

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЕ

Саакян С.В., Балацкая Н.В., Катаргина Л.А., Куликова И.Г.,
Мякошина Е.Б.

ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Увеальная меланома — злокачественная опухоль нейроэктодермального происхождения. Несмотря на первичное лечение с применением энуклеации глаза или лучевой терапии, почти у 50% пациентов развивается метастатическая болезнь. Эффективность различных методов лечения злокачественных новообразований, прогноз заболевания в значительной степени зависят от состояния иммунной системы пациента. Данные о соотношении лимфоцитов разных популяций, их взаимосвязи со стадиями увеальной меланомы в настоящее время отсутствуют. Обследовано 84 пациента с увеальной меланомой (44 женщины и 40 мужчин; средний возраст $53,7 \pm 12,2$ года). В 1 группу (малые опухоли) вошли 36 больных, во 2-ю (опухоль среднего размера) — 26 пациентов, 22 пациента составили 3 группу (большие опухоли). В группу контроля вошли 33 практически здоровых донора. Материалом исследования служили пробы цельной крови, взятой из локтевой вены натощак в утренние часы при помощи вакуумных систем в пробирки Vacuette® с антикоагулянтом К3ЕДТА. Иммунофенотипирование проводили методом проточной лазерной цитофлуориметрии с использованием системы моноклональных антител Multitest 6-Color TBNK Reagent в пробирках BD TruCount (Becton Dickinson, США), цитометре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США). Лизис эритроцитов и фиксацию лейкоцитов производили с помощью лизирующего раствора BD FACS TM Lysing Solution (Becton Dickinson, США). Относительное и абсолютное содержание популяций и субпопуляций лимфоцитов определяли в программе Canto (Becton Dickinson, США), с выделением анализируемого региона по общей популяции, экспрессирующей CD45⁺ антиген, и по гранулярности клеток (CD45⁺PerCP-Cy5,5*/SSC); использовались меченные флуорохромами антитела к CD3⁺ (FITC), CD4⁺ (PE-Cy7*), CD8⁺ (APC-Cy7*), CD16⁺/CD56⁺ (PE), CD19⁺ (APC*), позволяющие дифференцировать: Т-лимфоциты (CD3⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD8⁻), Т-цитотоксические (CD3⁺CD4⁻CD8⁺), Т-дубль позитивные (CD3⁺CD4⁺CD8⁺), NK-клетки (CD16⁺CD56⁺), В-лимфоциты (CD19⁺), вычислить соотношение субпопуляций CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ — индекс, отражающий баланс Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток (CD4⁺/CD8⁺). Проведенный нами индивидуальный анализ состава лимфоцитов позволяет заключить, что рост увеальной меланомы сопровождается системными разнонаправленными сдвигами в качественном и количественном составе иммунокомпетентных клеток, затрагивая как врожденное (NK-клетки), так и адаптивное (Т-лимфоциты) звено противоопухолевой иммунной защиты. Полученные результаты представляются важными для разработки персонализированных подходов к прогнозу и лечению пациентов с увеальной меланомой. Динамика изменения количественного состава субпопуляций лимфоцитов при онкологических заболеваниях может представлять ценность для мониторинга иммунотерапевтических воздействий и дополнить клиническую оценку течения основного заболевания.

Ключевые слова: субпопуляция лимфоцитов периферической крови, увеальная меланома

Адрес для переписки:

Мякошина Елена Борисовна
ФГБУ «Московский научно-исследовательский
институт глазных болезней имени Гельмгольца»
Министерства здравоохранения РФ
105062, Россия, Москва,
ул. Садовая-Черногрязская, 14/19.
Тел.: 8 (916) 196-90-30.
E-mail: myakoshina@mail.ru

Address for correspondence:

Myakoshina Elena B.
Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases
105162, Russian Federation, Moscow,
Sadovaya-Chernogryazskaya str., 14/19.
Phone: 7 (916) 196-90-30.
E-mail: myakoshina@mail.ru

Образец цитирования:

С.В. Саакян, Н.В. Балацкая, Л.А. Катаргина,
И.Г. Куликова, Е.Б. Мякошина «Субпопуляционный
состав лимфоцитов периферической крови при
увеальной меланоме» // Медицинская иммунология,
2019. Т. 21, № 4. С. 765-772.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-765-772
© Саакян С.В. и соавт., 2019

For citation:

S.V. Saakyan, N.V. Balatskaya, L.A. Katargina,
I.G. Kulikova, E.B. Myakoshina "Subpopulation profile
of peripheral blood lymphocytes in uveal melanoma", *Medical
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*,
2019, Vol. 21, no. 4, pp. 765-772.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-765-772
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-4-765-772

SUBPOPULATION PROFILE OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN UVEAL MELANOMA

Saakyan S.V., Balatskaya N.V., Katargina L.A., Kulikova I.G.,
Myakoshina E.B.

