

УДК 617.723–006.81.04–085–036.8–084:612.017.11

## «Миграционный» фенотип лимфоцитов периферической крови и эффективность органосохраняющего лечения больных увеальной меланомой

Л. Н. Величко, к. м. н.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им.

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

e-mail: aleximmun@mail.ru

**Вступ.** В останні роки встановлено, що придбання Т-лімфоцитом «міграційного» фенотипу забезпечується цілим комплексом сигналів, з яких найбільш істотний — сигнал, що йде від ІЛ-2, а також хемокинів типу RANTES, які є не тільки хемоаттрактантами, а й активаторами Т-клітин. Всі ці впливи ведуть до активації лімфоцитів, що в порівнянні зі «спочиваючими» можуть долати гематоофтальмічний бар'єр.

**Метою** даного дослідження було вивчення залежності між «міграційним» фенотипом лімфоцитів і маркером апоптозу та прогресуванням увеальної меланоми в процесі органозберігаючого лікування.

**Матеріал і методи.** Гістоіммуноцитохімічним методом з використанням моноклональних антитіл проведено порівняння експресії CD54<sup>+</sup> і CD95<sup>+</sup> на лімфоцитах периферичної крові хворих на увеальну меланому з різною ефективністю органозберігаючого лікування. Залежно від його результатів (фотокоагуляція + β-аплікаційна терапія) були сформовані дві групи: 116 пацієнтів з регресією пухлини і 34 пацієнта з прогресивним ростом і подальшою енуклеацією ока. Статистична обробка проведена за допомогою програми «Statistica 7.0».

**Результати.** Значні відмінності встановлені у хворих з різною ефективністю органозберігаючого лікування за абсолютними і відносними значеннями CD54<sup>+</sup> і CD95<sup>+</sup>. При регресії пухлини абсолютне значення рівня експресії маркера CD54<sup>+</sup> на лімфоцитах периферичної крові склало (278,3 (183,9)) кл/мкл, а відносне значення — (19,2 (9,2)) % по відношенню до абсолютного (190,0 (129,5)) кл/мкл і відносного (14,9 (7,1)) % значень у хворих з прогресивним ростом пухлини ( $p_1=0,03$  і  $p_2=0,04$  відповідно). Абсолютне значення рівня експресії маркера апоптозу CD95<sup>+</sup> у хворих на увеальну меланому з регресією пухлини було (325,2 (206,3)) кл/мкл, а відносне значення — (21,8 (9,6)) % по відношенню до абсолютного (218,6 (133,8)) кл/мкл і відносного значень (16,2 (6,3)) % при прогресуванні пухлини ( $p_1=0,02$  і  $p_2=0,01$  відповідно). Для збереження ока в процесі лікування вкрай важлива регуляція високоактивованих Т-клітин і придушення розвитку імунної відповіді для блокування надлишкового запалення за допомогою апоптозу (CD95<sup>+</sup>).

**Заключення.** Рівень експресії молекулярних маркерів активації CD54<sup>+</sup> і CD95<sup>+</sup> значимо вище у хворих з регресією увеальної меланоми, в порівнянні з пацієнтами з прогресивним ростом пухлини і подальшою енуклеацією після органозберігаючого лікування.

**Ключевые слова:** увеальная меланома, молекулярные маркеры активации лимфоцитов, прогнозирование результата лечения.

**Ключові слова:** увеальна меланома, молекулярні маркери активації лімфоцитів, прогнозування результату лікування.

## «Migratory» phenotype of lymphocytes in peripheral blood in patients with uveal melanoma in varying efficiency preserving therapy

L. Velichko

SI «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy NAMIS of Ukraine», Odessa (Ukraine)

*Provided by a whole complex of signals — one of them is the most significant signal coming from IL-2 as well as chemokines such as RANTES that are not only chemoattractant but also inactivator of T — cells. All these effects lead to activation of lymphocytes, which compared to resting one can cross the blood-barrier.*

*The aim of this study was to investigate the relationship between «immigration» and lymphocyte phenotype marker of apoptosis and progression of uveal melanoma in organ-preserving treatment.*

© Л. Н. Величко, 2015

**Material and methods.** A histoimmunocytochemical method by using monoclonal antibodies compared the level of expression CD54<sup>+</sup> and CD95<sup>+</sup> lymphocytes in the peripheral blood of patients with uveal melanoma with different efficacy of organ preserving treatment. Depending on the outcome of treatment (photocoagulation +  $\beta$ -Application therapy) there were formed two groups: 116 patients with tumor regression, and 34 patients with progressive growth and subsequent enucleation of the eye. The statistical processing has been done with the help of the program (Statistica 7.0).

