



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 147 373** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁷ **G 01 N 33/53**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 98111889/14, 19.06.1998

(24) Дата начала действия патента: 19.06.1998

(46) Дата публикации: 10.04.2000

(56) Ссылки: 1. Котелянский Э.О. и др.
Иммунологические исследования при
уvealных меланомах. Сборник научных работ.
"Офтальмоонкология". - М.: 1983, с.68-69. 2.
RU 2988940 C1, 27.08.97. 3. US 4507391 A,
26.03.85. 4. DE 3341367 A1, 24.05.84. 5. GB
2133543 A, 24.05.84.

(98) Адрес для переписки:
103064, Москва, ул.Садовая-Черногрязская,
14/19, МНИИГБ

(71) Заявитель:
Московский НИИ глазных болезней имени
Гельмгольца

(72) Изобретатель: Лихванцева В.Г.,
Бровкина А.Ф., Гусев Г.А., Юровская Н.Н.

(73) Патентообладатель:
Московский НИИ глазных болезней имени
Гельмгольца

(54) СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ СКРЫТОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРИ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, в частности к офтальмологии, а именно к офтальмоонкологии, и предназначено для выявления скрытого метастазирования у больных увеальной меланомой с целью проведения адекватного лечения. Проводят определение скрытого метастазирования, исследуя иммунокомпетентные клетки в сыворотке периферической крови, при этом оценку проводят по количественному

подсчету субпопуляций Т-лимфоцитов CD3, CD4, CD8 и индекса их соотношений, и при отклонении всех указанных показателей от нормы с формированием индекса равным и менее 1,0 или равным и более 2,0 констатируют наличие скрытого метастазирования. Способ обеспечивает высокую достоверность выявления процесса скрытого метастазирования и позволяет назначить адекватное лечение.

RU 2 147 373 C1

RU 2 147 373 C1



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 147 373** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁷ **G 01 N 33/53**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 98111889/14, 19.06.1998

(24) Effective date for property rights: 19.06.1998

(46) Date of publication: 10.04.2000

(98) Mail address:
103064, Moskva,
ul.Sadovaja-Chernogrjzskaja, 14/19, MNIIGB

(71) Applicant:
Moskovskij NII glaznykh boleznej imeni
Gel'mgol'tsa

(72) Inventor: Likhvantseva V.G.,
Brovkina A.F., Gusev G.A., Jurovskaja N.N.

(73) Proprietor:
Moskovskij NII glaznykh boleznej imeni
Gel'mgol'tsa

(54) **METHOD OF REVEALING LATENT METASTATIC SPREAD IN PATIENTS WITH UVEAL MELANOMA**

(57) Abstract:

FIELD: ophthalmology and oncology.
SUBSTANCE: immunocompetent cells in peripheral blood serum are examined giving evaluations from calculation of T lymphocyte sub-populations CD₃, CD₄, CD₈ and index of

their ratios. When all characteristics deviate from their normal values, in particular, to form index equal to or lower than 1.0 or equal to or higher than 2.0, latent metastatic spread is stated. EFFECT: increased reliability of analysis. 4 ex

RU 2 147 373 C1

RU 2 147 373 C1

Предлагаемое изобретение относится к офтальмологии, а именно к офтальмоонкологии, и предназначено для выявления скрытого метастазирования у больных увеальной меланомой с целью проведения адекватного лечения.

В настоящее время задача диагностики скрытого метастазирования при различных злокачественных новообразованиях остается чрезвычайно актуальной, она по-прежнему далека от разрешения, хотя предпринимаются попытки решить эту важнейшую в онкологии проблему для таких опухолей, как карцинома печени, рак желудка и поджелудочной железы.

