Національний інститут раку, Київ

ІМУНОЛОГІЧНІ КРИТЕРІЇ ПРОГНОЗУ ЕФЕКТИВНОСТІ АД'ЮВАНТНОЇ ІНТЕРФЕРОНОТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ПЕРВИННО-ЛОКАЛІЗОВАНУ МЕЛАНОМУ ШКІРИ

Ф.В. Фільчаков, К.С. Шуміліна, С.М. Кукушкіна, Г.Д. Льон, Л.Г. Югрінова, С.І. Коровін, М.М. Кукушкіна

Адреса:
Шуміліна Катерина Станіславівна
03022, Київ, вул. Ломоносова, 33/43
Національний інститут раку
Тел.: (044) 259-01-84
E-mail: labklimmun@i.ua

Ключові слова: *меланома шкіри, інтерферонотерапія, імунологічні критерії прогнозу ефективності лікування.*

Стандартом профілактики метастазів у хворих на первинно-локалізовану меланому шкіри (ПЛМ) залишається імунотерапія із застосуванням препаратів рекомбінантного інтерферону-α (ІФН-α). Проте, незважаючи на проведення багатьох рандомізованих контрольованих досліджень з використанням ІФН-α як ад'ювантної терапії, дотепер остаточно не з'ясовано, чи є виправданим призначення всім хворим на меланому шкіри ІФН-α, лікування яким супроводжується суттєвою токсичністю та є економічно обтяжливим. У даному дослідженні проведено імунологічний моніторинг хворих на ПЛМ в динаміці комбінованого лікування та встановлено, що імунологічними критеріями несприятливого прогнозу перебігу захворювання є зменшення абсолютної кількості CD25+-лімфоцитів у периферичній крові та зниження здатності Т-лімфоцитів продукувати фактор, що гальмує міграцію лейкоцитів. Слід очікувати, що використання цих імунологічних критеріїв при обстеженні пацієнтів з ПЛМ дозволить визначати індивідуальні особливості перебігу захворювання, прогнозувати відповідь організму на біотерапію і таким чином оптимізувати тактику їх лікування.

ВСТУП

Меланома шкіри вважається одним з найбільш агресивних онкологічних захворювань, для якого характерні короткі терміни ремісії та здатність метастазувати практично в усі органи і тканини. Тому запобігання розвитку метастазів є головною проблемою в терапії цієї категорії хворих. Тепер стандартом профілактики метастазів у хворих на первинно-локалізовану меланому (ПЛМ) шкіри залишається імунотерапія із застосуванням препаратів рекомбінантного інтерферону-α (ІФН-α) [1]. Незважаючи на проведення багатьох рандомізованих контрольованих досліджень з використанням ІФН-α як ад'ювантної терапії, отримано суперечливі результати щодо її терапевтичної ефективності. Згідно з даними 2 метааналізів, проведених за результатами відповідно 12 та 9 рандомізованих контрольованих досліджень, застосування ІФН-α забезпечує статистично вірогідне підвищення безрецидивної виживаності пацієнтів з меланомою високого ризику прогресування, водночас впливу на загальну виживаність не продемонстровано [2, 3]. Результати наступних рандомізованих контрольованих досліджень, які включали 1700 пацієнтів, також суперечливі щодо термінів загальної виживаності. За даними метааналізу, проведеного авторами [4], що включав результати 14 рандомізованих контрольованих досліджень (загалом — 8122 пацієнти), доведено позитивний вплив ІФН-α на безрецидивну та загальну виживаність хворих на меланому шкіри високого ризику. Виявлено статистично вірогідне підвищення безрецидивної виживаності та вірогідне зниження ризику смерті для пацієнтів, які отримували ІФН-α. Проте цей системний аналіз із залученням великої кількості пацієнтів не виявив залежності ефективності лікування від тривалості застосування та сумарної дози ІФН-α.

Така ситуація викликає постійні дискусії серед онкологів, чи є виправданим призначення всім хворим на меланому шкіри ІФН-α, застосування якого супроводжується значною токсичністю та є економічно обтяжливим. Існує об'єктивна необхідність визначення прогностичних критеріїв ефективності такої імунотерапії для відбору пацієнтів, які отримають найбільшу користь від неї в ад'ювантному режимі.

У той час як ІФН-α широко застосовують у схемах ад'ювантної терапії, роль і місце ІФН-γ у лікуванні хворих на меланому шкіри до цього часу залишаються малодослідженими, як і можливість його поєднання з ІФН-α. Дотепер не розроблено схем їх застосування, відсутні дані щодо

впливу на імунну систему та ефективності комбінованого лікування хворих на ПЛМ.

На нашу думку, визначення імунологічних критеріїв прогнозу ефективності комбінованого лікування та розробка на цій основі показань до застосування ІФН-α2b та ІФН-γ в ад'ювантному режимі у хворих на ПЛМ дозволить оптимізувати підходи до лікування цієї категорії пацієнтів, що дасть можливість уникнути ускладнень, характерних для тривалої терапії ІФН (втомлюваність, лихоманка, артралгія, анорексія, токсичний вплив на центральну нервову систему і печінку) та значно зменшити витрати на придбання дорогих препаратів.

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Характеристика хворих. У дослідження включено 40 хворих (віком від 31 до 72 років) з гістологічно підтвердженим діагнозом ПЛМ IB–IIC стадії, які надали письмову поінформовану згоду на участь у дослідженнях. Також обстежено 50 практично здорових людей (ПЗЛ) тієї самої вікової групи.

Шляхом рандомізації хворих розподілено на контрольну (20 осіб) та основну (20 осіб) групи. У хворих контрольної групи розпочато курс лікування рекомбінантним ІФН-α2b (підшкірно по 3 млн МО 3 рази на тиждень упродовж 12 міс) через 8–10 діб після хірургічного лікування. Пацієнти основної групи через 8–10 діб після операції отримували рекомбінантний ІФН-γ (підшкірно по 500 тис. МО через день, 5 ін'єкцій), після якого — курс лікування ІФН-α2b (підшкірно по 3 млн МО 3 рази на тиждень упродовж 12 міс).

За період спостереження зразки крові хворих досліджували в динаміці 4 рази: 1-й — безпосередньо перед оперативним втручанням; 2-й — через 8–10 діб після хірургічного лікування; 3-й — через 3 міс від початку курсу терапії ІФН-α2b; 4-й — після закінчення лікування.

Методи досліджень. Кількість лейкоцитів у периферичній крові та лейкоцитарну формулу визначали загальноприйнятим методом [5]. Фенотипічні характеристики лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) визначали методом проточної цитофлуориметрії [6, 7] з використанням моноклональних антитіл до CD3, CD19, CD4, CD8, CD16, HLA-DR, CD95, мічених флуоресцеїн-ізотіоцианатом («Сорбент», Росія), CD25, мічених фікоеритрин-цианіном-5, CD127, CD69, CD5, мічених фікоеритрином («Beckman Coulter», США), як описано авторами [8]. Підрахунки проводили на проточному цитофлуориметрі FACScan («Becton Dickinson», США) з використанням програми Cell Quest. Гейт популяції клітин встановлювали на підставі комбінації прямого та бокового світлорозсіювання і розміру клітин [9]. Під час аналізу результатів налічували 2×10^3 лімфоцитів при визначенні основних популяцій та 10×10^3 — при виявленні мінорних популяцій (регуляторних Т-лімфоцитів (Трег), В1- та В2-лімфоцитів).