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Abstract. Uveal melanoma is a malignant neuroectodermal tumor. Despite an existing radical primary treatment, i.e., eye enucleation or radiation therapy, metastatic disease develops in almost 50% of the patients. Meanwhile, the efficiency of various approaches to malignancy treatment, the prognosis of the disease largely depends on immune system parameters in the patient. Distinct data on the ratio of different lymphocyte subpopulations and their relationship with the stages of uveal melanoma are currently not available. Eighty-four patients with uveal melanoma were examined including 44 women and 40 men at a mean age of 53.7 ± 12.2 years. Group 1 (small tumors) consisted of 36 patients, and the 2nd group (medium-sized tumors) included 26 cases; 22 patients comprised the 3rd group (large tumors). The control group included 33 practically healthy donors. Blood samples for this study were taken from the ulnar vein in the morning time, using vacuum tubes Vacuette® with K3EDTA. Immune phenotyping was performed by means of flow laser cytofluorimetry with a monoclonal antibody system (Multitest 6-Color TBNK Reagent) in BD TruCount test tubes (Becton Dickinson, USA). The cell populations were discriminated by the BD FACSCanto II cytometer (Becton Dickinson, USA). Erythrocyte lysis and leukocyte fixation were performed using a BD FACS™ Lysing Solution (Becton Dickinson, USA). The relative and absolute levels of lymphocyte populations and subpopulations were determined by the Canto program (Becton Dickinson, USA), with selection of the analyzed region in the general population expressing CD45⁺ antigen and cell granularity (CD45⁺ PerCP-Cy5,5*/SSC); fluorochromes labeled antibodies to CD3⁺ (FITC), CD4⁺ (PE-Cy7*), CD8⁺ (APC-CY7*), CD16⁺/CD56⁺ (PE), CD19⁺ (APC*) were used to differentiate: T lymphocytes (CD3⁺), T helper cells (CD3⁺CD4⁺CD8⁻), T cytotoxic (CD3⁺CD4⁻CD8⁺), T-double positive (CD3⁺CD4⁺CD8⁺), NK cells (CD16⁺CD56⁺), B lymphocytes (CD19⁺). We have calculated the ratio of CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ subpopulations, an index reflecting the balance of T-helper cells and cytotoxic T-cells (CD4⁺/CD8⁺). Our individual analysis of the lymphocyte subpopulation profiles allowed us to conclude that the growth of uveal melanoma is accompanied by systemic multidirectional changes in the qualitative and quantitative composition of immunocompetent cells. This imbalance affects both innate (NK cells) and adaptive (T lymphocytes) links of antitumor immune defense. The results are important for the development of personalized approaches to prognosis and treatment of patients with uveal melanoma. The dynamics of changed quantitative composition of lymphocyte subpopulations in oncological diseases may be of value for monitoring immunotherapeutic effects and improves clinical assessment of the underlying disease course.

Keywords: uveal melanoma, peripheral blood, lymphocyte subpopulations

Введение

Уvealная меланома (УМ) — злокачественная опухоль нейроэктодермального происхождения, заболеваемость которой в Российской Федерации достигает 6–8 случаев на 1 млн взрослого трудоспособного населения [3].

На долю УМ приходится от 3 до 5% меланом всех локализаций [14, 15]. Около 90% опухолей локализуется в хориоиде, 6% — в цилиарном теле, 4% — в радужке [14]. Несмотря на первичное лечение с применением энуклеации глаза или лучевой терапии, почти у 50% пациентов развивается метастатическая болезнь [3, 15]. Витальный

прогноз с момента диагностики метастатического заболевания является низким, при этом общая выживаемость составляет от 6 до 13 месяцев [8].

