

*Л.М. Величко**В.В. Віт**А.П. Малецький**О.І. Драгомірецька*

*Інститут очних хвороб
і тканинної терапії
ім. В.П. Філатова АМН
України, Одеса, Україна*

Ключові слова: увеальна меланома, рекомбінантний $\alpha 2b$ -інтерферон, Лаферон, імунокорекція, неспецифічний імунітет.

ІМУНОКОРЕКЦІЯ $\alpha 2b$ -ІНТЕРФЕРОНОМ — ВАЖЛИВИЙ КОМПОНЕНТ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ З УВЕАЛЬНОЮ МЕЛАНОМОЮ

Резюме. Дослідження функціональної активності макрофагів та природних клітин-кілерів, а також стану Т-клітинного та гуморального імунітету у 88 хворих з увеальною меланомою виявило значні порушення функціонування систем неспецифічного та специфічного імунітету. Включення інтерферону (Лаферону) до традиційної схеми лікування цих хворих дозволило відновити функціональну активність ефекторних клітин неспецифічного протипухлинного імунітету, а також нормалізувати стан Т-клітинної та гуморальної ланок імунітету. Імунокорекція з використанням Лаферону у складі комплексної терапії супроводжувалась вірогідним зменшенням відсотка хворих з прогресивним ростом пухлини та вірогідним збільшенням швидкості резорбції пухлини, а також попереджувала появу таких ускладнень, як глаукома та увеїт. Отримані результати свідчать про необхідність включення інтерферону до складу комплексної терапії хворих з увеальною меланомою.

ВСТУП

Внутрішньоочні пухлини посідають важливе місце серед новоутворень органа зору, поступаючись за частотою лише пухлинам повік. При цьому домінуюче місце (56–68%) серед внутрішньоочних новоутворень займають увеальні меланоми [1, 2].

Меланома ока є високозлоякісною пухлиною, що являє загрозу не лише органу зору, але й життю хворого. Терапія злоякісних пухлин ока на сьогодні — важлива проблема офтальмології: адже ці захворювання є однією з основних причин смерті хворих з цією патологією [3, 4]. Враховуючи це, основою лікування таких хворих протягом багатьох років була енуклеація. Останніми роками методи органозберігаючого лікування хворих з увеальними меланомами ока отримують перевагу [2, 5–7]. Цінність цього методу порівняно з енуклеацією полягає в зменшенні дисемінації пухлинних клітин і відповідно у збільшенні виживання хворих, а також у можливості збереження у 41–45% із них достатньо високої гостроти зору. На жаль, органозберігаюче лікування може бути застосоване лише у 25–38% хворих, у яких розміри пухлини не перевищують 5–10 мм. Крім того, лікування, проведене навіть у ранній стадії пухлинного процесу, не гарантує надійного захисту від розповсюдження злоякісних клітин в організмі. Суттєвим є те, що під час проведення органозберігаючої терапії можливі ускладнення, пов'язані з порушенням локальної гідродинаміки, яке призводить до глаукоми та увеїту. Все вищесказане стимулювало пошук шляхів підвищення ефективності лікування хворих із злоякісною меланомою ока за допомогою засобів ад'ювантної терапії. Особливу увагу дослідників привернули методи імунокорекції в поєднанні з традиційною терапією. При цьому слід зазначити, що застосування препаратів, які впли-

вають на ефекторні клітини специфічного імунітету, не збільшувало виживання хворих з увеальною меланомою [8]. Одночасно протягом останніх 10 років сформувалась концепція про суттєве значення системи неспецифічного імунітету у виникненні та прогресуванні злоякісних пухлин [9–11]. У доступній літературі ми не знайшли робіт, які були б присвячені аналізу стану ефекторних клітин неспецифічного імунітету у хворих з увеальною меланомою. Відсутня також інформація про дослідження, спрямовані на визначення ролі імунних механізмів у реалізації лікувального ефекту органозберігаючих методів лікування. Немає також чітких уявлень щодо прогностичної цінності імунологічних критеріїв та характеристики перебігу пухлинного процесу; лишається невивченим характер змін показників неспецифічного імунітету у хворих з увеальною меланомою при органозберігаючому лікуванні. До теперішнього часу не обґрунтовані принципи включення до комплексу лікувальних заходів таких хворих імуномодулюючих препаратів, у тому числі $\alpha 2b$ -інтерферону. Одним із перспективних напрямків розроблення методів підвищення ефективності протипухлинної терапії є використання поліпотентного цитокіну $\alpha 2b$ -інтерферону [12, 13], який, зокрема, виявляє виражену коригуючу дію по відношенню до ефекторних клітин неспецифічного імунного захисту. На жаль, таких досліджень на сьогодні практично немає. Отже, пошук шляхів уникнення ускладнень органозберігаючого лікування при увеальній меланомі та підвищення його ефективності — надзвичайно актуальні. Викладене зумовлює необхідність вивчення стану системи протипухлинної резистентності, особливо її неспецифічної ланки, у хворих з увеальною меланомою та доцільність вклю-