**Results.** Significant differences were observed in patients with uveal melanoma with different efficacy of organ preserving treatment in absolute and relative values of CD54<sup>+</sup> and CD95<sup>+</sup>. In tumor regression the absolute value of the expression level of the marker CD54<sup>+</sup> in the peripheral blood lymphocytes was (278.3 (183.9)) cells / mcl and relative value — (19.2 (9.2)) % relative to the absolute (190.0 (129.5)) cells / mcl and relative (14.9 (7.1)) % value in patients with progressive tumor growth ( $p_1 = 0.03$  and  $p_2 = 0.04$ , respectively). The absolute value of the expression level of the marker of apoptosis CD95<sup>+</sup> in patients with uveal melanoma with tumor regression was (325.2 (206.3)) cells / mcl, and the relative value of — (21.8 (9.6)) % relative to the absolute (218 6 (133.8))cell/mcl, and a relative value (16.2 (6.3)) % in tumor progression ( $P_1 = 0.02$  and  $P_2 = 0.01$ , respectively). To preserve the eye during the treatment is extremely important to regulate highly activated T-cells and suppression of the immune response to the blocking of inflammation by means of an excess of apoptosis (CD95<sup>+</sup>).

**Conclusion.** The level of expression of the molecular markers of activation CD54<sup>+</sup> and CD95<sup>+</sup> in patients with regression of uveal melanoma was significantly higher than in the patients with progressive tumor growth and subsequent enucleation after organ preserving treatment.

**Key words:** uveal melanoma, molecular markers of activated lymphocytes predict treatment outcome.

**Введение.** Механизмы рециркуляции иммунных клеток были раскрыты при исследовании молекул адгезии. Их экспрессия на лимфоцитах обеспечивает участие в процессах выхода клеток крови в ткани с преодолением барьеров. При прорыве барьеров в этом участке организма развивается воспаление. Это сопровождается временной задержкой в данном участке рециркулирующих лимфоцитов, по преимуществу Т-класса [9].

Исследования последних лет показали, что приобретение Т-лимфоцитом «миграционного» фенотипа обеспечивается целым комплексом сигналов [18]. Одним из наиболее существенных сигналов для формирования этого фенотипа является сигнал, идущий от ИЛ-2, а также хемокинов типа RANTES, которые являются не только хемоаттрактантами, но и активаторами Т-клеток. Все эти воздействия ведут к активации лимфоцитов, которые в отличие от покоящихся, могут преодолевать гематоофтальмический барьер.

В системе *in vitro* показано, что активированные лимфоциты взаимодействуют с эндотелием сосудов с большей avidностью по сравнению с покоящимися [9]. Процесс резко усиливается при развитии воспаления. Для этого, помимо активации лимфоцитов, необходимо повышение проницаемости гематоофтальмического барьера, что проявляется в активации эндотелия. Принцип проникновения лимфоцитов в ткани глаза первоначально заклю-

чается в роллинге — «катании» лимфоцитов по поверхности эндотелия — и весьма непрочном их взаимодействии за счет молекул адгезии из семейства селектинов. Прочное прикрепление лимфоидных клеток к эндотелию осуществляется с помощью молекул адгезии другого семейства — интегринов — молекул CD 11/CD 18 на активированных лимфоцитах и молекул ICAM-1 на активированных клетках эндотелия, что в конечном итоге ведет к прохождению лимфоцитов через эндотелий [11].

Синтез и экспрессия молекул адгезии на клетках эндотелия сосудов и повышение их проницаемости индуцируется провоспалительными цитокинами — ФНО- $\alpha$ , ИЛ- $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, синтезируемыми активированными моноцитами/макрофагами и Т-клетками.