Функціональну активність ЛПК досліджували в реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) з фітогемаглютиніном (ФГА) (10 мкг/мл) та виражали відсотком бласттрансформованих клітин (% БТК) [10], у цитотоксичному тесті (результат — цитотоксичний індекс (ЦІ) у відсотках) [6], у реакції гальмування міграції лейкоцитів (РГМЛ) із ФГА (10 мкг/мл) (результат виражали індексом міграції (ІМ)у відсотках) [11].

Визначення концентрації автоантитіл до тиреоїдної пероксидази (Ат-ТПО) і тиреоглобуліну (Ат-ТГ) в сироватці крові пацієнтів проводили згідно з інструкціями до відповідних наборів для імуноферментного аналізу (ІФА) («Алкор БиО», Росія). Облік результатів здійснювали, використовуючи напівавтоматичний ІФА-аналізатор «Stat FAX 303 +» (США).

Методи обробки результатів. Статистичну обробку отриманих даних проводили із використанням Excel (MS Office 2003, XP) та програми STATISTICA 6,0 (StatSoft Inc., США). Результати дослідження представляли у вигляді медіани та значень 10 та 90% квантилів у дужках. Для визначення вірогідності розбіжностей (p) показників незалежних груп застосовано критерій Манна — Вітні, показників групи в динаміці лікування — одновибірковий критерій Вілкоксона [12, 13]. Розбіжності оцінювали як вірогідні при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За час спостереження упродовж 12 міс від початку лікування у 2 з 20 хворих контрольної та у 3 з 20 пацієнтів основної групи розвинулися метастази в регіонарних лімфатичних вузлах і/або у віддалених органах ($p>0,05$). При цьому зміни імунологічних показників у хворих в динаміці комбінованого лікування мали певні особливості залежно від застосованої схеми інтерферонотерапії.

У пацієнтів контрольної групи після видалення первинної пухлини (2-й етап) зростає кількість лейкоцитів за рахунок збільшення чисельності нейтрофілів (табл. 1). Проте через 3 міс застосування ІФН-α2b (3-й етап) спостерігається лейкопенія з паличкоядерним нейтрофільозом. Посилюється зсув у лейкоцитарній формулі: зменшується відносна й абсолютна кількість лімфоцитів і збільшується відносна кількість моноцитів ($p<0,05$). Після закінчення курсу інтерферонотерапії кількість лейкоцитів залишається меншою порівняно з вихідним рівнем. При дослідженні не виявлено відмінностей між популяційним складом лімфоцитів у хворих цієї групи до лікування та у ПЗЛ. Після оперативного втручання спостерігається вірогідне зменшення абсолютної та відносної кількості В1-лімфоцитів ($CD19^+5^+$). Через 3 міс застосування ІФН-α2b зменшується абсолютний вміст Т-лімфоцитів ($CD3^+$), що зумовлює лімфоцитопенію ($p<0,05$). Необхідно зазначити, що зниження абсолютного вмісту Т-клітин відбувається переважно за рахунок цитотоксичних Т-лімфоцитів ($CD8^+$), що призводить до підвищення імунорегуляторного індексу. На цьому етапі дослідження суттєво підвищується відсоток Трег ($CD4^+25^{high}127^{low-neg}$). Спостерігаються зміни в субпопуляційному складі В-лімфоцитів ($CD19^+$), про що свідчить збільшення відносної кількості В1-клітин ($p<0,05$). Через 12 міс від початку терапії ІФН-α2b (4-й етап) відносна кількість Т-лімфоцитів є меншою за вихідне значення за рахунок зниження вмісту цитотоксичних Т-лімфоцитів ($p<0,05$). На цьому етапі дослідження вміст Трег в циркуляції залишається високим ($p<0,05$).

При визначенні впливу інтерферонотерапії на вміст активованих ЛПК хворих контрольної групи встановлено, що до початку лікування реєструється збільшення кількості активованих Т-хелперів із рецептором до інтерлейкіну-2 (ІЛ-2) ($CD4^+25^+$) ($p<0,05$). Відносний вміст лімфоцитів, що експресують HLA-DR-, CD95- та CD69-антигени, практично не відрізняється від такого у ПЗЛ. Після хірургічного лікування підвищений вміст $CD4^+25^+$-лімфоцитів зберігається. Через 3 міс застосування ІФН-α2b спостерігається збільшення відносної кількості $HLA\text{-}DR^+$- та $CD95^+$-лімфоцитів ($p<0,05$).

На тлі сполученого застосування ІФН-γ та ІФН-α2b у пацієнтів основної групи виявлено певні зміни в імунограмі (табл. 2). Як видно, після хірургічного лікування кількість лейкоцитів та їх складових у периферичній крові перебуває в межах значень ПЗЛ. Через 3 міс імунотерапії (3-й етап) суттєво зменшується загальна кількість лейкоцитів за рахунок зменшення кількості нейтрофілів. При цьому підвищується відносний та абсолютний вміст моноцитів, як і у хворих контрольної групи, але без розвитку лімфоцитопенії. Така тенденція залишається й після закінчення повного курсу інтерферонотерапії (4-й етап). При дослідженні популяційного складу лімфоцитів до лікування виявлено лише зниження вмісту В-лімфоцитів. Оперативне втручання (2-й етап) не призводить до значних змін у популяційному складі лімфоцитів. Після курсу ад'ювантної інтерферонотерапії зі сполученим застосуванням ІФН-γ та ІФН-α2b у хворих основної групи (4-й етап) відносний та абсолютний вміст основних популяцій та субпопуляцій лімфоцитів у циркуляції зберігається на вихідному рівні, за винятком збільшення відносної та абсолютної кількості Трег порівняно з вихідними значеннями та показником у ПЗЛ ($p<0,05$). Експресія на лімфоцитах активаційних маркерів суттєво не відрізняється від такої у хворих контрольної групи, проте має деякі особливості. Через 3 міс сполученої інтерферонотерапії спостерігається вірогідне збільшення відносної

Таблиця 1. Імунофенотип ЛПК у хворих на ПЛМ (контрольна група) в динаміці комбінованого лікування

