

# ОСОБЕННОСТИ ЭФФЕКТОРНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМОЙ ПРИ АКТИВАЦИИ И ХРОНИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Н.В. Балацкая, С.В. Саакян, Е.Б. Мякошина, И.Г. Куликова, Г.И. Кричевская

ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия

**Резюме.** Цель исследования — сравнительный анализ содержания эффекторных субпопуляций лимфоцитов крови пациентов с увеальной меланомой при активации и хроническом течении герпесвирусной инфекции. В исследовании приняли участие 70 больных с увеальной меланомой, 38 пациентов с язвами роговицы и вовлечением увеального тракта и 33 здоровых донора — всего 141 человек. Иммунофенотипирование проводили методом проточной лазерной цитофлуориметрии с использованием системы моноклональных антител для дифференцировки субпопуляций лимфоцитов. IgM- и IgG-антитела к герпесвирусным инфекциям определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на автоматическом ИФА-анализаторе Lazurite (Dunex Technologies Inc., США) с диагностическими наборами ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Результаты продемонстрировали, что абсолютное количество лимфоцитов (CD45<sup>+</sup>) в крови у пациентов с увеальной меланомой не отличалось от показателей у здоровых доноров, а у пациентов с язвами роговицы с вовлечением увеального тракта отмечалось повышение показателя. Выявлено снижение относительного и абсолютного содержания Т-клеток (CD3<sup>+</sup>) при увеальной меланоме и, напротив, увеличение абсолютного содержания CD3<sup>+</sup> при воспалении. Не наблюдалось разницы в относительном и абсолютном содержании субпопуляции CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-хелперов/индукторов при активации герпесвирусных инфекций при опухолях. При язвах роговицы установлено достоверное увеличение абсолютного содержания CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-хелперов/индукторов. При хронической герпесвирусной инфекции выявлено повышение относительного и абсолютного числа цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) при увеальной меланоме. При активном инфицировании регистрировали снижение относительного числа Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) при опухолях, при воспалении — увеличение абсолютного и уменьшение относительного содержания по сравнению с нормой. «Дубль-позитивные» Т-клетки при опухолях и воспалении увеличивались. В-лимфоциты (CD19<sup>+</sup>) при меланоме и воспалении увеличивались. Относительное число натуральных киллеров (CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) крови при увеальной меланоме повышалось при активации инфекции. При воспалении выявлено снижение относительного содержания натуральных киллеров (CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>). При меланоме не выявлено изменений индекса соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, при воспалении отмечено его увеличение при остром и хроническом инфицировании герпесвирусными инфекциями.

---

**Адрес для переписки:**

Мякошина Елена Борисовна  
105062, Россия, Москва, ул. Садовая-Черногрязская, 14/19,  
ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца.  
Тел.: 8 916 196-90-30.  
E-mail: myakoshina@mail.ru

**Contacts:**

Elena B. Myakoshina  
105062, Russian Federation, Moscow, Sadovaya-  
Chernogryazskaya str., 14/19, Moscow Helmholtz Research  
Centre of Eye Diseases.  
Phone: +7 916 196-90-30.  
E-mail: myakoshina@mail.ru

**Для цитирования:**

Балацкая Н.В., Саакян С.В., Мякошина Е.Б., Куликова И.Г.,  
Кричевская Г.И. Особенности эффекторных субпопуляций лимфоцитов  
у пациентов с увеальной меланомой при активации и хроническом  
течении герпесвирусной инфекции // Инфекция и иммунитет. 2021.  
Т. 11, № 6. С. 1123–1130. doi: 10.15789/2220-7619-FOE-1596

**Citation:**

Balatskaya N.V., Saakyan S.V., Myakoshina E.B., Kulikova I.G.,  
Krichevskaya G.I. Features of effector lymphocyte subsets in patients with  
uveal melanoma in recurrent and chronic herpesvirus infection // Russian  
Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 6,  
pp. 1123–1130. doi: 10.15789/2220-7619-FOE-1596

( $p < 0,05$ ). Выявлено угнетение иммунной системы при увеальной меланоме, не позволяющее активировать противовирусную защиту. Полученные результаты представляются важными для разработки персонализированных подходов к прогнозу и лечению пациентов с увеальной меланомой.

**Ключевые слова:** увеальная меланома, язва роговицы с вовлечением увеального тракта, субпопуляции лимфоцитов, герпесвирусная инфекция, иммунофенотипирование, иммунитет.

## FEATURES OF EFFECTOR LYMPHOCYTE SUBSETS IN PATIENTS WITH UVEAL MELANOMA IN RECURRENT AND CHRONIC HERPESVIRUS INFECTION

Balatskaya N.V., Saakyan S.V., Myakoshina E.B., Kulikova I.G., Krichevskaya G.I.

