

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ИЗЪЯЗВЛЕНИЯ ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ И СТАТУСА «СТОРОЖЕВЫХ» ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ

Ф.В. Фильчаков, С.Н. Кукушкина, Е.С. Шумилина, А.Д. Лён, С.И. Коровин, М.Н. Кукушкина
Национальный институт рака, г. Киев, Украина

Ключевые слова: иммунная система, меланома кожи, сторожевой лимфатический узел, изъязвление первичной опухоли

Цель работы. Изучить особенности иммунореактивности у больных меланомой кожи в зависимости от наличия изъязвления первичной опухоли и статуса «сторожевых» лимфатических узлов (ЛУ).

Материалы и методы. Обследован 61 больной с IА–IIВ стадией меланомы кожи. Всем пациентам была выполнена биопсия «сторожевых» ЛУ. Иммунологические исследования проведены до начала лечения.

Результаты. Выявлено, что изъязвление первичной опухоли и статус «сторожевых» ЛУ обуславливают характер иммунореактивности у больных меланомой кожи. Так, у больных с изъязвленной первичной меланомой (ПМ) без микрометастазов в регионарных ЛУ наблюдается повышенная пролиферация Т-лимфоцитов периферической крови в ответ на воздействие антителами к CD3 при неизменном уровне анти-CD3-индуцированного апоптоза и, наоборот, неизменный пролиферативный ответ на фитогемагглютинин (ФГА) при резко сниженном ФГА-индуцированном апоптозе лимфоцитов. У больных с неизъязвленной ПМ и без микрометастазов в ЛУ эти показатели регистрируются на физиологическом уровне, но наблюдается повышенное содержание регуляторных Т-клеток в крови. При метастазировании меланомы в ЛУ пролиферативный ответ Т-лимфоцитов на ФГА остается в физиологических пределах, а на антитела к CD3 — повышается независимо от наличия изъязвления ПМ.

Заключение. Дальнейшее иммунологическое изучение изъязвленной и неизъязвленной меланомы позволит лучше понять потенциальные терапевтические стратегии лечения этой категории больных и даст возможность прогнозировать ответ на противоопухолевую терапию.

Введение

Изъязвление первичной опухоли у больных локализованной меланомой кожи рассматривается как важный прогностический фактор, который ассоциируется с высоким риском прогрессирования заболевания. В то же время рядом авторов показано, что адъювантная интерферонотерапия улучшает безрецидивную выживаемость этой категории больных. Так, результаты двух крупных исследований European Organization for Research and Treatment of Cancer (протокол 18952 и 18991) по изучению эффективности адъювантной интерферонотерапии, включавших 2644 пациента с первично-локализованной меланомой, продемонстрировали,

что изъязвление опухоли является благоприятным прогностическим фактором эффективности интерферонотерапии [1]. Другое многоцентровое рандомизированное исследование по изучению влияния адъювантной интерферонотерапии на выживаемость больных меланомой высокого риска, включавшее 1769 пациентов, показало, что интерферонотерапия улучшает безрецидивную и не влияет на общую выживаемость больных с изъязвлением первичной опухоли [2].

В связи с этим высказано мнение о том, что меланома с изъязвлением может представлять собой нозологическую форму с особыми биологическими характеристиками, что нуждается в более тщательном изучении.

Целью данного исследования было изучение особенностей иммунореактивности у больных меланомой кожи в зависимости от наличия или отсутствия изъязвления первичной опухоли и статуса «сторожевых» лимфатических узлов.

Адрес для корреспонденции

Фильчаков Феодосий Викторович
E-mail: labklimmun@i.ua

Объект и методы исследования

В исследование включен 61 больной меланомой кожи с IA–IIIB стадией заболевания (табл. 1), находившийся на лечении в отделении опухолей кожи и мягких тканей Национального института рака в 2009–2012 гг. Критериями включения в исследование были локализация первичной опухоли на коже туловища и конечностей, клинически и радиологически неизмененные регионарные лимфатические узлы (ЛУ), отсутствие отдаленных метастазов. Всем больным для уточнения стадии заболевания, согласно классификации American Joint Committee

Таблица 1. Распределение больных меланомой кожи в зависимости от стадии заболевания

Стадия меланомы	Система TNM	Количество больных
IA	T1aN0M0	13
IB	T1bN0M0	3
	T2aN0M0	10
IIA	T2bN0M0	4
	T3aN0M0	6
IIB	T3bN0M0	5
	T4aN0M0	1
IIIC	T4bN0M0	2
IIIA	T1-4aN1aM0	7
	T1-4aN2aM0	—
IIIB	T1-4bN1aM0	7
	T1-4bN2aM0	3

on Cancer 2003 года, была выполнена биопсия «сторожевых» ЛУ, идентификацию которых проводили радиологическим методом с использованием радиофармпрепаратов ^{99m}Tc .

