

В.Н. Павлов¹, М.Ф. Урманцев¹, В.Н. Дубровин^{2,3}
**ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ
 МАКРОФАГОВ И УДАЛЕННЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ У БОЛЬНЫХ
 РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОЙ ЦИСТЭКТОМИИ**

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Уфа

²ГБУ РМЭ «Республиканская клиническая больница», г. Йошкар-Ола

³ФГОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Казань

Одной из главных проблем онкоурологии является рак мочевого пузыря. Стандартом лечения мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря является радикальная цистэктомия с неoadъювантной химиотерапией. К сожалению, радикальные методы лечения обладают значительно сниженной эффективностью в долгосрочной перспективе. По этой причине исследования в области прогнозирования выживаемости могут существенно улучшить отдаленные онкологические результаты. Определение уровня опухоль-ассоциированных макрофагов представляет значительный научный и клинический интерес.

Цель. Определение влияния уровня экспрессии макрофагов, ассоциированных с опухолью, на показатели выживаемости пациентов с диагнозом мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря после радикальной цистэктомии.

Материал и методы. Исследование было проведено на базе Клиники ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» в период с 01.05.2021 по 01.07.2023. В исследовании принимали участие 66 пациентов с установленным диагнозом мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря. После оперативного лечения осуществлялось гистологическое и иммуногистохимическое исследование опухоли с определением CD68 и CD163. По истечении 24 месяцев проводился анализ выживаемости с определением общей, опухолевоспецифической и безрецидивной выживаемости с построением графиков Каплана–Мейера.

Результаты. По результатам анализа наблюдается достоверное снижение выживаемости пациентов в группах с высокими показателями экспрессии CD68 и CD163 ($p < 0,05$). В исследуемых группах наблюдается достоверно значимая корреляция между высокими уровнями CD68 и CD163 ($p < 0,05$).

Заключение. CD68 и CD163 могут выступать в качестве независимых маркеров прогнозируемой выживаемости пациентов с мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря после радикальной цистэктомии.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, радикальная цистэктомия, макрофаги, иммуногистохимическая диагностика.

V.N. Pavlov, M.F. Urmantsev, V.N. Dubrovin
**DIAGNOSTICS OF TUMOR-ASSOCIATED
 MACROPHAGES AND RESECTED LYMPH NODES
 IN BLADDER CANCER PATIENTS AFTER RADICAL CYSTECTOMY**

One of the main problems of oncology is bladder cancer. The standard treatment for muscle-invasive bladder cancer is radical cystectomy with neoadjuvant chemotherapy. Unfortunately, radical treatment methods have significantly reduced effectiveness in the long term period. For this reason, research in the field of predicting survival can significantly improve long-term cancer outcomes. The determination of the levels of tumor-associated macrophages is of considerable scientific and clinical interest.

Objective. To evaluate the impact of expression levels of tumor-associated macrophages (CD68 and CD163) on survival rates in patients diagnosed with muscle-invasive bladder cancer after radical cystectomy.

Material and methods. The study was conducted at the Clinic of Bashkir State Medical University (Ufa, Russia) from May 1, 2021, to July 1, 2023. It included 66 patients with confirmed muscle-invasive bladder cancer. Following surgical treatment, histological and immunohistochemical analyses were performed to determine CD68 and CD163 expression levels. Survival analysis was conducted after 24 months, assessing overall survival (OS), tumor-specific survival (TSS), and recurrence-free survival (RFS) using Kaplan-Meier curves.

Results. The analysis revealed a statistically significant decrease in survival rates in groups with high CD68 and CD163 expression ($p < 0.05$). A significant correlation was also observed between elevated CD68 and CD163 levels ($p < 0.05$).

Conclusion. CD68 and CD163 may serve as independent prognostic markers for survival in patients with muscle-invasive bladder cancer after radical cystectomy.

Key words: bladder cancer, radical cystectomy, macrophages, immunohistochemical diagnosis.

Опухоли мочевыделительной системы входят в число наиболее распространенных форм злокачественных новообразований. Особое место среди них занимает рак мочевого пузыря (РМП), который остается серьезной медико-социальной проблемой. Согласно статистике, ежегодно в мире от этой патологии погибает более 200 тысяч человек. При этом отмечается устойчивый рост заболеваемости, что выводит РМП на 10-е место в мировом рейтинге онкологических патологий [1].