Известен способ диагностики скрытого метастазирования больных со злокачественными опухолями с помощью определения в сыворотке периферической крови уровня ферментативной активности печени. Так, например, повышение активности аминотрансферазы, щелочной фосфатазы со снижением коэффициента де Ритиса может свидетельствовать в пользу наличия метастазов в печени при условии подтверждения наличия метастазирующих узлов диагностическими инструментальными методами, такими как ультразвуковое исследование, сцинтиграфия или компьютерная томография печени. То есть метод лишь подтверждает уже выявляемые явные метастазы и не срабатывает на этапе скрытого метастазирования ("Cellular and Molecular Immunology" W.B. Saunders Company - Second edition. , p. 382).

Существует также другой способ определения метастазирования с помощью выявления в сыворотке крови повышенного титра раково-эмбриональных антигенов (РЭА) или альфа-фетапротеинов (АФП). АФП-гликопротеин с молекулярным весом в 70 kD синтезируется в норме в неонатальном периоде в печени и желточном мешке. У взрослых эти белки присутствуют в сыворотке периферической крови на низком уровне (до 5 мг/мл). Однако сывороточные уровни могут существенно повышаться у пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, гормонально-активными опухолями, раком желудка и поджелудочной железы и при рецидивах этих опухолей после лечения (Cellular and Molecular Immunology" W.B. Saunders Company - Second edition. , p. 366).

РЭА выявляются в повышенных титрах в сыворотке больных с карциномами толстого кишечника. Особенно часто это имеет место при указанной патологии на стадии метастазирования.

То есть перечисленные способы позволяют подтвердить или выявить наличие строго определенных типов опухолей, в том числе их рецидивов, или установить генерализацию уже имеющегося инструментально подтвержденного онкологического процесса.

Выявление метастазов у ракового больного в корне меняет тактику его лечения. Оперативное лечение при множественных метастазах при большинстве опухолей просто не показано. Возможна лишь химиотерапия, адъювантная иммунокорректирующая терапия в комбинации с симптоматической. То есть мы имеем дело с принципиально различными лечебными подходами при переходе неопластического процесса в

стадию метастазирования.

Что касается увеальной меланомы, то на сегодняшний момент не существует маркера, позволяющего с известной долей вероятности выявлять латентный период метастазирования и таким образом определять тактику лечения больного с увеальной меланомой на этой стадии. Таким образом, задача определения скрытого метастазирования при увеальной меланоме до настоящего времени не ставилась.

Согласно последним данным (Eskelin S., Summanen P. et al. Diagnosis and Screening of Disseminated malignant uveal melanoma.- In Symposium Ophthalmooncology, 1987, Erusalim) первые признаки диссеминированных форм увеальной меланомы могут быть выявлены с помощью комплексного биохимического исследования сыворотки периферической крови с определением уровня ряда ферментов (S-GOT, S-GPT, S-AFOS, S-LDH) и ультразвукового метода. При этом только у 54% больных на фоне уже диагностированных инструментальными методами метастазов зафиксированы в сыворотке повышенные уровни ферментов (LDH-13, GOT-10, AFOS-8, GPT-7). Одновременные ультразвуковые исследования были неадекватно положительными у 27 пациентов (77%), включая 14 больных, у которых были нормальные энзимные уровни, и в двух случаях - отрицательными. Однако, несмотря на высокий процент выявления больных с метастазами (57%), способ имеет существенные недостатки. Данные можно принимать во внимание, если они подтверждены инструментальными методами (компьютерной томографией, УЗИ или сцинтиграфией), в противном случае повышение определяемого уровня ферментативной активности может быть обусловлено такими заболеваниями печени, как гепатит или цирроз и т. д. Кроме того, достаточно высок процент больных (43%), у которых обнаружены на фоне явных метастазов нормальные уровни ферментативной активности печени.

И, наконец, известно, что метастазы поражают печень только в 61% случаев [Packard R.B. Pattern of mortality in choroidal malignant melanoma// Br. J. Ophthalmol. - 1980-64. -P. 565-575; Zimmerman L.E., McLean I.W. An evaluation of enucleation in management of uveal melanomas// Am. J. Ophthalmol.- 1979-87. -P. 741-760; Zimmerman L.E., McLean I.W. Do growth and onset of symptoms of uveal melanomas indicate subclinical metastasis?// Ophthalmol.- 1984.-Vol.91.-N 6.-P. 685-691].