Больные были распределены по группам в зависимости от статуса «сторожевого» ЛУ и патогистологической верификации поверхностного изъязвления первичной меланомы (ПМ). Группа больных без микрометастазов в регионарных ЛУ (IA–IIIC стадия) и без изъязвления ПМ включала 30 человек, группа с изъязвлением первичной опухоли — 14 человек. Группа с микрометастазами в регионарных ЛУ (IIIA–IIIB стадия) без изъязвления ПМ включала 7 человек, с изъязвлением ПМ — 10 человек. Распределение больных в группах в зависимости от пола, возраста, локализации и патогистологических особенностей ПМ представлено в табл. 2. В качестве контрольной группы обследованы 60 практически здоровых людей (ПЗЛ) того же возраста.

Иммунологические исследования у больных меланомой кожи проводили до лечения. Изучено содержание основных популяций лимфоцитов в периферической крови (ЛПК), регуляторных Т-клеток, В1- и В2-лимфоцитов, активированных лимфоцитов (HLA-DR⁺, CD95⁺, CD69⁺, CD25⁺), а также функциональная активность ЛПК, содержание сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G и циркулирующих иммунных комплексов.

Иммунофенотип ЛПК определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, HLA-DR, CD95, меченных флуоресцеинизотиоци-

Таблица 2. Характеристика больных меланомой кожи

Показатели		Стадия меланомы			
		IA-IIIC		IIIA-IIIB	
		Первичная опухоль		Первичная опухоль	
		Без изъязвления	С изъязвлением	Без изъязвления	С изъязвлением
Пол	Женский	18	9	5	6
	Мужской	12	5	2	4
Возраст	25–30 лет	2	1	1	1
	31–50 лет	11	5	1	3
	> 50 лет	17	8	5	6
Локализация опухоли	Конечности	14	6	3	4
	Туловище	16	8	4	6
Толщина опухоли по Breslow, мм	≤ 1,0	13	2	1	—
	1,1–2,0	9	5	—	1
	2,1–4,0	6	5	4	5
	> 4,0	2	2	2	4
Средняя толщина опухоли по Breslow, мм		1,7 ± 0,2	2,6 ± 0,4	3,7 ± 0,8	4,2 ± 0,5
Всего больных		30	14	7	10
		44		17	

анатом («Сорбент», Российская Федерация); CD25, меченных фикоэритринцианином-5; и CD127, CD69, CD5, меченных фикоэритрином («Beckman Coulter», США). Регуляторные Т-клетки (фенотип $CD4^+CD25^{high}CD127^{low-neg}$) определяли среди $CD4^+$ -лимфоцитов по наличию высокой экспрессии CD25 и низкой или негативной экспрессии CD127 [3]. Идентификацию В1- и В2-лимфоцитов проводили по совокупности экспрессии CD19 и CD5 (соответственно $CD19^+CD5^+$ и $CD19^+CD5^-$) [4].

Содержание иммуноглобулинов определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини, содержание циркулирующих иммунных комплексов — методом селективной преципитации полиэтиленгликолем 6000.

Функциональную активность ЛПК изучали по уровню пролиферативного ответа в реакции бласттрансформации, по интенсивности апоптоза и цитотоксической активности. Реакцию бласттрансформации ЛПК выполняли с использованием фитогемагглютинаина (ФГА, «Sigma», Германия) в концентрации 20 мкг/мл или моноклональных антител к CD3 («МедБиоСпектр», Российская Федерация) в концентрации 3 мкг/мл. Результаты выражали в процентах бласттрансформированных клеток.

Оценку интенсивности апоптоза ЛПК проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием пропидия йодида [5]. Лимфоциты культивировали в течение 72 ч с ФГА («Sigma», Германия) в концентрации 20 мкг/мл или антителами к CD3 («МедБиоСпектр», Российская Федерация) в концентрации 3 мкг/мл с последующим определением величины спонтанного или индуцированного апоптоза. Результаты выражали процентом лимфоцитов, находящихся в состоянии апоптоза.

Цитотоксическую активность ЛПК определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием клеток-мишеней линии К-562 [5]. Результаты выражали цитотоксическим индексом в процентах:

$$\text{Цитотоксический индекс} = \frac{A-B}{C-B} \times 100\% \text{ где}$$

A — количество мертвых клеток-мишеней в опыте; B — количество мертвых клеток-мишеней в контроле; C — общее количество клеток-мишеней.

Учет результатов иммунофенотипирования, апоптотической и цитотоксической активности ЛПК проводили на проточном цитофлуориметре FACSscan («Becton Dickinson», США) с использованием программы «Cell Quest».

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием программ Excel (MS Office 2003, XP) и STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США). Результаты исследования были проверены на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для определения достоверности различий (p) между показателями в исследуемых группах

при нормальном распределении значений применяли t-критерий Стьюдента, для значений, закон распределения которых отличался от нормального, использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия оценивали как достоверные при $p < 0,05$. Результаты исследований в тексте, таблицах и рисунках представлены в виде среднего арифметического значения и среднеквадратического отклонения ($M \pm S$).