Показники	Одиниці вимірювання	Хворі на ПЛМ, етапи обстеження				ПЗЛ
		1	2	3	4	
Лейкоцити	x10⁹/л	5,7 (4,4; 7,7)	6,4 (4,7; 8,8)[•]	4,6 (3,6; 7,0)[•, 1, 2]	4,8 (2,9; 6,4)	5,4 (4,5; 7,0)
Лімфоцити	%	26,5 (15; 45)[•]	22 (14; 34)[•]	22 (16; 44)[•]	20 (13; 34)[•]	33,5 (21,5; 46)
	x10⁹/л	1,50 (0,92; 2,78)	1,27 (0,90; 2,38)	1,28 (0,65; 1,87)[•]	1,28 (0,38; 1,61)[•]	1,77 (1,17; 2,54)
$CD3^+$	%	69,5 (59; 85)	69 (63; 84)	71 (58; 84)	61 (57; 85)[1]	72 (63; 79)
	x10⁹/л	0,99 (0,66; 1,94)	1,00 (0,73; 2,16)	1,01 (0,51; 1,55)[•, 2]	1,17 (0,24; 1,61)	1,29 (0,82; 1,93)
$CD19^+$	%	6,5 (3,5; 8,5)	6 (2,5; 10,6)	7,7 (3,2; 10,9)	6 (4,2; 14,7)[2]	6,9 (4,1; 10,1)
	x10⁹/л	0,08 (0,05; 0,22)	0,07 (0,04; 0,22)	0,11 (0,03; 0,17)	0,08 (0,05; 0,16)[•]	0,13 (0,08; 0,20)
$CD4^+$	%	44,5 (36; 56)	42 (34; 54)	46 (32; 56)	42 (34; 57)	42,5 (35; 48)
	x10⁹/л	0,65 (0,28; 1,25)	0,60 (0,42; 1,44)	0,59 (0,39; 0,95)	0,60 (0,18; 1,08)	0,71 (0,53; 1,06)
$CD8^+$	%	31,5 (18; 39)	30 (19; 38)	25 (17; 34)[•, 1]	21 (15; 28)[•, 1, 2, 3]	30 (19; 40)
	x10⁹/л	0,48 (0,24; 0,87)	0,47 (0,27; 0,79)	0,37 (0,15; 0,68)[•, 1, 2]	0,28 (0,07; 0,49)[•, 1, 2]	0,54 (0,30; 0,79)
CD4/CD8	ум. од.	1,31 (1,00; 3,05)	1,31 (0,97; 2,89)	1,66 (1,38; 2,38)[2, 3]	2,11 (1,29; 3,80)	1,4 (0,92; 2,47)
$CD16^+$	%	20 (10; 34)	19 (11; 29)	19 (14; 27)[3]	26 (10; 29)	20 (14; 32)
	x10⁹/л	0,33 (0,14; 0,58)	0,31 (0,21; 0,63)	0,30 (0,12; 0,50)	0,21 (0,11; 0,50)	0,34 (0,24; 0,55)
$CD4^+25^{hi}\ 127^{low}$	%	3,5 (1,5; 4,3)	3,2 (2,2; 4,2)	4,2 (2,1; 5,4)[•, 1, 2, 3]	3,4 (2,5; 7,6)[•]	2,8 (1,9; 3,7)
	x10⁹/л	0,060 (0,020; 0,086)	0,044 (0,030; 0,110)	0,053 (0,026; 0,088)	0,041 (0,024; 0,102)	0,046 (0,028; 0,085)
$CD19^+5^+$	%	2,4 (1,4; 4,3)	1,9 (0,9; 4,2)[•]	4,8 (0,8; 7,2)[•, 1, 2, 3]	2,8 (1,1; 7,4)[2]	2,8 (1,7; 4,2)
	x10⁹/л	0,037 (0,013; 0,070)	0,028 (0,011; 0,091)[•]	0,055 (0,015; 0,103)[1]	0,030 (0,018; 0,070)	0,05 (0,03; 0,081)
$CD19^+5^-$	%	4 (2; 6)	3,2 (1,6; 6,1)	3,8 (0,9; 9,1)	3,6 (2,4; 7,3)	4,3 (2,2; 6,6)
	x10⁹/л	0,065 (0,037; 0,110)	0,047 (0,023; 0,111)	0,052 (0,016; 0,111)	0,049 (0,029; 0,079)	0,071 (0,042; 0,129)
$HLA\text{-}DR^+$	%	22,5 (16; 42)	20 (16; 34)	25 (17; 45)[•]	21 (17; 44)	20 (15; 27)
	x10⁹/л	0,32 (0,25; 0,69)	0,36 (0,16; 0,75)	0,32 (0,17; 0,56)	0,30 (0,24; 0,77)	0,34 (0,24; 0,57)
$CD95^+$	%	56,5 (40; 78)	54 (42; 73)	63 (47; 73)[•]	55 (38; 80)	54 (35; 65)
	x10⁹/л	0,87 (0,71; 1,50)	0,83 (0,60; 1,49)	0,81 (0,41; 1,44)	0,73 (0,33; 1,10)[•]	0,93 (0,59; 1,40)
$CD25^+$	%	24 (16; 41)	27 (19; 36)[•]	27 (19; 43)[•]	26 (17; 48)[•]	23 (15; 28)
	x10⁹/л	0,48 (0,21; 0,70)	0,42 (0,26; 0,65)	0,35 (0,21; 0,58)	0,28 (0,15; 0,89)	0,36 (0,22; 0,65)
$CD4^+25^+$	%	19 (6; 37)[•]	19 (13; 32)[•]	19 (16; 31)[•]	17 (15; 43)[•]	14,5 (11; 18)
	x10⁹/л	0,34 (0,08; 0,51)	0,30 (0,17; 0,57)	0,25 (0,17; 0,44)[2]	0,25 (0,09; 0,80)	0,26 (0,17; 0,39)
$CD69^+$	%	26 (19; 59)	28 (11; 34)	33 (27; 39)	-	27 (18; 37)
	x10⁹/л	0,47 (0,19; 0,84)	0,48 (0,19; 0,77)	0,29 (0,19; 0,55)	-	0,46 (0,23; 0,61)
$CD3^+69^+$	%	14 (10; 27)	15,5 (7,5; 18)	16,5 (12; 19)	-	12 (9; 19)
	x10⁹/л	0,21 (0,08; 0,49)	0,24 (0,09; 0,42)	0,14 (0,08; 0,30)	-	0,25 (0,13; 0,32)
$CD8^+69^+$	%	12 (6; 21)	12,5 (4,5; 19,5)	9,5 (4; 16)	-	11 (5; 14)
	x10⁹/л	0,16 (0,07; 0,35)	0,22 (0,05; 0,3)	0,08 (0,03; 0,26)	-	0,18 (0,10; 0,28)

Таблиця 2. Імунофенотип ЛПК у хворих на ПЛМ (основна група) в динаміці комбінованого лікування

