

## Динамика иммунологических показателей у больных меланомой хориоидией стадии Т1 малых размеров после проведения диод-лазерной (810 нм) транспупиллярной термотерапии по разработанной методике

И. В. Цуканова, м.н.с., С. И. Полякова, д-р мед. наук, Л. Н. Величко, д-р мед. наук,  
А. В. Богданова, канд. биол. наук

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П.Филатова НАМН Украины»; Одесса (Украина)

E-mail: inna.sister@gmail.com

**Актуальность.** Немаловажным фактором в реализации эффекта при лечении МХ является реакция иммунной системы. Для проведения адекватного органосохраняющего лечения УМ и контроля его эффективности, особенно на ранних стадиях заболевания, важно знать характер взаимодействия между иммунокомпетентными и опухолевыми клетками.

**Цель:** изучить динамику показателей иммунной системы у больных МХ стадии Т1 малых размеров (высотание – до 3 мм, протяженность основания – до 12 мм) после проведения курса диод-лазерной (810 нм) транспупиллярной термотерапии по разработанной методике.

**Материал и методы.** Изучены показатели иммунитета у 35 больных МХ стадии Т1 малых размеров до и после проведения курса диод-лазерной (810 нм) транспупиллярной термотерапии по разработанной методике. Средний возраст больных был 53,9(12,1) лет. Женщин – 26 (74,3%), мужчин – 9 (25,7%).

**Результаты.** Установлено, что одни показатели снижаются (абсолютное содержание лейкоцитов, абсолютное и относительное содержание цитотоксических Т-лимфоцитов – CD8+, абсолютная и относительная фагоцитарная активность нейтрофилов, абсолютное и относительное содержание В-лимфоцитов – CD19+, IgA, IgM, IgG), другие – наоборот, повышаются (относительное содержание лейкоцитов, абсолютное и относительное содержание лимфоцитов, абсолютное и относительное содержание Т-хелперов – CD4+, соотношение показателей CD4+/CD8+, абсолютное и относительное количество NK-клеток – CD16+). Однако эти изменения статистически значимо не различаются (кроме соотношения показателей CD4+/CD8+, F=7,9; p=0,05) и носят характер тенденции.

**Выходы.** Диод-лазерная (810 нм) транспупиллярная термотерапия по разработанной методике приводит к сдвигу специфического противоопухолевого ответа с подавлением цитолитической реакции лимфоцитов CD8+, что требует назначения иммунокорригирующей терапии уже на ранней стадии заболевания.

### Ключевые слова:

меланома хориоидией стадии Т1 малых размеров, транспупиллярная термотерапия, клеточный и гуморальный иммунитет

**Актуальность.** В последние годы появился ряд публикаций, посвященных новым представлениям о патогенетических механизмах прогрессирования опухолевого процесса, которые опосредованы взаимодействием иммунокомпетентных и опухолевых клеток [1, 17-20, 28, 30, 31, 34]. Существует мнение, что в определенных условиях иммунная система не только не отторгает опухоль, а наоборот, участвует в ее развитии и прогрессировании [16].

Увеальная меланома (УМ) является высокозлокачественной опухолью. До 90% их развивается в хориоидии. Особое место среди всех МХ занимают опухоли малых размеров, составляя 5-21% [2-4, 10, 14, 15, 24, 27], к которым, по данным разных авторов, относят-

ся МХ высотой до 3,0-4,0 мм [26, 32, 35]. Согласно международной классификации опухолей Всемирной Организации Здравоохранения, созданной в 2009 году при поддержке Американского Объединенного Комитета по Раку (American Joint Committee on Cancer – AJCC) и Международным Противораковым Союзом (L'Union Internationale Contre le Cancer – UICC) на основе переработки шестого издания 2002 года классификации опухолей человека, в том числе опухолей органа зрения и его придатков, по системе TNM, к МХ стадии Т1 относятся меланомы, выстоящие в стекло-

видное тело до 3,0 мм и протяженностью основания не более 12,0 мм, которые можно отнести к меланомам малых размеров, а также меланомы с выстоянием от 3,1 до 6,0 мм и протяженностью основания не более 9,0 мм, которые можно отнести к меланомам средних размеров [8]. Несмотря на то, что МХ стадии Т1 является начальной стадией заболевания, тактика лечения МХ малых и средних размеров существенно отличается. Вместе с тем, адекватное и своевременное лечение обуславливает его высокую эффективность как в плане сохранения зрительных функций глаза, так и в отношении лучшего прогноза для жизни пациента [2-4, 21-24, 26, 29, 33, 35-38].