Помимо цитокинов в повышении проницаемости гематоофтальмического барьера принимает участие ряд других биологически активных веществ, например, металлопротеиназы, синтезируемые эндотелиальными клетками капилляров [14]. Эти ферменты могут также разрушать межклеточный матрикс, способствуя продвижению антиген-специфических Т-клеток к своим мишеням. Как правило, Т-клетки, мигрировавшие в воспалительный очаг, продолжают оставаться в периваскулярной области и не двигаются дальше. Эти Т-клетки, а также моноциты/макрофаги являются главным источником цитокинов, повышающих

проницаемость гематофтальмического барьера. Поэтому, несмотря на наличие мощных, на первый взгляд, препятствий для развития иммунных реакций в тканях глаза, провоспалительным цитокинам принадлежит ведущая роль в инициации и элонгации этих процессов.

Исследования, посвященные изучению молекулярных механизмов противоопухолевой защиты организма, всегда были и остаются актуальными как с патогенетической, так и с клинической точек зрения.

В последние годы появились публикации, касающиеся новых представлений о патогенетических механизмах прогрессирования опухолевого процесса [10]. Эти механизмы опосредованы взаимодействием иммунокомпетентных и опухолевых клеток. В связи с этим, представляет интерес поиск молекулярных маркеров, которые могут отражать динамику опухолевого процесса.

**Целью** данного исследования явилось изучение зависимости между «миграционным» фенотипом лимфоцитов и маркером апоптоза и прогрессированием увеальной меланомы в процессе органосохраняющего лечения.

### Материал и методы

Ретроспективно проведено сравнение уровня экспрессии молекулярных маркеров активации лимфоцитов у больных увеальной меланомой с разными результатами лечения — регрессия опухоли (116 пациентов) и прогрессивный рост меланомы (с последующей энуклеацией — 34 пациента) — после проведения комбинированного органосохраняющего лечения: фотокоагуляция +  $\beta$ -аппликационная терапия. У пациентов с регрессией опухоли первичное выстояние опухоли составляло 4,9 мм, медиана 5 мм.

У пациентов с продолженным ростом опухоли первичное выстояние опухоли составляло 6,6 мм, медиана 6,0 мм.

Уровень активационных маркеров лимфоцитов периферической крови определялся гистоиммуноцитохимическим методом [8]. Забор крови из вены (5 мл) проводился до начала лечения. Для иммунофенотипирования использовали панель моноклональных антител (MkAT), включающую антитела, реагирующие с антигенами CD54<sup>+</sup> и CD95<sup>+</sup>.

CD54<sup>+</sup> — молекула межклеточной адгезии — 1 (ICAM-1), член семейства IgSF. Молекулярная масса 90 кД. Высокий уровень экспрессии отмечен на активированных эндотелиальных клетках, клетках некоторых солидных опухолей, умеренный — на активированных Т- и В- лимфоцитах, а также на моноцитах. Экспрессия CD54<sup>+</sup> индуцируется на эпителиальных, эндотелиальных клетках и фибробластах при действии цитокинов (ФНО, ИЛ-1, ИФ- $\gamma$ ). Взаимодействие с CD11a/CD18 (LFA-1) или CD11b/CD18 (Mac-1) приводит к развитию иммунных реакций и/или воспаления. CD54<sup>+</sup> является рецептором риновируса и эритроцитов, инфицированных малярийными паразитами.

CD95<sup>+</sup> — антиген апоптоза 1 (APT1), или Fas-антиген с молекулярной массой 45 кД. Трансмембранная молекула типа I относится к суперсемейству рецепторов ФНО. Отличается высоким уровнем экспрессии на активированных Т- и В-клетках. Опосредует сигналы, индуцирующие апоптоз.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы «Statistica 7.0». Анализ представленных данных показал, что исследуемые группы были сопоставимы по полу, возрасту, причинам, приведшим к энуклеации, размерам и диаметру опухоли, что позволяет сравнивать результаты органосохраняющего лечения и уровень экспрессии молекулярных маркеров активации лимфоцитов. Числовые переменные были проверены на нормальность распределения с помощью непараметрического критерия Колмогорова-Смирнова. Цифровые данные приведены в виде средних, в скобках — стандартное отклонение SD.