Результаты и обсуждение

Изучение фенотипа ЛПК у больных меланомой кожи IA–IIС стадии показало, что при изъязвлении первичной опухоли наблюдаются изменения в соотношении основных популяций: существенно снижается относительное содержание Т-лимфоцитов и повышается количество естественных киллерных клеток по сравнению с показателями у ПЗЛ и больных без изъязвления ПМ (рис. 1). Такие изменения в иммунограмме связаны с уменьшением в циркуляции абсолютного количества $CD8^+$ -лимфоцитов $((0,36 \pm 0,11) \times 10^9/\text{л})$

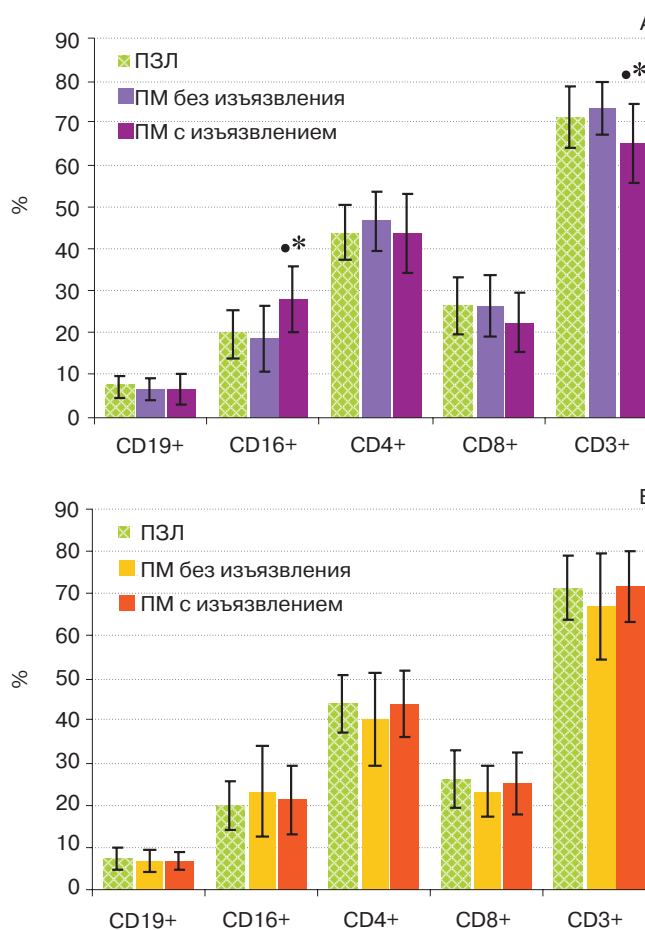


Рис. 1. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови больных меланомой кожи IA–IIС (А) и IIIA–IIIB (Б) стадии

Примечания:

1. * — различия при сравнении с показателем у ПЗЛ статистически достоверны ($p < 0,05$);
2. * — различия при сравнении с показателем у больных без изъязвления ПМ статистически достоверны ($p < 0,05$).

против $(0,47 \pm 0,20) \times 10^9/\text{л}$ у ПЗЛ, $p < 0,05$) и некоторым увеличением числа $\text{CD}16^+$ -лимфоцитов $((0,45 \pm 0,15) \times 10^9/\text{л}$ против $(0,37 \pm 0,15) \times 10^9/\text{л}$ у ПЗЛ, $p > 0,05$). Подобных изменений в популяционном составе ЛПК у больных локализованной меланомой без изъязвления первичной опухоли не наблюдается. Напротив, регистрируется тенденция к снижению содержания $\text{CD}16^+$ -лимфоцитов $((0,31 \pm 0,13) \times 10^9/\text{л}$ против $(0,37 \pm 0,15) \times 10^9/\text{л}$ у ПЗЛ, $p > 0,05$), абсолютное количество которых существенно меньше, чем у пациентов с изъязвлением ПМ ($p < 0,05$). Различий в составе основных популяций ЛПК у больных меланомой IIIA–IIIB стадии в зависимости от наличия или отсутствия изъязвления первичной опухоли не выявлено.

Необходимо отметить, что у больных меланомой кожи уже на ранних стадиях заболевания формируется тенденция к снижению цитотоксической активности лимфоцитов. Наиболее низкого значения этот показатель достигает у больных при наличии изъязвления первичной опухоли и микрометастазов в «сторожевых» ЛУ $(15,9 \pm 11,8$ против $29,1 \pm 16,5\%$ у ПЗЛ, $p < 0,05$).