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

**Abstract.** The aim of the study is to conduct a comparative analysis of percentages for peripheral blood effector lymphocyte subsets in patients with uveal melanoma manifested by recurrent and chronic herpesvirus infection. There were 141 subjects enrolled: 70 patients with uveal melanoma, 38 patients with corneal ulcers and involvement of the uveal tract as well as 33 healthy donors. Immunophenotyping was performed by using laser flow cytometry with panel of monoclonal antibodies to differentiate lymphocyte subpopulations. IgM and IgG antibodies to herpesvirus infections were determined by using enzyme-linked immunosorbent assay on an automatic ELISA analyzer Lazurit (USA) with diagnostic kits of CJSC “Vector-Best” (Koltsovo). The data obtained showed that the absolute number of blood lymphocytes ( $CD45^+$ ) in patients with uveal melanoma did not differ from those in healthy donors. In contrast, patients with corneal ulcers and involvement of the uveal tract had this parameter increased. A decreased relative and absolute count of T cells ( $CD3^+$ ) in uveal melanoma, but increased absolute  $CD3^+$  number in inflammation was observed. No difference in relative and absolute content of the  $CD3^+CD4^+$  helper/inducer subpopulation in patients with recurrent herpesvirus infections was found. Corneal ulcers in cancer patients revealed significantly increased absolute level of  $CD3^+CD4^+$  helpers/inductor cells. Chronic herpesvirus infection in uveal melanoma patients showed increased relative and absolute number of cytotoxic T lymphocytes ( $CD3^+CD8^+$ ). Recurrent herpesvirus infection was featured with decreased relative number of T lymphocytes ( $CD3^+CD8^+$ ), upon inflammation, there was noted increased absolute and decreased relative number compared with healthy subjects. Double positive T cells increased in tumor and inflammation. B lymphocytes ( $CD19^+$ ) increased in melanoma and inflammation. The relative number of blood natural killer cells ( $CD16^+CD56^+$ ) in uveal melanoma increased upon recurrent infection. Inflammation was coupled to decreased relative level of natural killer cells ( $CD16^+CD56^+$ ). Melanoma showed no changes in  $CD4^+/CD8^+$  ratio; upon inflammation, its increase was noted in acute and chronic herpesvirus infections ( $p < 0.05$ ). The suppression of the immune system in uveal melanoma, restricting antiviral defense, was revealed. The data obtained seem to be important for development of personalized approaches to prognosis and treatment of patients with uveal melanoma.

**Key words:** uveal melanoma, corneal ulcer with uveal tract involvement, lymphocyte subsets, herpesvirus infection, immunophenotyping, immunity.

## Введение

Иммунные реакции организма на внедрение антигенов различного генеза включают в себя активацию эффекторных Т-клеток, а также регуляторных Т-лимфоцитов, направленных на элиминацию определенного вида антигенов и в некоторых случаях ограничивающих влияние эффекторных Т-лимфоцитов [13].

Повышение уровня относительного показателя некоторых субпопуляций лимфоцитов крови (цитотоксических (ЦТЛ) —  $CD3^+CD8^+$ ) может свидетельствовать о гиперактивности иммунитета при острых вирусных, бактериальных и обострении хронических инфекций [12, 18].

В настоящее время исследователи активно занимаются выявлением взаимосвязей разных субпопуляции лимфоцитов при активации вирусных инфекций [4, 12, 18]. Так, установлено, что вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) оказывает влияние на В-лимфоциты, что в свою очередь приводит к активации  $CD8^+$  ЦТЛ, в том числе и субпопуляции  $CD8^+CD28^-$  Treg, и иммун-

ному дисбалансу [29]. Последние работы доказывают участие  $CD4^+CD25^+$  Treg в развитии ВИЧ-инфекции [3].  $CD4^+$  Т-клетки фенотипа Th1 и  $CD8^+$  Т-клетки участвуют в защитном иммунитете при инфицировании *Mycobacterium tuberculosis* [7]. Различные субпопуляции лимфоцитов — ЕКТ (Т-клетки с маркерами ЕК),  $CD4^+$  Th2,  $CD8^+$  Т-клетки,  $\gamma\delta$ Т-клетки и  $CD4^+CD25^+$  Treg — задействованы при сепсисе и подавляют при этом иммунные реакции организма [28].

При опухолях также отмечен дисбаланс субпопуляционного состава лимфоцитов [5]. Увеличение количества регуляторных Т-клеток (с фенотипом  $CD3^+CD8^+$ ), снижение натуральных киллеров (НК-клеток) наблюдают при прогрессии кожной меланомы [17].

Офтальмотропные возбудители хронических персистирующих инфекций (в частности, герпесвирусы) участвуют в этиопатогенезе ряда заболеваний [8], в том числе и онкологических процессов в тканях глаза (например, при лимфоме) [6, 23]. Онкомодулирующая роль указанных возбудителей заключается в регуляции ви-

русами функций иммунокомпетентных клеток и перепрограммировании их в направлении большей прогрессии опухолевого роста.

Увеальная меланома (УМ) — злокачественная опухоль сосудистой оболочки, склонная к метастазированию [2, 14]. Возникновение, рост новообразований напрямую или опосредованно связаны с иммунным дисбалансом в организме [24, 25]. Нами ранее изучалась частота выявления ДНК различных герпесвирусов и *Chlamydia trachomatis* в плазме крови, стекловидном теле, ткани УМ и уровень антител к перечисленным возбудителям в сыворотке крови. При средних и больших УМ выявлены антитела, свидетельствующие о реактивации ВЭБ. При анализе биоптата веретенноклеточной АВ-формы УМ отмечено повышение уровня ДНК *C. trachomatis* в сочетании с ДНК ВЭБ и ЦМВ [11].

До настоящего времени качественный и количественный состав эффекторных субпопуляций лимфоцитов крови у пациентов с УМ при активации и хроническом течении герпесвирусной инфекции остается малоизученным и требует дальнейшего исследования.

Цель работы — провести сравнительный анализ содержания эффекторных субпопуляций лимфоцитов крови пациентов с УМ при активации и хроническом течении герпесвирусной инфекции.