### Результаты и их обсуждение

Высокий уровень значимости различий был отмечен у больных увеальной меланомой с разной эффективностью органосохраняющего лечения по абсолютным и относительным значениям CD54<sup>+</sup> и CD95<sup>+</sup>.

Абсолютное значение уровня экспрессии маркера CD54<sup>+</sup> на лимфоцитах периферической крови у больных увеальной меланомой с регрессией опухоли составило (278,3 (183,9)) кл/мкл, а относительное — (19,2 (9,2)) % по отношению к абсолютному (190,0 (129,5)) кл/мкл и относительному значению (14,9 (7,1)) % у больных с прогрессивным ростом опухоли ( $p_1=0,03$  и  $p_2=0,04$  соответственно).

Высокий уровень экспрессии молекул межклеточной адгезии (ICAM-1) CD54<sup>+</sup> обеспечивает преодоление гематофтальмического барьера с последующим продвижением активированных антиген-специфических Т-клеток к опухолевым мишеням.

Абсолютное значение уровня экспрессии маркера апоптоза CD95<sup>+</sup> у больных увеальной меланомой с регрессией опухоли составило (325,2 (206,3)) кл/мкл, а относительное значение — (21,8 (9,6)) % по отношению к абсолютному (218,6 (133,8)) кл/мкл и относительному значению (16,2 (6,3)) % при прогрессировании опухоли ( $p_1=0,02$  и  $p_2=0,01$  соответственно).

Для сохранения глаза в процессе лечения крайне важны регуляция высокоактивированных Т-клеток и подавление развития избыточного иммунного ответа. Гибель Т-клеток в процессе иммунного ответа осуществляется преимущественно по механизму активационного апоптоза. На начальных этапах развития иммунного ответа уровень активационного апоптоза невелик, что оправдано необходимостью вовлечения в иммунный процесс все новых жизнеспособных клеток. Напротив, на высоте ответа возникает потребность в некотором его ограничении для предохранения организма от гиперактивации иммунной системы. Таким образом, при иммунном ответе активационному апоптозу отводится сдерживающая роль [15, 19].

После проведения фотокоагуляции в стадии «первичной реакции» отмечается преобладание деструктивных процессов, степень которых зависит

от интенсивности прямого термического воздействия световой энергии, связанного с мощностью излучения, поглощающей способностью опухоли и биологическими особенностями пигментных новообразований. В этот период по периферии пигментных новообразований и в сосудистой оболочке нарастает количество лимфоцитов и особенно, макрофагов. В то же время в паренхиме опухоли количество лимфоцитов незначительно.

Спустя 2–3 недели после проведения курса фотокоагуляции можно обнаружить первые признаки следующей стадии — стадии «биологических эффектов». В морфологическом отношении для нее наиболее характерно формирование вокруг некротических участков новообразований демаркационного вала, в состав которого, помимо лимфоцитов и небольшого числа плазматических клеток, входят многочисленные макрофаги.

Наиболее близко к опухолевым клеткам прилежит слой лимфоцитов и лишь затем — большое количество макрофагов и гистиоцитов, цитоплазма которых выполнена продуктами распада меланомных клеток. Лимфоидные клетки и макрофаги активно разрушают меланомные клетки, о чем свидетельствует наличие плотного контакта лимфоцитов с цитоплазматическими мембранами опухолевых клеток.

Помимо этого, лимфоидные элементы обладают высокой функциональной активностью, поскольку выражена гиперхромия их ядер, ядрышко гипертрофировано, высока насыщенность цитоплазмы органоидами [3]. Обращает на себя внимание достаточно высокое содержание среди лимфоцитов, инфильтрирующих паренхиму опухоли, клеток с повышенным содержанием ДНК [6].