Показники	Одиниці вимірювання	Хворі на ПЛМ, етапи обстеження				ПЗЛ
		1	2	3	4	
Лейкоцити	x10⁹/л	5,0 (3,4; 7,1)	5,5 (4,5; 8,5)	4,9 (2,8; 6,1)[1, 2, 3]	4,2 (3,7; 5,0)[•]	5,4 (4,5; 7,0)
Лімфоцити	%	26 (16; 44)	27,5 (17,5; 44)	32,8 (20,5; 42)[1]	35 (19; 55)[1]	33,5 (21,5; 46)
	x10⁹/л	1,33 (0,82; 1,84)	1,56 (0,89; 2,09)	1,32 (0,98; 1,99)	1,50 (0,78; 2,31)	1,77 (1,17; 2,54)
$CD3^+$	%	72 (68; 81)	76,0 (68; 82)	69,5 (59; 83,5)	74 (57; 81)	72 (63;79)
	x10⁹/л	1,22 (0,56; 1,63)	1,39 (0,50; 2,18)	1,10 (0,89; 1,69)	1,31 (0,56; 2,00)	1,29 (0,82;1,93)
$CD19^+$	%	5,7 (4; 8,8)	6,6 (2,7; 12)	6,9 (4; 11,7)	5,5 (4; 7,5)	6,9 (4,1; 10,1)
	x10⁹/л	0,09 (0,05; 0,12)[•]	0,11 (0,06; 0,18)	0,11 (0,05; 0,24)	0,10 (0,05; 0,12)	0,13 (0,08; 0,20)
$CD4^+$	%	46 (36; 56)	45,5 (36; 59)	43,5 (36,5; 61)	42 (37; 64)	42,5 (35; 48)
	x10⁹/л	0,72 (0,41; 1,10)	0,88 (0,40; 1,29)	0,74 (0,50; 1,28)	0,67 (0,41; 1,31)	0,71 (0,53; 1,06)
$CD8^+$	%	29 (18; 37)	26,5 (19; 37)	26,5 (16; 37,5)	23 (16; 32)	30 (19; 40)
	x10⁹/л	0,46 (0,19; 0,82)	0,44 (0,22; 0,83)	0,38 (0,29; 0,62)	0,46 (0,16; 0,57)[3]	0,54 (0,30; 0,79)
CD4/CD8	ум. од.	1,44 (0,95; 2,50)	1,56 (1,13; 2,94)	1,94 (1,05; 3,17)	2,30 (1,19; 3,37)	1,4 (0,92; 2,47)
$CD16^+$	%	22 (14; 40)	20,5 (9; 31)	20,5 (9,5; 39,5)	20 (11; 36)	20 (14; 32)
	x10⁹/л	0,34 (0,22; 0,58)	0,35 (0,17; 0,64)	0,40 (0,13; 0,57)	0,33 (0,19; 0,61)	0,34 (0,24; 0,55)
$CD4^+25^{hi}\ 127^{low}$	%	2,9 (1,9; 4,7)	3,3 (2,2; 5,1)	4,3 (2,5; 8,3)[•, 1, 3]	5,3 (3,6; 6,8)[•, 1]	2,8 (1,9; 3,7)
	x10⁹/л	0,044 (0,022; 0,066)	0,059 (0,019; 0,102)	0,064 (0,032; 0,191)[1]	0,076 (0,061; 0,131)[•, 1]	0,046 (0,028; 0,085)
$CD19^+5^+$	%	2,3 (1,2; 3,9)	2,7 (1,1; 4,8)	2,7 (1,8; 8,2)	2 (1,8; 3,2)	2,8 (1,7; 4,2)
	x10⁹/л	0,032 (0,021; 0,045)[•]	0,038 (0,017; 0,088)	0,047 (0,023; 0,160)	0,035 (0,018; 0,054)	0,05 (0,03; 0,081)
$CD19^+5^-$	%	4,0 (3,1; 5,4)	3,8 (1,5; 5,7)	3,4 (1,8; 5,8)	3,2 (2,3; 4,1)	4,3 (2,2; 6,6)
	x10⁹/л	0,047 (0,035; 0,081)	0,055 (0,034; 0,098)	0,049 (0,019; 0,120)	0,057 (0,031; 0,070)	0,071 (0,042; 0,129)
$HLA\text{-}DR^+$	%	22 (14; 28)	24 (15; 29)	23 (18; 32,5)[•, 1, 3]	28 (18; 31)[•, 1]	20 (15; 27)
	x10⁹/л	0,32 (0,19; 0,51)	0,36 (0,22; 0,68)	0,44 (0,22; 0,79)	0,39 (0,29; 0,69)	0,34 (0,24; 0,57)
$CD95^+$	%	55 (47; 70)	60,5 (43; 75)[•]	55,5 (43,5; 64)[K]	54 (41; 70)	54 (35; 65)
	x10⁹/л	0,84 (0,64; 1,41)	1,09 (0,64; 1,49)	0,90 (0,52; 1,47)	1,04 (0,53; 1,23)	0,93 (0,59; 1,40)
$CD25^+$	%	23,5 (20; 30)	27 (22; 33)[•]	25 (11; 33)	34 (28; 43)[•, 1]	23 (15; 28)
	x10⁹/л	0,37 (0,23; 0,53)	0,44 (0,23; 0,77)	0,34 (0,17; 0,76)	0,63 (0,34; 0,79)	0,36 (0,22; 0,65)
$CD4^+25^+$	%	18 (12; 24)[•]	22 (14; 25)[•]	20 (11; 26,5)[•]	28 (23; 32)[•, 1]	14,5 (11; 18)
	x10⁹/л	0,28 (0,17; 0,48)	0,37 (0,18; 0,68)	0,30 (0,18; 0,56)	0,54 (0,25; 0,69)[•, 1]	0,26 (0,17; 0,39)
$CD69^+$	%	28,5 (18; 52)	33 (24; 53)[•]	34 (22; 49)[•]	-	27 (18; 37)
	x10⁹/л	0,41 (0,26; 0,52)	0,50 (0,40; 0,90)[1]	0,55 (0,31; 0,78)	-	0,46 (0,23; 0,61)
$CD3^+69^+$	%	13 (6; 21)[K]	18,5 (12; 22)[•, 1]	15 (11; 27)[•]	-	12 (9; 19)
	x10⁹/л	0,17 (0,08; 0,30)[•]	0,28 (0,19; 0,35)[1]	0,28 (0,16; 0,43)	-	0,25 (0,13; 0,32)
$CD8^+69^+$	%	9,5 (5; 13)	11 (7; 20)	12 (4; 17)	-	11 (5; 14)
	x10⁹/л	0,10 (0,07; 0,22)[•]	0,16 (0,12; 0,26)[1]	0,21 (0,06; 0,28)	-	0,18 (0,10; 0,28)

Примітки:

[1]розбіжність при порівнянні з показником на 1-му етапі обстеження статистично вірогідна ($p<0,05$);

[2]розбіжність при порівнянні з показником на 2-му етапі обстеження статистично вірогідна ($p<0,05$);

[3]розбіжність при порівнянні з показником на 3-му етапі обстеження статистично вірогідна ($p<0,05$);

[•]розбіжність при порівнянні з показником ПЗЛ статистично вірогідна ($p<0,05$);

[K]розбіжність при порівнянні з показником хворих контрольної групи на відповідному етапі обстеження статистично вірогідна ($p<0,05$).

кількості HLA-DR$^+$- та CD69$^+$-лімфоцитів на тлі незмінної кількості активованих Т-хелперів та CD95$^+$-лімфоцитів. Після закінчення курсу ад'ювантної інтерферонотерапії у пацієнтів основної групи реєструється збільшення відносної кількості HLA-DR$^+$- та CD4$^+$25$^+$-лімфоцитів ($p<0,05$), а частка CD95$^+$-лімфоцитів залишається незмінною.

Мітоген-індукована проліферація ЛПК у хворих контрольної групи є зниженою на початковому етапі досліджень (БТК становить 13,5 (2,0; 35,0)%) та в процесі інтерферонотерапії (відповідно на 3-му та 4-му етапах 6,0 (1,0; 23,0)% та 9,0 (5,0; 25,5)%) порівняно з показником у ПЗЛ (32,0 (8,0; 56,0)%; $p<0,02$). У пацієнтів основної групи знижений відносно фізіологічних значень відсоток БТК зареєстровано до початку лікування та після курсу терапії ІФН-γ. Важливо зазначити, що у хворих основної групи через 3 міс від початку застосування ІФН-α2b спостерігається відновлення до норми здатності лімфоцитів відповідати на мітоген *in vitro* (30,0 (5,0; 67,0)%); на такому рівні вона зберігається й після завершення лікування (38,0 (5,0; 64,5)%), вірогідно перевищуючи значення в контрольній групі (9,0 (5,0; 25,5)%; $p<0,05$).