## Материалы и методы

Всего в обследование были включены 70 больных с УМ, 38 пациентов с неопухолевым поражением увеального тракта (с язвами роговицы с вовлечением увеального тракта) и 33 здоровых донора — всего 141 человек. Средний возраст исследуемых составил  $54,9 \pm 11,1$  года. Каждому пациенту было проведено клинико-инструментальное обследование и подтвержден диагноз УМ.

В классификации J. Shields [14] УМ разделяют на 3 группы. В соответствии с этой классификацией и были распределены исследуемые пациенты.

Обследовано 37 больных с опухолями малого размера (с проминенцией до 3 мм, диаметром основания до 10 мм), 22 пациента с опухолями среднего размера (с проминенцией 3,1–5 мм, диаметром основания 10,1–15 мм) и 11 человек с меланомами больших размеров (с проминенцией > 5,1 мм, диаметром основания > 15,1 мм) (рис., А, Б, В, II обложка).

Группу контроля составили здоровые доноры с хроническими герпесвирусными инфекциями ( $n = 33$ ), группу сравнения — пациенты с язвами роговицы и воспалительным поражением сосудистой оболочки ( $n = 38$ ).

Пробы цельной крови взяты из локтевой вены натощак с 08:00 до 09:00 с помощью вакуумных систем в пробирки Vacuette® с антикоагулянтом К3ЭДТА.

Имунофенотипирование выполняли методом проточной лазерной цитофлуориметрии с использованием системы моноклональных антител Multitest 6-Color TBNK Reagent в пробирках BD TruCount (Becton Dickinson, США) в цитометре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США).

Лизис эритроцитов и фиксацию лейкоцитов выполняли за счет лизирующего раствора BD FACS™ Lysing Solution (Becton Dickinson, США). Содержание лимфоцитов определяли в программе Canto (Becton Dickinson, США), при этом выделяли анализируемый регион по общей популяции, экспрессирующей CD45<sup>+</sup>-антиген, и по гранулярности клеток (CD45<sup>+</sup>PerCP-Cy5,5\*/SSC). Применяли меченые флуорохромами антитела к CD3<sup>+</sup>(FITC), CD4<sup>+</sup>(PE-Cy7\*), CD8<sup>+</sup>(APC-CY7\*), CD16<sup>+</sup>/56<sup>+</sup>(PE), CD19<sup>+</sup>(APC\*), что давало возможность провести дифференцировку Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>), Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>), Т-цитотоксических (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>) и Т-дубль позитивных клеток (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>), NK-клеток (CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>).

Инфекционный статус у всех обследованных определяли путем обнаружения офтальмотропных возбудителей с выявлением в сыворотке крови маркеров хронической и активной фазы инфекций. Характер серологического ответа показывал инфицированность и фазу инфекции с учетом класса иммуноглобулинов (табл. 1).

IgM-антитела к структурным антигенам возбудителей и IgG-антитела к неструктурным (ранним) антигенам герпесвирусов — маркеры, соответственно, активной первичной или реактивации хронической инфекции — определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на автоматическом ИФА-анализаторе Lazurite (Dy nex Technologies Inc., США) с диагностическими наборами ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Использован программный комплекс Professional BioStat версии 2009 для Windows. Методы статистики — t-критерий Стьюдента, критерии Фишера и  $\chi^2$ , статистическая значимость —  $p < 0,05$ .

## Результаты

Абсолютное количество лимфоцитов (CD45<sup>+</sup>) крови у пациентов с меланомой, независимо от наличия активной (в среднем  $2,0 \pm 0,08 \times 10^9$ /л) или хронической (в среднем  $2,0 \pm 0,2 \times 10^9$ /л) герпесвирусной инфекции, не отличалось от значений, выявленных у здо-

ровых доноров (в среднем  $2,06 \pm 0,11 \times 10^9/\text{л}$ ). В то же время у пациентов с язвами роговицы с вовлечением увеального тракта отмечали достоверное повышение показателя по сравнению со здоровыми донорами, независимо от активации ( $2,6 \pm 0,19 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ) или хронического ( $2,7 \pm 0,3 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ) персистенция герпесвирусной инфекции (табл. 2).

Средние значения общей популяции Т-клеток ( $CD3^+$ ) показали снижение относительного (до  $70,9 \pm 1,2\%$ ) и абсолютного (до  $1,4 \pm 0,07 \times 10^9/\text{л}$ ) ее содержания у больных с меланомой при активации герпесвирусной инфекции и хроническом ее течении по сравнению со здоровыми донорами ( $73,1 \pm 0,87\%$  и  $1,51 \pm 0,08 \times 10^9/\text{л}$ ;  $p > 0,05$ ). При этом нами отмечено достоверное увеличение абсолютного содержания  $CD3^+$  как при активной ( $1,96 \pm 0,15 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ), так и при хронической герпесвирусной инфекции