Плотный контакт с меланомными клетками ассоциируется с возникновением деструкции меланомных клеток. Приведенные данные указывают на прямую связь некротических изменений с интенсивностью инфильтрации опухоли иммунокомпетентными клетками. Важным является тот факт, что после проведения фотокоагуляции в меланомных клетках выявляются признаки возрастания функциональной активности. Блокирование активации меланомных клеток осуществляется также при помощи иммунных механизмов [5].

Исходы фотокоагуляции могут быть различными. Это полная регрессия опухоли с формированием рубца на месте бывшей опухоли, стабилизация размера меланомы, либо дальнейшее увеличение объема новообразования.

Следует отметить, что после фотокоагуляции наличие лимфоидной инфильтрации меланомных клеток различного генеза неоднозначное. Для позитивного исхода имеют значение фенотип лимфоцитов и особенности их функциональной активности [1]. Также установлено, что увеличение в перифе-

рической крови Т-лимфоцитов коррелирует с возрастанием вероятности обнаружения лимфоидной инфильтрации в паренхиме меланомы [7]. При применении комбинированного лечения (фотокоагуляция с последующей брахитерапией) в паренхиме увеальной меланомы происходят изменения, свойственные как коагулирующему действию световой энергии (сухой и влажный некроз), так и лучевому повреждению клеток (вакуольная и баллоноклеточная дегенерация, появление гигантских клеток и полиморфизма). При этом коагулирующее действие световой энергии обнаруживается непосредственно после воздействия, а лучевые изменения возникают спустя несколько недель и их максимум наблюдается через 1–2 месяца, сохраняясь на протяжении многих месяцев. Воспалительная инфильтрация опухоли сохраняется довольно длительно (спустя 2 года после лечения), опухоли инфильтрованы лимфоцитами и плазматическими клетками [5]. Такой выраженной воспалительной реакции способствует более интенсивное выведение продуктов распада опухолевых клеток при комбинированном воздействии и более выраженная модификация опухолевого антигена под влиянием ионизирующего излучения. В реализации лечебного эффекта при комбинированном воздействии большое значение имеет иммунореактивность организма, обеспечивающая реакцию на повреждение опухоли.

Проведенные нами исследования показали [21], что комбинированная терапия (фотокоагуляция + брахитерапия) максимально усиливает противоопухолевые эффекты иммунной системы в отношении злокачественных клеток. Проведение комбинированной терапии, возможно, устраняет некоторые иммуносупрессивные барьеры в микроокружении опухоли, что способствует восстановлению роли первичного новообразования в качестве иммунного центра. В большинстве исследований, проведенных ранее, основное внимание уделялось повреждениям ДНК и репарационной способности облученных клеток, без учета влияния степени иммунокомпетентности организма на радиочувствительность опухоли *in vivo*. Комбинированная терапия является триггером и других проиммунных механизмов. Так, увеличивается миграция иммунных клеток посредством индукции хемокинов, которые привлекают в облученный опухолевый очаг эффекторные Т-клетки. Вероятно, эти иммунологические эффекты оказывают влияние на степень выраженности клинически определяемого противоопухолевого эффекта. Лучевое воздействие на опухолевые клетки приводит к улучшению процессов распознавания и уничтожения опухолевых клеток Т-лимфоцитами.

Уничтожение злокачественных клеток осуществляется посредством апоптоза, индуцированного активацией сигнального пути FAS, или посредством

цитотоксических гранул и приводит к высвобождению новых опухолевых антигенов, что вызывает усиление иммунного ответа. Если эффекторные Т-клетки генерируются в достаточном количестве, они могут инфильтрировать метастазы и эффективно распознавать опухолевые антигены. Таким образом, индукция стойкого противоопухолевого иммунного ответа в месте облучения опухолевого очага также может вызывать эффекты в опухолевых клетках, находящихся в местах, расположенных вне поля облучения.

Проведенные нами исследования показали, что комбинированная терапия (фотокоагуляция + брахитерапия) вызывает высокий уровень экспрессии молекулярных маркеров активации (CD7<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>, CD150<sup>+</sup>).

Высокий уровень экспрессии костимуляторных молекул и молекул межклеточной адгезии способствует увеличению силы взаимодействий клеток между собой. Высокий уровень кооперативных взаимодействий является одним из путей повышения эффективности цитотоксических механизмов иммунитета [2, 22].