Рост заболеваемости связан с несколькими факторами: повышение онкологической

настороженности и улучшение диагностики; полиэтиологическая природа заболевания, затрагивающая разные возрастные группы [2].

Классификация и клинические особенности. По степени инвазии в мышечный слой выделяют две основные формы РМП:

- Немышечно-инвазивный рак (НМИРМП) – менее агрессивная форма, не затрагивающая глубокие слои стенки мочевого пузыря.

- Мышечно-инвазивный рак (МИРМП) – характеризуется быстрым прогрессированием, метастазированием и неблагоприятным прогнозом.

МИРМП составляет 25% всех случаев, а пятилетняя выживаемость при этой форме не превышает 50% [1].

Золотым стандартом радикального лечения по-прежнему остается радикальная цистэктомия с расширенной тазовой лимфодиссекцией в комбинации с неоадьювантной химиотерапией препаратами платины. Объем хирургического вмешательства имеет гендерные особенности: у пациентов мужского пола процедура включает экстирпацию мочевого пузыря, простаты, семенных пузырьков и паравезикальной клетчатки, тогда как у женщин выполняется супралеаторная тазовая эвисцерация.

Несмотря на радикальность подхода, долгосрочная эффективность лечения остается ограниченной и за последние 30 лет значительного улучшения выживаемости не достигнуто [5]. Поэтому актуален поиск новых прогностических маркеров и персонализированных подходов к терапии.

Роль опухолевого микроокружения и макрофагов. Важным направлением исследований является изучение микроокружения опухоли (МО), в котором ключевую роль играют опухоль-ассоциированные макрофаги (ОАМ). В зависимости от сигналов микроокружения они могут приобретать два фенотипа: М1 – обладают противоопухолевой активностью, стимулируют иммунный ответ. М2 – способствуют прогрессированию рака и подавляют иммунитет.

По мере роста опухоли преобладает М2-фенотип, что коррелирует с худшим прогнозом [12]. Для идентификации используют иммуногистохимическое определение маркеров (CD68, CD163) [19, 20].

Цель исследования – изучение взаимосвязей между уровнем макрофагов, ассоциированных с опухолью (МАО), и показателями послеоперационной выживаемости пациентов с установленным диагнозом МИРМП после радикальной цистэктомии с тазовой лимфаденэктомией.

Материал и методы

Работа выполнена на клинической базе Башкирского государственного медицинского университета (ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России) в период с мая 2021 по июль 2023 года. Исследование проводилось в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации и было одобрено локальным этическим комитетом БГМУ (протокол №4595-07 от 15.06.2021). Все участники подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Клиническая характеристика выборки

В исследование включены 66 пациентов с верифицированным диагнозом мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря (МИРМП), подтвержденным цистоскопическим исследованием с трансуретральной биопсией. Метастатическое поражение отдаленных органов у обследованных пациентов отсутствовало.

Гендерное распределение было следующим: мужчин – 42 (63,6%) пациента; женщин – 24 (36,4%) пациентки. Средний возраст пациентов составил $68,3 \pm 2,4$ года. Детальная характеристика исследуемой группы по стадиям опухолевого процесса и степени дифференцировки новообразований представлена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика исследуемой группы пациентов до проведения радикальной цистэктомии

Показатель	Количество пациентов
Клиническая стадия	
cT2	36 (54,5%)
cT3	18 (27,3%)
cT4	12 (18,2%)
Степень дифференцировки (по результатам биопсии)	
G1	8 (12,1%)
G2	32 (48,5%)
G3	26 (39,4%)

В рамках предоперационной подготовки 50 (75,8% от общей выборки) пациентам был проведен курс неоадьювантной химиотерапии с использованием цисплатинсодержащих препаратов. Все участники исследования были подвергнуты радикальному хирургическому вмешательству, включающему цистэктомия с расширенной тазовой лимфаденэктомией.

Особенности хирургической техники. Стандартная граница лимфодиссекции устанавливалась на уровне бифуркации аорты, при обнаружении массивного поражения лимфоузлов зона диссекции расширялась до уровня отхождения нижней брыжеечной артерии.

Все полученные в ходе операции биологические материалы направлялись на патоморфологическое исследование, которое включало определение стадии опухолевого процесса по системе pTNM, оценку степени дифференцировки опухолевых клеток в соответствии с гистологической классификацией ВОЗ (1973 года).