**Таблица 1. Серологические маркеры хронической и активной герпесвирусной инфекции**

Table 1. Serological markers of chronic and active herpes virus infection

Возбудитель Pathogen	Антитела в сыворотке крови Antibodies in serum
<b>Вирус простого герпеса 1, 2 типа (ВПГ)</b> Herpes simplex virus type 1, 2 (HSV)	<b>ВПГ-IgG к поздним* антигенам</b> HSV-IgG to late* antigens
	<b>ВПГ-IgM к поздним антигенам</b> HSV-IgM to late antigens
<b>Вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ 1)</b> Herpes simplex virus type 1 (HSV 1)	<b>IgG к ранним** антигенам</b> IgG to early** antigens
<b>Вирус простого герпеса 2 типа (ВПГ 2)</b> Herpes simplex virus type 2 (HSV 1)	<b>IgG к ранним антигенам</b> IgG to early antigens
<b>Цитомегаловирус (ЦМВ)</b> Cytomegalovirus (CMV)	<b>IgG к поздним антигенам</b> IgG to late antigens
	<b>IgM к поздним антигенам</b> IgM to late antigens
	<b>IgG к ранним антигенам</b> IgG to early antigens
<b>Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ)</b> Epstein-Barr virus (EBV)	<b>IgG к ядерному антигену</b> IgG to nuclear antigen
	<b>IgG к раннему антигену</b> IgG to early antigen
	<b>IgM к капсидному антигену</b> IgM capsid antigen
<b>Вирус герпеса 6 типа</b> Herpes virus type 6	<b>IgG</b>
	<b>IgM</b>

**Примечание.** \* — поздние (структурные) антигены, \*\* — ранние (неструктурные) антигены.

Note. \* — late (structural) antigens, \*\* — early (non-structural) antigens.

( $2,01 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ) у пациентов с воспалительным поражением роговицы и увеального тракта по сравнению со здоровыми пациентами.

В отношении субпопуляции  $CD3^+CD4^+$ -хелперов/индукторов не отмечали разницу как в относительном, так и в абсолютном их числе независимо от активации герпесвирусных инфекций у больных с УМ по сравнению со здоровыми пациентами. В то же время при анализе данных показателей при язвах роговицы с вовлечением увеального тракта отмечено достоверное увеличение абсолютного содержания  $CD3^+CD4^+$ -хелперов/индукторов как при активной ( $1,3 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ), так и при хронической ( $1,4 \pm 0,18 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ) инфекции. Кроме того, у больных с УМ выявляли увеличение и относительного показателя при остром ( $49,5 \pm 1,7\%$ ,  $p > 0,05$ ) и хроническом инфицировании ( $52,1 \pm 2,1\%$ ,  $p < 0,05$ ) по сравнению со здоровыми пациентами ( $45,7 \pm 1,19\%$ ).

Интересные показатели отмечены в отношении цитотоксических Т-лимфоцитов ( $CD3^+CD8^+$ ): только при наличии у больных хронической герпесвирусной инфекции выявлено повышение относительного и абсолютного их числа ( $27,7 \pm 1,6\%$  и  $0,6 \pm 0,07 \times 10^9/\text{л}$  соответственно;  $p > 0,05$ ) при УМ по сравнению со здоровыми донорами ( $25,6 \pm 1,04\%$  и  $0,52 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$  соответственно). При активном инфицировании отмечали небольшое снижение относительного числа Т-лимфоцитов ( $CD3^+CD8^+$ ) при УМ ( $24,2 \pm 0,9\%$ ,  $p > 0,05$ ), сопоставляя с показателями здоровых людей. При язвах роговицы с вовлечением увеального тракта определяли некоторое увеличение абсолютного содержания как при активации герпесвирусных инфекций ( $0,63 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p > 0,05$ ), так и при хроническом инфицировании ( $0,56 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p > 0,05$ ) и уменьшение относительного содержания по сравнению с нормой.

При анализе уровней дубль-позитивных Т-клеток при УМ отмечено увеличение их относительных и абсолютных показателей как при хроническом, так и при активном инфицировании герпесвирусами. Достоверная разница у больных выявлена в отношении повышения относительного содержания  $CD3^+CD4^+CD8^+$ -лимфоцитов ( $1,2 \pm 0,13\%$ ,  $p < 0,05$ ) при активации герпесвирусных инфекций и абсолютного показателя при хроническом инфицировании ( $0,03 \pm 0,007 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p > 0,05$ ) по сравнению со здоровыми донорами. Те же тенденции отмечали и при воспалительных заболеваниях глаз.

Анализ содержания в крови В-лимфоцитов ( $CD19^+$ ) у больных с УМ показал достоверное повышение абсолютного числа как при активации ( $0,3 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ), так и при хроническом течении ( $0,3 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,05$ ) герпесвирусной инфекции по сравнению со здоровыми до-

норами ( $0,24 \pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ ). При анализе показателей абсолютного и относительного содержания В-лимфоцитов ( $\text{CD}19^+$ ) при язвах роговицы с вовлечением увеального тракта выявлено достоверное их повышение независимо от активации инфекции или хронического инфицирования.

Относительное число натуральных киллеров ( $\text{CD}16^+\text{CD}56^+$ ) крови у больных с УМ достоверно повышалось при активации инфекции и составило  $17,3 \pm 1,2\%$ ,  $p < 0,05$  по сравнению с таковым у здоровых доноров ( $14 \pm 0,87\%$ ). Повышение относительного числа НК-клеток ( $18,5 \pm 1,8\%$ ) наблюдалось при меланоме малых размеров и активной инфекции, а также у больных с опухолями средних размеров при хроническом инфицировании ( $16,5 \pm 1,8\%$ ). Однако при УМ больших размеров указанный показа-

тель вновь определялся в границах нормы, как при активации инфекции, так и при хроническом ее течении.

При воспалительных заболеваниях глаз обнаружено, напротив, снижение относительного содержания натуральных киллеров ( $\text{CD}16^+\text{CD}56^+$ ) как при хроническом инфицировании ( $7,8 \pm 1,5\%$ ,  $p < 0,05$ ), так и при активной герпесвирусной инфекции ( $8,9 \pm 1,2\%$ ,  $p < 0,05$ ).