Анализ содержания В-лимфоцитов в периферической крови больных меланомой кожи показал, что величина этого показателя у пациентов всех исследуемых групп находится в физиологических пределах, однако регистрируются разнонаправленные изменения в субпопуляционном составе этих клеток. Так, у больных локализованной меланомой без изъязвления первичной опухоли наблюдается снижение содержания В2-лимфоцитов $((0,061 \pm 0,021) \times 10^9/\text{л}$ против $(0,075 \pm 0,036) \times 10^9/\text{л}$ у ПЗЛ, $p < 0,05$), а у больных с изъязвлением ПМ — уменьшение количества В1-лимфоцитов $((0,036 \pm 0,016) \times 10^9/\text{л}$ против $(0,048 \pm 0,027) \times 10^9/\text{л}$ у ПЗЛ, $p > 0,05$), что отражается на соотношении этих субпопуляций в циркуляции. У больных с изъязвленной ПМ соотношение В1/В2-лимфоцитов существенно ниже, чем у больных без изъязвления ПМ (соответственно $0,58 \pm 0,20$ ус. ед. и $0,83 \pm 0,40$ ус. ед., $p < 0,05$).

Изменения в субпопуляционном составе В-лимфоцитов у больных IА–IIC стадией меланомы с изъязвлением первичной опухоли ассоциируются с развитием дисиммуноглобулинемии (табл. 3). В сыворотке крови этих пациентов на фоне нормального содержания иммуноглобулинов А и М существенно

повышен уровень иммуноглобулина G и циркулирующих иммунных комплексов. Повышение концентрации циркулирующих иммунных комплексов наблюдается также у больных с микрометастазами меланомы в регионарных ЛУ при наличии изъязвления первичной опухоли.

Как неоднократно подчеркивалось, для больных меланомой кожи характерно повышение относительного количества лимфоцитов, экспрессирующих маркеры активации уже на ранних стадиях заболевания [6], а также более выраженный активационный фенотип ЛПК по сравнению с таким у больных с другими солидными злокачественными новообразованиями [7].

В связи с этим был проведен анализ экспрессии маркеров активации лимфоцитов во взаимосвязи с изучаемыми признаками меланомы (рис. 2).

Как видно, во всех исследуемых группах не выявлено различий по содержанию $\text{CD}69^+$ -, HLA-DR^+ -лимфоцитов в циркуляции. У больных с изъязвлением ПМ независимо от статуса «сторожевого» ЛУ регистрируется повышенное содержание $\text{CD}95^+$ -лимфоцитов, а у больных без изъязвления первичной опухоли процент этих клеток не отличается от нормальных значений, что позволяет предположить участие механизмов элиминации на периферии аутореактивных клонов Т-лимфоцитов, распознающих линейно-специфические антигены меланомы.

Антиген-специфическая активация Т-лимфоцитов влечет за собой экспрессию рецептора к α -цепи интерлейкина-2 ($\text{CD}25$), уровень которого у больных меланомой зависит от наличия микрометастазов в регионарных ЛУ и изъязвления первичной опухоли. В группе больных с локализованной меланомой существенное увеличение количества $\text{CD}25^+$ -лимфоцитов по сравнению с показателем у ПЗЛ наблюдается у пациентов без изъязвления первичной опухоли. Напротив, в группе больных с метастатической меланомой этот показатель превышает физиологические значения при наличии изъязвления ПМ.

С целью уточнения субпопуляционной принадлежности Т-лимфоцитов, реагирующих таким образом на развитие меланомы, было изучено содержание $\text{CD}4^+25^-$ - и $\text{CD}8^+25^-$ -клеток среди ЛПК больных (см. рис. 2).

Таблица 3. Содержание иммуноглобулинов разных классов и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови больных меланомой кожи

Показатели, единицы измерения	Больные меланомой кожи, стадия заболевания				ПЗЛ
	IA-IIIC		IIIA-IIIB		
	Без изъязвления ПМ	С изъязвлением ПМ	Без изъязвления ПМ	С изъязвлением ПМ	
Иммуноглобулины A, мг/мл	2,47 ± 0,99	2,34 ± 0,59	2,25 ± 1,04	2,13 ± 0,91	2,33 ± 0,90
Иммуноглобулины M, мг/мл	1,89 ± 1,09	1,97 ± 1,03	2,43 ± 1,22	2,09 ± 0,76	1,93 ± 0,80
Иммуноглобулины G, мг/мл	15,59 ± 4,33	17,27 ± 2,68 •	15,27 ± 4,14	15,55 ± 3,44	15,09 ± 3,60
Циркулирующие иммунные комплексы, ед. опт. пл.	59,8 ± 24,0	69,9 ± 19,3 •	53,0 ± 16,6	63,3 ± 13,4 •	51,3 ± 17,0

Примечание. $\cdot$ — различия при сравнении с показателем у ПЗЛ статистически достоверны ($p < 0,05$).