чення $\alpha 2b$ -інтерферону до схем лікування таких пацієнтів.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В основу роботи покладено результати обстежень 40 здорових донорів та 109 хворих з увеальною меланою. Одноразове імунологічне обстеження було проведене у всіх осіб. У подальшому хворих розподілили на 2 групи. До 1-ї групи увійшли хворі, яким були проведені фотокоагуляція, бета-аплікаційна терапія та інтерферонотерапія (58 хворих). Другу (контрольну) групу склали 30 хворих, яким проводили традиційне органозберігаюче лікування у вигляді фотокоагуляції та бета-аплікаційної терапії. Групи хворих були ідентичні за початковими розмірами пухлин (4–12 мм) та за стадіями поширення пухлинного процесу (T1-2 N0M0).

Фотокоагуляцію проводили з застосуванням ксенонової лампи зі струмом накаливання 120 А, 18–30 імпульсів за сеанс. Протягом курсу лікування проводили 2–3 сеанси фотокоагуляції з інтервалом 2–4 дні і потім — бета-аплікаційну терапію, яка зводилася до підшивання бета-аплікатора до склери біля основи пухлини (стронцій-90 + ітрій-90 або рутеній-106 + родій-106). Тривалість опромінювання за допомогою бета-аплікатора складала від 3 до 10 діб, сумарна доза у середньому — 2220 ± 530 Гр.

У дослідженнях використовували вітчизняний препарат рекомбінантного $\alpha 2b$ -інтерферону — Лаферон («Біофарма»), технологію біосинтезу якого розроблено в Інституті молекулярної біології та генетики НАН України. Лаферон у дозі 1 млн МО вводили щоденно парабульбарно протягом 10 днів; повторні 10-денні введення починали після 20-денної перерви. Сумарна курсова доза Лаферону складала 30 млн МО протягом 3 міс. Під час органозберігаючого лікування у хворих з увеальною меланою досліджували ряд імунологічних показників. Стан клітинної та гуморальної ланок імунної системи та цитотоксичну активність природних кілерів визначали за загальноприйнятими методиками клінічної імунології [14].

Індекс трансформації моноцитів, індекс визрівання макрофагів, розпластування макрофагів, фагоцитарну активність моноцитів/макрофагів визначали за розробленою нами методикою у моношарі в присутності аутологічної плазми крові хворих [15].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою t-критерію Стьюдента і коефіцієнта кореляції (r) [16] з використанням програми Statistica 5,0 for Windows.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що у хворих з увеальною меланою у порівнянні зі здоровими донорами вірогідно знижений рівень неспецифічного імунітету, що проявляється пригніченням цитотоксичних властивостей природних кілерів, зниженням індексу трансформації моноцитів у макрофаги та фагоцитарної активності моноцитів/макрофагів (рис. 1).

Крім того, у цих хворих спостерігали збільшення вмісту Т-супресорів, В-клітин та підвищення концентрації IgA у порівнянні з нормою.