При УМ не выявлено достоверных изменений индекса соотношения  $\text{CD}4^+/\text{CD}8^+$ , тогда как при язвенных поражениях роговицы с вовлечением увеального тракта отмечено достоверное его увеличение при остром ( $3,1 \pm 0,74$ ,  $p < 0,05$ ) и хроническом ( $2,6 \pm 0,4$ ,  $p < 0,05$ ) инфицировании герпесвирусными инфекциями по сравнению с показателями здоровых доноров.

**Таблица 2. Субпопуляционный состав лимфоцитов при увеальной меланоме и язве роговицы с вовлечением увеального тракта по сравнению с показателями здоровых доноров**

Table 2. The lymphocyte subset composition in uveal melanoma and corneal ulcer involving the uveal tract compared with healthy donors

Показатель Factors		Контрольная группа Control group (n = 33)	Группы/Groups			
			Язва роговицы с вовлечением увеального тракта Corneal ulcer involving the uveal tract		Увеальная меланнома Uveal melanoma	
			активация activation (n = 26)	хроническая chronic (n = 12)	активация activation (n = 50)	хроническая chronic (n = 20)
Лимфоциты $\text{CD}45^+$ Lymphocytes $\text{CD}45^+$	$\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{l}$	$2,06 \pm 0,11$	$2,6 \pm 0,19^*$	$2,7 \pm 0,3^*$	$2,0 \pm 0,08$	$2,0 \pm 0,2$
Т-лимфоциты (общая популяция) $\text{CD}3^+$ T-lymphocytes (bulk population) $\text{CD}3^+$	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{l}$	$73,1 \pm 0,87$	$75,3 \pm 1,4$	$75,5 \pm 1,8$	$70,9 \pm 1,2$	$72,4 \pm 1,2$
Т-хелперы $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$ T helpers $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{l}$	$45,7 \pm 1,19$	$49,5 \pm 1,7$	$52,1 \pm 2,1^*$	$45,8 \pm 1,3$	$43,4 \pm 1,8$
Т-цитотоксические $\text{CD}3^+\text{CD}8^+$ Cytotoxic T cells $\text{CD}3^+\text{CD}8^+$	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{l}$	$25,6 \pm 1,04$	$24,4 \pm 1,4$	$22,1 \pm 1,7$	$24,2 \pm 0,9$	$27,7 \pm 1,6$
Т-двух-позитивные лимфоциты $\text{CD}3^+\text{CD}4^+\text{CD}8^+$ Double positive lymphocytes $\text{CD}3^+\text{CD}4^+\text{CD}8^+$	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{l}$	$0,54 \pm 0,31$	$0,9 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,13^*$	$1,2 \pm 0,27$
В-лимфоциты $\text{CD}19^+$ B lymphocytes $\text{CD}19^+$	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{l}$	$12,8 \pm 0,63$	$15,2 \pm 1,1^*$	$16,3 \pm 1,4^*$	$11,3 \pm 0,6$	$12,4 \pm 0,7$
Натуральные киллеры $\text{CD}16^+\text{CD}56^+$ Natural killers $\text{CD}16^+\text{CD}56^+$	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{l}$	$14 \pm 0,87$	$8,9 \pm 1,2^*$	$7,8 \pm 1,5^*$	$17,3 \pm 1,2^*$	$14,7 \pm 1,2$
$\text{CD}4^+/\text{CD}8^+$	расчетн. единица unit of account	$1,95 \pm 0,12$	$3,1 \pm 0,74^*$	$2,6 \pm 0,4^*$	$2,0 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,2$

Примечание. \* — достоверность различия параметров у больных исследуемых групп по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ).

Note. \* — significance of differences in parameters in patients of the studied groups compared with the control group ( $p < 0,05$ ).

## Обсуждение

Последние десятилетия ознаменовались активным поиском этиологических и патофизиологических аспектов возникновения злокачественных опухолей [11]. Помимо молекулярно-генетических исследований, проведены работы, указывающие и на иммунный дисбаланс при новообразованиях, и на связь возникновения опухолей с вирусными инфекциями [7, 10]. Уvealная меланома — опухоль сосудистой оболочки, сопровождающаяся развитием метастатической болезни и разнонаправленными иммунными сдвигами [2]. Подтверждением иммуногенности УМ является появление отдаленного метастазирования после энуклеации [19].

Уже в конце прошлого века отмечали изменения иммунной системы при УМ по типу повышенной чувствительности замедленного типа [26]. Кроме того, получены подтверждения присутствия в строме опухоли опухолевых инфильтрирующих лимфоцитов, макрофагов и других иммунокомпетентных клеток в ответ на появление клеток УМ в организме и срабатывания эффекторных иммунных механизмов [22]. Инфильтрация ткани меланомы CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетками оказывает прямое цитотоксическое действие на клетки опухоли [27]. Наличие в ткани меланомы макрофагов CD68<sup>+</sup> подтверждено [15], хотя их значимость для витального прогноза разноречива [21].

При меланоме сосудистой оболочки выявили отклонение клеток субпопуляций Т-лимфоцитов CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> и индекса соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> от нормы, что свидетельствовало, по мнению авторов, о метастатической болезни [9].

На определенной стадии опухолевого роста может устанавливаться равновесие между новообразованием и иммунной системой человека, однако влияние вирусной инфекции вызывает срыв противоопухолевой защиты и ведет к экспансии опухолевых клеток [6].