Полученные нами результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями. Рядом работ было показано, что воспалительные изменения опухолевой паренхимы являются проявлением противоопухолевого иммунного ответа организма, а качественный состав воспалительного инфильтрата коррелирует с прогнозом [4, 7].

Установлено, что в большом числе увеальных меланом можно обнаружить морфологические признаки иммунного ответа клеточного типа, заключающиеся в наличии различной выраженности лимфо-плазматочной инфильтрации паренхимы опухоли, а также прилежащих к опухоли участков сосудистой оболочки и склеры [6]. При этом выявляемые лимфоциты отличаются высокой функ-

циональной активностью, о чем свидетельствует примесь определенного количества лимфобластов с повышенным количеством ДНК, число которых достигает 30 % [5].

Так, Göllnitz R., Lommatzsch P. K. [13] установили, что при интенсивной инфильтрации увеальной меланомы лимфоцитами пятилетнее выживание больных встречается чаще.

Следует отметить, что сведения относительно прогностического значения инфильтрации опухолевой паренхимы иммунокомпетентными клетками разноречивы [5].

Иммунными факторами также можно объяснить позднее начало метастазирования увеальной меланомы. Это, вероятно, обусловлено действием проникающих в паренхиму опухоли иммунокомпетентных клеток типа лимфоцитов и макрофагов [12, 16, 20]. При этом различные клеточные элементы, инфильтрующие опухоль, могут привести к различному биологическому действию на разных стадиях развития заболевания. Так, увеличение количества макрофагов в паренхиме увеальной меланомы коррелирует с неблагоприятным прогнозом для жизни больного [17].

Для клинической офтальмологии важным является определение значения фенотипа лимфоцитов, обеспечивающих позитивный исход органосохраняющего лечения.

**Заключение.** Проведение сравнительного анализа уровня экспрессии CD54<sup>+</sup> — молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1) и CD95<sup>+</sup> — маркера апоптоза (FAS-лиганд) при различных исходах органосохраняющего лечения показало, что у больных с регрессией увеальной меланомы имеет место достоверно более высокий уровень экспрессии данных маркеров по сравнению с больными, органосохраняющее лечение которых завершилось прогрессивным ростом опухоли и энуклеацией глаза.

### Литература

1. **Величко Л. Н.** Изменение уровня маркеров ранней и поздней активации лимфоцитов у больных увеальной меланомой в процессе органосохраняющего лечения / Л. Н. Величко, А. П. Малецкий, С. И. Полякова, Е. П. Чеботарев, В. К. Спирко // Тези науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення в офтальмохірургії». — Київ, 9–10 листопада 2010 р. — С. 135–137.
2. **Величко Л. Н.** Уровень экспрессии молекулярных маркеров активации лимфоцитов периферической крови у больных увеальной меланомой с различной эффективностью органосохраняющего лечения / Л. Н. Величко // Офтальмол. журн. — 2013. — № 5. — С. 9–13.
3. **Вит В. В.** Изменение увеальных меланом в процессе фотокоагуляции / В. В. Вит // Арх. патол. — 1985. — № 47 (7). — С. 23–29.
4. **Вит В. В.** Фотосенсибилизация клеток увеальных меланом ионизирующим излучением / В. В. Вит // Офтальмол. журн. — 1990. — № 8. — С. 484–489.
5. **Вит В. В.** Опухолевая патология органа зрения / В. В. Вит. — Одесса: Астропринт, 2009. — Т. 1. — 610 с.
6. **Вит В. В.** Патологическая анатомия и лечебный патоморфоз пигментных новообразований увеального тракта глаза человека: Автореф. Дис... Д-ра мед. Наук: спец. 14.03.02 «Патологическая анатомия» / В. В. Вит. — Одесса. — 1987. — 30 с.
7. **Вит В. В.** Прогностическое значение морфологических признаков иммунного ответа при увеальных меланомках различного клеточного типа / В. В. Вит // Арх. патол. — 1983. — № 7. — С. 25–30.
8. **Глузман Д. Ф.** Диагностическая иммуноцитохимия опухолей / Д. Ф. Глузман, Л. М. Скляренко, В. А. Над-