Немаловажным фактором в реализации эффекта при лечении МХ является реакция иммунной системы. Установлена прямая корреляционная связь между состоянием показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета и противоопухолевой резистентностью организма больного УМ и прогнозом заболевания [5, 9, 11]. Для проведения адекватного органосохраняющего лечения УМ и контроля его эффективности, особенно на ранних стадиях заболевания, важно знать характер взаимодействия между иммунокомпетентными и опухолевыми клетками.

**Целью** данного исследования было изучить динамику показателей иммунной системы у больных МХ стадии Т1 малых размеров (выстояние – до 3 мм, протяженность основания – до 12 мм) после проведения курса диод-лазерной (810 нм) транспупиллярной термотерапии по разработанной методике.

### Материал и методы

Проведено исследование показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета у 35 больных МХ стадии Т1 малых размеров (выстояние – до 3 мм, протяженность основания – до 12 мм) до и после проведения курса диод-лазерной (810 нм) транспупиллярной термотерапии по разработанной методике [12]. Средний возраст больных составил 53,9 (12,1) года. Женщин было 26 (74,3%), мужчин – 9 (25,7%).

Исследование показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета проводилось по общепринятым методикам [6,7].

Статистическая обработка результатов исследования выполнялась с помощью программы «Statistic 10».

### Результаты и их обсуждение

Результаты сравнительного анализа показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных МХ стадии Т1 малых размеров до и после проведения одного курса ТТТ по разработанной методике представлены в таблице 1.

Как видно из данных, приведенных в таблице 1, организм больного МХ реагирует сдвигами в состоянии клеточного и гуморального звеньев иммунитета в ответ на воздействие ТТТ на опухоль. Одни показатели снижаются (абсолютное содержание лейкоцитов, абсолютное и относительное содержание цитотоксических

Т-лимфоцитов – CD8+, абсолютная и относительная фагоцитарная активность нейтрофилов, абсолютное и относительное содержание В-лимфоцитов – CD19+, IgA, IgM, IgG), другие – наоборот, повышаются (относительное содержание лейкоцитов, абсолютное и относительное содержание лимфоцитов, абсолютное и относительное содержание Т-лимфоцитов – CD3+, абсолютное и относительное содержание Т-хелперов – CD4+, соотношение показателей CD4+/CD8+, абсолютное и относительное количество NK-клеток – CD16+). Однако эти изменения статистически значимо не различаются (кроме соотношения показателей CD4+/CD8+, F=7,9; p=0,05) и носят характер тенденции. Возможно, это связано с малыми сроками между проведенными исследованиями и иммунная система еще не успела в полной мере проявить характер своих изменений. Вместе с тем, среди больных с МХ стадии Т1 малых размеров отмечается повышенное содержание общего числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов и Т-супрессоров относительно здоровых лиц [13], в отличии от данных В. Г. Лихванцевой [9]. Несмотря на развитие опухолевого процесса, иммунная система в начальной стадии заболевания при малых размерах опухоли находится еще в достаточно активном состоянии. Лечебное воздействие на МХ стадии Т1 малых размеров в виде ТТТ приводит к росту общего числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов, в то время как уровень цитотоксических лимфоцитов CD8+ снижается. Учитывая тот факт, что в литературе существуют данные об общей лимфоцитопении при УМ и что она усугубляется по мере развития опухолевого процесса и метастазирования, а также сопровождается вариабельностью в соотношении хелперов и супрессоров [9], вопрос о проведении иммунокорригирующей терапии у больных УМ должен решаться уже на ранней стадии заболевания и контролироваться в процессе проведения органосохраняющего лечения.

