

УДК 617.723-006.81.04:616-006.441-07+57.083.3

Динаміка рівня експресії молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові у хворих на меланому хоріоїдеї стадії T1 малих розмірів після транспупілярної термотерапії

І. В. Цуканова, молод. наук. співробітник, С. І. Полякова, д-р мед. наук, Л. М. Величко, д-р мед. наук, О. В. Богданова, канд. біол. наук

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

E-mail: inna.sister@gmail.com

Ключові слова:

меланома хоріоїдеї, транспупілярна термотерапія, молекулярні маркери активації лімфоцитів

Актуальність. Для розвитку повноцінної протипухлинної відповіді вкрай важлива експресія ряду молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові.

Мета – вивчити динаміку рівня експресії молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові у хворих на меланому хоріоїдеї (MX) стадії T1 малих розмірів (проміненція до 3 мм, довжина основи до 12 мм) після транспупілярної термотерапії (TTT) за розробленою методикою.

Матеріал і методи. Вивчено рівень експресії молекулярних маркерів (CD7+, CD25+, CD38+, CD45+, CD54+, CD95+, CD150+) активації лімфоцитів периферичної крові за загальноприйнятою методикою у хворих MX стадії T1 малих розмірів (16 пацієнтів) до початку лікування і на 7 день після курсу TTT за розробленою методикою. Середній вік пацієнтів був 55,4 (11,2) років. Жінок було 12 (75,0%), чоловіків – 4 (25,0%). Статистична обробка матеріалу проведена з використанням статистичної програми «Statistica 10».

Результати. У відповідь на лікувальний вплив на MX діодного лазера з довжиною хвилі 810 нм впродовж чотирьох днів в периферичній крові хворого відбувається активація всіх досліджених субпопуляцій лімфоцитів, але статистично значимо зростає тільки рівень експресії коstimуляторної молекули, що індукує секрецію цитокінів – CD7+, а також проапоптотичної активності лімфоцитів за рахунок збільшення клітин з фенотипом CD95+.

Висновки. В процесі проведення транспупілярної термотерапії меланом хоріоїдеї стадії T1 малих розмірів відбувається підвищення рівня експресії молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові, особливо коstimуляторної молекули, що індукує секрецію цитокінів – CD7+, а також проапоптотичної активності лімфоцитів за рахунок збільшення FAS-ліганду CD95+.

Актуальність. В останні роки в онкології накопичилася велика кількість інформації, що свідчить про значну роль порушень механізмів імунологічного контролю в ініціації та розвитку пухлинного процесу. Для розвитку повноцінної протипухлинної відповіді вкрай важлива експресія ряду функціональних молекул на лімфоцитах периферичної крові [7].

Проведені нами раніше дослідження рівня експресії молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові у хворих на меланому хоріоїдеї (MX) стадії T1 малих розмірів (проміненція – до 3 мм, довжина основи – до 12 мм) показали, що на початковій стадії розвитку пухлинного процесу, зокрема MX, виявляється функціональна активність імункомпетентних клітин організму у вигляді активації рецепторів лімфоцитів до IL-2 (CD25+), посилення активації і проліферації лімфоцитів (CD38+, CD45+, CD150+) і вироблення імунoglobulinів (CD150+), а також активації процесів міжклітинної адгезії (CD54+) і апоптозу (CD 95+), індукування секреції цитокінів (CD7+), що статистично значимо перевищує рівень аналогічних показників у здорових осіб [6].

У зв'язку з цим, важливим є вивчення змін молекулярного профілю лімфоцитів під впливом різних лікувальних факторів і ролі ряду молекул в реалізації позитивного лікувального ефекту, зокрема, транспупілярної термотерапії.

Метою даного дослідження було вивчення динаміки рівня експресії молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові у хворих на меланому хоріоїдеї стадії T1 малих розмірів (проміненція – до 3 мм, довжина основи – до 12 мм) після транспупілярної термотерапії за розробленою нами методикою.

Матеріал і методи

Вивчено рівень експресії молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові у хворих MX стадії T1 малих розмірів (16 пацієнтів) до початку лікування і після курсу TTT за розробленою методикою [5]. Середній вік пацієнтів був 55,4 (11,2) років. Жінок було 12 (75,0%), чоловіків – 4 (25%).

Рівень активаційних маркерів лімфоцитів периферичної крові визначався гістоімуноцитохімічним методом [4]. Забір крові з вени (5 мл) проводився натщесерце до початку лікування і на 7 день після завершення лікування. Для імунофенотипування використовували панель моноклональних антитіл (МКАТ), яка включала антитіла, що реагують з антигенами CD7+, CD25+, CD38+, CD45+, CD54+, CD 95+, CD150+ [3].