- горная, И. А. Крячок. — Киев: Морион, 2003. — С. 6–15.
9. **Хайтов Р. М.** Физиология иммунной системы / Р. М. Хайтов. — М.: ВИНТИ РАН, 2005. — 375 с.
  10. **Blom D. J.** Human leukocyte antigen class I expression. Marker of poor prognosis in uveal melanoma / D. J. Blom, G. P. Luyten, C. Mooy et al. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1997. — V. 38. — № 9. — P. 1865–1872.
  11. **Cross A. H.** Immune cell traffic control and the central nervous system / A. H. Cross // *Semin. Neurosci.* — 1992. — V. 4. — P. 213–219.
  12. **Durie F. H.** Analysis of lymphocytic infiltration in uveal melanoma / F. H. Durie, A. M. Campbell, W. R. Lee, B. E. Damato // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1990. — V. 31. — P. 2106–2110.
  13. **Göllnitz R.** Zur prognostischen Bedeutung der lymphozytären Infiltration beim malignen Melanom der Aderhaut / R. Göllnitz, P. K. Lommatzsch // *Klin. Monbl. Augenheilkd.* — 1988. — V. 192. — № 6. — P. 660–665.
  14. **Herron G. S.** Secretion of metalloproteinases by stimulated capillary endothelial cells / G. S. Herron, Z. Werb, K. Dwyer, M. J. Banda // *J. Biol. Chem.* — 1986. — V. 261. — № 6. — P. 2810–2813.
  15. **Lenardo M.** Nature T-lymphocyte apoptosis. Immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment / M. Lenardo, K. M. Chan, F. Hornung et al. // *Annu Rev. Immunol.* — 1999. — V. 17. — P. 221–253.
  16. **Makitie T.** Microvascular loops and networks as prognostic indicators in choroidal and ciliary body melanomas / T. Makitie, P. Summanen, A. Tarkkanen, T. Kivela // *J. Nat. Cancer Inst.* — 1999. — V. 91. — P. 359–367.
  17. **Makitie T.** Tumor-infiltrating macrophages (CD68(+) cells) and prognosis in malignant uveal melanoma / T. Makitie, P. Summanen, A. Tarkkanen, T. Kivela // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2001. — V. 42. — № 7. — P. 1414–1421.
  18. **Pryce G.** Factors controlling T-cell migration across rat cerebral endothelium in vitro / G. Pryce, D. Male, I. Campbell, J. Greenwood // *J. Neuroimmunol.* — 1997. — V. 75. — № 1–2. — P. 84–94.
  19. **Rath P. C.** TNF-induced signaling in apoptosis / P. C. Rath, B. B. Aggarwal // *J. Clin. Immunol.* — 1999. — V. 104. — P. 1021–1029.
  20. **Tobal K.** Characterization of cellular infiltration in choroidal melanoma / K. Tobal, K. Deuble, A. McCartney // *Melanoma. Res.* — 1993. — V. 3, № 1. — P. 63–65.
  21. **Velichko L. N.** The dynamics of molecular markers expression of blood lymphocytes activating at patients with an uveal melanoma at the different types of treatment / L. N. Velichko, A. P. Maletskiy, V. V. Vit, Y. P. Chebotaryov // *Challenges in Ophthalmology 109. Dog-Congress 29.9–2.10.2011 Estrel, Berlin.* (PS 23–219).
  22. **Velichko L. N.** The dynamics of molecular markers expression of blood lymphocytes activating at patients with an uveal melanoma at the different types of treatment / L. N. Velichko, A. P. Maletskiy, V. V. Vit // *Congress The European Association for Vision and Eye Research (EVER) Science for Sight.* — Nice, October 10–13, 2012. — P. 83.