### Вывод

Диод-лазерная (810 нм) транспупиллярная термотерапия по разработанной методике приводит к сдвигу специфического противоопухолевого ответа с подавлением цитолитической реакции лимфоцитов CD8+, что требует назначения иммунокорригирующей терапии уже на ранней стадии заболевания.

### Литература

- Бережная Н. М. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. II. Взаимодействие клеток системы иммунитета с другими компонентами микроокружения / Н. М. Бережная // Онкология. – 2009. – Т. 11.–№ 2. – С. 86-93.
- Булгакова Е. С. Лечение малых меланом хориоидем методом транспупиллярной диод-лазерной термотерапии: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук: спец. 14.00.08 «Глазные болезни» / Е. С. Булгакова // М., 2005. – 26 с.

**Таблица 1.** Динамика показателей (M(SD)) клеточного и гуморального иммунитета у больных (n=35) МХ стадии Т1 малых размеров до и после проведения одного курса ТТТ по разработанной методике

Показатели	Динамика показателей		F	p	$\Delta\%$
	До лечения	После лечения			
Абс. кол-во лейкоцитов (тыс.кл/мкл)	6,46 (1,76)	5,99 (1,67) ↓	1,10	0,25	7,28
Абс. кол-во Т-лимфоцитов - CD3 <sup>+</sup> (тыс.кл/мкл)	1,85 (0,59)	1,88 (0,58) ↑	1,03	0,84	1,62
Относит. кол-во Т-лимфоцитов - CD3 <sup>+</sup> (%)	30,06 (7,32)	31,71 (9,45) ↑	1,67	0,41	5,49
Абс. кол-во лимфоцитов (тыс.кл/мкл)	1248,68 (467,63)	1282,09 (557,14) ↑	1,45	0,74	2,68
Относит. кол-во лимфоцитов (%)	64,63 (10,74)	66,34 (13,56) ↑	1,59	0,56	2,65
Абс. кол-во Т-хелперов – CD4 <sup>+</sup> (тыс.кл/мкл)	887,57 (405,40)	987,69 (491,88) ↑	1,47	0,36	11,28
Относит. кол-во Т-хелперов – CD4 <sup>+</sup> (%)	46,03 (12,27)	51,51 (16,57) ↑	1,82	0,12	11,91
Абс. кол-во цитотоксических Т-лимфоцитов - CD8 <sup>+</sup> (тыс.кл/мкл)	306,63 (120,70)	273,46 (133,96) ↓	1,23	0,28	10,82
Относит. кол-во цитотоксических Т-лимфоцитов - CD8 <sup>+</sup> (%)	16,43 (5,33)	14,77 (4,85) ↓	1,21	0,18	10,1
Соотношение CD4 <sup>+/</sup> CD8 <sup>+</sup>	3,11 (1,76)	4,45 (3,85) ↑	7,90	0,05	43,09
Абс. фагоцитарная активность нейтрофилов (тыс.кл/мкл)	3015,11 (1178,34)	2687,11 (1144,11) ↓	1,06	0,24	10,88
Относит. фагоцитарная активность нейтрофилов (%)	66,29 (14,64)	64,00 (13,50) ↓	1,18	0,50	3,45
Абс.кол-во CD19 <sup>+</sup> (тыс.кл/мкл)	283,14 (134,93)	255,06 (156,97) ↓	1,35	0,43	9,92
Относит. кол-во CD19 <sup>+</sup> (%)	15,23 (6,25)	13,46 (6,33) ↓	1,02	0,24	11,62
Абс.кол-во NK-клеток (CD16 <sup>+</sup> ) (тыс.кл/мкл)	187,83 (87,04)	206,09 (95,83) ↑	1,21	0,41	9,72
Отн. кол-во NK-клеток CD16 <sup>+</sup> (%)	9,97 (2,54)	11,06 (3,98) ↑	2,46	0,18	10,93
IgA (0)	2,67 (1,16)	2,64 (0,10) ↓	1,35	0,90	1,12
IgM (0)	1,02 (0,26)	0,92 (0,25) ↓	0,12	0,12	9,8
IgG (0)	13,42 (2,87)	12,82 (3,11) ↓	1,17	0,4	4,47

Примечание: M – среднее значение показателя; SD – среднеквадратичное отклонение; p – уровень значимости различий по критерию множественного сравнения Ньюмана-Кейлса; F – коэффициент Фишера, n – количество пациентов,  $\Delta$  – разница процентных соотношений; ↑ - уровень показателей выше, чем до лечения; ↓ - уровень показателей ниже, чем до лечения.