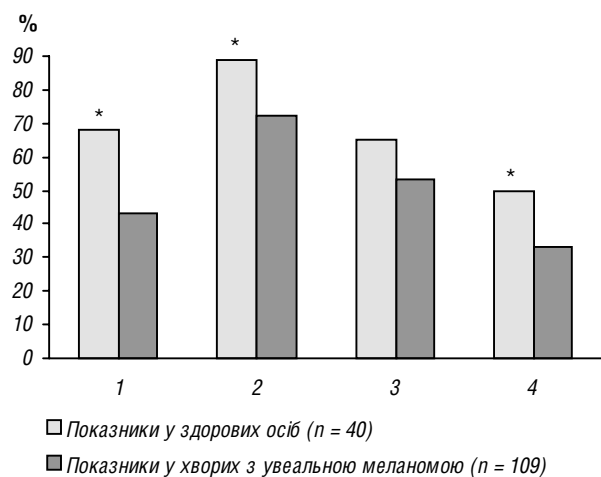


Рис. 1. Показники неспецифічного імунітету у здорових осіб та у хворих з увеальною меланою:

1 — цитотоксична активність природних кілерів; 2 — індекс трансформації моноцитів; 3 — індекс визрівання макрофагів; 4 — фагоцитарна активність макрофагів; * — вірогідність різниці між групами ($p < 0,05$)

Дослідження неспецифічного імунітету хворих з увеальною меланою під час традиційної комбінованої терапії (фотокоагуляція + бета-аплікаційна терапія) показало, що ні індекс трансформації моноцитів, ні показники визрівання макрофагів та їх фагоцитарна активність не зростають і не досягають норми протягом усього терміну спостереження (18 міс). Не відзначено і поліпшення показників Т-клітинного і гуморального імунітету, які були змінені до початку лікування.

Включення Лаферону до комплексного лікування хворих з увеальною меланою сприяло поступовій нормалізації неспецифічного імунітету: відзначено вірогідне зростання індексу трансформації моноцитів (на 20%), індексу визрівання макрофагів (на 20%), показника фагоцитарної активності (на 86%); суттєво зростала також цитотоксична активність природних кілерів (на 25%) (рис. 2).

У хворих цієї групи спостерігали також статистично вірогідне зниження вмісту В-клітин (на 33%), концентрації IgA (на 34%) та тенденцію до зниження Т-супресорів (на 13%).

Оскільки при посиленому антитілоутворенні підвищується і рівень блокуючих антитіл, які знижують ефективність протипухлинних реакцій [17], інші дослідники виявили кореляцію підвищення концентрації IgA, IgG, IgM у хворих з увеальною меланою в процесі лікування [18]. Відзначені нами зміни показників гуморального і клітинного імунітету є додатковим аргументом на користь включення Лаферону до комплексної терапії хворих.

Клінічна ефективність комплексної схеми лікування хворих з увеальною меланою із застосуванням Лаферону виявилася значно вищою, ніж традиційного комбінованого лікування. Запропонована нами схема дозволила зменшити кількість хворих з прогресивним ростом пухлини з 47 до 16% ($p = 0,001$) (табл. 1). Застосування Лаферону сприяло активації резорбції пухлини, ступінь якої через 18 міс складав $4 \pm 0,3$ мм, у той час як у контрольній групі — $2,4 \pm 0,4$ мм ($p = 0,002$) (табл. 2). Під час проведення тра-