Эффективность различных методов лечения злокачественных новообразований, прогноз заболевания в значительной степени зависят от состояния иммунной системы пациента [6, 7]. Развивающаяся опухоль активно защищается от иммунной атаки, используя разнообразные механизмы системной иммуносупрессии, приводящие к истощению пула и понижению активности основных эффекторных клеток — компонентов адаптивного иммунитета и врожденной системы противоопухолевого надзора [5, 6].

Нарушения в иммунной системе, в частности субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови, а также дисбаланс в системе иммуномедиаторов были выявлены у больных с различными новообразованиями, в том числе при меланоме кожи [10].

Так, при прогрессировании этой опухоли отмечается увеличение количества регуляторных Т-клеток (Treg), в том числе и с фенотипом CD3⁺CD8⁺ (регуляторных цитотоксических), снижение показателей пролиферативной и цитотоксической активности CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов, также уменьшение количества и подавление функций натуральных киллеров (NK-клеток) [12].

Исследования иммунологического статуса с выделением основных субпопуляций лимфоцитов и медиаторов проводили также у пациентов с УМ, однако в литературе они представлены в немногочисленных публикациях и достаточно противоречивы.

Данные о соотношении лимфоцитов разных популяций, их взаимосвязи со стадиями УМ в настоящее время отсутствуют.

Цель — исследовать состав основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови больных УМ в зависимости от размера опухоли.

Материалы и методы

Обследовано 84 пациента с УМ (44 женщины и 40 мужчин; средний возраст 53,7±12,2 года). Всем больным проведены офтальмологические исследования с включением ультразвуковых.

В соответствии с классификацией, разработанной в 1983 г. J. Shields [14], пациентов распределили на 3 группы.

В 1 группу (малые опухоли — проминенция до 3 мм, диаметр до 10 мм) вошли 36 больных, во 2-ю (опухоль среднего размера — проминенция 3-5 мм, диаметр 10-15 мм) — 26 пациентов, 22 пациента составили 3 группу (большие опухоли — проминенция > 5 мм, диаметр > 15 мм) (рис. 1А, Б, В, см. 3-ю стр. обложки).

В группу контроля вошли 33 практически здоровых донора, сопоставимых по возрасту и полу с пациентами основных групп без признаков офтальмопатологии.

Материалом исследования служили пробы цельной крови, взятой из локтевой вены натощак в утренние часы (9.00-10.00 ч) при помощи вакуумных систем в пробирки Vacuette® с антикоагулянтом К3ЕDТА. Иммунофенотипирование проводили методом проточной лазерной цитофлуориметрии с использованием систе-

мы моноклональных антител Multitest 6-Color TBNK Reagent в пробирках BD TruCount (Becton Dickinson, США), цитометре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США).

Лизис эритроцитов и фиксацию лейкоцитов производили с помощью лизирующего раствора BD FACS TM Lysing Solution (Becton Dickinson, США). Относительное и абсолютное содержание популяций и субпопуляций лимфоцитов определяли в программе Canto (Becton Dickinson, США), с выделением анализируемого региона по общей популяции, экспрессирующей CD45⁺ антиген и по гранулярности клеток (CD45⁺PerCP-Cy5,5*/SSC); использовались меченные флуорохромами антитела к CD3⁺ (FITC), CD4⁺ (PE-Cy7*), CD8⁺ (APC-Cy7*), CD16⁺/CD56⁺ (PE), CD19⁺ (APC*), позволяющие дифференцировать: Т-лимфоциты (CD3⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD8⁻), Т-цитотоксические (CD3⁺CD4⁻CD8⁺), Т-дубль позитивные (CD3⁺CD4⁺CD8⁺), NK-клетки (CD16⁺CD56⁺), В-лимфоциты (CD19⁺), вычислить соотношение субпопуляций CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ — индекс, отражающий баланс Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток (CD4⁺/CD8⁺).

Статистическая обработка данных проведена с помощью программного комплекса Professional BioStat для Windows Version 2009 (t — критерий Стьюдента, критерии Фишера и χ^2), уровень статистической значимости: $p < 0,05$.

