

УДК: 617.77- 006.06.6-097- 092.18

Експресія дифференцировочных (CD16, CD19) и активационных маркеров (CD25, CD95) лимфоцитов периферической крови у больных злокачественными эпителиальными опухолями кожи век без рецидива и с рецидивом опухоли в динамике наблюдения

И. А. Сафроненкова, канд. мед. наук, ст. науч. сотр.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им.

В. П. Филатова НАМН Украины», Одесса (Украина)

E-mail: safronenkova@ukr.net

Вступ. Імунологічний статус хворих злоякісними епітеліальними пухлинами (ЗЕП) шкіри повік при проведенні радіокріогенного лікування носить складний комбінований характер і полягає, з одного боку — розвитком імуносупресії, викликаній неопластичним процесом, а з іншого боку — імунотуляцією протипухлинної імунної відповіді під впливом лікувальних факторів. Контроль його відновлення при проведенні протипухлинного лікування та спостереженні в динаміці вивченої недостатньо.

Мета. Вивчити в динаміці фенотипи лімфоцитів периферичної крові по експресії дифференційних (CD16 +, CD19 +) і активаційних (CD25 +, CD95 +) маркерів у хворих ЗЕП шкіри повік без рецидиву і з рецидивом пухлинного процесу.

Матеріал і методи. Дослідження проведено у 68 хворих ЗЕП шкіри повік стадії T2a — 3b N0 M0. Чоловіків було 29 (42,6 %), жінок — 39 (57,4 %). Контрольну групу склали 28 умовно здорових осіб віком 64,0±9,91 років, чоловіків було 12 (46,4 %), жінок — 16 (53,6 %). Фенотипічний склад лімфоцитів периферичної крові хворих ЗЕП оцінювали за допомогою панелі специфічних МкАТ (CD16 +, CD19 +, CD25+, CD95).

Результати. Відносний вміст (CD19 +) в досліджуваних групах був достовірно підвищений в порівнянні з контролем в 1,3 рази (відповідно $p = 0,01$ і $0,02$) і залишався високим протягом усього періоду спостереження. Відносний вміст субпопуляції (CD16 +) — лімфоцитів в групі хворих без рецидивів пухлини достовірно підвищувався с $(11,5 \pm 0,57) \%$ до $(13,5 \pm 5,6) \%$ ($p = 0,03$) через 6 місяців і знижувався до вихідних значень через 12 місяців. У групі з рецидивами ЗЕП шкіри повік відносний рівень експресії (CD16 +) через 6 і 12 місяців залишався практично на одному рівні. Відмінності між значеннями рівня експресії (CD16 +) у зазначені терміни спостереження в досліджуваних групах були статистично значущими (відповідно $p = 0,001$, $0,002$). Рівень активації лімфоцитів (CD25 +) у хворих ЗЕП шкіри повік через 6 і 12 місяців після лікування у групі без рецидиву мав тенденцію до рівномірного зниження в зазначені терміни і досягав контрольних значень. У групі рецидивів спостерігалось статистично значуще зниження цих показників з $(36,1 \pm 8,3)$ до $(21,0 \pm 5,78) \%$ через 6 місяців ($p = 0,000$) і до $(18,4 \pm 1,67) \%$ ($p = 0,001$) — через 12 місяців. У групі пацієнтів без рецидиву пухлини спостерігалась тенденція до зниження рівня експресії (CD95 +) через 6 місяців після лікування, а в групі з рецидивами — вміст (CD95 +) зберігався на одному рівні з вихідним. Через 12 місяців в групі без рецидивів відносний вміст (CD95 +) в периферичній крові статистично значимо знизився з $(19,2 \pm 0,97)$ до $(11,6 \pm 0,39) \%$ ($p = 0,002$), наближаючись до контрольних значень. Навпаки, у хворих з рецидивами через рік після лікування експресія (CD95 +) достовірно підвищилася з $(17,5 \pm 2,75)$ до $(22,9 \pm 1,11) \%$ ($p = 0,02$). Різниця значень рівня експресії маркера пізньої активації лімфоцитів (CD95 +) на цей термін спостереження між обома досліджуваними групами була так само статистично значимою ($p = 0,000$).

Висновок. Були визначені імунологічні маркери: (CD16+), (CD25+) і (CD95+), які, при моніторингу, проведеному після закінчення лікування, дозволили розробити критерії несприятливого, щодо рецидиву пухлини, прогнозу перебігу ЗЕП шкіри повік.

Ключевые слова: злокачественные эпителиальные опухоли кожи век, рецидив, иммунологический статус, маркеры лимфоцитов (CD16 +, CD19 +, CD25 +, CD95 +).

Ключові слова: злоякісні епітеліальні пухлини шкіри повік, рецидив, імунологічний статус, маркери лімфоцитів (CD16 +, CD19 +, CD25 +, CD95 +).