Проведенный нами сравнительный анализ динамики эффекторных субпопуляций лимфо-

цитов у пациентов с УМ при активации и хроническом течении герпесвирусной инфекции показал отсутствие значимых сдвигов лимфоцитов, общей популяции Т-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов. Это позволяет сделать предположение об угнетении иммунной системы организма больных, не позволяющем активировать противовирусную защиту.

Однако у пациентов с меланомой диагностировано достоверное увеличение абсолютного числа Т-дубль-позитивных лимфоцитов CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> при активации герпесвирусной инфекции и относительного — при хроническом инфицировании. По данным литературы, повышение абсолютного и относительного числа дубль-позитивных клеток выявляют также и при меланоме кожи [16].

Наши исследования показали увеличение относительного числа натуральных киллеров (CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) при активации вирусной инфекции у больных с УМ. При различных онкологических заболеваниях изменение содержания НК-клеток может служить прогностическим критерием метастазирования и уменьшения показателей общей выживаемости [1].

В то же время исследование аналогичных показателей при воспалительных заболеваниях увеального тракта показало достоверные сдвиги по сравнению со значениями, выявленными у здоровых доноров, свидетельствующие о нормальном иммунном реагировании организма на внедрение чужеродных агентов.

Следовательно, результаты проведенных нами исследований позволяют предположить глубокое угнетение иммунной системы организма пациентов с УМ, не позволяющее активировать противовирусную защиту. Тем не менее очевидно, что УМ вызывает разнонаправленные сдвиги в относительном и абсолютном содержании лимфоцитов при активации герпесвирусных инфекций и хроническом инфицировании ими. Полученные результаты дают повод для разработки новых стратегий лечения УМ и анализа факторов прогноза.

## 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 killer cells. *Immunologiya = Immunologiya*, 2012, vol. 33, no. 4, pp. 220–224. (In Russ.)]
2. Бровкина А.Ф., Панова И.Е., Саакян С.В. Офтальмоонкология: новое за последние два десятилетия // Вестник офтальмологии. 2014. Т. 130, № 6. С. 13–19. [Brovkina A.F., Panova I.E., Saakyan S.V. Ophthalmic oncology: new in the last two decades. *Vestnik oftal'mologii = Bulletin of Ophthalmology*, 2014, vol. 130, no. 6, pp. 13–19. (In Russ.)]
3. Воробьев А.А., Быковская С.Н., Пашков Е.П., Быков А.С. Роль клеток-регуляторов CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> в развитии хронических инфекционных заболеваний // Вестник РАМН. 2006. № 9–10. С. 24–29. [Vorob'ev A.A., Bykovskaya S.N., Pashkov E.P. The role of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory cells in the development of chronic infectious diseases. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Herald of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2006, no. 9–10, pp. 24–29. (In Russ.)]
4. Железникова Г.Ф. Регуляторные Т-лимфоциты в иммунном ответе на инфекцию // Журнал инфектологии. 2011. Т. 3, № 1. С. 6–13. [Zheleznikova G.F. Regulatory T-lymphocytes in the immune response to infection. *Zhurnal Infektologii = Journal Infectology*, 2011, vol. 3, no. 1, pp. 6–13. (In Russ.)] doi: 10.22625/2072-6732-2011-3-1-6-13