Результаты

Результаты исследования показали, что абсолютное количество лимфоцитов (CD45⁺) крови у пациентов с УМ находилось в пределах нормы (в среднем 1,95±0,12 × 10⁹/л).

При анализе средних значений общей популяции Т-клеток (CD3⁺) обнаружили снижение как относительного до 70,4±1,4%, так и абсолютного (1,45±0,1 × 10⁹/л и 1,33±0,07 × 10⁹/л соответственно) ее содержания у больных 1-й и 2-й групп против таковой у здоровых доноров без офтальмопатологии (73,1±0,87% и 1,51±0,08 × 10⁹/л; $p > 0,05$). Эта тенденция наблюдалась в отношении субпопуляции CD3⁺CD4⁺ хелперов/индукторов (табл. 1).

Интересная динамика отмечена для цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺): если в крови больных с УМ малого размера (1 группа) имело место незначительное увеличение абсолютного количества этих клеток по сравнению с нормой, то для 2 группы пациентов было характерно снижение как процентного, так и абсолютного содержания данной субпопуляции (с 0,52±0,03 × 10⁹/л и 25,6±1,04% в норме

до $0,44 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$ и $23,1 \pm 1,3\%$ во 2 группе соответственно; $p > 0,05$).

При опухолях большого размера (3 группа), обращает внимание значительное достоверное повышение абсолютного и относительного количества циркулирующих $CD3^+CD8^+$ лимфоцитов ($0,69 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ и $27,6 \pm 1,4\%$ соответственно; $p < 0,05$) по сравнению с таковыми показателями больных с УМ 2 стадии. Данное обстоятельство свидетельствует о разбалансировке в звене иммунорегуляторных субпопуляций — хелперов-индукторов/цитотоксических лимфоцитов.

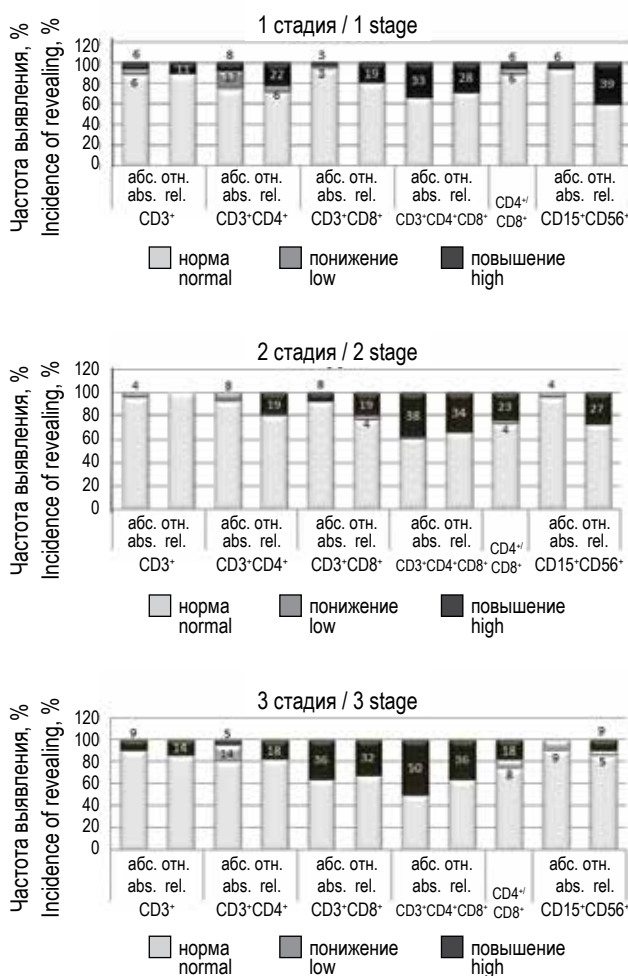


Рисунок 2. Частота случаев сдвигов от нормы (здоровых доноров) в (суб)популяционном составе лимфоцитов крови (относительное и абсолютное количество) и клеточного соотношения $CD4^+/CD8^+$

Примечание. А – при УМ малого размера (1 стадия); Б – при УМ среднего размера (2 стадия); В – при УМ большого размера (3 стадия).

