ) and CD68 + macrophages ( $p < 0.005$ ). In cancers of group III, immune cell infiltration was more observed than in cancers of groups I and II ( $p < 0.001$  and  $p < 0.03$ ) and was characterized by infiltration of CD3 + ( $p < 0.01$ ) and CD8 + cells ( $p < 0.03$ ). Thus, differentiation and recurrence of NIUBC progression depends on infiltration with immunocompetent cells, which can serve as a criterion for the disease prognosis. The prospect of further research - We are going to in-depth our research with studying importance of microenvironment of NIUBC, namely, immune cellular reactions, neoangiogenesis, connective tissue component at molecular-biological level. It will allow us to predict more accurate determination of NIUBC prognosis and choice of adequate treatment tactics.

**Keywords:** noninvasive urothelial bladder cancers, CD3 +, CD4 +, CD8 +, CD 68+, CD20 + cells.