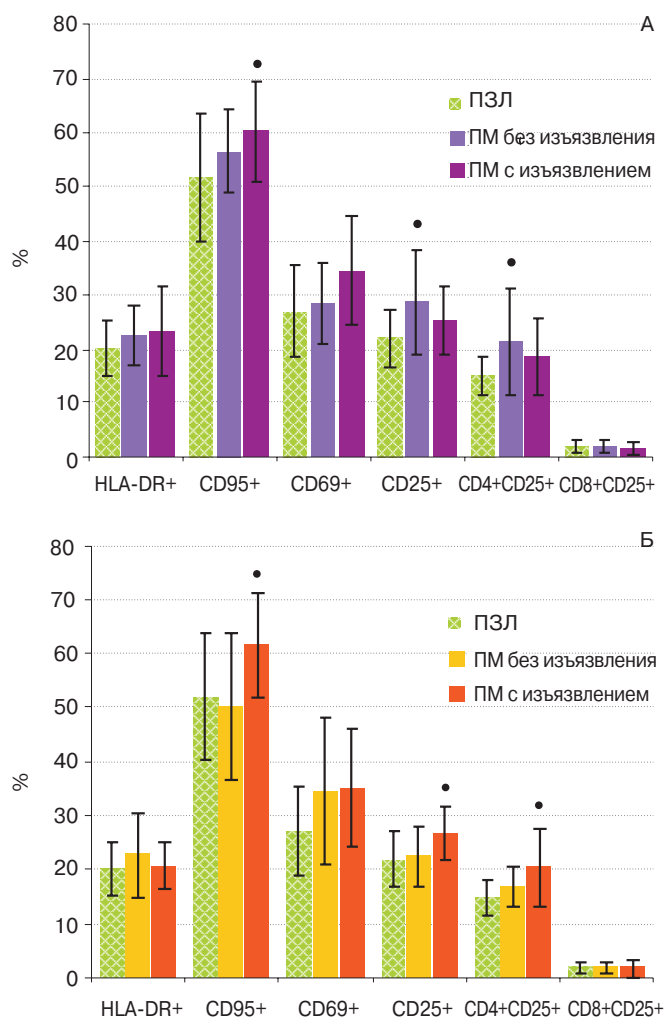


Рис. 2. Содержание активированных лимфоцитов (%) в периферической крови больных меланомой кожи IA–III (А) и IIIA–IIIB (Б) стадии

Примечание: * — различия при сравнении с показателем у ПЗЛ статистически достоверны ($p < 0,05$).

Как видно, существенное увеличение относительного количества $CD4^+25^+$ -лимфоцитов регистрируется у больных IA–III стадии без изъязвления ПМ и у больных IIIA–IIIB стадии с изъязвлением первичной опухоли. Процент $CD8^+25^+$ -лимфоцитов у больных меланомой находится в пределах физиологической нормы независимо от статуса «сторожевого» ЛУ и наличия изъязвления первичной опухоли.

Эти факты дали основание для оценки содержания в периферической крови больных меланомой регуляторных Т-клеток, представляющих одну из субпопуляций активированных Т-хелперов ($CD4^+25^+$ -лимфоциты), способных при определенных условиях подавлять противоопухолевые иммунные реакции (рис. 3).

Как видно, у больных без изъязвления ПМ и интактными «сторожевыми» ЛУ повышен процент регуляторных Т-клеток. У больных с изъязвлением ПМ этот показатель находится в пределах физиологической нормы. Напротив, содержание регуляторных Т-клеток в периферической крови больных с метастазами меланомы в регионарных ЛУ при отсутствии изъяз-

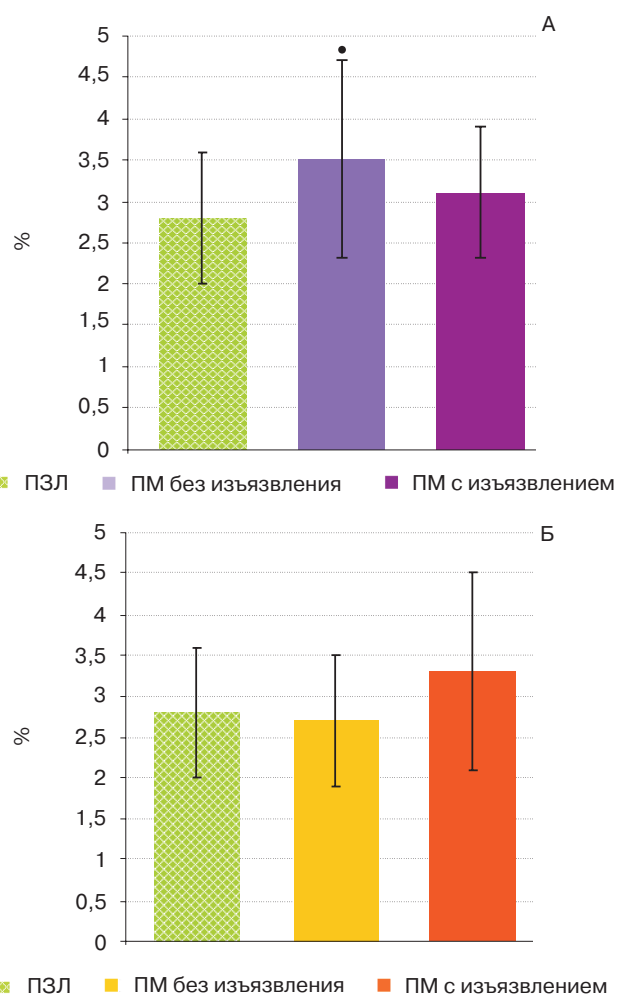


Рис. 3. Содержание регуляторных Т-клеток (%) в периферической крови больных меланомой кожи IA–III (А) и IIIA–IIIB (Б) стадии

Примечание: * — различия при сравнении с показателем у ПЗЛ статистически достоверны ($p < 0,05$).