Expression of differentiation (CD 16, CD19) and activation markers (CD25, CD95) of peripheral blood lymphocytes of patients with malignant epithelial tumors of the eyelid skin without and recurrence of tumors in follow-up dynamics

I. A. Safronenkova

State Institution The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the NAMS of Ukraine, Odessa, (Ukraine)

Introduction. Immunological status of patients with malignant epithelial tumors (MET) of the eyelid skin during radiocryogenic treatment is of complex and combined character, on the one hand — the development of immunosuppression induced by the neoplastic process, and on the other hand — immunomodulation antitumor immune response under the influence of medical factors. Control of its restoration during cancer treatment and follow-up are studied insufficiently.

Purpose. To explore the dynamics of the phenotypes of peripheral blood lymphocytes by expression of differentiation (CD 16 +, CD 19 +) and activation (CD25 +, CD95 +) markers in patients with MET of the eyelid skin without and with recurrence of cancer.

Materials and methods. The study was conducted in 68 patients with MET of the eyelid skin of the stage T2a-3b NO MO. There were 29 men (42.6 %), and 39 (57.4 %) women. The control group consisted of 28 apparently healthy individuals aged 64.0 ± 9.91 there were 12 men (46.4 %), and 16 (53.6 %) women. The phenotypic composition of the peripheral blood lymphocytes was assessed using specific McAB panel (CD16 +, CD19 +, CD25, CD95).

Results. Relative content (CD 19 +) in the tested group was significantly increased compared with controls 1.3 times ($p = 0.01, 0.02$ respectively) and remained high in the tested groups during the follow-up period. The relative content of the subpopulation (CD 16 +) — lymphocytes in patients without tumor recurrence significantly increased from (11.5 ± 0.57) % to (13.5 ± 5.6) % ($p = 0.03$) in 6 months and decreased to baseline values after 12 months. In the group with recurrent MET of the eyelid skin the relative level of expression (CD 16 +) in 6 and 12 months remained at the same level. Differences between the values of the level of expression (CD 16 +) within a specified time of the follow-up in the groups under study were statistically significant (respectively $p = 0.001, 0.002$). The level of activation of lymphocytes (CD25 +) in patients with MET of the eyelid skin in 6 and 12 months after treatment in the studied groups the relative terms (CD25+) in the group without recurrence tended to uniform reduction in this time and reached the control values. In the group of recurrence, a statistically significant decrease in these indicators (36.1 ± 8.3) % to (21.0 ± 5.78) % after 6 months ($p = 0.000$) and to (18.4 ± 1.67) % ($p = 0.001$) — in 12 months. The group of patients without tumor recurrence tended to decrease the level of expression (CD95 +) after 6 months of treatment, whereas in the group with recurrent — content (CD95 +) remained at the same level with the baseline. After 12 months in the group without relapse, the relative content (CD95 +) in the peripheral blood was significantly decreased from (19.2 ± 0.97) % to (11.6 ± 0.39) % ($p = 0.002$), approaching control values. In contrast, in patients with relapses the expression (CD95 +) was significantly increased from (17.5 ± 2.75) % to (22.9 ± 1.11) % ($p = 0.02$) in a year after treatment. The difference of values of the expression level of the late marker of lymphocyte activation (CD95 +) between the two treatment groups was also statistically significant ($p = 0.000$) at this time of the follow-up.

Conclusion. There were identified immunological markers (CD 16 +), (CD25 +) and (CD95 +), which in the monitoring conducted after the end of treatment, allowed to develop criteria for adverse in relation to tumor recurrence, prognosis of MET of the eyelid skin.

Key words: malignant epithelial tumors of the eyelid skin, recurrence, immunologic status of lymphocyte markers (CD 16 +, CD 19 +, CD25, CD95).

Введение. Злокачественные эпителиальные опухоли (ЗЭО) кожи век, к которым, согласно Международной гистологической классификации опухолей кожи (ВОЗ, 2006), относятся базально-

клеточный рак, плоскоклеточный рак и рак придатков кожи — одни из самых распространенных опухолей человека, что ставит их в ряд важнейших проблем современной медицины [1, 10–12].

ЗЭО кожи век, как все опухолевые процессы, возникают вследствие снижения функции иммунологического надзора за генетическим постоянством внутренней среды. Этим, в частности, объясняется учащение рака при старении. Иммуносупрессия, индуцируемая опухолью, может проявляться в широком диапазоне — от слабого иммунного ответа до полной анергии [9]. Именно иммуносупрессией объясняют неэффективность противоопухолевой терапии, направленной на стимуляцию иммунных механизмов у больных с растущими опухолями. Развитие опухолевых клеток может быть следствием снижения уровня апоптоза. В апоптотической реакции принимают участие многие клеточные механизмы, среди которых важное значение имеют кластерные варианты лимфоцитов с их распознающими механизмами (CD16 и CD19), активационным назначением (CD25) и сигнальной системой (CD95- Fas), где сигнальная функция на всем протяжении апоптотической реакции и, особенно, на заключительном этапе принадлежит CD95 (Fas-апоптоз) лимфоцитам. Нарушение их равновесного содержания в биологических жидкостях организма приводит к модуляции межклеточных мембранных взаимодействий и соответственно — иммунного ответа. Играя роль межклеточных коммуникаторов, они связываются с лигандами своих мембранных гомологов на поверхности клеток и препятствуют передаче сигнала от клетки к клетке, что приводит к супрессии иммунного ответа. Являясь продуктом одной клетки, антигены могут выступать в качестве трансмиттера, активирующего или подавляющего функцию другой клетки вплоть до инициации ее гибели путем апоптоза [6].