Методы гистологической обработки и иммуногистохимического исследования. Биопсийный материал фиксировали в 1% нейтральном забуференном формалине с последующей проводкой и заливкой в парафин. Приготовление гистологических срезов осуществляли на ротационном микротоме Leica (Германия) с установленной толщиной среза 5 мкм. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином для рутинного мор-

фологического исследования, включавшего определение стадии опухолевого процесса и оценку степени дифференцировки неоплазии

Иммуногистохимический анализ проводили на автоматизированной системе «Bond-maX» (Австралия) с использованием: парафиновых срезов толщиной 5 мкм; стрептавидин-биотиновой методики визуализации; коммерческих моноклональных антител к CD68 и CD163 (маркеры макрофагальной дифференцировки).

Методы цифровой обработки и анализа данных. Оцифровку гистологических микропрепаратов выполняли с использованием сканирующей системы Leica Aperio (Германия). Полученные цифровые изображения анализировали специализированным программным обеспечением Digital Pathology. Оценку экспрессии исследуемых маркеров проводили полуколичественным методом по 4-х балльной шкале: 0 баллов – отсутствие специфического окрашивания; 1 балл – слабая экспрессия; 2 балла – умеренная экспрессия; 3 балла – интенсивное окрашивание.

Оценка отдаленных результатов проведения через 24 месяца после хирургического вмешательства. В ходе исследования определялись следующие показатели: общая выживаемость (Overall Survival), специфическая выживаемость (Cancer-Specific Survival), безрецидивная выживаемость (Recurrence-Free Survival).

Визуализация данных выполнена методом построения кривых выживаемости по Каплану–Майеру.

Методы статистического анализа. Обработку данных проводили с использованием пакета Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Применялись статистические методы: сравнительный анализ групп с использованием критерия Манна–Уитни (для непараметрических данных) и критерия Стьюдента (для параметрических данных), сравнение кривых выживаемости – логарифмический ранговый критерий (log-rank test). Статистически значимыми считали различия при уровне $p < 0,05$. Все расчеты выполнялись с двусторонним критерием значимости.

Результаты

Операционный материал всех пациентов был подвергнут обзорному патоморфологическому исследованию. Стадии и степени дифференцировки опухолевого процесса отражены в табл. 2.

На основании уровня иммунореактивности пациенты были распределены на две группы: для CD68 – группа 1 (отсутствие/низкая экспрессия – 0-1 балл) и группа

2 (умеренная/высокая экспрессия – 2-3 балла); аналогичная стратификация выполнена для CD163. Статистический анализ выявил значимую корреляцию между уровнями экспрессии маркеров ($p < 0,05$): все случаи с высокой иммунореактивностью CD163 ($n = XX$) ассоциировались с высокой экспрессией CD68. При этом зарегистрированы 2 случая диссоциированной экспрессии – высокий уровень CD68 (2-3 балла) при низкой экспрессии CD163 (0-1 балл). Полные количественные данные представлены в табл. 3.

Таблица 2

Характеристика исследуемой группы пациентов после проведения патоморфологического исследования

Стадия РМП по результатам гистологии	Количество пациентов
pT1	8 (12,1%)
pT2	30 (45,5%)
pT3	16 (24,2%)
pT4	12 (18,2%)
Степень дифференцировки	Количество пациентов
pG1	12 (18,2%)
pG2	28 (42,4%)
pG3	26 (39,4%)
Поражение регионарных лимфатических узлов	Количество пациентов
pN0	22 (33,3%)
pN+/pNx	44 (66,7%)

Таблица 3

Уровни экспрессии мембранных антител CD68 и CD163

CD68	1-я группа	2-я группа	p
Количество пациентов	30 (42,4%)	36 (57,6%)	<0,05
Интенсивность экспрессии	0,7 ($\pm 0,3$)	2,4 ($\pm 0,6$)	<0,05
Неoadъювантная химиотерапия, n (%)	16 (32%)	34 (68%)	<0,05
CD163	1-я группа	2-я группа	p
Количество пациентов	32 (45,5%)	34 (54,5%)	<0,05
Интенсивность экспрессии	0,6 ($\pm 0,4$)	2,3 ($\pm 0,7$)	<0,05
Неoadъювантная химиотерапия, n (%)	18 (36%)	32 (64%)	<0,05

Был проведен комплексный анализ следующих ключевых показателей, таких как общая выживаемость (ОВ), опухолеспецифическая выживаемость (ОСВ) и безрецидивная выживаемость (БРВ).