У хворих контрольної групи до лікування виявлено вірогідне зниження ЦІ лімфоцитів (11,0 (0,7; 40,6)% проти 25,7 (13,3; 58,3)% у ПЗЛ; $p<0,05$), яке не усувається хірургічним видаленням первинної пухлини (2-й етап). Імунотерапія ІФН-α2b упродовж 3 міс (3-й етап) сприяла відновленню цитотоксичності лімфоцитів (ЦІ становить 19,5 (5,1; 45,5)%) до значення у ПЗЛ. Така тенденція залишається також після закінчення повного курсу ад'ювантної інтерферонотерапії (ЦІ становить 18,8 (4,9; 47,4)%). Сполучене застосування в ад'ювантному режимі рекомбінантних ІФН-γ та ІФН-α2b у пацієнтів основної групи суттєво не впливає на цитотоксичну активність лімфоцитів, що знаходиться в межах показника ПЗЛ (ЦІ до лікування — 23,6 (7,5; 56,0)%, після закінчення — 18,5 (14,9; 36,8)%).

Оцінка активності РГМЛ показала, що у пацієнтів контрольної групи на етапах комбінованого лікування ІМ лейкоцитів залишається незмінним і не відрізняється від показника у ПЗЛ (до лікування — 72,5 (34,0; 122,0)%, після закінчення — 64,0 (47,0; 94,0)%), у ПЗЛ — 76,0 (50,0; 91,0)%; $p>0,05$). Водночас ІМ у хворих основної групи після курсу інтерферонотерапії препаратом ІФН-γ вірогідно знижується порівняно з показником у ПЗЛ (62,0 (42,0; 76,0)%; $p<0,05$), але не відрізняється від вихідних значень (67,0 (45,0; 122,0)%). Через 3 міс від початку інтерферонотерапії такі зміни нівелюються: ІМ підвищується до 89,0 (53,0; 90,0)% і залишається таким до кінця спостереження.

Таким чином, застосування обох схем інтерферонотерапії в ад'ювантному режимі супроводжується розвитком лейкоцитопенії з тією різницею, що сполучене введення ІФН-γ та ІФН-α2b запобігає розвитку лімфоцитопенії, якої не вдається уникнути при проведенні ад'ювантної монотерапії ІФН-α2b. Обидві схеми інтерферонотерапії суттєво не впливають на популяційний склад ЛПК та не запобігають зростанню чисельності Трег в циркуляції. Проте сполучене застосування ІФН-γ та ІФН-α2b сприяє збереженню абсолютної кількості цитотоксичних Т-лімфоцитів, а на тлі ад'ювантної монотерапії ІФН-α2b зростає частка В1-клітин. Сполучене застосування ІФН-γ та ІФН-α2b призводить до збільшення відносної кількості активованих HLA-DR$^+$-клітин та не позначається на вмісті CD95$^+$-лімфоцитів. На відміну від цього, під впливом монотерапії ІФН-α2b підвищується відносний вміст HLA-DR$^+$- та CD95$^+$-лімфоцитів тільки упродовж перших 3 міс застосування з поступовим поверненням їх кількості до вихідного рівня після завершення курсу ІФН-α2b. Обидві схеми інтерферонотерапії суттєво не впливають на підвищений вміст активованих Т-хелперів у периферичній крові. Водночас сполучене застосування ІФН-γ та ІФН-α2b сприяє відновленню до норми здатності лімфоцитів відповідати на мітоген *in vitro*, рівень якої після завершення курсу лікування вірогідно перевищує значення в контрольній групі ($p<0,05$). Жодна із застосованих схем інтерферонотерапії не має вираженого впливу на цитотоксичну активність ЛПК та здатність лімфоцитів продукувати фактор, що гальмує міграцію лейкоцитів.

У зв'язку з тим, що суттєвої різниці в частоті метастазування при застосуванні різних схем інтерферонотерапії не виявлено, для подальшого аналізу з метою визначення прогностичних критеріїв ефективності комбінованого лікування хворих контрольної та основної груп об'єднано на етапі до призначення інтерферонотерапії в одну групу (40 пацієнтів) та розподілено на підгрупи залежно від наявності або відсутності метастазів, що розвинулися упродовж 12 міс від початку лікування (5 та 35 хворих відповідно). У результаті статистичної обробки та аналізу досліджуваних показників при розподілі пацієнтів у такий спосіб виявлено наступне (табл. 3).

Як видно з даних табл. 3, у хворих до призначення інтерферонотерапії, що відповідає 8–10-й добі після хірургічного лікування, кількість лейкоцитів та абсолютний вміст ЛПК перебувають у межах фізіологічної норми. При цьому спостерігається відносна лімфоцитопенія зі зменшенням абсолютної кількості В-лімфоцитів ($p<0,05$), що може бути зумовлено особливостями перебігу післяопераційного періоду. Популяційний та субпопуляційний склад ЛПК відповідає такому у ПЗЛ, окрім підвищеного відносного вмісту Трег ($p<0,05$), що є характерним для пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями, у тому числі з меланомою шкіри [14].

Через 3 міс інтерферонотерапії у хворих з досягнутим профілактичним ефектом кількість лейкоцитів суттєво зменшується відносно вихідного значення, але зберігається на рівні фізіологічної норми. При цьому загальний вміст лімфоцитів, у тому числі популяції В-лімфоцитів, відновлюється. Популяційний склад ЛПК зберігається в межах фізіологічної норми, проте відносна кількість CD8$^+$-лімфоцитів значно зменшується порівняно з вихідними даними, що позначається на рівні імунорегуляторного індексу, який помітно зростає відносно такого до застосування інтерферонотерапії ($p<0,05$). Така динаміка зміни вмісту цитотоксичних Т-лімфоцитів відбувається на тлі підвищеного рівня Трег ($p<0,05$).

У хворих з прогресуванням захворювання на тлі інтерферонотерапії також спостерігається відновлення загальної кількості лімфоцитів та абсолютної кількості В-лімфоцитів у периферичній крові зі збереженням популяційного складу на рівні фізіологічної норми. Суттєвої зміни даних показників у динаміці не виявлено.

Отже, вміст лімфоцитів та їх популяцій у периферичній крові хворих на ПЛМ не зазнає особливих змін упродовж перших 3 міс ад'ювантної інтерферонотерапії та не залежить від її ефективності, що робить недоцільним розгляд цих показників як лабораторних критеріїв несприятливого перебігу захворювання.

Після завершення курсу інтерферонотерапії (4-й етап)у хворих зі сприятливим перебігом захворювання кількість лейкоцитів зменшується ще більше відносно вихідного значення та показника у ПЗЛ ($p<0,05$). Проте це не позначається на вмісті лімфоцитів та їх популяцій, кількість яких практично не змінюється й знаходиться в межах фізіологічної норми, за винятком В-лімфоцитів, чисельність яких значно збільшується порівняно з вихідним значенням. Навпаки, на цьому етапі обстеження не встановлено особливих відхилень цих показників від вихідних значень та фізіологічної норми.