3. **Бухтиярова Н. В.** Транспупиллярная термотерапия в многокомпонентном органосохраняющем лечении меланомы хориоидида: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук: спец. 14.00.08 «Глазные болезни» / Н. В. Бухтиярова // Челябинск, 2006.–22 с.
4. **Волков В. В.** Лазерное лечение внутриглазной меланомы / В. В. Волков // Рус. мед. жур.–2001.–T.2, № 1.– С. 3-7.
5. **Гусев Г. А.** Применение иммуномодуляторов в комплексном лечении злокачественных опухолей органа зрения: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук: спец. 14.00.08 «Глазные болезни» / Г. А. Гусев. – М., 1992. – 26 с.
6. **Дегтяренко Т. В.** Методические рекомендации. Ускоренная первичная оценка иммунологического статуса / Т. В. Дегтяренко, Н. Н. Бушуева, Н. И. Усов. – Одесса, 1999. – 24 с.
7. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей / Д. Ф. Глузман, Л. М. Скляренко, В. А. Надгорная, И. А. Крячок. – Киев : «Морион», 2003. – С. 6-15.
8. Классификация меланом сосудистой оболочки / перевод А. С. Буйко // Офтальмол. журнал. – 2010. – № 6. – С. 20-30.
9. **Лихванцева В. Г.** Роль цитокинов в патогенезе, прогнозе и лечении увеальной меланомы: дис. на соискание науч. степени д-ра мед. наук спец. 14.00.08 «Глазные болезни» / В. Г. Лихванцева. – М., 2001. – 475 с.
10. **Мазунин И. Ю.** Новые методы лечения заболеваний сосудистой оболочки и сетчатки с использованием субпогротовой мощности диодного инфракрасного лазерного излучения / И. Ю. Мазунин // Вестн. офтальмологии. 2005. - № 1. - С. 49-53.
11. **Малецький А. П.** Ефективність органозберігаючого лікування хворих увеальною меланомою залежно від клініко-морфологічних характеристик пухлини та протипухлинної резистентності організму: автореф. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук: спеціальність 14.01.18 «Офтальмологія» / А. П. Малецький. – Одеса, 2001. – 32 с.