Figure 2. Incidence of shifts from the normal values (healthy donors) for the blood lymphocyte population (sub) profile (relative and absolute numbers), and the $CD4^+/CD8^+$ cell ratios
Note. A, small uveal melanoma; B, medium uveal melanoma; C, large uveal melanoma.

Действительно, при индивидуальном анализе частоты сдвигов от нормы соотношения регуляторных субпопуляций $CD4^+/CD8^+$ (хелперов-индукторов/цитотоксических лимфоцитов) обнаружили, что по мере увеличения размеров опухоли повышается частота случаев выявления иммунологического дисбаланса у пациентов исследуемых групп. Так, если в 1 группе с УМ сдвиги в соотношении $CD4^+/CD8^+$ относительно нормы определены в 12% случаев, то при УМ средних и больших размеров они выявлялись в 2,3 раза чаще (в 27%) (рис. 2А, Б, В).

Наряду с «классическими» иммунорегуляторными субпопуляциями, описанными выше, в крови человека могут обнаруживаться «дубли-позитивные» Т-клетки, которые раньше характеризовались как низкодифференцированные лимфоциты с фенотипом $CD3^+CD4^+CD8^+$. В последнее время получены доказательства участия этих клеток в противоопухолевой защите. Повышенное количество $CD3^+CD4^+CD8^+$ лимфоцитов обнаружено в крови пациентов со злокачественными новообразованиями, инфекционными и аутоиммунными заболеваниями, с длительной антигенной стимуляцией, а также при старении [2, 10].

В наших исследованиях увеличение абсолютного количества циркулирующих дубли-позитивных Т-клеток (табл. 1) выявлено практически у трети больных с УМ малого размера, у 38% 2 группы больных (опухоли среднего размера), в 50% случаев при УМ больших размеров ($p < 0,05$ по сравнению с 1 группой). Аналогичная тенденция отмечена и для относительного (процентного) содержания этой минорной субпопуляции в крови пациентов всех исследуемых групп (28, 34 и 36% случаев соответственно) (рис. 2А, Б, В).

Основными эффекторными лимфоцитами врожденного иммунитета являются НК-клетки (natural killer cells) [1], играющие ключевую роль в системе противоопухолевого надзора. Их повышение наблюдалось у обследованных нами пациентов с УМ малых размеров, но по мере роста опухоли, во 2 группе, у больных отмечается дефицитное состояние данной субпопуляции и дальнейшее его угнетение (табл. 1).

Обсуждение

УМ – часто встречаемая злокачественная опухоль глаза, склонная к метастазированию [3, 4, 14, 15]. По мере накопления данных о патогенезе этого заболевания были выделены факторы риска развития и прогрессирования опухоли: клинические, молекулярно-генетические и иммунологические [8].

Достоверно показано, что иммунная система способна распознавать злокачественные клетки и реагировать на такое распознавание активацией с включением эффективных механизмов уничтожения «измененного своего» [5].

Одним из последствий активации сигнальных каскадов в лимфоцитах является выработка цитокинов и проявление цитотоксических свойств, направленных на элиминацию трансформированных клеток [9].

В связи с этим субпопуляционный состав лимфоцитов, их функциональная активность широко изучаются при разных видах опухолей.

Важнейшими из иммунокомпетентных клеток (ИКК) противоопухолевого адаптивного иммунитета являются цитотоксические лимфоциты (ЦТЛ) с фенотипом $CD3^+CD8^+$, высокоспецифичные в отношении противоопухолевых антигенов, способные распознавать и осуществлять киллинг малигнизированных клеток.

В нашем исследовании по мере увеличения размера УМ отмечается нарастание как абсолютного, так и относительного количества циркулирующих ЦТЛ (табл. 1).

Этот, на первый взгляд, парадоксальный факт согласуется с данными целого ряда работ отечественных и зарубежных исследователей, обнаруживших увеличение содержания циркулирующих $CD3^+CD8^+$ лимфоцитов при развитии и прогрессировании различных видов опухолей [5].

В настоящее время известно, что субпопуляция $CD3^+CD8^+$ является морфологически и функционально неоднородной: помимо эффекторных, $CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности антиген $CD28^+$ (для получения костимулирующего сигнала к их активации и пролиферации) – $CD3^+CD8^+CD28^+$ клеток, она включает Т-лимфоциты с отсутствием экспрессии молекулы $CD28$ ($CD3^+CD8^+CD28^-$ клетки), обладающие регуляторными свойствами.