Проведенный анализ выявил статистически значимые различия в показателях выживаемости между сравниваемыми группами. Наиболее информативные данные визуализированы на рис. 1-6.

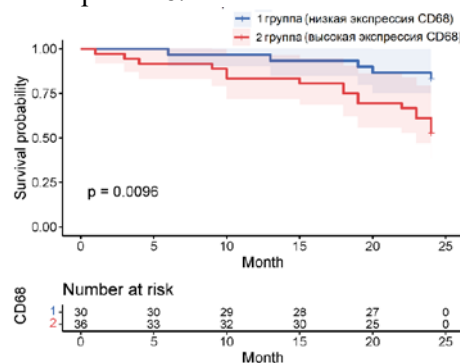


Рис. 1. Общая выживаемость и уровни экспрессии CD68

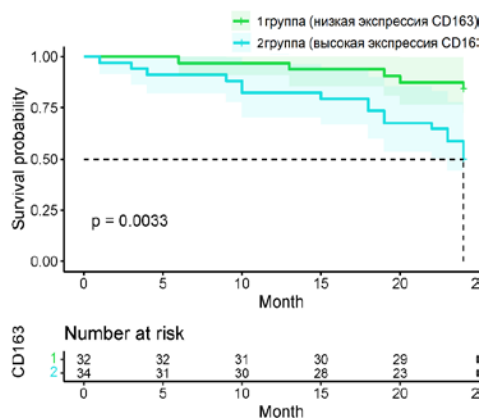


Рис. 2. Общая выживаемость и уровни экспрессии CD163

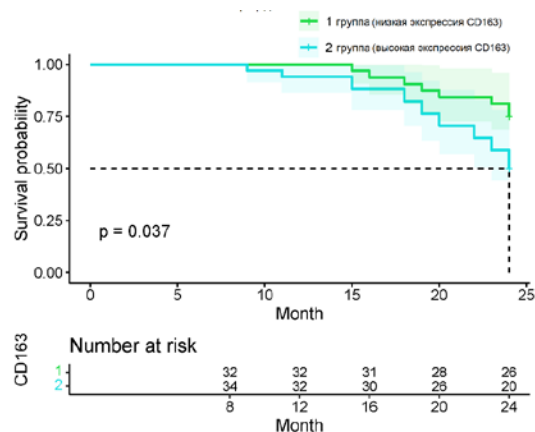


Рис. 6. Безрецидивная выживаемость и уровни экспрессии CD163

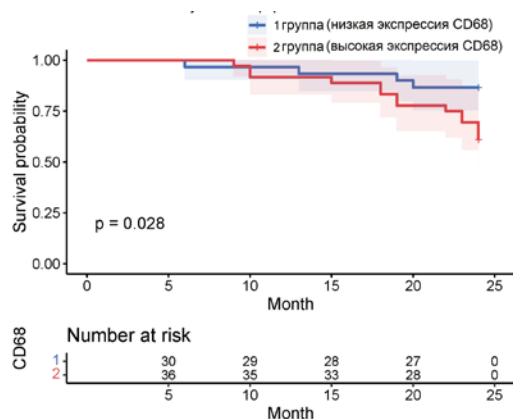


Рис. 3. Опухолеспецифическая выживаемость и уровни экспрессии CD68

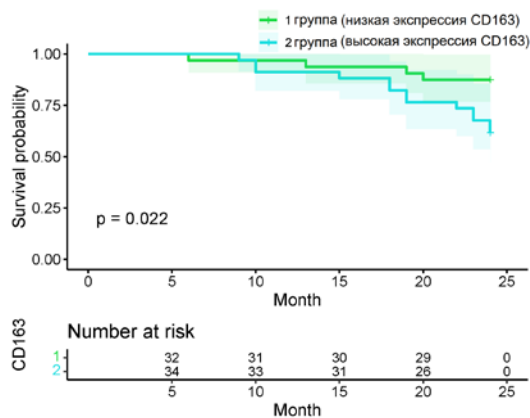


Рис. 4. Опухолеспецифическая выживаемость и уровни экспрессии CD163

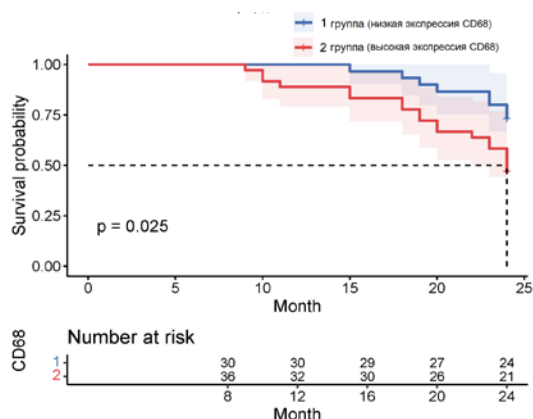


Рис. 5. Безрецидивная выживаемость и уровни экспрессии CD68

Методологические особенности исследования включали: применение стандартизированных онкологических критериев оценки, использование современных методов статистической визуализации, возможность проведения сравнительного межгруппового анализа, а также длительный период наблюдения (24 месяца), что обеспечило высокую достоверность полученных результатов.

Проведенный анализ выявил существенное влияние экспрессии макрофагальных маркеров на показатели выживаемости. В группах пациентов с высокой экспрессией как CD68, так и CD163 имело место статистически значимое ухудшение всех анализируемых параметров выживаемости ($p < 0,05$). При этом была обнаружена выраженная положительная корреляция между уровнями этих двух маркеров ($p < 0,05$). Особый интерес представляют два клинических случая с диссоциированной экспрессией (CD68high/CD163low), которые характеризовались благоприятным прогнозом – отсутствием летального исхода и нулевой частотой рецидивирования.

Результаты исследования позволяют рассматривать CD68 и CD163 в качестве независимых прогностических факторов. Особенно показательной оказалась связь преобладания M2-фенотипа макрофагов (ассоциированного с высокой экспрессией CD163) с неблагоприятными отдаленными результатами и усиленной проопухолевой активностью в микроокружении новообразования.

При этом важно отметить, что в исследованной когорте не применялась адъювантная химиотерапия. Неоадъювантное лечение получили 75,8% пациентов ($n=50$), при этом его распределение между группами было равномерным, а влияние на конечные результаты – статистически не значимым ($p > 0,05$).

Клинические перспективы и ограничения. Полученные данные свидетельствуют,