По материалам Jensen, полученным при вскрытии 38 больных, только у 27 обнаружены метастазы в печень, при этом у 17 поражение печени было изолированным (Jensen O.A. Malignant melanoma of the uvea in Denmark// Acta Ophthalmol.- 1970-48.-P. 1113-1128; Jensen O.A. Malignant melanomas of the human uvea: 25-year follow-up of cases in Denmark, 1943-1952// Acta Ophthalmol.- 1982-60. -P. 161-182). Реже поражаются легкие (55%), головной мозг (22%), почки (44%), желудочно-кишечный тракт, кожа, подкожная клетчатка (Einchorn L. H. , Burgess M.A., Gottlieb J.A. Metastasis patterns of

choroidal melanoma//Canser. -1974. -Vol. 34. -N 4.-P. 1001-1004). В довольно большом числе случаев многие органы поражаются одновременно.

Таким образом, для 49% больных с увеальной меланомой, метастазирующей в другие органы (легкие, кожу, кости), этот способ не может быть использован.

В своей теории мы отталкивались от того, что увеальная меланомы является иммунозависимой опухолью [Char D.H., Christiansen M., Stein P. Immunology of melanoma //Jap. J. Ophthalmol.-1978-22-3.-P. 396-400]. Подтверждением иммуногенности является не только поведенческий характер опухоли, в виде возможных отсроченных метастазов спустя 30 лет после энуклеации или спонтанной регрессии первичного опухолевого узла [Scott R. Lambert, Devron H. Char. Spontaneous Regression of a Choroidal melanoma/ Arch. Ophthalmol.- Vol. 104, 1986.-P. 732-734]. Иммунный ответ был подтвержден серией опубликованных работ. Так, еще в 70-е годы выявлены изменения иммунной системы по типу повышенной чувствительности замедленного типа, т. е. зафиксирована несомненная заинтересованность иммунологической реактивности организма [Priluck I.A., Robertson D.H., Pritchard P.J. et al. Immune responsiveness in patients with choroidal malignant melanoma// Am. S. Ophthalmol.-1979.-Vol.-87.-P. 215-220]. Char с сотр. выявили у пяти из семи больных с меланомой хориоидеи аномальное подавление миграции лейкоцитов, что соответствовало кожной реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ) [Char D.H., Hollinshead A., Cogan D. G. Cutaneous delayed hypersensitivity reactions to soluble melanoma antigen in patients with ocular malignant melanoma//N. Eng. J. Med.-1974-291. -P. 274-277]. Ранее ими же была описана положительная реакция кожи с растворенным меланомным антигеном у 18 из 19 пациентов с увеальной меланомой (131).

Показано, что при реакции спонтанной бласттрансформации лимфоцитов показатели ее при увеальной меланоме достоверно превосходили данные контроля [Котелянский Э. О., Желтовой В.В., Дворчина Л.И. Иммунологические исследования при увеальных меланомах// Сб.научн.работ. Офтальмоонкология.-М., 1983. -С. 68-72].

Отмечено, что в 75% случаев исходный уровень РГЗТ на динитрохлорбензол коррелирует с прогнозом увеальной меланомы [Зайцева Н.С., Стукалов С.Ю. Иммунологические и аллергические процессы в патологии органа зрения// Тез. V Всесоюзного съезда офтальмологов.- М., 1979.-Т.4.-С.3-11].

Получено, что индекс бласттрансформации лимфоцитов уменьшается по мере прогрессирования опухолевого процесса [Нифонтова Т.П. Кожная реакция замедленной гиперчувствительности на 2-4-динитрохлорбензол у больных меланобластомой сосудистого тракта глаза//Офтальм.ж.-1981.-N 6.-С. 356-357].

Последнее десятилетие ознаменовалось существенными сдвигами в понимании эффекторных иммунных механизмов,

возникающих в ответ на появление клеток увеальной меланомы. Так, получены подтверждения их в виде присутствия в строме опухоли опухолеинфильтрирующих лимфоцитов.