Изменение иммунного статуса вызывает и проводимое противоопухолевое лечение, поскольку реализация лечебного эффекта происходит не только за счет повреждающего действия физических лечебных факторов, а и путем активации различных биологических механизмов, направленных на углубление деструкции поврежденных клеток и резорбцию [6, 15].

Так, при радиокриогенном лечении ЗЭО кожи век, опухолевые клетки на первом этапе подвергаются лучевому воздействию, вызывающему распад наиболее радиочувствительных клеток опухоли, а в другой части клеток ведущему к повреждению их генетического аппарата, последствием которого является прекращение их размножения. Поврежденные опухолевые клетки поглощаются мигрирующими фагоцитами из окружающих здоровых тканей. То есть, ионизирующее излучение оказывает модифицирующее воздействие как на саму опухоль, так и на ее микроокружение, вызывая развитие эффектов, усиливающих гибель клеток и включающих специфические сигналы для клеток иммунной системы организма.

На втором этапе лечения, после криодеструкции опухолевой ткани, при которой нет денатурации белков и нуклеиновых кислот, также запускается механизм стимуляции специфического противоопухолевого иммунитета. Патологически измененные холодом структуры, несущие в себе основные характеристики опухоли, становятся чужеродными организму антигенами, на которые начинают активно продуцироваться специфические антитела. Находясь в длительном контакте с целостным организмом (здесь проявляется положительный момент значительной продолжительности заживления криогенных ран) девитализированное новообразование позволяет показать иммунной системе «врага», но уже в ослабленном виде. Поэтому криодеструкцию образно называют индивидуализированной прививкой против разрушаемой опухоли [5].

Таким образом, иммунологический статус больных ЗЭО кожи век при проведении радиокриогенного лечения носит сложный комбинированный характер и заключается, с одной стороны — развитием иммуносупрессии, вызванной неопластическим процессом, а с другой стороны — иммуномодуляцией противоопухолевого иммунного ответа под влиянием лечебных факторов. При этом происходит синергизм действия конвенциональных методов с цитотоксическими эффектами иммунной системы в отношении опухоли. Поэтому показатели иммунитета могут адекватно отражать противоопухолевую активность иммунной системы, так как характеризуют ее способность распознавать и элиминировать циркулирующие в крови злокачественные клетки [7, 8, 13, 16].

Несмотря на то что в литературе существует множество сообщений о различных изменениях иммунного статуса при ЗЭО кожи век, вопрос, касающийся контроля его восстановления при проведении противоопухолевого лечения и наблюдении в динамике, изучены недостаточно.

Цель исследования. Изучить в динамике фенотипы лимфоцитов периферической крови по экспрессии дифференцировочных (CD16+, CD19+) и активационных (CD25+, CD95+) маркеров у больных ЗЭО кожи век без рецидива и с рецидивом опухолевого процесса.

Материал и методы

Исследование проведено у 68 больных ЗЭО кожи век, проходивших лечение в ГУ «Институте глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины». Согласно классификации pTNM (7-е издание, 2010 г.) Международного Противоракового Союза (UICC) и Американского Объединенного Комитета по Раку (AJCC). Мужчин было 29 (42,6 %) в возрасте (61,2±11,8) лет, женщин — 39 (57,4 %) в возрасте (59,8±11,9) лет. У всех пациентов диагноз верифицирован морфологически в лаборатории патоморфологии института. Базальноклеточный рак

(БКР) выявлен у 55 (80,9 %) пациентов, плоскоклеточный (ПКР) — у 5 (7,4 %), аденокарцинома — у 8 (11,7 %). У исследуемых больных опухоли были в стадии T_{2a-3b} N₀ M₀. В 14 (20,6 %) случаях наблюдался рецидив опухоли, а в 54 (79,4 %) — рецидивов не отмечено. Контрольную группу составили 28 условно здоровых лиц. Среди них было 13 мужчин (46,4 %) в возрасте (61,5±8,6) лет и 15 женщин (53,6 %) в возрасте (58,7±11,6) лет.

Лечение состояло в проведении лучевой терапии (ЛТ) и последующей криодеструкции (КД). ЛТ проводилась в виде γ-терапии аппаратом «Агат С» систочником излучения Со⁶⁰, РД 2–2,2 Гр, СОД (34,6±5,8) Гр и брахитерапии с источником излучения стронций-90+иттрий-90, РД 40 ГР, СОД (288±61,3) Гр. КД осуществлялась при помощи криоустановки на основе баллонно-дрессельной микрокриогенной системы при температуре — (90–120)°С. Экспозиция криодействия определялась по специально разработанным номограммам [2].