вления первичной опухоли не отличается от такового у ПЗЛ, а у больных с изъязвлением ПМ наблюдается лишь тенденция к повышению их количества.

При оценке реакции Т-лимфоцитов на активацию *in vitro*, проведенной с учетом гистологической верификации поверхностного изъязвления опухоли и микрометастазов в регионарных ЛУ, оказалось, что у больных меланомой кожи характер ответа на митоген (альтернативный путь) не зависит от этих признаков и, наоборот, существенно отличается при активации Т-лимфоцитов по классическому пути (через $CD3$ -TCR-рецепторный комплекс) (рис. 4).

Как видно, для больных локализованной меланомой с изъязвлением первичной опухоли характерно усиление анти- $CD3$ -индуцированной пролиферации Т-лимфоцитов *in vitro* по сравнению с такой у больных без изъязвления ПМ или у ПЗЛ. Инвазия меланомы в лимфоидную ткань приводит к тому, что у больных IIIA–IIIB стадией заболевания усиление ответа Т-лимфоцитов на активацию по классическому пути уже не зависит от наличия или отсутствия изъязвления первичной опухоли.

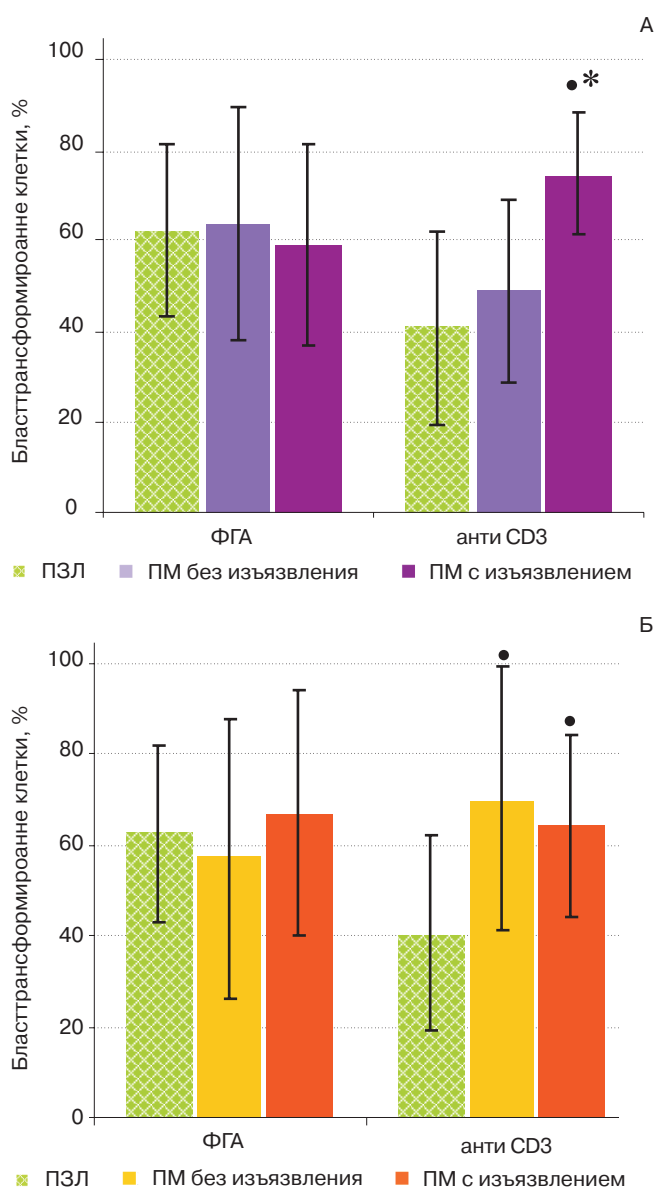


Рис. 4. Проллиферативная активность ЛПК больных меланомой кожи IA–III (А) и IIIA–IIIB (Б) стадии

Примечания:

- — различия при сравнении с показателем у ПЗЛ статистически достоверны ($p < 0,05$);
- * — различия при сравнении с показателем у больных с неизъязвленной ПМ статистически достоверны ($p < 0,05$).

С другой стороны, пролиферация лимфоцитов в ответ на активацию тесным образом связана с противоположным процессом — их гибелью. Известно, что для больных онкологического профиля характерна повышенная интенсивность апоптоза циркулирующих лимфоцитов [8–9].