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., Zabolina T.N., Korotkova O.V., Slavina E.G., Borunova A.A. New possibilities for regulating the antitumor immune response. *Zlokachestvennye opukholi = Malignant Tumors*, 2015, vol. 1, pp. 24–30. (In Russ.)] doi: 10.18027/2224-5057-2015-1-24-30
6. Кричевская Г.И., Слепова О.С., Саакян С.В., Мякошина Е.Б. Влияние герпесвирусных инфекций на уровень сывороточного интерферона-альфа и интерферона-гамма у пациентов с начальной меланомой хориоидеи // Российский офтальмологический журнал. 2014. Т. 7, № 2. С. 28–32. [Krichevskaya G.I., Slepova O.S., Saakyan S.V., Myakoshina E.B. The effect of herpes virus infections on the level of serum interferon-alpha and interferon-gamma in patients with initial melanoma of the choroid. *Rossiyskiy oftal'mologicheskii zhurnal = Russian Ophthalmological Journal*, 2014, vol. 7, no. 2, pp. 28–32. (In Russ.)] doi: 10.18008/1816-5095-2019-1S-40-44
7. Кричевская Г.И., Слепова О.С., Саакян С.В., Мякошина Е.Б., Андреева Т.А., Андришин А.Е., Хорошилова И.П., Захарова Г.П., Майбогин А.М., Трухина А.В. К вопросу о роли вирусов герпеса человека в патогенезе опухолей орбиты и глаза: детекция вирусной ДНК в биоптатах опухолей. Российский офтальмологический журнал // 2016. Т. 2. С. 42–47. [Krichevskaya G.I., Slepova O.S., Saakyan S.V., Myakoshina E.B., Andreeva T.A., Andryushin A.E., Khoroshilova I.P., Zakharova G.P., Maybogin A.M., Trukhina A.V. On the role of human herpes viruses in the pathogenesis of tumors of the orbit and eye: detection of viral DNA in tumor biopsy specimens. *Rossiyskiy oftal'mologicheskii zhurnal = Russian Ophthalmological Journal*, 2016, vol. 2, pp. 42–47. (In Russ.)] doi: 10.21516/2072-0076-2016-9-2-42-46
8. Нероев В.В., Катаргина Л.А., Ковалева Л.А., Кричевская Г.И., Балацкая Н.В. Клинические аспекты бактериальной язвы роговицы затяжного течения, роль вирусов герпеса в ее патогенезе, тактика лечения // Офтальмология. 2019. Т. 16 (1S). С. 40–44. [Neroev V.V., Katargina L.A., Kovaleva L.A., Krichevskaya G.I., Balatskaya N.V. Clinical aspects of a prolonged course of a corneal ulcer, the role of herpes viruses in its pathogenesis, treatment tactics. *Oftal'mologiya = Ophthalmology*, 2019, vol. 16 (1S), pp. 40–44. (In Russ.)] doi: 10.18008/1816-5095-2019-1S-40-44
9. Патент № 2147373 Российская Федерация, МПК G01N33/53 (1998.06). Способ выявления скрытого метастазирования при увеальной меланоме: № 98111889/14; заявлено 19.06.1998; опубликовано 10.04.2000 / Лихванцева В.Г., Бровкина А.Ф., Гусев Г.А., Юровская Н.Н. Патентообладатель: Московский НИИ глазных болезней имени Гельмгольца. 9 с. [Patent No. 2147373 Russian Federation, Int. Cl. G01N33/53 (1998.06). Method of revealing latent metastatic spread in patients with uveal melanoma. No. 98111889/14; application: 19.06.1998; date of publication 10.04.2000 / Likhvantseva V.G., Brovkina A.F., Gusev G.A., Jurovskaja N.N. Proprietors: Moskovskij NIИ glaznykh boleznej imeni Gel'mgol'tsa. 9 p.]
10. Саакян С.В., Амирян А.Г., Цыганков А.Ю., Склярова 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., Amiryani A.G., Tsygankov A.Yu., Sklyarova N.V., Zaletaev D.V. Clinical, pathomorphological and molecular genetic characteristics of uveal melanoma with a high risk of metastasis. *Rossiyskiy oftal'mologicheskii zhurnal = Russian Ophthalmological Journal*, 2015, vol. 8, no. 2, pp. 47–52. (In Russ.)]
11. Саакян С.В., Мякошина Е.Б., Кричевская Г.И., Слепова О.С., Пантелеева О.Г., Андришин А.С., Хорошилова-Маслова И.П., Захарова Г.П. Обследование больных увеальной меланомой на наличие герпесвирусных инфекций // Вопросы вирусологии. 2016. Т. 61, № 6. С. 284–287. [Saakyan S.V., Myakoshina E.B., Krichevskaya G.I., Slepova O.S., Panteleeva O.G., Andryushin A.S., Khoroshilova-Maslova I.P., Zakharova G.P. Examination of patients with uveal melanoma for the presence of herpes virus infection. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2016, vol. 61, no. 6, pp. 284–287. (In Russ.)] doi: 10.18821/0507-4088-2016-61-6-284-287
12. Сорокина М.Н., Скрипченко Н.В. Вирусные энцефалиты и менингиты у детей. М.: Медицина, 2004. 416 с. [Sorokina M.N., Skripchenko N.V. Viral encephalitis and meningitis in children. Moscow: Medicine, 2004. 416 p. (In Russ.)]
13. Bronkhorst I.H.G., Vu T.H.K., Jordanova E.S., Luyten G.P.M., van der Burg S.H., Jager M.J. Different subsets of tumor-infiltrating lymphocytes correlate with macrophage influx and monosomy 3 in uveal melanoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2012, vol. 53, pp. 5370–5378. doi: 10.1167/iovs.11-9280
14. Carvajal R.D., Schwartz G.K., Tezel T.H., Marr B., Francis J.H., Nathan P.D. Metastatic disease from uveal melanoma: treatment options and future prospects. *Br. J. Ophthalmol.*, 2017, vol. 101, pp. 38–44. doi: 10.1136/bjophthalmol-2016-309034
15. Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Histopathologic characteristics of uveal melanomas in eyes enucleated from the Collaborative Ocular Melanoma Study. *Am. J. Ophthalmol.*, 1998, vol. 125, pp. 745–766. doi: 10.1016/S0002-9394(98)00040-3
16. Desfrancois J., Moreau-Aubry A., Vignard V., Godet Y., Khammari A., Dréno B., Jotereau F., Gervois N. Double positive CD4CD8 alpha beta T cells: a new tumor-reactive population in human melanomas. *PLoS*, 2010, vol. 5: e8437. doi: 10.1371/journal.pone.0008437
17. 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. doi: 10.1016/s0952-7915(00)00195-3
18. Kawamura K., Kadowaki N., Kitawaki T., Uchiyama T. Virus-stimulated plasmacytoid dendritic cells induce CD4<sup>+</sup> cytotoxic regulatory T cells. *Blood*, 2006, vol. 107, no. 3, pp. 1031–1038. doi: 10.1182/blood-2005-04-1737
19. Lambert S.R., Char D.H., Howes E.J., Crawford J.B., Wells J. Spontaneous regression of a choroidal melanoma. *Arch. Ophthalmol.*, 1986, vol. 104, pp. 732–734. doi: 10.1038/sj.eye.6702071
20. Li L., Wu C. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg cells inhibit human memory  $\gamma\delta$ T cells to produce IFN- $\gamma$  in response to Mycobacterium tuberculosis antigen ESAT-6. *Blood*, 2008, vol. 111, no. 12, pp. 5629–5636. doi: 10.1182/blood-2008-02-139899
21. Mantovani A. Tumor-associated macrophages in neoplastic progression: a paradigm for the in vivo function of chemokines. *Lab. Invest.*, 1994, vol. 71, pp. 5–16.
22. Mantovani A., Romero P., Palucka A.K., Marincola F.M. Tumour immunity: effector response to tumour and role of the micro-environment. *Lancet*, 2008, vol. 371, no. 9614, pp. 771–783. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60241-X
23. Moore P.S., Chang Y. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. *Nat. Rev. Cancer*, 2010, vol. 10, no. 12, pp. 878–889. doi: 10.1038/nrc2961