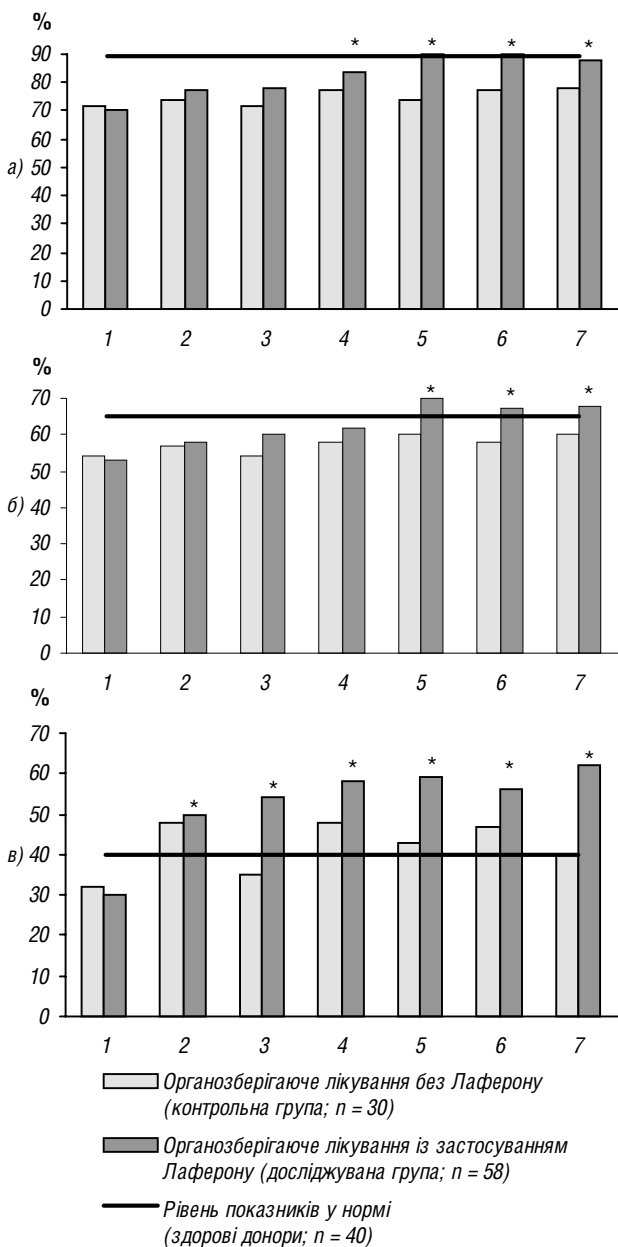


Рис. 2. Вплив лаферонотерапії на індекс трансформації моноцитів (а), індекс визрівання макрофагів (б) та фагоцитарну активність макрофагів (в) у хворих з увеальною меланомою:

1 — до лікування; 2 — після фотокоагуляції; 3 — після бета-аплікаційної терапії; 4–7 — через 3, 6, 12 і 18 міс від початку лікування;

* — вірогідність різниці порівняно з вихідним рівнем (до початку лікування); $p < 0,05$

диційної комбінованої терапії за даними офтальмоонкологічного відділення Інституту очних хвороб і тканинної терапії у 16% хворих з увеальною меланомою розвивається артеріальна гіпертензія, а у 3% — увеїт [2, 19]. Застосування Лаферону в комплексній схемі лікування таких хворих — ефективний спосіб запобігання виникненню ускладнень органозберігаючого лікування. В жодному випадку не відзначено розвитку глаукоми та увеїту.

Такий феномен, на нашу думку, пов'язаний з активацією Лафероном фагоцитарної активності мак-

Таблиця 1

Клінічна ефективність лікування хворих з увеальною меланомою

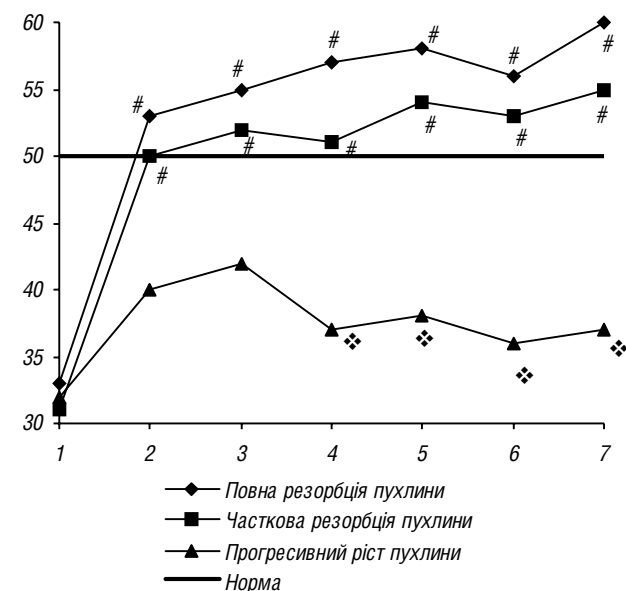
Вид лікування	Тип клінічної реакції		
	Повна резорбція пухлини	Часткова резорбція пухлини	Прогресивний ріст пухлини
Фотокоагуляція та бета-аплікаційна терапія ($n = 30$)	3 (10%)	13 (43%)	14 (47%)
Фотокоагуляція, бета-аплікаційна терапія та інтерферонотерапія ($n = 58$)	13 (22%)	36 (62%)	9 (16%)
Всього ($n = 88$):	16	49	23
χ^2	2,05	2,81	9,94
p	0,15	0,09	0,001