что опухоль-ассоциированные макрофаги, особенно с М2-фенотипом, представляют собой ценные прогностические маркеры и перспективные терапевтические мишени.

Комбинированная оценка экспрессии CD68 и CD163 повышает точность прогнозирования течения заболевания. Однако для подтверждения этих выводов необходима дальнейшая валидация на расширенных выборках.

Основные ограничения исследования включают: потенциальное влияние коморбидного фона, отсутствие группы с адъювантной терапией, необходимость более длительного наблюдения для оценки 5-летней выживаемости.

Все представленные выводы подтверждены современными методами анализа данных и статистически обоснованы ($p < 0,05$).

Обсуждение

Несмотря на совершенствование хирургических технологий, пятилетняя выживаемость после радикальной цистэктомии остается на прежнем уровне [21]. Это подчеркивает важность разработки точных систем стратификации риска; внедрения биомаркеров для персонализированного подхода; прогнозирования ответа на неоадъювантную/адъювантную терапию [22].

Современные исследования демонстрируют значимую роль макрофагов, ассоциированных с опухолью (МАО), в прогнозировании эффективности терапии. В работе Sun и et al. [23] сообщается, что преобладание М1-фенотипа макрофагов ассоциируется с лучшим ответом на иммунотерапию ингибиторами PD-L1, тогда как М2-инфильтрация коррелирует с развитием резистентности и формированием иммуносупрессивного микроокружения. Эти данные имеют важное клиническое значение для прогнозирования эффективности иммуноонкологических препаратов.

Исследование Taubert и коллег [24] выявило парадоксальную взаимосвязь. Несмотря на то, что высокая инфильтрация МАО ассоциировалась со снижением показателей выживаемости, она прогнозировала лучший ответ на адъювантную химиотерапию. Авторы использовали комплексный подход, анализируя экспрессию CD68, CD163 и хемокина CCL2, что подчеркивает важность многофакторной оценки.

Исследование Koll и соавт. [2] подтвердило существование значимой корреляции между уровнями CD68 и CD163, а также продемонстрировало эффективность методов цифровой патологии для анализа МАО. Особое внимание авторы уделили необходимости точного фенотипирования М1/М2 субпопуляций макрофагов.

Нами подтверждена значимая прогностическая роль маркеров CD68 и CD163 и выявлена четкая ассоциация М2-фенотипа с неблагоприятным прогнозом. Результаты демонстрируют высокую воспроизводимость и согласуются с данными ведущих научных центров.