Встановлений авторами [15, 16] зв'язок між несприятливим перебігом захворювання та підвищенням вмісту Трег у периферичній крові пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями, зокрема у хворих на меланому шкіри, на тлі високодозової інтерферонотерапії [17] нашими даними не підтверджується. Ад'ювантна інтерферонотерапія за вищенаведеними схемами упродовж 12 міс не нормалізує підвищений вміст Трег в циркуляції. Крім того, в умовах даного дослідження ефективність інтерферонотерапії не позначається на рівні Трег у периферичній крові хворих на ПЛМ. Таку розбіжність можна пояснити застосуванням низькодозового режиму терапії та відносно невеликим строком спостереження за хворими, залученими до нашого дослідження.

Аналіз вмісту активованих лімфоцитів ($CD25^+$-, $HLA\text{-}DR^+$- та $CD95^+$-клітин) у периферичній крові хворих на ПЛМ залежно від ефективності профілактичного курсу показав, що до призначення інтерферонотерапії (2-й етап) досліджувані показники знаходяться в межах фізіологічної норми, за винятком збільшення відносної кількості $CD4^+25^+$-лімфоцитів ($p<0,05$) (див. табл. 3). Через 3 міс від початку інтерферонотерапії (3-й етап) у хворих зі сприятливим перебігом захворювання відбувається зростання відносного вмісту $HLA\text{-}DR^+$-лімфоцитів ($p<0,05$). На відміну від цього у пацієнтів з прогресуванням захворювання їх вміст суттєво не змінюється, проте спостерігається зменшення абсолютної кількості $CD25^+$-клітин у циркуляції ($p<0,05$). Рівень $CD4^+25^+$-лімфоцитів у хворих, незалежно від ефективності лікування, залишається підвищеним.

Отже, зміни вмісту активованих ЛПК хворих на ПЛМ, а саме $CD25^+$- та $HLA\text{-}DR^+$-лімфоцитів, можуть відображати приховані процеси дисемінації меланоми. При проведенні кореляційного аналізу встановлено, що між абсолютною кількістю $CD25^+$-лімфоцитів та розвитком метастазів меланоми існує суттєва зворотна залежність ($r=-0,325$; $p<0,05$). На відміну від цього між відносною кількістю $HLA\text{-}DR^+$-лімфоцитів та ефективністю інтерферонотерапії зв'язку не виявлено ($r=-0,060$; $p>0,05$).

Після завершення інтерферонотерапії (4-й етап) у хворих з досягнутим профілактичним ефектом підвищений рівень $HLA\text{-}DR^+$-лімфоцитів зберігається (див. табл. 3). Крім того, реєструється зменшення абсолютної кількості $CD95^+$-лімфоцитів у циркуляції ($p<0,05$). У пацієнтів з прогресуванням захворювання спостерігається відновлення абсолютного вмісту $CD25^+$-лімфоцитів до такого, як у ПЗЛ. На фоні зростання відносного вмісту $CD25^+$-лімфоцитів у хворих обох підгруп зберігається підвищений рівень $CD4^+25^+$-лімфоцитів ($p<0,05$).

При аналізі показників функціональної активності лімфоцитів (табл. 4) встановлено, що цитотоксична активність не залежить від особливостей перебігу захворювання й не зазнає суттєвих змін у динаміці лікування. Пригнічена до лікування мітоген-індукована відповідь лімфоцитів у пацієнтів зі сприятливим перебігом захворювання зберігається на такому рівні упродовж усього терміну лікування, а у хворих із прогресуванням пухлинного процесу цей показник через 12 міс відновлюється до рівня у ПЗЛ. Із цим узгоджуються результати дослідження здатності лімфоцитів продукувати фактор, що гальмує міграцію лейкоцитів у відповідь на ФГА. Як видно з даних табл. 4, у хворих зі сприятливим перебігом захворювання ІМ не зазнає суттєвих змін у динаміці інтерферонотерапії та відповідає такому в ПЗЛ. На відміну від цього у пацієнтів із прогресуванням захворювання через 3 міс інтерферонотерапії спостерігається вірогідне зростання ІМ, що свідчить про пригнічення секреції цього фактора Т-лімфоцитами.

Виходячи з цього, можна припустити, що особливості мітоген-індукованої відповіді лімфоцитів хворих у РБТЛ та РГМЛ відображають характер перебігу захворювання на тлі інтерферонотерапії. За допомогою кореляційного аналізу така залежність підтверджена для ІМ ($r=0,451$; $p<0,05$) і, навпаки, чисельність БТК не залежить від ефективності лікування ($r=-0,089$; $p>0,05$).

У науковій літературі є поодинокі дані щодо проспективного аналізу наявності автоантитіл або автоімунних порушень у хворих на меланому шкіри, що отримують ад'ювантну терапію ІФН-α2b. Зокрема, в дослідженні [18] показано, що поява автоантитіл або автоімунних проявів через 3 міс від початку інтерферонотерапії спостерігається у чверті пацієнтів, що пов'язано з по-

Таблиця 3. Імунофенотип ЛПК у хворих на ПЛМ залежно від ефективності комбінованого лікування