5 Изучение показателей клеточного иммунитета на уровне субпопуляций показало, что при злокачественных опухолях органа зрения отмечено снижение уровней субпопуляций Т3, Т4, индекса Т4/Т8 в 67% случаев. Иммунодефицит прогрессировал по мере увеличения объема опухоли и распространенности инфильтративного роста. Выявлена определенная корреляция этих показателей (Т8) с прогнозом заболевания [Гусев Г.А. Применение иммуномодуляторов в комплексном лечении злокачественных опухолей органа зрения.-Дисс. на соискан. канд. мед. наук.-М.-1991].

10 Rosenberger с соавт. также показали, что индекс CD4/CD8 меняется в зависимости от состояния опухоли.

20 Известно, что в определенный момент развития неопластического процесса устанавливается некоторое довольно шаткое равновесие между объемом опухоли и иммунной системой

25 организма-опухоленосителя. Оно отражено в правиле доминантного иммунитета. Однако достаточно воздействия дополнительного агента, и прорыв в установленном балансе механизмов иммунной противораковой защиты обеспечен. Таким агентом может являться стресс для большого или вирусная инфекция и т.д. Чаша весов с опухолью на одной стороне стремительно опускается и начинается процесс метастазирования, которому не может противостоять иммунная система, находящаяся на грани полного истощения. В клинической иммунологии это состояние называется стадией иммунной декомпенсации. По нашему глубокому убеждению, показатели, характеризующие эту стадию, могут быть выявлены задолго до того, как сформируются метастазы, которые могут быть выявлены при инструментальных методах (ЯМР, КТ, УЗИ, сцинтиграфия).

30 Были выявлены определенные закономерности изменений иммунологических показателей (CD3, CD4, CD8, CD4/CD8) в зависимости от стадийности процесса. Вместе с тем в ряде случаев были получены данные, которые не укладывались в установленную схему, они принимались за артефакты, допущенные при проведении иммунологических исследований, заносились в индивидуальные тематические карты, заведенные на каждого больного, но при обсчете результатов были исключены из анализа. Нами воспроизведены исследования у пациентов с этой же патологией. Наряду с 35 подтвержденной, уже установленной указанными авторами тенденцией к изменениям иммунологических показателей в зависимости от стадии было обращено внимание на ряд пациентов в стадии генерализации процесса, у которых наличие метастазов подтверждалось 40 инструментальными методами. Этот контингент больных имел характерные признаки, которые будут указаны ниже. Более того, такие показатели зафиксированы и в нескольких клинических случаях без диагностирования метастазов. Однако спустя

6-8 месяцев у них констатировали стадию генерализации. Были подняты тематические карты больных с аналогичными показателями, полученными Г. А. Гусевым за несколько лет до этого. Ретроспективный анализ подтвердил, что данные больных, не вошедшие в ранее анализируемый им материал и отброшенные как артефакты в сочетании с фактами об укороченном сроке их жизни и причине смерти от генерализации процесса, свидетельствуют в пользу высказанного нами предположения.

Возможна диагностика скрытых симптомов метастазирования, до того как метастаз достигнет размера обнаружения. Более ранняя диагностика в таких случаях позволит провести иммунокорректирующую терапию и удлинить продолжительность жизни пациентов, кроме того, в ряде случаев позволит сделать правильный выбор в тактике ведения больного. Таким образом, обобщая полученные данные, возможно установить скрытое метастазирование увеальной меланомы на самом раннем этапе на основе изучения иммунологических показателей Т-клеточного иммунитета конкретного больного. Указанный процесс с точки зрения иммунологии характеризуется всеми признаками иммунной декомпенсации (то есть отказом от дальнейшей борьбы с неопластическим процессом в силу истощения защитных резервов иммунной системы). Наступает резкий дефицит продукции Т-хелперов при гипоплазии или гиперплазии Т-супрессоров. Соответственно иммунологический индекс соотношений этих популяций либо стремительно падает ниже 1,0 либо столь же стремительно растет > 2.0. В процессе оценки иммунного статуса необходимо учитывать также и общий процент CD3, поскольку прогноз ухудшается, если процесс метастазирования протекает на фоне снижения пролиферации CD3.