Фенотипический состав лимфоцитов периферической крови больных ЗЭО кожи век оценивали при помощи панели специфических МкАТ (CD16+, CD19+, CD25, CD95) в лаборатории иммунологии института [14]. Исследование проводилось до начала лечения, через 6 и 12 месяцев после его окончания.

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью лицензионной программы «Statistica 9.0». Определялись средние значения со стандартным отклонением (M±SD). Для сравнения полученных данных проведено с использование критерий Ньюмана — Кейлса. Различия считались достоверными при уровне значимости p ≤ 0,05.

Результаты и их обсуждение

Средние значения абсолютного и относительного содержания дифференцировочных (CD16+, CD19+) и активационных (CD25, CD95) маркеров лимфоцитов в периферической крови больных

ЗЭО кожи век в исследуемых группах (без рецидивов и с рецидивами) в динамике наблюдения представлены в таблице 1.

Как следует из данных таблицы 1, до начала лечения показатели абсолютного содержания субпопуляции (CD19+), характеризующие состояние гуморального иммунитета в обеих исследуемых группах больных не отличались от нормы. Относительное содержание (CD19+) в этих группах было достоверно повышено по сравнению с контролем в 1,3 раза (соответственно p = 0,01 и 0,02), что свидетельствует об активации В-клеточного звена иммунитета. Основная функция В-лимфоцитов при опухолевом процессе заключается в синтезе и секреции противоопухолевых антител, которые могут связываться с поверхностью опухолевой клетки и блокировать мембранные молекулы, необходимые для ее жизнедеятельности, либо направлять на опухолевую клетку цитотоксическое действие фагоцитов или NK-клеток [5, 7, 15]. Клеточная цитотоксичность, вызванная антителами, является одним из механизмов осуществления противоопухолевого иммунитета.

Через 6 и 12 месяцев после лечения в группе больных с безрецидивным течением опухолевого процесса уровень экспрессии (CD19+) оставался практически на одном уровне, тогда как в группе больных с рецидивами — имел тенденцию к снижению с (16,8±2,3) до (11,8±1,67) % (p=0,07), то есть практически до нормы. Различий в содержании этой субпопуляции лимфоцитов в исследуемых группах больных в указанные сроки не наблюдалось (рис. 1).

Таблица 1. Средние значения абсолютного и относительного содержания дифференцировочных (CD16+, CD19+) и активационных (CD25, CD95) маркеров лимфоцитов в периферической крови больных ЗЭО кожи век в исследуемых группах (без рецидивов и с рецидивами) в динамике наблюдения (M±SD)

Показатели иммунитета	Контроль (норма) n=28	Течение опухоли					
		Без рецидива n=54			Рецидив n=14		
		До лечения	Через 6 мес	Через 12 мес	До лечения	Через 6 мес	Через 12 мес
CD19+ абсолютные (кл/мкл)	230,1±102,5	241,5±108,2	237,5±112,1	239,5±103,1	205,6±115,6	205,3±112,5	214,6±105,2
CD19+ относит. (%)	13,4±4,9	17,7±5,9↑	17,2±0,8↑	15,7±0,58	16,8±2,3↑	13,5±2,18	11,8±1,67
CD16+ абсолютные (кл/мкл)	167,3±81,4	163,5±88,43	161,3±82,5	159,5±78,53	120,9±62,69↓	129,9±52,39↓	130,1±42,95↓
CD16+ относит. (%)	12,7±3,9	11,5±0,57	13,5±5,6	11,4±0,34	9,5±0,57↓	8,8±3,59↓	8,4±0,34↓
CD25+ абсолютные (кл/мкл)	136,9±57,0	270,5±163,0↑	267,6±153,0↑	261,5±162,0↑	352,9±119,7↑	322,8±109,6↑	320,2±123,7↑
CD25+ относит. (%)	10,7±2,1	20,7±18,5↑	19,1±2,03↑	13,1±0,59	36,1±8,3↑	21,0±5,78↑	18,4±1,67↑
CD95+ абсолютные (кл/мкл)	118,8±57,6	249,7±139,4↑	219,6±130,5↑	203,3±129,5↑	160,3±67,0↑	170,2±72,0↑	169,7±68,5↑
CD95+ относит. (%)	9,1±2,35	19,2±0,97↑	17,0±0,8↑	11,6±0,39	17,5±2,75↑	17,3±2,29↑	22,9±1,11↑

Примечание: n — количество больных; ↑ — значения выше или ↓ — ниже контрольного (p — уровень значимости различий по критерию Ньюмана — Кейлса < 0,05)