Повышение количества лимфоцитов с фенотипом $CD3^+CD8^+CD28^-$ в опухолевом микроокружении и в периферической крови, по данным ряда авторов, ассоциируется с опухолевым ростом [11].

В свою очередь $CD8^+CD28^-$ Т-клетки также являются гетерогенной популяцией и включают в себя как клетки-супрессоры, так и клетки-эффекторы. Это подтверждается продукцией ими и супрессорных (IL-10, IL-4, TGF- β) и эффекторных (IFN γ , TNF α) цитокинов [11]. Во многих экспериментальных и клинических исследованиях эта популяция характеризуется в основном как супрессорная [11, 13].

Показано, что только $CD8^+CD28^-$, но не $CD8^+CD28^+$ Т-клетки, выделенные из опухолевой ткани и метастатических лимфоузлов больных с различными формами злокачественных опухолей, обладали супрессорной активностью. Клетки-супрессоры с фенотипом $CD8^+CD28^-$ были обнаружены и в периферической крови этих пациентов.

Не исключено, что в нашем случае повышение количества циркулирующих ЦТЛ могло происходить за счет прироста этой малой субпопуляции $CD8^+CD28^-$ Т-лимфоцитов. Однако это предположение требует доказательств и дальнейших исследований.

Повышение абсолютного и относительного числа дубль-позитивных клеток при нарастании размеров УМ также согласуется с литературными данными в отношении меланомы кожи [10].

Особая роль отводится НК-клеткам (natural killer cells), которые являются главными эффекторными лимфоцитами врожденного иммунитета; обладают прямой неспецифической активностью: они обеспечивают защиту от вирусных инфекций и участвуют в контроле опухолевого роста и метастазирования [1].

Результаты исследований показали повышение количества НК-лимфоцитов в крови у больных с малыми УМ, с нарастанием же размера опухоли отмечалось снижение их содержания.

По данным ряда авторов, при различных онкологических заболеваниях количество и активность НК-клеток могут служить прогностическим критерием метастазирования, плохого ответа на лечение и уменьшения показателей общей выживаемости [1].

Заключение

Проведенный нами индивидуальный анализ состава лимфоцитов позволяет заключить, что рост УМ сопровождается системными разнонаправленными сдвигами в качественном и количественном составе ИКК, затрагивая как врожденное (НК-клетки), так и адаптивное (Т-лимфоциты) звенья противоопухолевой иммунной защиты.

Полученные результаты представляются важными для разработки персонализированных подходов к прогнозу и лечению пациентов с УМ.

Динамика изменения количественного состава субпопуляций лимфоцитов при онкологических заболеваниях может представлять ценность для мониторинга иммунотерапевтических воздействий и дополнить клиническую оценку течения основного заболевания.

ТАБЛИЦА 1. СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С УМ И ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ (M±m)

TABLE 1. SUBPOPULATION COMPOSITION OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH UVEAL MELANOMA AND HEALTHY VOLUNTEERS (M±m)