Проведенное исследование подчеркивает перспективность дальнейшего изучения МАО как важного элемента опухолевого микроокружения и потенциальной мишени для терапевтического воздействия.

Заключение

Полученные результаты подтверждают важную роль опухоль-ассоциированных макрофагов в прогнозировании течения МИРМП и открывают новые возможности для совершенствования персонализированного подхода в лечении данного заболевания. Дальнейшие исследования в этом направлении могут существенно улучшить онкологические результаты у пациентов после радикального хирургического лечения.

Сведения об авторах статьи:

Павлов Валентин Николаевич – д.м.н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой урологии и онкологии, ректор ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3, e-mail: pavlov@bashgmu.ru.

Урманцев Марат Фаязович – к.м.н., доцент кафедры урологии и онкологии, доцент кафедры онкологии и клинической морфологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: urmantsev85@mail.ru.

Дубровин Василий Николаевич – д.м.н., профессор кафедры семейной медицины ФГОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, зав. урологическим отделением ГБУ Республики Марий Эл «Республиканская клиническая больница». Адрес: 424037, г. Йошкар-Ола, ул. Осипенко, 33. E-mail: vndubrovin@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / Sung H. [et al.] // CA Cancer J Clin. – 2021. – Vol. 71, №3. – P. 209-249. – DOI: 10.3322/caac.21660.
2. Хасанова, Г.М. Токсичные и эссенциальные микроэлементы в организме человека крупного промышленного города / Г.М. Хасанова, З.А. Янгуразова // Экология урбанизированных территорий. – 2007. – №3. – С. 28-30.
3. Schneider, A.K. The multifaceted immune regulation of bladder cancer / Schneider, A.K., Chevalier, M.F., Derré, L. // Nat Rev Urol. – 2019. – Vol. 16, №10. – P. 613-630. – DOI: 10.1038/s41585-019-0226-y.
4. European Association of Urology Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer: Summary of the 2020 Guidelines / Witjes J.A. [et al.] // Eur Urol. – 2021. – Vol. 79, №1. – P. 82-104. – DOI: 10.1016/j.eururo.2020.03.055.
5. Unaltered oncological outcomes of radical cystectomy with extended lymphadenectomy over three decades / Zehnder P. [et al.] // BJU Int. – 2013. – Vol. 112, №2. – P. E51-8. – DOI: 10.1111/bju.12215.
6. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis / Wang, M. [et al.] // J Cancer. – 2017. – Vol. 8, №5. – P. 761-73.