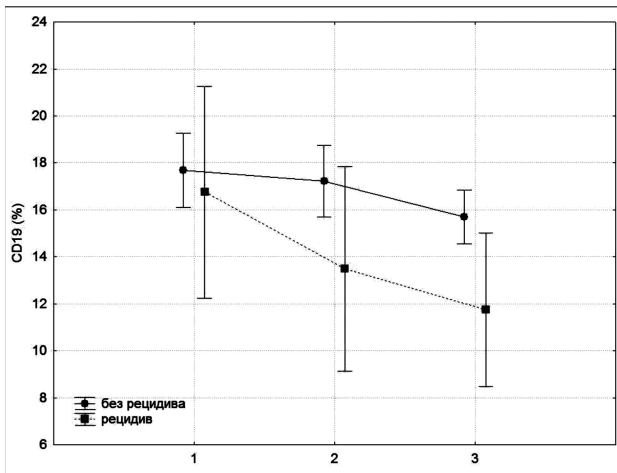


Рис. 1. Уровень экспрессии (CD19+) в периферической крови больных без рецидива и с рецидивом ЗЭО кожи век в динамике наблюдения (1 — до лечения; 2 — через 6 месяцев; 3 — через 12 месяцев)

Таким образом, субпопуляционное представительство в периферической крови (CD19+) — лимфоцитов свидетельствует об активном состоянии гуморального звена иммунитета у больных ЗЭО кожи век в изучаемых группах в течение всего периода наблюдения.

Из данных таблицы 1 также видно, что до лечения абсолютное и относительное содержание НК-клеток (CD16+) в периферической крови у больных без рецидивов не отличается от показателей контрольной группы. В группе пациентов с рецидивами достоверно снижены как абсолютные, так и относительные показатели (CD16+) по отношению к норме — соответственно в 1,4 и 1,3 раза ($p = 0,01$) и по отношению к группе без рецидивов соответственно в 1,3 и 1,2 раза ($p = 0,01, 0,04$).

Исследование в динамике показало, что в обеих группах достоверных изменений абсолютных значений уровня экспрессии (CD16+) через 6 и 12 месяцев после лечения не отмечено. Относительное содержание субпопуляции (CD16+) — лимфоцитов в группе больных без рецидивов опухоли достоверно повышалось с $(11,5 \pm 0,57)$ до $(13,5 \pm 5,6)$ % ($p = 0,03$) через 6 месяцев и снижалось до исходных значений через 12 месяцев. В группе с рецидивами ЗЭО кожи век относительный уровень экспрессии (CD16+) через 6 и 12 месяцев оставался практически неизменным. Различия между значениями уровня экспрессии (CD16+) в указанные сроки наблюдения в исследуемых группах были статистически значимыми (соответственно $p = 0,001, 0,002$), что отображено на рисунке 2.

Таким образом, в группе больных без рецидивов ЗЭО кожи век уровень содержания (CD16+) в периферической крови оставался в пределах нормы во все сроки наблюдения, тогда как в группе с рецидивами этот показатель был достоверно ниже

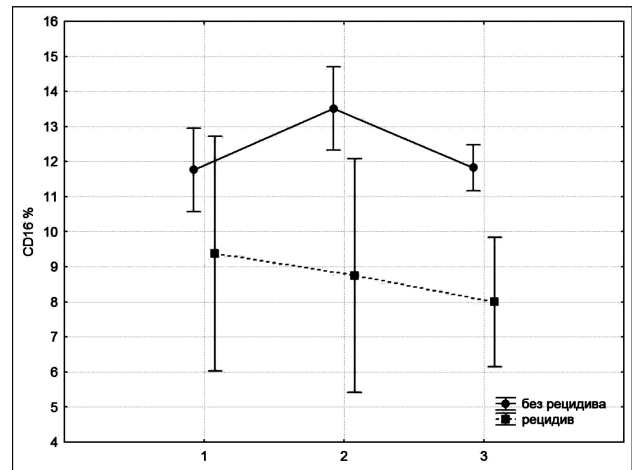


Рис. 2. Уровень экспрессии (CD16+) в периферической крови больных без рецидива и с рецидивом ЗЭО кожи век в динамике наблюдения (1 — до лечения; 2 — через 6 месяцев; 3 — через 12 месяцев)

нормы. Следовательно, при рецидивах наблюдается нарушение неспецифического механизма иммунного надзора за счет снижения содержания антигенов (CD16+). Известно, что (CD16+), являясь дифференцировочным маркером, характеризует популяцию естественных киллерных клеток (NK) — первого барьера на пути развития опухоли. Наличие (CD16+) — рецептора является необходимым для распознавания клеток-мишеней, активации естественных киллеров с последующим цитоллизом клеток опухоли [3, 6]. В данном случае, при рецидивах ЗЭО кожи век снижение количества НК (CD16+) можно объяснить супрессорным воздействием со стороны клеток опухоли.