12. **Пасечнікова Н. В.** Патент України на корисну модель № 102890 «Спосіб лікування хворих на меланому хоріоїді стадії Т1» / Н. В. Пасечнікова, В. О. Науменко, С. І. Полякова, І. В. Цуканова ; заявник і патентовласник ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім.. В.П.Філатова НАМН України». - № 2015 04836 ; заявл. 18.05.2015; опубл. 25.11.2015, Бюл. № 22. – С. 1-4.
13. **Полякова С. И.** Состояние естественной противоопухолевой резистентности организма больных уvealной меланомой малых размеров / С.И. Полякова, Л. Н. Величко, А. В. Богданова, И. В. Цуканова // Офтальмолог. журн. – 2016. – № 1. – С. 27-38.
14. Транспупиллярная диод-лазерная термотерапия: возможности в лечении малых меланом хориоиды / А. А. Яровой, Л. Ф. Линник, Д. А. Магарамов [и др.] // Клин. офтальмология. – 2004. – № 2. – С. 77-81.
15. **Ушенина Л. А.** Оптимизация лазерного лечения начальных стадий меланомы хориоиды / Л. А. Ушенина // дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук, специальность 14.00.08 – глазные болезни, Челябинск, 2008. – с. 114.
16. **Balkwill F.** Inflammation and cancer: back to Virchow? / F. Balkwill, A. Mantovani // Lancet. – 2001. – V. 357. – P. 539-545.
17. Blokade of PD-L1 (B7-H1) augments human tumor-spescific T cell responses in vitro / C. Blank, J. Kuball, S. Voelkl [et all.] // Int.J.Cancer. – 2006. – V. 119. – №2. – P. 317-327.
18. Cancer-promoting tumor-associated macrophages: new vistas and open questions // A. Mantovani, G. Germano, F. Marchesi [et all.] // Eur. J. Immunol. – 2011. – V. 41. – P. 2522-2525.
19. Cancer-related inflammation / A/ Mantovani, P. Allavena, A. Sica, F. Balkwill // Nature. – 2008. – V. 454. – P. 436-444.
20. Chromosome 3 status in uveal melanoma: a comparison of fluorescence in situ hybridization and single-nucleotide polymorphism array / A. D. Singh, M. E. Aronow, Y. Sun [et all.] // Invest/ Ophthalmol. Vis. Sci. – 2012. – V. 53. – №7. – P. 3331-3339.
21. **Currie Z. I.** Retinal vascular changes associated with trans-pupillary thermotherapy for choroidal melanomas / Z. I. Currie, I. G. Rennie, J. F. Talbot // Retina. – 2002. – Vol. 20, №6. – P. 620-626.
22. **Damato B.** Conservation of Eyes with Choroidal Melanoma by a Multimodality Approach to Treatment. An audit of 1632 Patients / B. Damato, K. Lecuona // Ophthalmology. – 2004. – Vol. 111, № 5. – P. 997 -983.
23. **Damato B.** Developments in the management of uveal melanoma / B. Damato // Clin Experiment Ophthalmol. – 2004. – Vol. 32, № 6. – P. 639 -647.
24. **De Potter P.** Transpupillary thermotherapy in the treatment of choroid melanoma / P. De Potter, L. Levecq // J. Fr Ophthalmology. – 2001. – Vol. 24, №9. – P. 937- 943.
25. **De Potter P.** Adjuvant Indocyanine Green in Transpupillary Thermotherapy for Choroidal Melanoma / P. De Potter, J. Jamart // Ophthalmology. – 2003.– Vol. 110, №2. – P. 406-414.
26. **De Potter P.** Treatment of intraocular melanoma: new concepts. Article in French / P. De Potter // Bull Men Acad R Med Belg. – 2003. – Vol. 158, № 1-2. – P. 103- 111.
27. Development of Metastatic Disease after Enrollment in the COMS Trials for Treatment of Choroidal Melanoma / Collaborative Ocular Melanoma Study Group // Arch Ophthalmol. – 2005. – Vol. 123. – P. 1639 - 1643.
28. **De Waard-Siebinga I.** Effects of interferon alfa on human uveal melanoma cells in vitro / I. De Waard-Siebinga, W. M. Creyghton, J. Kool // Br. J. Ophthalmol. – 1995. – V.79. – P. 847-855.
29. **Journee-de Korver J. G.** Histopathological findings in human choroidal melanomas after transpupillary thermotherapy / J. G. Journee-de Korver, J. A. Oosterhuis, D. De Wolff-Rouendaal, H. Kemme // Brit. J. Ophthal. – 1997. – Vol.81. – P. 234-239.
30. **Fidler I. J.** The “seed and soil” hypothesis revisited / I. J. Fidler, G. Poste // Lancet Oncol. – 2008. – № 9(8). – P. 808.
31. HLA expression and tumor-infiltrating immune cells in uveal melanoma / I. De Waard-Siebinga, C. G. Hilders, B. E. Hansen [et all.] // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. – 1996. – V. 234. – P. 34-42.
32. **Kiratli H.** Peripheral subretinal pigment accumulation following transpupillary thermotherapy for choroidal melanoma / H. Kiratli, S. Bilgic // Ophthalmic Surg Lasers Imaging. 2008. – Vol. 39, №1. – P. 60-62.
33. Primary transpupillary thermotherapy for small choroidal melanoma in 256 consecutive cases: outcomes and limitations / C. L. Shields, J. A. Shields, N. Peres [et al.] // Ophthalmology. – 2002. – Vol. 109, №2. – P.225- 234.
34. Prognostic and predictive impact of intra and peritumoral immune infiltrates / W. H. Fridman, J. Galon, F. Pages [et all.] // Cancer Res. – 2011. – V.71. – №17. – P. 5601-5605.
35. Risk factors for growth and metastasis of small choroidal melanocytic lesions / C. L. Shields., J. A. Shields., H. Kiratli [et al.] // Ophthalmol. – 1995. – Vol. 102, №9. – P. 1351- 1361.
36. **Shields C. L.** Plaque radiotherapy for uveal melanoma: long-term visual outcome in 1106 consecutive patients / C. L. Shields, J. A. Shields, J. Cater // Arch. Ophthal. – 2000. – Vol. 118. – P. 1219- 1228.
37. **Shields. C. L.** Clinical features of small choroidal melanoma / C. L. Shields, J. A. Shields // Curr. Opin. Ophthalmol. – 2002. – Vol. 13, №3. – P.135- 141.
38. Transpupillary Thermotherapy for Choroidal Melanoma: tumor control and visual results in 100 consecutive cases / C. L. Shields, J. A. Shields, J. Cater [et al.] // Ophthalmology. – 1998. – Vol. 105, № 4. – P. 581-590.