24. Niederkorn J.Y. Immune escape mechanisms of intraocular tumors. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2009, vol. 28, pp. 329–347. doi: 10.1016/j.preteyeres.2009.06.002
25. Oliva M., Rullan A.J., Piulats J.M. Uveal melanoma as a target for immune-therapy. *Ann. Transl. Med.*, 2016, vol. 4, no. 9: 172. doi: 10.21037/atm.2016.05.04
26. Priluck I.A., Robertson D.H., Pritchard P.J., Ilstrup D.M. Immune responsiveness in patients with choroidal malignant melanoma. *Am. S. Ophthalmol.*, 1979, vol. 87, pp. 215–220. doi: 10.1016/0002-9394(79)90146-6
27. Tobal K., Deuble K., McCartney A., Lightman S. Characterization of cellular infiltration in choroidal melanoma. *Melanoma Res.*, 1993, vol. 3, pp. 63–65.
28. Wisnoski N., Chung C.-S., Chen Y., Huang X., Ayala A. The contribution of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T-regulatory cells to immune suppression in sepsis. *Shock*, 2007, vol. 27, no. 3, pp. 251–257. doi: 10.1097/01.shk.0000239780.33398.e4
29. Zu Y.L., Li C., Ma Z., Li D., Fu X. Roles of CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T regulatory cells in acute infectious mononucleosis in children. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 2007, vol. 45, no. 3, pp. 208–211.

---

**Авторы:**

**Балацкая Н.В.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник, начальник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;

**Саакян С.В.**, д.м.н., профессор, начальник отдела офтальмоонкологии и радиологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;

**Мякошина Е.Б.**, к.м.н., старший научный сотрудник отдела офтальмоонкологии и радиологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;

**Куликова И.Г.**, старший научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;

**Кричевская Г.И.**, к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия.

**Authors:**

**Balatskaya N.V.**, PhD (Biology), Leading Researcher, Department of Immunology and Virology, Head of the Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;

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

**Myakoshina E.B.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Department of Ophthalmology and Radiology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;

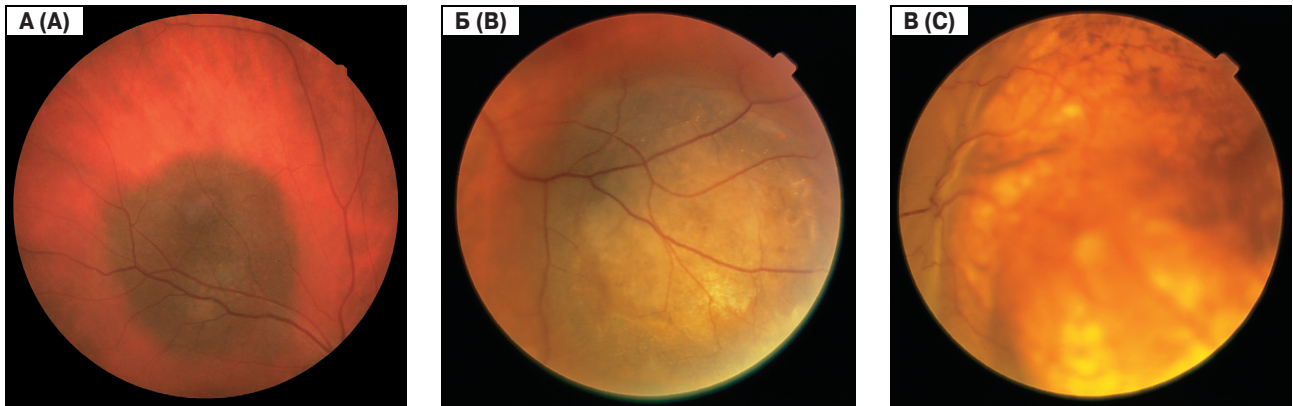
**Kulikova I.G.**, Senior Researcher, Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;

**Krichevskaya G.I.**, PhD (Medicine), Leading Researcher, Department of Immunology and Virology, Moscow, Russian Federation.



**Иллюстрации к статье «Особенности эффекторных субпопуляций лимфоцитов у пациентов с увеальной меланомой при активации и хроническом течении герпесвирусной инфекции» (авторы: Н.В. Балацкая, С.В. Саакян, Е.Б. Мякошина, И.Г. Куликова, Г.И. Кричевская) (с. 1123–1130)**

Illustrations for the article "Features of effector lymphocyte subsets in patients with uveal melanoma in recurrent and chronic herpesvirus infection" (authors: Balatskaya N.V., Saakyan S.V., Myakoshina E.B., Kulikova I.G., Krichevskaya G.I.) (pp. 1123–1130)



**Рисунок. Увеальная меланома малых (А), средних (Б) и больших (В) размеров**

Figure. Uveal melanoma of small (A), medium (B) and large (C) sizes