Далее из таблицы 1 следует, что до лечения у больных без рецидива и с рецидивом опухоли имеется достоверное повышение, по сравнению с контролем, абсолютного и относительного количества лимфоцитов, экспрессирующих маркеры ранней активации лимфоцитов (CD25+) соответственно в 2 и 1,9 раза ($p = 0,00, p = 0,03$). Различия в абсолютном и относительном содержании (CD25+) в периферической крови у разных исследуемых групп пациентов характеризуются высокой статистической значимостью. Так, абсолютные и относительные показатели (CD25+) в группе с рецидивами опухоли соответственно в 1,3 и 1,6 раза выше, чем в группе без рецидивов ($p = 0,000, p = 0,001$).

Уровень активации лимфоцитов (CD25+) у больных ЗЭО кожи век через 6 и 12 месяцев после лечения в исследуемых группах по абсолютным показателям сохранялся высоким и практически не отличался от исходного. Относительные показатели (CD25+) в группе без рецидива имели тенденцию к равномерному снижению в указанные сроки и достигали контрольных значений. В группе с рецидивами наблюдалось статистически зна-

чимое снижение этих показателей с $(36,1 \pm 8,3) \%$ до $(21,0 \pm 5,78) \%$ через 6 месяцев ($p = 0,000$) и до $(18,4 \pm 1,67) \%$ ($p = 0,001$) — через 12 месяцев. Однако контрольных показателей они не достигали (рис. 3).

Повышенное содержание лимфоцитов с фенотипом (CD25+), активированных в результате взаимодействия иммунокомпетентных клеток с опухолью, могло привести к состоянию анергии, когда Т-клетки теряют способность реагировать на опухоль, то есть становятся ареактивными. Этот факт вполне может объяснить наличие превышения уровня содержания антигенов (CD25+) в периферической крови у больных с рецидивом опухоли по отношению к группе больных без рецидива.

До начала лечения у пациентов в обеих исследуемых группах отмечено достоверное ($p=0,000$) повышение абсолютного и относительного содержания (CD95+) — лимфоцитов в периферической крови, соответственно в 2,1 и 1,9 раза по отношению к контрольной группе (табл. 1).

Уровень активации (CD95+) лимфоцитов в динамике через 6 и 12 месяцев по абсолютным показателям в обеих исследуемых группах практически не изменялся. Относительные показатели экспрессии (CD95+) в различные сроки исследования представлены на рисунке 4.

Как следует из приведенных на рисунке 4 данных, в группе пациентов без рецидива опухоли наблюдалась тенденция к снижению уровня экспрессии (CD95+) через 6 месяцев после лечения, а в группе с рецидивами содержание (CD95+) сохранялось на одном уровне с исходным. Через 12 месяцев в группе без рецидивов относительное содержание (CD95+) в периферической крови статистически значимо снизилось с $(19,2 \pm 0,97)$ до $(11,6 \pm 0,39) \%$

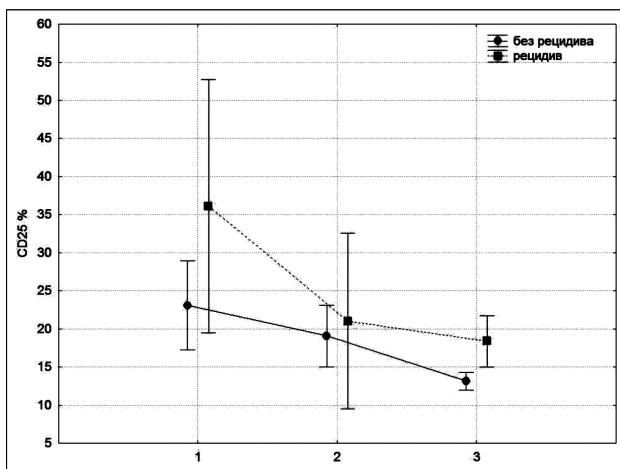


Рис. 3. Уровень экспрессии (CD25+) в периферической крови больных без рецидива и с рецидивом ЗЭО кожи век в динамике наблюдения (1 — до лечения; 2 — через 6 месяцев; 3 — через 12 месяцев)

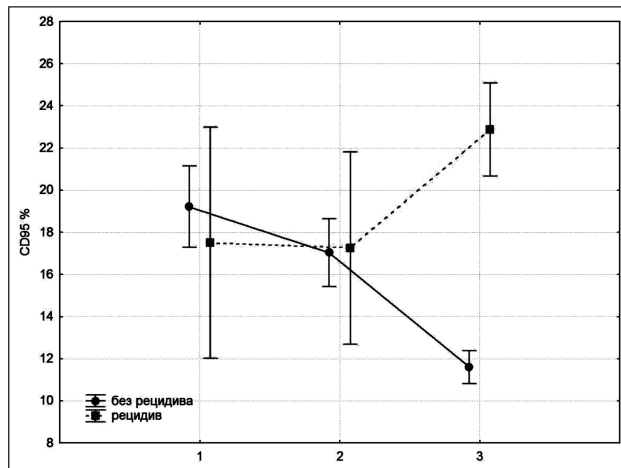


Рис. 4. Уровень экспрессии (CD95+) в периферической крови больных без рецидива и с рецидивом ЗЭО кожи век в динамике наблюдения (1 — до лечения; 2 — через 6 месяцев; 3 — через 12 месяцев)

($p = 0,002$), приближаясь к контрольным значениям. Напротив, у больных с рецидивами через год после лечения экспрессия (CD95+) достоверно повысилась с $(17,5 \pm 2,75)$ до $(22,9 \pm 1,11) \%$ ($p = 0,02$). Различие значений уровня экспрессии маркера поздней активации лимфоцитов (CD95+) на этот срок наблюдения между обеими исследуемыми группами было также статистически значимо ($p = 0,000$).