Посмунна 12.02.2015

## References

1. **Velichko LN, Maletskii AP, Polyakova SI, Chebotarev EP, Spirko VK.** Changes in the level of early and late markers of activation of lymphocytes in patients with uveal melanoma in the organ-preserving treatment. Theses of scientific conference «Modern achievements in ophthalmology». Kiev. 9–10 November 2010. 135–137. In Russian.
2. **Velichko LN.** The level of expression of molecular markers of activation of peripheral blood lymphocytes in patients with uveal melanoma with varying efficiency organ-preserving treatment. *Oftalmol Zh.* 2013;5:9–13. In Russian.
3. **Vit VV.** Photocoagulation changees of uveal melanomas. *Arkh. Patol.* 1985;47(7): 23–29. In Russian.
4. **Vit VV.** Uveal melanoma cell photosensitivity by ionizing radiation. *Oftalmol Zh.* 1990;8:484–489. In Russian.
5. **Vit VV.** Tumor pathology of visual organ. Odessa: Astroprint; 2009. 610 p.
6. **Vit VV.** Pathologic anatomy and treatment pathomorphosis of pigmented tumors in uveal tract of the human eye: author's thesis for Doc. Of Med. Sc.: 14.03.02 «Pathologic anatomy». Odessa. 1987. 30 p.
7. **Vit VV.** The prognostic value of morphological features of immune response in uveal melanoma of different cell types. *Arkh. Patol.* 1983;7:25–30. In Russian.
8. **Gluznad DF, Sklyarenko LM, Nadgoraia VA, Kryachok IA.** Diagnostic immunocytochemistry of tumors. Kiev: Morion; 2003. 6–15.
9. **Khaitov RM.** Physiology of the immune system. M.: VINITI RAN; 2005. 375 p.
10. **Blom DJ, Luyten GP, Mooy C et al.** Human leukocyte antigen class I expression. Marker of poor prognosis in uveal melanoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1997;38(9):1865–1872.
11. **Cross AH.** Immune cell traffic control and the central nervous system. *Semin. Neurosci.* 1992;4:213–219.
12. **Durie FH, Campbell AM, Lee WR, Damato BE.** Analysis of lymphocytic infiltration in uveal melanoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1990;31: 2106–2110.
13. **Göllnitz R, Lommatzsch PK.** Zur prognostischen Bedeutung der lymphozytären Infiltration beim malignen Melanom der Aderhaut. *Klin. Monbl. Augenheilkd.* 1988;192(6):660–665.
14. **Herron GS, Werb Z, Dwyer K, Banda MJ.** Secretion of metalloproteinases by stimulated capillary endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 1986;261(6):2810–2813.
15. **Lenardo M, Chan KM, Hornung F et al.** Nature T-lymphocyte apoptosis. Immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment. *Annu Rev. Immunol.* 1999;17:221–253.
16. **Makitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivela T.** Microvascular loops and networks as prognostic indicators in choroidal and ciliary body melanomas. *J. Nat. Cancer Inst.* 1999;91:359–367.
17. **Makitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivela T.** Tumor-infiltrating macrophages (CD68(+) cells) and prognosis in malignant uveal melanoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 200;42(7):1414–1421.

18. **Pryce G, Male D, Campbell I, Greenwood J.** Factors controlling T-cell migration across rat cerebral endothelium in vitro. *J. Neuroimmunol.* 1997;75:1(2):84–94.
19. **Rath PC, Aggarwal BB.** TNF-induced signaling in apoptosis. *J. Clin. Immunol.* 1999;104:1021–1029.
20. **Tobal K, Deuble K, McCartney A.** Characterization of cellular infiltration in choroidal melanoma. *Melanoma. Res.* 1993;3(1):63–65.
21. **Velichko LN, Maletskiy AP, Vit VV, Chebotaryov YP.** The dynamics of molecular markers expression of blood lymphocytes activating at patients with an uveal melanoma at the different types of treatment. *Challenges in Ophthalmology* 109. Dog-Congress 29.9–2.10.2011 Estrel, Berlin. (PS 23–219).
22. **Velichko LN, Maletskiy AP, Vit VV.** The dynamics of molecular markers expression of blood lymphocytes activating at patients with an uveal melanoma at the different types of treatment. Congress The European Association for Vision and Eye Research (EVER) Science for Sight. Nice, October 10–13, 2012. 83.

*Received 12.02.2015*