Определяют субпопуляции Т-лимфоцитов с помощью особо чувствительного метода с применением моноклональных антител. Панель моноклональных антител CD получают с помощью использования гибридной технологии. Эти антитела способны с высокой точностью распознавать определенные клеточные компоненты иммунной системы. Антитела определенной специфичности связываются с флуоресцентной меткой (ТС-флуоресцеин-изоцианат). Обнаруживая на поверхности жизнеспособных клеток (лимфоцитов) экспрессированные уникальные антигенные детерминанты, меченные флуоресцеином моноклональные антитела образуют соединения с этими детерминантами и делают клетки узнаваемыми и определяемыми количественно.

CD3 распознает антиген, присутствующий на зрелых периферических лимфоцитах.

CD4 реагирует с популяцией человеческих Т-лимфоцитов, которые обеспечивают индуктивные сигналы для пролиферации В-клеток и продукции ими антител, генерации цитотоксических клеток по отношению к антигенам I и II классов HLA. При различных патологических состояниях абсолютный и относительный уровни регуляторных популяций нарушаются. При этом отмечено, что активность Т-хелперов не приводит к

неограниченному разрастанию клонов В-клеток или цитотоксических лимфоцитов: по мере созревания клеток эффект лимфокинов, стимулирующих пролиферацию, ослабевает. Однако неудержимая гиперплазия Т-супрессоров, тем не менее, имеет место при истощении сдерживающих факторов, она зафиксирована при генерализации ракового процесса.

CD8-клетки обеспечивают супрессивный и модулирующий иммунорегуляторный стимул для продукции эффекторных клеток, таких как антителопродуцирующие плазматические клетки и цитотоксические Т-клетки.

Количественный подсчет CD4, CD8, CD3, а также определение иммунорегуляторного индекса, который представляет собой соотношение CD4/CD8, позволяют произвести оценку состояния иммунной системы конкретного больного (стадии компенсации, субкомпенсации или декомпенсации). Учитывая роль иммунных эффекторных механизмов противораковой защиты вообще и хелперов/супрессоров в частности, определение стадии иммунной декомпенсации у больного увеальной меланомой позволяет предположить с большой долей вероятности начало метастазирования. По данным литературы, а также фактического материала отдела офтальмологии и радиологии, известно, что средняя продолжительность жизни больного с момента начала метастазирования от шести месяцев до двух лет [Seddon J. M. et al. Death from uveal melanoma. Number of epithelioid cells and inverse SD of nucleolar area as prognostic factors// Arch.Ophthalmol.-1987, June. -105(6).-P. 801-806] и составляет в среднем 113 дней. Ретроспективный анализ полученных иммунологических данных у больных, пролеченных в стационаре 10 или менее лет назад, поиск коррелятивных взаимосвязей с продолжительностью жизни позволили установить, что наше предположение верно. Эти данные и легли в основу предложенного метода.

Этапы выполнения реакции.

Способ осуществляется следующим образом.

У больного определяют в периферической крови субпопуляции CD3, CD4, CD8 с помощью метода моноклональных антител [Frank C. Hay, Leslie Hudson "Practical Immunology".- 1987, Blackwell Scientific Publications];

1. Забирают периферическую кровь в объеме 5 мл из локтевой вены в пробирку, содержащую ЭДТА.

2. Производят маркировку пробирок (количество последних на одного больного равно числу определяемых типов субпопуляций плюс одна контрольная).

3. В пробирку, содержащую 100 мкл хорошо перемешанной цельной крови, вносят 100 мкл PBS (фосфатный буферный раствор, приготовленный согласно официальной прописи) и помещают пробирку в ледяную баню.