Поступила 10.07.2019.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, которые могли бы повлиять на их мнение относительно предмета или материалов, описанных и обсуждаемых в данной рукописи.*

## Динаміка імунологічних показників у хворих на меланому хоріоїдеї стадії Т1 малих розмірів після проведення діод-лазерної (810 нм) транспупілярної термотерапії за розробленою методикою

Цуканова І. В., Полякова С. І., Величко Л. М., Богданова О. В.

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П.Філатова НАМН України»; Одеса (Україна)

**Актуальність.** Немаловажливим фактором в реалізації лікувального ефекту при лікуванні меланому хоріоїдеї (*MX*) є реакція імунної системи. Для проведення адекватного органозберігаючого лікування *MX* і контролю його ефективності, особливо на ранніх стадіях захворювання, важливо знати характер взаємодії імунокомпетентних і пухлинних клітин.

**Мета:** вивчити динаміку показників імунної системи хворих на *MX* стадії Т1 малих розмірів (вистояння – до 3 мм, протяжність основи – до 12 мм) після проведення курсу діод-лазерної (810 нм) транспупілярної термотерапії за розробленою методикою.

**Матеріал і методи.** Вивчені імунологічні показники у 35 хворих на *MX* стадії Т1 малих розмірів до і після проведення курса діод-лазерної (810 нм) транспупілярної термотерапії за розробленою методикою. Середній вік хворих склав 53,9(12,1) років. Жінок було 26 (74,3%), чоловіків – 9 (25,7%).

**Результати.** Встановлено, що одні показники знижаються (абсолютний зміст лейкоцитів, абсолют-

ний і відносний зміст цитотоксичних *T*-лімфоцитів – CD8+, абсолютна і відносна фагоцитарна активність нейтрофілів, абсолютний і відносний вміст *B*-лімфоцитів – CD19+, IgA, IgM, IgG), інші, навпаки, підвищуються (відносний вміст лейкоцитів, абсолютний і відносний вміст лімфоцитів, абсолютний і відносний вміст *T*-лімфоцитів – CD3+, абсолютний і відносний вміст *T*-хелперів – CD4+, співвідношення показників CD4+/CD8+, абсолютна і відносна кількість NK-клітин–CD16+). Однак ці зміни статистично значимо не відрізняються (зокрема співвідношення показників CD4+/CD8+,  $F=7,9$ ;  $p=0,05$ ) і носять характер тенденцій.

**Висновки.** Діод-лазерна (810 нм) транспупілярна термотерапія за розробленою методикою призводить до зсуву специфічної протипухлинної відповіді з пригніченням цитолітичної реакції лімфоцитів CD8+, що потребує призначення імунокоригуючої терапії вже на ранній стадії захворювання.

**Ключові слова:** меланома хоріоїдеї стадії Т1 малих розмірів, транспупілярна термотерапія, клітинний і гуморальний імунітет