Показатели Factors		Группы Groups			
		(n = 33)	УМ UM		
			Размер опухоли Size of tumor		
			малый small (n = 36)	средний medium (n = 26)	большой big (n = 22)
Контрольная Control					
Лимфоциты CD45 ⁺ Lymphocytes CD45 ⁺	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	2,06±0,11	2,02±1,3	1,8±0,9	2,2±1,5
Т-лимфоциты общая популяция CD3 ⁺ T lymphocytes (bulk population) CD3 ⁺	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	1,50±0,08	1,4±0,1	1,3±0,7	1,6±0,1
	%	73,10±0,87	70,4±1,4	70,4±1,3	73,1±1,7
Т-хелперы CD3 ⁺ CD4 ⁺ T helpers CD3 ⁺ CD4 ⁺	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	0,97±0,06	0,90±0,04	0,86±0,05	0,96±0,07
	%	45,70±1,19	44,3±1,6	45,8±1,4	44,2±1,4
Т-цитотоксические CD3 ⁺ CD8 ⁺ Cytotoxic T lymphocytes CD3 ⁺ CD8 ⁺	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	0,52±0,03	0,53±0,04	0,44±0,03	0,60±0,06 [#]
	%	25,60±1,04	25,60±1,04	23,1±1,3	27,6±1,4 [#]
Т-«дубль позитивные» лимфоциты CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ “duble positive” lymphocytes CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	0,009±0,007	0,030±0,004*	0,020±0,004	0,020±0,004
	%	0,54±0,31	1,10±0,15*	1,30±0,25	1,10±0,15
В-лимфоциты CD19 ⁺ B lymphocytes CD19 ⁺	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	0,24±0,02	0,23±0,02	0,23±0,02	0,28±0,03
	%	12,80±0,63	10,8±0,6	12,0±0,7	12,2±1
Натуральные киллеры CD16 ⁺ CD56 ⁺ Natural killers CD16 ⁺ CD56 ⁺	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	0,29±0,03	0,34±0,02	0,32±0,02	0,30±0,03
	%	14,00±0,87	18,3±1,5*	17,03±1,15*	14,1±1,5
Соотношение хелперы-индукторы/цитотоксические лимфоциты CD4 ⁺ /CD8 ⁺ Ratio of helper-inducer T lymphocytes to cytotoxic-suppressor T lymphocytes, CD4 ⁺ /CD8 ⁺	рассч.ед unit of account	1,95±0,12	1,8±0,1	2,2±0,18	1,8±0,17

Примечание. n – количество обследуемых в группе; * – достоверность различия параметров у больных исследуемых групп по сравнению с группой контроля (p < 0,05); # – достоверность различия параметров у больных с большим и средним размером опухоли (p < 0,05).

Note. n, number of subjects in the group; *, reliability of the differences in the parameters of the patients of the studied groups compared with the control group (p < 0.05); #, reliability of differences in parameters in patients with large and medium tumor size (p < 0.05).