7. Metabolism within the tumor microenvironment and its implication on cancer progression: an ongoing therapeutic target / Ocaña M. C. [et al.] // *Med Res Rev.* – 2019. – Vol. 39, №1. – P. 70-113. – DOI: 10.1002/med.21511.
8. Hatogai K. The tumor microenvironment of bladder cancer / Hatogai K., Sweis R.F. // *Adv Exp Med Biol.* – 2020. – Vol. 1296. – P. 275-90.
9. Macrophage polarity in cancer: A review / Najafi M. [et al.] // *J Cell Biochem.* – 2019. – Vol. 120, №3. – P. 2756-2765.
10. Harnessing tumor-associated macrophages as aids for cancer immunotherapy / Li X. [et al.] // *Mol Cancer.* – 2019. – Vol. 18, №1. – P. 177.
11. Androgen receptor signalling in macrophages promotes TREM-1-mediated prostate cancer cell line migration and invasion / Cioni B. [et al.] // *Nat Commun.* – 2020. – Vol. 11, №1. – P. 4498. – DOI: 10.1038/s41467-020-18313-y.
12. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment / Chanmee T. [et al.] // *Cancers (Basel).* – 2014. – Vol. 6, №3. – P. 1670-90. – DOI: 10.3390/cancers6031670.
13. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes / Mantovani A. [et al.] // *Trends Immunol.* – 2002. – Vol. 23, №11. – P. 549-55. – DOI: 10.1016/s1471-4906(02)02302-5.
14. BMP4 induces M2 macrophage polarization and favors tumor progression in bladder cancer / Martínez V. G. [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2017. – Vol. 23, № 23. – P. 7388-99. – DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1004.
15. COX2/mPGES1/ PGE2 pathway regulates PD-L1 expression in tumor-associated macrophages and myeloid-derived suppressor cells / Prima V. [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2017. – Vol. 114, № 5. – P. 1117-22. – DOI: 10.1073/pnas.1612920114.
16. Ovatodiolide, isolated from *Anisomeles indica*, suppresses bladder carcinogenesis through suppression of mTOR/β-catenin/CDK6 and exosomal miR-21 derived from M2 tumor-associated macrophages / Wu A. T. [et al.] // *Toxicol Appl Pharmacol.* – 2020. – Vol. 401. – P. 115109.
17. Bladder cancer cells induce immunosuppression of T cells by supporting PD-L1 expression in tumour macrophages partially through interleukin 10 / Wang X. [et al.] // *Cell Biol Int.* – 2017. – Vol. 41, №2. – P. 177-86. – DOI: 10.1002/cbin.10716.
18. Bladder cancer cells re-educate TAMs through lactate shuttling in the microfluidic cancer microenvironment / Zhao Y. [et al.] // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6, №36. – P. 39196-210. – DOI: 10.18632/oncotarget.5538.
19. Tumor-associated macrophages in bladder cancer: biological role, impact on therapeutic response and perspectives for immunotherapy / Leblond, M. M. [et al.] // *Cancers (Basel).* – 2021. – Vol. 13, №18. – P. 4712. – DOI: 10.3390/cancers13184712.
20. Tumor infiltrating M2 macrophages driven by specific genomic alterations are associated with prognosis in bladder cancer / Xue Y. [et al.] // *Oncol Rep.* – 2019. – Vol. 42, №2. – P. 581-594. – DOI: 10.3892/or.2019.7196.
21. Landmarks in the treatment of muscle-invasive bladder cancer / Lobo N. [et al.] // *Nat Rev Urol.* – 2017. – Vol. 14, №9. – P. 565-574.
22. Intratumoral IL22-producing cells define immunoevasive subtype muscle-invasive bladder cancer with poor prognosis and superior nivolumab responses / Zeng, H. [et al.] // *Int J Cancer.* – 2020. – Vol. 146, №2. – P. 542-552. – DOI: 10.1002/ijc.32715.
23. Infiltration and Polarization of Tumor-associated Macrophages Predict Prognosis and Therapeutic Benefit in Muscle-Invasive Bladder Cancer / Sun M. [et al.] // *Cancer Immunol Immunother.* – 2022. – Vol. 71, №6. – P. 1497-1506. – DOI: 10.1007/s00262-021-03098-w.
24. Immune Cell-Associated Protein Expression Helps to Predict Survival in Muscle-Invasive Urothelial Bladder Cancer Patients after Radical Cystectomy and Optional Adjuvant Chemotherapy / Taubert H. [et al.] // *Cells.* – 2021. – Vol. 10, №1. – P. 159. – DOI: 10.3390/cells10010159.