Таблиця 2

Ступінь резорбції увеальної меланоми (мм)

Вид лікування	Термін дослідження (міс)			
	3	6	12	18
Фотокоагуляція та бета-аплікаційна терапія ($n = 30$)	$1,7 \pm 0,2$	$2 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,4$
Фотокоагуляція, бета-аплікаційна терапія та інтерферонотерапія ($n = 58$)	$2,4 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,2$	$4 \pm 0,3$
p	0,12	0,01	0,78	0,002

рофагів, яка є основним механізмом звільнення ока від пухлинних клітин, що загинули. За цих обставин не тільки відсутність ускладнень, а й ступінь регресії увеальної меланоми в процесі комплексної терапії з використанням Лаферону має високу позитивну кореляцію з показником фагоцитарної активності макрофагів ($r = 0,95$). Так, рівень фагоцитозу протягом лікування (18 міс) найвищий у хворих з повною регресією пухлини, дещо нижчий у хворих з частковою регресією і зовсім низький у хворих з прогресивним ростом пухлини (рис. 3).



— вірогідність різниці порівняно з вихідним рівнем (до початку лікування); $p < 0,05$

◆ — вірогідність різниці між хворими з повною резорбцією пухлини та прогресивним ростом пухлини ($p < 0,05$)

Рис. 3. Динаміка змін фагоцитарної активності моноцитів/макрофагів у хворих з увеальною меланомою:

1 — до лікування; 2 — після фотокоагуляції; 3 — після бета-аплікаційної терапії; 4–7 — через 3, 6, 12 і 18 міс після початку лікування

Отримані дані свідчать про доцільність використання такого показника, як фагоцитарна активність макрофагів, для прогнозування ефективності лікування хворих з увеальною меланою.

ВИСНОВКИ

1. У хворих з увеальною меланою порівняно зі здоровими особами вірогідно знижений рівень неспецифічного імунітету, що проявляється зниженням цитотоксичної активності природних кілерів, індексу трансформації моноцитів і фагоцитарної активності моноцитів/макрофагів.

2. У процесі традиційного органозберігаючого лікування (фотокоагуляція і бета-аплікаційна терапія) позитивних змін показників неспецифічного імунітету, Т-клітинного і гуморального імунітету не відзначено.

3. Проведення органозберігаючого лікування в поєднанні з інтерферонотерапією (Лафероном) супроводжується поступовою нормалізацією імунологічного статусу хворих з увеальною меланою: істотно підвищуються функціональна активність природних кілерів (на 25%), індекс трансформації моноцитів (на 20%), індекс визрівання макрофагів (на 20%), фагоцитарна активність моноцитів/макрофагів (на 86%); суттєво знижується напруженість гуморального імунітету (кількість В-клітин зменшилась на 33%, концентрація IgA знизилася на 34%) та дещо рівень Т-супресорів (на 13%).

4. Імунокорекція $\alpha 2b$ -інтерфероном (Лафероном) у хворих з увеальною меланою в процесі комплексної терапії сприяє підвищенню ефективності лікування: вірогідно зменшується кількість хворих з прогресивним ростом пухлини (від 47 до 16%) та збільшується швидкість резорбції пухлини, що попереджає виникнення таких ускладнень, як глаукома та увеїт.

5. Ступінь регресії увеальної меланоми під час проведення комплексної органозберігаючої терапії з використанням Лаферону має високу позитивну кореляцію ($r = 0,95$) з показником фагоцитарної активності моноцитів/макрофагів, що свідчить про доцільність використання цього показника для моніторингу і прогнозування ефективності комплексної терапії у хворих з увеальною меланою.