Статистична обробка матеріалу проведена з використанням програми «Statistica 10». Порівнювалися середні значення, наведені у вигляді М (SD). При оцінці кількісних показників використовувався однофакторний дисперсійний аналіз з подальшим застосуванням критерію Фішера і критерію множинного порівняння Ньюмана-Кейлса. Розраховувалися процентні співвідношення показників рівня активаційних маркерів лімфоцитів і визначалася їх різниця - Δ%.

Результати та їх обговорення

Динаміка рівня експресії молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові у хворих МХ стадії Т1 малих розмірів до і після проведення ТТТ за розробленою методикою представлена в таблиці 1.

Представлені в таблиці 1 дані свідчать про те, що у відповідь на лікувальний вплив на МХ діодного лазера з довжиною хвилі 810 нм впродовж чотирьох днів в периферичній крові хворого відбувається активація всіх досліджених субпопуляцій лімфоцитів, але ста-

тистично значимо зростає тільки рівень експресії костимуляторної молекули, що індукуює секрецію цитокінів – CD7+, а також проапоптотичної активності лімфоцитів за рахунок збільшення клітин з фенотипом CD95+.

Незважаючи на те, що маркер CD7+ є одним з активаційних (пускових маркерів), його експресія може знижуватися при високому рівні активації регуляторних клітин (Treg) CD4 + і CD25 +, які важливі для регуляції імунної відповіді і можуть відігравати провідну роль в індукції Т-клітинної толерантності до пухлини, пригнічуючи Т-клітинну відповідь. При прогресивному зростанні пухлини ця регуляторна субпопуляція лімфоцитів може зростати на 40,0%, що призводить до блокування імунної відповіді [1, 2, 8].

Більшість активованих клітин гине через апоптоз. FAS-ліганд CD95 + бере участь у ліквідації активованих клітин, і отже, в стриманні надлишкової імунної відповіді. Після виконання Т-клітинами своєї функції їх надлишок знищується, щоб уникнути накопичення активованих клітин. Загибель лімфоцитів через апоптоз – вкрай важливий механізм імунної регуляції і засіб підтримки імунного гомеостазу [1, 2].

У зв'язку з цим, динамічний контроль стану рівня експресії молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові у хворих МХ в процесі органозберігаючого лікування важливий для розуміння розвитку пухлинного процесу, особливо на

Таблиця 1. Динаміка рівня експресії молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові у хворих МХ стадії Т1 малих розмірів до і після проведення ТТТ за розробленою методикою

МКАТ	Динамика показників				Δ%	F	p
	До лікування		Після лікування				
	М (SD)	n	М (SD)	n			
CD95 (кл/мкл)	501,13 (198,99)	16	705,88 (281,32)↑	16	40,86	1,99	0,05
CD95 (%)	27,88 (8,01)	16	33,63 (7,09)↑	16	20,62	1,28	0,10
CD25 (кл/мкл)	350,00 (176,42)	16	472,88 (206,04)↑	16	35,11	1,36	0,14
CD25 (%)	18,75 (4,64)	16	22,38 (5,66)↑	16	19,36	1,49	0,11
CD38 (кл/мкл)	487,33 (337,18)	15	685,00 (261,22)↑	15	40,56	1,67	0,22
CD38 (%)	25,27 (9,96)	15	31,83 (7,49)↑	15	25,96	1,77	0,16
CD54 (кл/мкл)	458,13 (220,15)	15	643,33 (232,43)↑	15	40,43	1,11	0,10
CD54 (%)	24,87 (8,32)	15	30,67 (4,18)↑	15	23,32	3,97	0,12
CD150 (кл/мкл)	365,27 (167,65)	15	482,50 (173,33)↑	15	32,09	1,07	0,17
CD150 (%)	20,13 (5,76)	15	22,50 (4,09)↑	15	11,77	1,98	0,37
CD45 (кл/мкл)	434,87 (275,47)	15	547,83 (161,76)↑	15	25,98	2,9	0,36
CD45 (%)	22,13 (9,11)	15	26,00 (3,35)↑	15	17,49	7,41	0,33
CD7 (кл/мкл)	347,80 (192,23)	15	553,50 (189,00)↑	15	59,14	1,03	0,04
CD7 (%)	5,67 (3,02)	15	26,00 (5,51) ↑	15	358,55	334	0,0000

Примітка: p – рівень значущості відмінностей за критерієм множинного порівняння Ньюмана-Кейлса; F – коефіцієнт Фішера, n – кількість пацієнтів, Δ – різниця відсоткових співвідношень.