Как показали наши исследования, у больных ЗЭО кожи век фенотипические сдвиги характеризуются увеличением числа (CD95+) — лимфоцитов крови, что указывает на усиление апоптоза Т-клеток. Причем экспрессия рецептора апоптоза (CD95+) на лимфоцитах периферической крови повышена как у пациентов с безрецидивным течением опухолевого процесса, так и при рецидивах. Однако в группе с рецидивами содержание (CD95+) продолжает сохраняться на высоком уровне через 6 месяцев после окончания лечения и достоверно повышается — через 12 месяцев, что свидетельствует о продолжающейся индукции Fas-опосредованной гибели Т-клеток. Напротив, в группе с безрецидивным течением опухоли состояние активации (CD95+) — лимфоцитов обратимо, и снятие опухолевого прессинга после радиокриогенного лечения реабилитирует их функциональные возможности, восстанавливая нормальные межклеточные взаимодействия.

Таким образом, при рецидивах ЗЭО кожи век отмечается снижение содержания (CD16+), которое остается на низком уровне в течение года наблюдения. Напротив, содержание (CD25+) — повышено и сохраняется высоким через 6 и 12 месяцев после лечения. Это свидетельствует о том, что при рецидивах опухоли избыточное содержание антигена IL-2 (CD25+) способствует развитию анер-

гии иммунокомпетентных клеток, которая, в свою очередь, ведет к падению киллерной активности за счет снижения NK-клеток (CD16+) и этим способствует снижению противоопухолевого иммунитета.

Повышенная экспрессия (CD95+) в группе с рецидивами сохраняется на высоком уровне и еще больше возрастает через 12 месяцев после лечения. Такое увеличение количества (CD95+) отражает процесс индуцированного Fas — опосредованного апоптоза Т-лимфоцитов и является одним из показателей иммуносупрессии у онкологических больных [14].

Выводы

1. У больных ЗЭО кожи век определены диагностически важные иммунологические маркеры: (CD16+), (CD25+) и (CD95+), которые при мони-

торинге, проводимом после окончания лечения, позволили разработать критерии неблагоприятного, в отношении рецидива опухоли, прогноза течения ЗЭО кожи век.

2. При рецидивах ЗЭО кожи век наблюдается снижение противоопухолевого иммунитета, вызванное развитием анергии иммунокомпетентных клеток за счет повышенной экспрессии (CD25+) и падения киллерной активности (CD16+), сохраняющихся в течение года после лечения.

3. Иммуносупрессия при рецидивах ЗЭО кожи век обусловлена индукцией Fas — опосредованного апоптоза Т-лимфоцитов, о чем свидетельствует повышенная экспрессия (CD95+), сохраняющаяся на высоком уровне через 6 месяцев и возрастающая спустя 12 месяцев после лечения.