Показники	Одиниці вимірювання	ПЗЛ	Хворі на ПЛМ, етапи обстеження				
			До інтерферонотерапії (після видалення пухлини)	Зі сприятливим перебігом захворювання		Із несприятливим перебігом захворювання	
				Через 3 міс інтерферонотерапії	Через 12 міс інтерферонотерапії	Через 3 міс інтерферонотерапії	Через 12 міс інтерферонотерапії
Лейкоцити	x 10^9/л	5,4 (4,5; 7,0)	5,9 (4,7; 8,2)	4,7 (3,6; 6,4)*	4,2 (3,1; 8,0)˙, *	4,8 (2,6; 8,5)	5,7 (5,0; 6,4)
Лімфоцити	%	33,3 (21,8; 45,3)	29,5 (17,0; 37,5)˙	36,5 (18,5; 48,0)*	34,3 (19,5; 59,0)	26,5 (21,0; 55,0)	31,5 (29,0; 34,0)
	x 10^9/л	1,73 (1,17; 2,56)	1,55 (1,08; 2,71)	1,66 (0,69; 2,30)	1,69 (0,70; 2,48)	1,35 (0,76; 2,25)	1,78 (1,70; 1,86)
$CD3^+$	%	72,0 (63,0; 79,0)	73,0 (63,0; 84,0)	69,0 (53,0; 84,0)	61,0 (57,0; 81,0)	70,0 (66,0; 83,0)	72,0 (68,0; 76,0)
	x 10^9/л	1,29 (0,82; 1,93)	1,22 (0,69; 1,80)	1,17 (0,51; 1,79)	1,17 (0,40; 2,00)	0,89 (0,63; 1,55)	1,28 (1,17; 1,41)
$CD4^+$	%	42,5 (35,0; 48,0)	43,0 (34,0; 57,0)	45,0 (32,0; 63,0)	42,0 (34,0; 64,0)	44,0 (40,0; 59,0)	47,0 (37,0; 57,0)
	x 10^9/л	0,71 (0,53; 1,06)	0,63 (0,43; 1,27)	0,66 (0,39; 1,45)	0,60 (0,27; 1,31)	0,59 (0,43; 0,95)	0,84 (0,63; 1,06)
$CD8^+$	%	30,0 (19,0; 40,0)	28,0 (19,0; 37,0)	25,0 (15,0; 37,0)*	21,0 (16,0; 28,0)	27,0 (23,0; 31,0)	21,0 (15,0; 27,0)
	x 10^9/л	0,54 (0,30; 0,79)	0,44 (0,27; 0,79)	0,47 (0,15; 0,68)	0,33 (0,13; 0,57)	0,36 (0,18; 0,68)	0,37 (0,28; 0,46)
CD4/CD8	ум. од.	1,40 (0,92; 2,47)	1,47 (1,12; 2,90)	1,88 (0,89; 3,47)*	2,11 (1,28; 3,37)	1,63 (1,29; 2,56)	2,59 (1,37; 3,8)
$CD16^+$	%	20,0 (14,0; 32,0)	20,0 (15,0; 39,0)	21,0 (14,0; 44,0)	26,0 (11,0; 33,0)	17,0 (14,0; 35,0)	27,5 (19,0; 36,0)
	x 10^9/л	0,34 (0,24; 0,55)	0,36 (0,22; 0,63)	0,34 (0,16; 0,70)	0,32 (0,18; 0,50)	0,38 (0,12; 0,44)	0,48 (0,35; 0,61)
$CD19^+$	%	6,9 (4,1; 10,1)	5,9 (2,7; 9,5)	7,8 (3,6; 14,0)	5,7 (4,3; 14,7)*	6,0 (3,2; 9,4)	6,2 (5,2; 7,3)
	x 10^9/л	0,13 (0,08; 0,20)	0,08 (0,05; 0,18)˙	0,11 (0,05; 0,21)	0,10 (0,05; 0,16) *	0,11 (0,02; 0,14)	0,11 (0,10; 0,12)
$CD4^+25^{hi}$	%	2,8 (1,9; 3,7)	3,7 (2,2; 5,0)˙	4,3 (2,1; 5,8)˙	3,4 (2,5; 6,8)˙	4,0 (2,9; 4,7)˙	4,1 (3,6; 4,6)˙
127^{low}	x 10^9/л	0,05 (0,03; 0,09)	0,08 (0,03; 0,10)	0,08 (0,05; 0,10)˙	0,05 (0,02; 0,13)	0,06 (0,04; 0,09)	0,07 (0,06; 0,08)
$CD25^+$	%	23,0 (15,0; 28,0)	26,0 (16,0; 33,0)	25,0 (19,0; 31,0)	32,0 (17,0; 43,0)˙	23,0 (22,0; 27,0)	38,0 (28,0; 48,0)˙
	x 10^9/л	0,36 (0,22; 0,65)	0,37 (0,26; 0,53)	0,40 (0,21; 0,50)	0,34 (0,18; 0,83)	0,33 (0,30; 0,34)˙, *	0,68 (0,48; 0,89)
$CD4^+25^+$	%	14,5 (11,0; 18,0)	18,0 (15,0; 29,0)˙	19,0 (9,0; 30,0)˙	25,0 (15,0; 34,0)˙	23,0 (19,0; 31,0)˙	33,0 (23,0; 43,0)˙
	x 10^9/л	0,26 (0,17; 0,39)	0,33 (0,20; 0,46)	0,29 (0,15; 0,44)	0,25 (0,12; 0,69)	0,27 (0,23; 0,70)	0,59 (0,39; 0,80)˙
$HLA\text{-}DR^+$	%	20,0 (15,0; 27,0)	23,0 (14,0; 34,0)	24,0 (16,0; 48,0)˙, *	29,0 (13,0; 44,0)˙, *	25,0 (17,0; 31,0)	26,0 (21,0; 31,0)
	x 10^9/л	0,34 (0,24; 0,57)	0,36 (0,22; 0,67)	0,43 (0,17; 0,79)	0,31 (0,21; 0,69)	0,30 (0,19; 0,56)	0,46 (0,39; 0,53)
$CD95^+$	%	54,0 (35,0; 65,0)	59,0 (44,0; 75,0)	59,0 (42,0; 73,0)	49,0 (38,0; 58,0)	55,0 (46,0; 91,0)	60,0 (59,0; 61,0)
	x 10^9/л	0,93 (0,59; 1,40)	0,90 (0,64; 1,31)	0,90 (0,41; 1,56)	0,70 (0,39; 1,21) ●	0,69 (0,61; 1,44)	1,00 (1,04; 1,10)

Примітки:
*розбіжність при порівнянні з показником до лікування статистично вірогідна ($p<0,05$);
˙розбіжність при порівнянні з показником практично здорових людей статистично вірогідна ($p<0,05$).

Таблиця 4. Функціональна активність ЛПК у хворих на ПЛМ залежно від ефективності комбінованого лікування

Показники	ПЗЛ	Хворі на ПЛМ, етапи обстеження				
		До інтерферонотерапії (після видалення пухлини)	Зі сприятливим перебігом захворювання		З несприятливим перебігом захворювання	
			Через 3 міс інтерферонотерапії	Через 12 міс інтерферонотерапії	Через 3 міс інтерферонотерапії	Через 12 міс інтерферонотерапії
ЦІ, %	25,7 (13,3; 58,3)	19,3 (5,2; 48,5)	18,7 (5,1; 51,6)	19,8 (8,2; 47,4)	30,6 (19,5; 58,7)	27,7 (17,1; 38,4)
БТК, %	32,0 (8,0; 59,0)	16,0 (1,0; 59,5)˙	19,5 (5,0; 67,0)˙	10,0 (5,0; 64,5)˙	16,0 (1,0; 48,0)	31,2 (8,0; 54,5)
ІМ, %	76,0 (50,0;91,0)	70,5 (48,0; 99,0)	81,0 (53,0; 98,0)	64,0 (41,0; 94,0)	90,0 (90,0; 90,0)˙	86,5 (83,0; 90,0)

Примітка: ˙розбіжність при порівнянні з показником ПЗЛ статистично вірогідна ($p<0,05$).

Таблиця 5. Вміст антитиреоїдних антитіл у хворих на ПЛМ залежно від ефективності комбінованого лікування

Показники	Одиниці вимірювання	ПЗЛ	Хворі на ПЛМ, етапи обстеження		
			До інтерферонотерапії (після видалення пухлини)	Через 3 міс інтерферонотерапії	
				Хворі зі сприятливим перебігом захворювання	Хворі з несприятливим перебігом захворювання
Ат-ТПО	од./мл	0–30	19,3 (1,0; 71,8)	26,7 (0,90; 205,0)	3,8 (0,1; 315,8)
Ат-ТГ	од./мл	0–65	5,8 (1,6; 33,4)	10,0 (6,3; 35,3)	9,8 (0,5; 562,1)

кращенням як безрецидивної, так і загальної виживаності. Простежено тенденцію до більш частого розвитку автоімунітету в пацієнтів, що отримують ІФН-α2b упродовж 1 року, порівняно з тими, що отримують його упродовж лише 4 тиж. Найчастіше виявлялися Ат-ТГ, їх мали 22% пацієнтів.

У нашому дослідженні не виявлено залежності вмісту антитиреоїдних антитіл (Ат-ТПО та Ат-ТГ) від ефективності лікування через 3 міс інтерферонотерапії (табл. 5). Імовірно, це пов'язано із застосуванням низьких доз ІФН.