Согласно ранее полученным данным [6], уровень спонтанного апоптоза ЛПК у больных первично-локализованной меланомой не отличается от такого у ПЗЛ. Однако при ретроспективном анализе этих результатов оказалось, что у больных с изъязвлением первичной опухоли уровень спонтанного апоптоза

ЛПК существенно ниже, чем у больных без изъязвления ПМ и у ПЗЛ (соответственно $2,0 \pm 1,8$, $4,4 \pm 3,6$ и $3,9 \pm 2,5\%$, $p < 0,05$), а у больных с микрометастазами меланомы в регионарных ЛУ этот показатель не отличается от такого у ПЗЛ и не зависит от исследуемого признака первичной опухоли (при ПМ с изъязвлением — $4,3 \pm 4,0\%$, без изъязвления — $3,7 \pm 2,2\%$, $p > 0,05$). В связи с этим был проведен анализ интенсивности апоптоза лимфоцитов у больных меланомой IA–III стадии после митоген- или анти-CD3-индуцированной активации *in vitro* (рис. 5).

Как видно, интенсивность ФГА-индуцированного апоптоза ЛПК у больных с изъязвлением ПМ существенно ниже, чем у больных без изъязвления первичной опухоли и у ПЗЛ, в то время как величина анти-CD3-индуцированного апоптоза не отличается в обеих группах пациентов и находится в пределах физиологической нормы. Кроме того, у больных с изъязвлением ПМ уровень спонтанного апоптоза после 72-часовой инкубации *in vitro* сохраняется на более низком уровне, чем у ПЗЛ.

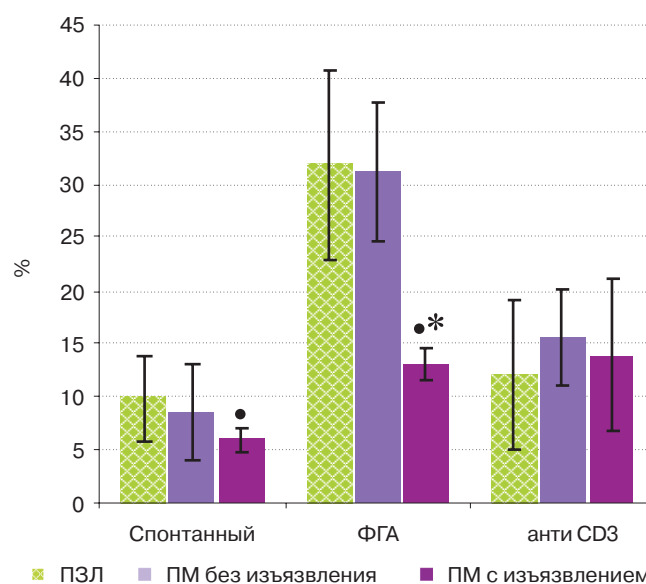


Рис. 5. Апоптоз ЛПК больных меланомой кожи IA–III стадии

Примечания:

- — различия при сравнении с показателем у ПЗЛ статистически достоверны ($p < 0,05$);
- * — различия при сравнении с показателем у больных без изъязвления ПМ статистически достоверны ($p < 0,05$).

Подводя итог изложенному материалу, можно заключить, что изъязвление первичной опухоли и статус «сторожевых» ЛУ в определенной степени обуславливают характер иммунореактивности у больных меланомой кожи.

Для локализованной меланомы без изъязвления первичной опухоли не характерны изменения в популяционном составе ЛПК и в ответе Т-лимфоцитов на ФГА и анти-CD3 антитела *in vitro*. В то же время отмечено повышенное содержание в периферической крови этих больных регуляторных Т-клеток.

У пациентов с изъязвлением ПМ без микрометастазов в регионарные ЛУ наблюдается увеличение количества естественных киллерных клеток в циркуляции как компенсация их сниженной цитотоксической активности на фоне нормального содержания регуляторных Т-клеток. В субпопуляционном составе Т-лимфоцитов снижается количество цитотоксических Т-лимфоцитов, а в составе В-лимфоцитов — В1-клеток. При этом повышается концентрация иммуноглобулинов G и циркулирующих иммунных комплексов. Выраженная экспрессия CD95-антигена на ЛПК ассоциируется с повышенной пролиферацией Т-лимфоцитов *in vitro* на анти-CD3 антитела при неизменном уровне анти-CD3-индуцированного апоптоза и, наоборот, неизменный пролиферативный ответ на ФГА *in vitro* при резко сниженном ФГА-индуцированном апоптозе лимфоцитов.

Инвазия меланомы в лимфоидную ткань делает менее выраженными различия в иммунограммах больных в зависимости от наличия или отсутствия изъязвления первичной опухоли в сравнении с больными локализованной меланомой. Однако показатели функциональной активности ЛПК существенно различаются. Так, у больных с ПИА—ПІВ стадией меланомы с изъязвлением первичной опухоли снижена цитотоксическая функция лимфоцитов при нормальном количестве естественных киллеров в циркуляции. Пролиферативный ответ Т-лимфоцитов *in vitro* на ФГА не зависит от наличия изъязвления ПМ, а их пролиферация в ответ на анти-CD3 антитела достоверно превышает физиологические значения в обеих группах больных метастатической меланомой.