Литература

1. Буйко А. С. Злокачественные эпителиальные опухоли кожи век: встречаемость, факторы риска, диагностика, методы лечения и их результативность / А. С. Буйко // Офтальмол. журн. — 2009. — № 1–2. — С.49–59.
2. Буйко А. С. Эпителиальные опухоли век: криодеструкция или скальпель? / Буйко А. С., Карповский Е. Я., Сафроненкова И. А. и др. // Офтальмол. журн. — 1991. — № 6. — С. 338–344.
3. Гранов А. М. Канцерогенез и иммунология опухоли. Фундаментальные и клинические аспекты / А. М. Гранов, О. Е. Молчанов // Вопросы онкологии. — 2008 — Т. 54. — № 4. — С. 401–409.
4. Диагностическая иммунология опухолей / [Глузман Д. Ф., Скляренко Л. М., Надгорная В. А., Крячок И. А.]. — Киев: «Морион», 2003. — С. 6–15.
5. Молекулярные механизмы взаимодействия опухоли и иммунной системы / Бережной Е. Е., Гнучев Н. В., Георгиев Г. П. [и др.] // Вопросы онкологии. — 2008. — Т.54. — № 6. — С. 669–683.
6. Коченов В. И. Криологическая профилактическая онкология / В. И. Коченов — Нижний Новгород, 2003. — 85 с.
7. Стахеева М. Н. Взаимосвязь состояния иммунной системы как интегрированного целого с клиническим течением рака молочной железы / Стахеева М. Н., Эйдензон Д. В., Слонимская Е. М. и др. // Сибирский онкологический журн. — 2011. — № 2. — С.11–19.
8. Apetoh L. The interaction between HMGB1 and TLR4 dictates the outcome of anticancer chemotherapy and radiotherapy / Apetoh L., Ghiringhelli F., Tesniere A. et al. // Immunol. Rev. — 2007. — Vol. 220. — P.47–59.
9. Dranoff G. Immune recognition and tumor protection // Curr. Opin. Immunol. — 2002. — Vol. 14. — № 2. — P. 161–164.
10. Durairaj V. D. Mucinous eccrine adenocarcinoma of the periorbicular region / V. D. Durairaj, E. M. Hink, M. Y. Kahook et al. // Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg. — 2006. — Vol. 22. — № 1. — P. 30–35.
11. Koo L. «Pseudo-pseudochalazion»: giant chalazion mimicking eyelid neoplasm / L. Koo, M. P. Hatton, P. A. Rubin // Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg. — 2005. — Vol. 21. — № 5. — P. 391–392.
12. Lapka D. V. Oncology today: Skin cancer / D. V. Lapka // RN. — 2000. — Vol.63. — № 7. — P. 32–39.
13. Mlecnik B. Tumor immunosurveillance in human cancers / Mlecnik B., Bindea G., Pags F. et al. // Cancer Metastasis Rev. — 2011. — Vol.30. — № 1. — P.5–12.
14. Spadaro M. Immunological inhibition of carcinogenesis / Spadaro M., Lanzardo S., Curcio C. et al. // Cancer Immunol. Immunother. — 2004. — Vol. 53. — P.204–216.
15. Whiteside T. L. Human tumor antigen-specific T-lymphocytes and interleukin-2-activated natural killer cells: comparisons of antitumor effects in vitro and in vivo / T. L. Whiteside, M. W. Sung, S. Nagashima et al. // Clin cancer res. — 1998. — Vol. 4. — P. 1135–1145.
16. Zitvogel L. Immunological aspects of cancer chemotherapy / Zitvogel L., Apetoh L., Ghiringhelli F. et al. // Nature Reviews Immunology. — 2008. — Vol.8. — P.59–73.

Поступила 12.05.2014

References

1. Buiko AS. Malignant epithelial tumors of the eyelid skin: incidence, risk factors, diagnosis, methods of treatment and their effectiveness. Ophthalmol Zh. 2009;1–2:49–59. Russian.
2. Buiko AS, Karpovskii YeYa, Safronenkova IA et al. Epithelial tumors of the eyelids: cryodestruction or a scalpel? Ophthalmol Zh. 1991;6:338–44. Russian.
3. Granov AM, Molchanov OE. Carcinogenesis and tumor immunology. Basic and clinical aspects. Voprosy onkologii. 2008;54(4):401–9. Russian.
4. Gluzman DF, Sklyarenko LM, Nadgornaya VA, Kryachok IA. Diagnostic immunology of tumors. Kiev: «Morion»; 2003. 6–15.

5. **Berzhnoi EE, Gnuchev NV, Georgiev GP** et al. Molecular mechanisms of interaction between a tumor and immune system. *Voprosy onkologii*. 2008;54(6):669–83. Russian.
6. **Kochenov VI**. Cryological preventive oncology. Nizhnii Novgorod; 2003. 85 p.
7. **Stakheeva MN, Eidenzon DV, Slonimskaia YeM** et al. The relationship of the immune system as an integrated whole with the clinical course of breast cancer. *Sibirskii onkologicheskii zhurn*. 2011;2:11–9. Russian.
8. **Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A** et al. The interaction between HMGB1 and TLR4 dictates the outcome of anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Immunol. Rev*. 2007;220:47–59.
9. **Dranoff G**. Immune recognition and tumor protection. *Curr. Opin. Immunol*. 2002;14(2):161–4.
10. **Durairaj VD, Hink EM, Kahook MY** et al. Mucinous eccrine adenocarcinoma of the periocular region. *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg*. 2006;22(1):30–5.
11. **Koo L, Hatton MP, Rubin PA**. «Pseudo-pseudochalazion»: giant chalazion mimicking eyelid neoplasm. *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg*. 2005;21(5):391–2.
12. **Lapka DV**. Oncology today: Skin cancer. *RN*. 2000;63(7):32–9.
13. **Mlecnik B, Bindea G, Pags F** et al. Tumor immunosurveillance in human cancers. *Cancer Metastasis Rev*. 2011;30(1):5–12.
14. **Spadaro M, Lanzardo S, Curcio C** et al. Immunological inhibition of carcinogenesis. *Cancer Immunol. Immunother*. 2004;53:204–16.
15. **Whiteside TL, Sung MW, Nagashima S** et al. Human tumor antigen-specific T-lymphocytes and interleukin-2-activated natural killer cells: comparisons of antitumor effects in vitro and in vivo. *Clin cancer res*. 1998;4:1135–45.
16. **Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F** et al. Immunological aspects of cancer chemotherapy. *Nature Reviews Immunology*. 2008;8:59–73.

Received 12.05.2014