Підсумовуючи отримані дані, можна стверджувати, що визначення параметрів імунної системи у хворих на ПЛМ важливо не тільки для діагностики імунної дисфункції, а й для оцінки прогнозу перебігу пухлинного процесу на тлі застосування ад'ювантної низькодозової інтерферонотерапії упродовж 12 міс. Даним дослідженням встановлено, що імунологічними критеріями несприятливого прогнозу є зменшення абсолютної кількості $CD25^+$-лімфоцитів у периферичній крові та здатність Т-лімфоцитів продукувати фактор, що гальмує міграцію лейкоцитів. Застосування цих імунологічних критеріїв при обстеженні хворих на ПЛМ дозволить визначити індивідуальні особливості перебігу захворювання, прогнозувати відповідь організму на біотерапію і таким чином оптимізувати тактику лікування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Kirkwood J.M., Tarhini A.A., Moschos S.J., Panelli M.C. (2008) Adjuvant therapy with high-dose interferon alpha 2b in patients with high-risk stage IIB/III melanoma. Nat. Clin. Pract. Oncol., 5(1): 2–3.

2. Wheatley K., Ives N., Hancock B. et al. (2003) Does adjuvant interferon-alpha for high-risk melanoma provide a worthwhile benefit? A meta-analysis of the randomised trials. Cancer Treat. Rev., 29(4): 241–252.

3. Pirard D., Heenen M., Melot C., Vereecken P. (2004) Interferon alpha as adjuvant postsurgical treatment of melanoma: a meta-analysis. Dermatology, 208(1): 43–48.

4. Mocellin S., Pasquali S., Rossi C., Nitti D. (2010) Interferon Alpha Adjuvant Therapy in Patients With High-Risk Melanoma: A Systematic Review and Meta-analysis. J. Natl. Cancer Inst., 102(7): 493–501.

5. Руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2-х ч. / под ред. Базарновой М.А. — К.: Вища школа, 1982; 2 ч: 175 с.

6. Пинегин Б.В., Ярилин А.А., Симонова А.В. и др. (2001) Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека /пособие для врачей-лаборантов. — М., 2001. — 55 с.

7. Вопросы современной проточной цитометрии. Клиническое применение / под ред. С.В. Хайдукова, А.В. Зурочки. — Челябинск, 2008. — 195 с.

8. Фільчаков Ф.В., Шуміліна К.С., Кукушкіна С.М. та ін. (2011) Особливості імунореактивності організму хворих на меланому шкіри з метастазами в регіональні лімфовузли в умовах дії різних схем інтерферонотерапії. Клиническая онкология, 4(4): 102–106.

9. Хайдуков С.В. (2007) Подходы к стандартизации метода проточной цитометрии для иммунофенотипирования. Настройка цитометров и подготовка протоколов для анализа. Мед. иммунол., 9(6): 569–574.

10. Фільчаков Ф.В., Шуміліна К.С., Льон Г.Д. та ін. (2011) Вплив різних схем інтерферонотерапії на функціональну активність лімфоцитів у хворих на меланому шкіри. Імунологія та алергологія, 2: 120–125.

11. Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б, Акімова В.Н. (2008) Посібник з лабораторної імунології, К.: 146–147.

12. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. (2001) Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 408 с.

13. Мінцер О.П., Вороненко Ю.В., Власов В.В. (2003) Оброблення клінічних і експериментальних даних у медицині. Кн. 5: Навч. посіб. Інформаційні технології в охороні здоров'я і практичній медицині: у 10 кн. / Під ред. О.П. Мінцера. — К.: Вища шк., 350 с.

14. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Славина Е.Г. (2009)Регуляторные Т-клетки и их роль в противоопухолевом иммунном ответе. Вопр. онкол., 55(3): 269–277.

15. Ярилин А.А. (2007) Естественные регуляторные Т-клетки. Рос. мед. журн., 1: 43–48.

16. Lin Y.C., Chang L.Y., Huang C.T. et al. (2009) Effector/memory but not naive regulatory T-cells are responsible for the loss of concomitant tumor immunity. J. Immunol., 182(10): 6095–6104.

17. Ascierto P.A., Kirkwood J.M. (2008) Adjuvant therapy of melanoma with interferon: lessons of the past decade. J. Transl. Med., 6: 62.

18. Gogas H., Ioannovich J., Dafni U. et al. (2006) Prognostic significance of autoimmunity during treatment of melanoma with interferon. N. Engl. J. Med., 354: 709–718.

Иммунологические критерии прогноза эффективности адъювантной интерферонотерапии больных первично-локализованной меланомой кожи

Ф.В. Фильчаков, Е.С. Шумилина, С.Н. Кукушкина, А.Д. Лён, Л.Г. Югринова, С.И. Коровин, М.Н. Кукушкина

Национальный институт рака, Киев

Резюме. Стандартом профилактики метастазов у больных первично-локализованной меланомой кожи (ПЛМ) остается иммунотерапия с применением препаратов рекомбинантного интерферона-α (ИФН-α). Однако, несмотря на проведение многочисленных рандомизированных контролируемых исследований с использованием ИФН-α в качестве адъювантной терапии, до сих пор окончательно не установлено, является ли оправданным назначение всем больным меланомой кожи ИФН-α, применение которого сопровождается существенной токсичностью и экономически обременительно. В данном исследовании проведен иммунологический мониторинг больных ПЛМ в динамике комбинированного лечения и установлено, что иммунологическими критериями прогноза неблагоприятного течения заболевания являются уменьшение абсолютного количества $CD25^+$-лимфоцитов в периферической крови и способность Т-лимфоцитов продуцировать фактор, ингибирующий миграцию лейкоцитов. Следует ожидать, что применение этих иммунологических критериев при обследовании больных ПЛМ позволит выявлять индивидуальные особенности течения заболевания, прогнозировать ответ организма на биотерапию и таким образом оптимизировать тактику их лечения.

Ключевые слова: меланома кожи, интерферонотерапия, иммунологические критерии прогноза эффективности лечения.

Immunological prognostic criteria of efficacy of adjuvant interferontherapy in patients with initially-localised skin melanoma

F.V. Fil'chakov, K.S. Shumilina, S.M. Kukushkina, G.D. Lon, L.G. Yugrinova, S.I. Korovin, M.M. Kukushkina

National Cancer Institute, Kyiv

Summary. The standard of preventive maintenance of metastasis's at initially-localized skin melanoma patients remains interferontherapy by application of interferon-α (IFN-α) preparations. However, despite carrying out numerous controlled researches with use IFN-α as adjuvant therapy, it is not definitively established till now, whether is all skin melanoma patients justified appointment IFN-α which application is accompanied by essential toxicity and it is economically burdensome. Immunologic monitoring of melanoma patients in dynamics of the combined treatment was made. It is established that immunological criteria of the adverse forecast are decrease in absolute quantity lymphocyte $CD25^+$ in peripheral blood and T-lymphocytes' ability to produce the leukocytes migration inhibiting factor. It is necessary to expect that application of these immunological criteria during examination of melanoma patients will allow to reveal specific features of a clinical course, to predict the answer of an organism to biotherapy and thus to optimise tactics of the treatment.

Key words: skin melanoma, interferontherapy, immunological prognostic criteria of treatment efficiency.