початковій його стадії, і для вирішення питання про доцільність проведення імунотерапії.

Висновки

В процесі проведення транспупілярної термотерапії меланом хоріоїдеї стадії T1 малих розмірів відбувається підвищення рівня експресії молекулярних маркерів активації лімфоцитів периферичної крові, особливо коstimуляторної молекули, що індукує секрецію цитокінів – CD7+, а також проапоптотичної активності лімфоцитів за рахунок збільшення FAS-ліганду CD95+.

Література

1. **Бережная Н. М.** Система интерлейкинов и рак (новые аспекты взаимодействия опухоли и организма) / Н. М. Бережная. – Киев : ДИА, 2000. – 224 с.
2. **Бережная Н. М.** Иммунология злокачественного роста / Н. М. Бережная, В. Ф. Чехун. – Киев : Наукова думка, 2005. – 790 с.
3. **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.
4. **Диагностическая иммуноцитохимия опухолей** / [Д. Ф. Глузман, Л. М. Скляренко, В. А. Надгорная, И. А. Крячок]. – Киев: «Морион», 2003. – С. 6-15.

5. **Пасечникова Н. В.** Патент України на корисну модель № 102890 «Спосіб лікування хворих на меланому хоріоїдеї стадії T1» / Н. В. Пасечникова, 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». – № у 2015 04836; заявл. 18.05.2015; опубл. 25.11.2015; Бюл. № 22. – С.1-3.
6. **Полякова С. И.** Сравнительная оценка уровня экспрессии молекулярных маркеров активации лимфоцитов периферической крови у больных меланомой хориоидеи стадии T1 малых размеров и здоровых лиц / С. И. Полякова, Л. Н. Величко, А. В. Богданова, И. В. Цуканова // Офтальмол. журн. – 2016. – № 1. – С.
7. **Рабсон А.** Основы медицинской иммунологии / А. Рабсон, А. Ройт, П. Делвз. – М.: Бином. 2006. – 319 с.
8. **Sakaguchi S.** Naturally arising Fox P3-expressing CD4+ CD25+ regulatory T-cells in immunological tolerance to self and non-self / S. Sakaguchi // Nature immunology. – 2005. – V. 6, № 4. – P. 345-352.

Автори засвідчують про відсутність конфлікту інтересів, які б могли вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Поступила 04.09.2019.

Динамика уровня экспрессии молекулярных маркеров активации лимфоцитов периферической крови у больных меланомой хориоидеи стадии T1 малых размеров после транспупиллярной термотерапии

Цуканова И. В., Полякова С. И., Величко Л. Н., Богданова А. В.

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

Актуальность. Для развития полноценного противоопухолевого ответа крайне важна экспрессия ряда молекулярных маркеров лимфоцитов периферической крови.

Цель - изучить динамику уровня экспрессии молекулярных маркеров активации лимфоцитов периферической крови у больных меланомой хориоидеи (МХ) стадии T1 малых размеров (проминенция до 3 мм, протяженность основания до 12 мм) после транспупиллярной термотерапии (ТТТ) по разработанной методике.

Материал и методы. Изучен уровень экспрессии молекулярных маркеров (CD7+, CD25+, CD38+, CD45+, CD54+, CD 95+, CD150+) активации лимфоцитов периферической крови по общепринятой методике у больных МХ стадии T1 малых размеров (16 пациентов) до начала лечения и на 7 день после курса ТТТ по разработанной методике. Средний возраст пациентов был 55,4(11,2) лет. Женщин было 12 (75,0%), мужчин – 4 (25%). Статистическая обработка ма-

териала проведена с использованием статистической программы «Statistica 10».

Результаты. В ответ на лечебное воздействие на МХ диодного лазера с длиной волны 810 нм 4 дня подряд в периферической крови больного происходит активация всех исследованных субпопуляций лимфоцитов, но статистически значимо возрастает только уровень экспрессии коstimуляторной молекулы, индуцирующей секрецию цитокинов – CD7+, а также проапоптотической активности лимфоцитов за счет увеличения клеток с фенотипом CD95+.

Вывод. В процессе проведения транспупиллярной термотерапии меланом хориоидеи стадии T1 малых размеров происходит повышение уровня экспрессии молекулярных маркеров активации лимфоцитов периферической крови, особенно коstimуляторной молекулы, индуцирующей секрецию цитокинов – CD7+, а также проапоптотической активности лимфоцитов за счет увеличения FAS-лиганда CD95+.

Ключевые слова: меланома хориоидеи, транспупиллярная термотерапия, молекулярные маркеры активации лимфоцитов