Таким образом, наиболее выраженные различия в иммунограммах больных меланомой кожи в зависимости от наличия изъязвления первичной

опухоли наблюдаются при отсутствии метастазов в регионарных ЛУ и связаны с изменениями как количественных показателей клеточного и гуморального иммунитета, так и с показателями функциональной активности иммунокомпетентных клеток.

Дальнейшее иммунологическое изучение изъязвленной и неизъязвленной меланомы позволит лучше понять потенциальные терапевтические стратегии лечения этой категории больных и даст возможность прогнозировать ответ на противоопухолевую терапию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Eggermont A.M., Spatz A., Lazar V., Robert C. Is ulceration in cutaneous melanoma just a prognostic and predictive factor or is ulcerated melanoma a distinct biologic entity? *Curr. Opin. Oncol.* 2012, v. 24, No. 2, p. 137-140.
2. McMasters K.M., Edwards M.J., Ross M.I. et al. Ulceration as a predictive marker for response to adjuvant interferon therapy in melanoma. *Ann. Surg.* 2010, v. 252, No. 3, p. 460-465.
3. Seddiki N., Santner-Nanan B., Martison J. et al. Expression of interleukin(IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J. Exp. Med.* 2006, v. 203, No. 7, p. 1693-1700.
4. Хайдуков С.В., Зурочкин А.В. Вопросы современной проточной цитометрии. Клиническое применение. Челябинск, 2008, с. 128-143.
5. Пинегин Б.В., Ярилин А.А., Симонова А.В. и соавт. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека. Пособие для врачей-лаборантов. М., 2001, 55 с.
6. Фильчаков Ф.В., Кукушкина С.Н., Шумилина Е.С. и соавт. Клинико-лабораторные критерии диагностики иммунной дисфункции у больных меланомой кожи. *Онкология.* 2012, т. 14, № 2, с. 139-144.
7. Олейник Е.К., Шибяев М.И., Олейник В.М. Маркеры активации лимфоцитов крови (CD25, CD71, CD95, HLA-DR) у онкобольных. *Гематология и трансфузиология.* 2006, т. 51, № 1, с. 18-22.
8. Saito T., Dworacki G., Gooding W. et al. Spontaneous apoptosis of CD8⁺ T-lymphocytes in peripheral blood of patients with advanced melanoma. *Clin. Cancer. Res.* 2000, v. 6, No. 4, p. 1351-1364.
9. Takahashi A., Kono K., Amemiya H. et al. Elevated Caspase-3 activity in peripheral blood T cells coexists with increased degree of T-cell apoptosis and down-regulation of TCR zeta molecules in patients with gastric cancer. *Clin. Cancer. Res.* 2001, v. 7, No. 1, p. 74-80.

Статья поступила 20.07.2013 г., принята к печати 30.10.2013 г.

Рекомендована к публикации Б.Ю. Бохьяном

IMMUNOLOGICAL PROFILE OF CUTANEOUS MELANOMA PATIENTS DEPENDING ON THE PRESENCE OF THE PRIMARY TUMOR ULCERATION AND STATUS OF SENTINEL LYMPH NODES

Fil'chakov F.V., Kukushkina S.N., Shumilina E.S., Lon A.D., Korovin S.I., Kukushkina M.N.
National cancer institute, Kyiv, Ukraine

Key words: immune system, cutaneous melanoma, sentinel lymph node, primary tumor ulceration

Background. The purpose of the study was to evaluate features of immunoreactivity in cutaneous melanoma patients depending on the presence of the primary tumor ulceration and the status of sentinel lymph nodes (LN).

Methods. Sixtyone patients with stage IAIIIB cutaneous melanoma have been examined. All patients underwent sentinel lymph node biopsy. Immunological studies were performed prior to treatment.

Results. It was revealed that ulceration of the primary tumor and the status of sentinel lymph node determined the nature of the immunoreactivity in melanoma patients. In patients with ulcerated primary melanoma (PM) without micrometastases in regional LN, peripheral blood T lymphocyte proliferation was increased on response to the antiCD3 and the level of antiCD3induced apoptosis was unchanged. Conversely, phytohaemagglutinin (PHA) proliferative response was unchanged but PHAinduced apoptosis of lymphocytes was reduced. In patients with the nonulcerated PM without micrometastases LN, these parameters was recorded on the physiological level but there was an increased content of regulatory Tcells in the blood. Tlymphocyte proliferative response to PHA was remained within the physiological levels and was increased to antiCD3 regardless of ulceration PM in patients with metastatic melanoma.

Conclusion. Further immunological study of ulcerated and nonulcerated melanoma will allow to understand better the potential therapeutic strategies of treatment for these patients and provide the ability to predict response to antitumor therapy