Список литературы / References

1. Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г., Коваленко Е.И. Основные свойства и функции НК-клеток человека // Иммунология, 2012. Т. 33, № 4. С. 220-224. [Abakushina E.V., Kuzmina E.G., Kovalenko E.I. The main characteristics of human natural killers cells. *Immunologiya = Immunology*, 2012, Vol. 33, no. 4, pp. 220-224. (In Russ.)]
2. Балацкая Н.В., Еремеева Е.А., Слепова О.С., Рябина М.В., Куликова И.Г., Сорожкина Е.С. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 5. С. 461-466. [Balatskaya N.V., Eremeeva E.A., Slepova O.S., Ryabina M.V., Kulikova I.G., Sorozhkina E.S., Peripheral blood subpopulation of lymphocytes of patients with age-related macular degeneration. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 5, pp. 461-466. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-5-461-466.
3. Бровкина А.Ф. Офтальмоонкология. М.: Медицина, 2002. 421 с. [Brovkina A.F. *Ophthalmooncology*. Moscow: Medicine, 2002. 421 p.
4. Мякошина Е.Б. Комплексная диагностика начальной меланомы хориоидеи. Russian Electronic Journal of Radiology, 2016. Т. 6, № 4. С. 19-28. [Myakoshina E.B. Complex diagnostics of early choroidal melanoma. *Russian Electronic Journal of Radiology*, 2016, Vol. 6, no. 4, pp. 19-28. (In Russ.)]
5. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Заботина Т.Н., Короткова О.В., Славина Е.Г., Борунова А.А. Новые возможности регуляции противоопухолевого иммунного ответа // Злокачественные опухоли, 2015. Т. 1. С. 24-30. [Kadagidze Z.G., Chertkova A.I., Zabortina T.N., Korotkova O.V., Slavina E.G., Borunova A.A. New regulation of antitumor immune response. *Zlokachestvennye opukholi = Malignant Tumours*, 2015, Vol. 1, pp. 24-30. (In Russ.)]
6. Саакян С.В., Катаргина Л.А., Кричевская Г.И., Мякошина Е.Б., Денисова Е.В. Специфические иммуноглобулины G и M в сыворотке крови при ретинобластоме и «псевдоретинобластомах» // Вестник офтальмологии, 2017. Т. 133, № 4. С. 12-16. [Saakyan S.V., Katargina L.A., Krichevskaya G.I., Myakoshina E.B., Denisova E.V. Specific immunoglobulins G and M in blood serum in retinoblastoma and "pseudoretinoblastoma". *Vestnik oftalmologii = Bulletin of Ophthalmology*, 2017, Vol. 133, no. 4, pp. 12-16. (In Russ.)]
7. Лихванцева В.Г., Бровкина А.Ф., Гусев Г.А., Юровская Н.Н. Способ выявления скрытого метастазирования при увеальной меланоме. Патент № 2147373. [Likhvantseva V.G., Brovkina A.F., Gusev G.A., Yurovskaya N.N. A method for detecting latent metastasis in uveal melanoma. Patent No. 2147373].
8. Саакян С.В., Амирян А.Г., Цыганков А.Ю., Склярлова Н.В., Залетаев Д.В. Клинические, патоморфологические и молекулярно-генетические особенности увеальной меланомы с высоким риском метастазирования // Российский офтальмологический журнал, 2015. Т. 8, № 2. С. 47-52. [Saakyan S.V., Amiryanyan A.G., Tsygankov A.Yu., Sklyarova N.V., Zaletaev D.V. Clinical, pathomorphological and molecular genetic aspects of uveal melanoma with high metastatic risk. *Rossiyskiy oftalmologicheskii zhurnal = Russian Ophthalmology Journal*, 2015, Vol. 8, no. 2, pp. 47-52. (In Russ.)]
9. Чернявская М.А., Ефремов А.В., Черных В.В. Взаимосвязь цитокинов в слезной и внутриглазной жидкости при меланоме хориоидеи. Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки, 2015. Т. 20, № 3. С. 710-712. [Chernyavskaya M.A., Efremov A.V., Chernykh V.V. Interrelation of cytokines in the lacrimal and intraocular fluid in choroidal melanoma. *Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya: Estestvennyye i tekhnicheskie nauki. = Bulletin of Tambov University. Series: Natural and Technical Sciences*, 2015, Vol. 20, no. 3, pp. 710-712. (In Russ.)]
10. Desfrancois J. Double positive CD4CD8 alpha beta T cells: a new tumor-reactive population in human melanomas. *PLoS ONE*, 2010, Vol. 5, no. 1, e8437. doi: 10.1371/journal.pone.0008437.
11. Filaci G., Fenoglio D., Fravega M. CD8⁺CD28⁻ T regulatory lymphocytes inhibiting T cell proliferative and cytotoxic functions infiltrate human cancers. *J. Immunol.*, 2007, Vol. 179, pp. 4323-4334.
12. Houghton A.N., Gold J.S., Blachere N.E. Immunity against cancer: lessons learned from melanoma. *Curr. Opin. Immunol.*, 2001, Vol. 13, pp. 134-140.
13. Meloni F., Morosini M., Solari N. Foxp3 expressing CD4⁺CD25⁺ and CD8⁺CD28⁻ T regulatory cells in the peripheral blood of patients with lung cancer and pleural mesothelioma. *Hum. Immunol.*, 2006, Vol. 67, pp. 1-12.
14. Shields J.A. Diagnosis and management of intraocular tumors – St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1983, p. 703.
15. Singh A.D., Turell M.E., Topham A.K. Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival. *Ophthalmology*, 2011, Vol. 118, no. 9, pp. 1881-1885.

Авторы:

Саакян С.В. — д.м.н., профессор, начальник отдела офтальмоонкологии и радиологии ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Балацкая Н.В. — к.б.н., ведущий научный сотрудник, начальник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Saakyan S.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Ophthalmooncology and Radiology, Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Balatskaya N.V., PhD (Biology), Leading Research Associate, Head, Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Катаргина Л.А. — д.м.н., профессор, начальник отдела патологии глаз у детей, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Куликова И.Г. — старший научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии

Мякошина Е.Б. — к.м.н., научный сотрудник отдела офтальмоонкологии и радиологии ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Katargina L.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pediatric Eye Pathology, Deputy Director for Research, Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Kulikova I.G., Senior Research Associate, Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Myakoshina E.B., PhD (Medicine), Research Associate, Department of Ophthalmology and Radiology, Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Поступила 05.12.2018

Отправлена на доработку 26.12.2018

Принята к печати 04.03.2019

Received 05.12.2018

Revision received 26.12.2018

Accepted 04.03.2019