REFERENCES

1. Sung, H, Ferlay, J, Siegel, RL, [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: 209-249. (in Engl) <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Khasanova G.M., Yangurazova Z.A. Toxic and essential microelements in the human body of a large industrial city. *Ecology of urbanized territories.* 2007;3:28-30. (In Russ)
3. Schneider AK, Chevalier MF, Derré L. The multifaceted immune regulation of bladder cancer. *Nat Rev Urol.* 2019 Oct;16(10):613-630. (in Engl)
4. Witjes JA, Bruins HM, Cathomas R, [et al.] European Association of Urology Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer: Summary of the 2020 Guidelines. *Eur Urol.* 2021 Jan;79(1):82-104. (in Engl) doi: 10.1016/j.eururo.2020.03.055.
5. Zehnder P, Studer UE, Skinner EC, [et al.] Unaltered oncological outcomes of radical cystectomy with extended lymphadenectomy over three decades. *BJU Int.* 2013 Jul;112(2):E51-8. (in Engl) doi: 10.1111/bju.12215. PMID: 23795798.
6. Wang M., Zhao J., Zhang L. [et al.] Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *J Cancer.* 2017;8(5):761–73. (in Engl)
7. Ocaña M.C., Martínez-Poveda B., Quesada A.R. [et al.] Metabolism within the tumor microenvironment and its implication on cancer progression: an ongoing therapeutic target. *Med Res Rev* 2019;39(1):70–113. (in Engl) DOI: 10.1002/med.21511
8. Hatogai K., Sweis R.F. The tumor microenvironment of bladder cancer. *Adv Exp Med Biol* 2020;1296:275–90. (in Engl)
9. Najafi M, Hashemi Goradel N, Farhood B, [et al.] Macrophage polarity in cancer: A review. *J Cell Biochem.* 2019 Mar;120(3):2756–2765. (in Engl).
10. Li X, Liu R, Su X, [et al.] Harnessing tumor-associated macrophages as aids for cancer immunotherapy. *Mol Cancer.* 2019 Dec 5;18(1):177. (in Engl) doi: 10.1186/s12943-019-1102-3.
11. Cioni B, Zaalberg A, van Beijnum JR, [et al.] Androgen receptor signalling in macrophages promotes TREM-1-mediated prostate cancer cell line migration and invasion. *Nat Commun.* 2020 Sep 9;11(1):4498. (in Engl) doi: 10.1038/s41467-020-18313-y.
12. Chanmee T., Ontong P., Konno K. [et al.] Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. *Cancers (Basel)* 2014;6(3):1670–90. (in Engl) DOI: 10.3390/cancers6031670.
13. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, [et al.] Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol.* 2002 Nov;23(11):549-55. (in Engl) doi: 10.1016/s1471-4906(02)02302-5.
14. Martínez V.G., Rubio C., Martínez-Fernández M. et al. BMP4 induces M2 macrophage polarization and favors tumor progression in bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2017;23(23):7388-99. (in Engl) DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1004
15. Prima V., Kaliberova L.N., Kaliberov S. [et al.] COX2/mPGES1/ PGE2 pathway regulates PD-L1 expression in tumor-associated macrophages and myeloid-derived suppressor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017;114(5):1117–22. (in Engl) DOI: 10.1073/pnas.1612920114
16. Wu A.T.H., Srivastava P., Yadav V.K. [et al.] Ovatodiolide, isolated from *Anisomeles indica*, suppresses bladder carcinogenesis through suppression of mTOR/β-catenin/CDK6 and exosomal miR-21 derived from M2 tumor-associated macrophages. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2020;401:115109. (in Engl) DOI: 10.1016/j.taap.2020.115109
17. Wang X., Ni S., Chen Q. [et al.] Bladder cancer cells induce immunosuppression of T cells by supporting PD-L1 expression in tumour macrophages partially through interleukin 10. *Cell Biol Int* 2017;41(2):177–86. (in Engl) DOI: 10.1002/cbin.10716
18. Zhao Y., Wang D., Xu T. [et al.] Bladder cancer cells re-educate TAMs through lactate shuttling in the microfluidic cancer microenvironment. *Oncotarget* 2015;6(36):39196–210. (in Engl) DOI: 10.18632/oncotarget.5538.
19. Leblond M.M., Zdimerova H., Desponds E. [et al.] Tumor-associated macrophages in bladder cancer: biological role, impact on therapeutic response and perspectives for immunotherapy. *Cancers (Basel)* 2021;13(18):4712. (in Engl) DOI: 10.3390/cancers13184712
20. Xue Y, Tong L, LiuAnwei Liu F, [et al.] Tumor-infiltrating M2 macrophages driven by specific genomic alterations are associated with prognosis in bladder cancer. *Oncol Rep.* 2019 Aug;42(2):581-594. (in Engl) doi: 10.3892/or.2019.7196.
21. Lobo N, Mount C, Omar K, [et al.] Landmarks in the treatment of muscle-invasive bladder cancer. *Nat Rev Urol.* 2017 Sep;14(9):565-574. (in Engl) doi: 10.1038/nrurol.2017.82. Epub 2017 Jul 4.
22. Zeng H, Liu Z, Wang Z, [et al.] Intratumoral IL22-producing cells define immunoevasive subtype muscle-invasive bladder cancer with poor prognosis and superior nivolumab responses. *Int J Cancer.* 2020 Jan 15;146(2):542-552. (in Engl) doi: 10.1002/ijc.32715.
23. Sun M, Zeng H, Jin K, [et al.] Infiltration and Polarization of Tumor-associated Macrophages Predict Prognosis and Therapeutic Benefit in Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2022 Jun;71(6):1497-1506. (in Engl)
24. Taubert H, Eckstein M, Epple E, [et al.] Immune Cell-Associated Protein Expression Helps to Predict Survival in Muscle-Invasive Urothelial Bladder Cancer Patients after Radical Cystectomy and Optional Adjuvant Chemotherapy. *Cells.* 2021; 10(1):159. (in Engl)