ЛІТЕРАТУРА

1. Char DH, Jerome I, Heberman RB. Cell mediated immunity to melanoma-associated antigens in patients with ocular malignant melanoma. *Amer J Ophthal* 1975; **79**: 812–5.
2. Терентьева ЛС, Вит ВВ, Шамбра ВВ и др. Отдаленные результаты комбинированного органосохранного лечения увеальных меланом. *Офтальм журн* 1995; (5–6): 294–7.
3. Бровкина АФ, Зарубей ГД. Об эффективности брахитерапии при увеальных меланомах. *Офтальм журн* 1993; (1): 1–4.
4. Likhvantseva VG. Immunocorrection and quality life in patients with disseminated uveal melanoma. In: *Abstr Int Congr Ocular Oncology*. Philadelphia, USA, 1999: 134.
5. Буйко АС, Сафроненкова ИА, Елагина ВА. Локальная микроволновая гипертермия в лечении увеальных меланом. В: Тез IX З'їзду офтальмоонкологів України, 1996: 352–3.

6. Frein IE, Potter P, Brachly LW, Longton WA. Brachytherapy in primary ocular tumors. *Semin Surg Oncol* 1997; **13**: 167–76.

7. Fung A, Lizzi F, Rosaco A. Synergistic brachytherapy and ultrasonic hypertermia of ocular melanoma. In: *Abstr Int Congr Ocular Oncology*. Philadelphia, USA, 1999: 4.

8. Гусев ГА. Применение иммуномодуляторов в комплексном лечении злокачественных опухолей органа зрения [Автореф дис ... канд мед наук]. Москва: НИИ глаз бол им. Гельмгольца, 1991. 24 с.

9. Балицкий КП, Воронцова АП, Лисняк ИА. Метастазирование опухолей. Патологические аспекты. Киев: Здоров'я, 1991. 200 с.

10. Былинский БТ, Володько НА, Шпарык ЯВ. Иммунологические механизмы естественной противоопухолевой резистентности. Киев: Наук думка, 1991. 245 с.

11. Бережная НМ. Стратегия выбора методов иммунологических исследований в клинике и подходы к иммунореабилитации системы иммунитета. *Имунол алергол* 1998; **1**: 35–46.

12. Waard-Siebienga, Creighton W, Kool I, Iager M. Effects of interferon alpha and gamma on human uveal melanoma cells in vitro. *British J Ophthalmol* 1995; **79**: 847–55.

13. Воронцова АП. Фармакологические свойства интерферона. В: Лаферон в лікуванні онкологічних та інфекційних захворювань. Рівне, 1996: 4–7.

14. Ванечкин ВВ, Бушуева НН, Дегтяренко ТВ, Усов НИ. Ускоренная первичная оценка иммунологического статуса организма. Одесса, 1990. 22 с.

15. Величко ЛН, Дегтяренко ТВ, Малецкий АП. Изменение фагоцитарной активности моноцитов/макрофагов у больных увеальной меланомой при комплексной терапии, включающей лаферон. *Офтальм журн* 1997; (5): 348–51.

16. Лакин ГФ. Биометрия. Москва: Высшая школа, 1990. 352 с.

17. Уманский ЮА, Пинчук ВГ. Лимфоциты и опухолевый рост. Киев: Наук думка, 1982. 253 с.

18. Котелянский ЭО. Изучение реакции бласттрансформации лимфоцитов в качестве критерия прогнозирования исхода лечения увеальных меланобластом. *Офтальм журн* 1986; (7): 407–9.

19. Терентьева ЛС, Вит ВВ, Котова АС, Малецкий АП. Вторичная глаукома при органосохранном лечении увеальных меланом. *Офтальм журн* 1993; (5–6): 265–9.

IMMUNOCORRECTION WITH $\alpha 2b$ -INTERFERON AS IMPORTANT COMPONENT IN THERAPY OF UVEAL MELANOMA

L.N. Velichko, V.V. Vit,
A.P. Maletskiy, E.I. Dragomiretska

Summary. Investigation of the functional activity of macrophages and natural killer cells as well as T-cell and humoral immune response in 88 patients with uveal melanoma has revealed the considerable functional damage of specific and natural non-specific immunity. Inclusion of IFN in traditional schedule of therapy of such patients allowed us to restore the functional activity of effector cells involved in natural antitumor resistance as well as to normalize T-cell and humoral immunity. The complex therapy with IFN has been shown to be advantageous in the treatment of uveal melanoma decreasing tumor progression rate, increasing tumor resorption rate, and preventing such complications as glaucoma and uveitis.

Key Words: uveal melanoma, recombinant $\alpha 2b$ -interferon, laferon, immunocorrection, non-specific immunity.