4. В каждую пробирку вносят 7 мкл соответствующего типа моноклональных антител, растворенных в дистиллированной воде предварительно в соответствии с инструкцией.

5. Затем в течение 15-30 с, осторожно

встряивая пробирки, смешивают компоненты. Манипуляцию повторяют пять раз с минутным интервалом.

6. Пробирки изымают из ледяной бани, добавляют в каждую из них 2 мл лизирующего раствора, который представляет собой один из компонентов коммерческого набора. Его готовят накануне согласно инструкции, данной фирмой-поставщиком оборудования. Пробирки помещают в шейкер после каждого добавления.

7. Производят инкубацию исследуемых образцов при комнатной температуре в течение 5-10 мин до получения прозрачного "лакового" раствора.

8. Пробирки центрифугируют в течение 5 мин при 400X и удаляют супернатант из каждой пробирки. При недостаточном эффекте клетки отмывают до 7-8 раз.

9. Пробирки помещают в ледяную баню.

10. Количественное измерение субпопуляций производят на лазерном цитофлуорометре "Спектрум-3" фирмы "Орто Диагностик Системс", США.

11. Получают показатели CD3, CD4, CD8, высчитывают индекс соотношения CD4/CD8. И при выявлении изменений, которые могут быть расценены как характерные для стадии декомпенсации иммунной системы (количественное отклонение CD3, CD4, CD8 и индекса их соотношений в сторону менее и равно 1,0 или более и равно 2,0), считают, что такого пациента следует отнести к группе риска по скрытому метастазированию, даже если инструментального подтверждения не получено. Ему следует срочно назначить иммунокорректирующую терапию.

Пример 1. Больной Ф., 1927 года рождения. Поступил с диагнозом: увеальная меланома ($T_4N_0M_0$) ОД. ОС - здоров. При поступлении произведена оценка иммунологического статуса по CD3, CD4, CD8 и соотношению CD4/CD8. Иммунологические данные на момент поступления позволяют сказать, что больной находился в стадии иммунной декомпенсации: CD3-62.1; CD4-34, CD8-27.5, CD4/CD8= 0.78, что свидетельствовало о наличии скрытого метастазирования. Произведена энуклеация. Патологический диагноз:

иридоцилио-хориоидальная меланома эпителиоидно-клеточная меланома, растущая в угол передней камеры и формирующий эписклеральный узел. Смерть больного наступила от генерализации процесса спустя 1 год 5 месяцев после нуклеации. Метастазы обнаружены в печени.

Учитывая, что продолжительность жизни больного с момента энуклеации до момента смерти укладывается в сроки длительности процесса метастазирования, можно с известной долей вероятности утверждать, что на момент энуклеации больной находился в стадии скрытого метастазирования. И это состояние характеризовалось признаками иммунной декомпенсации. Поскольку при поступлении в стационар для каждого больного обязательно прохождение инструментальных методов обследования (рентгенография грудной клетки, УЗИ, сцинтиграфия или томография печени) для подтверждения стадии N_0M_0 , то очевидно, что инструментальные методы оказались нечувствительными на этой стадии, в то время как иммунологический метод был

более чувствителен.

Пример 2. Больная К., 1934 года рождения. Поступила в стационар с диагнозом: миопия высокой степени, цилиохориоидальная меланома ($T_4N_0M_0$), состояние после протонотерапии правого глаза. Обследована для оценки иммунного статуса. Данные иммунологического исследования: CD3-70.1; CD4-40.2; CD8-27.5; CD4/CD8=1.46. Незначительное снижение CD3 и CD4 свидетельствовало о субкомпенсации иммунных механизмов. Произведена энуклеация. Гистологически верифицирована меланома хориоидеи смешанно-клеточного строения с формированием эписклерального узла.

18 месяцев спустя после энуклеации больная была вновь обследована на контрольной явке в амбулаторных условиях. По данным рентгенографии органов грудной клетки и УЗИ печени, данных за процесс метастазирования нет. Иммунологические данные: CD3-62; CD4-27.0; CD8-46.9; CD4/CD8= 0.57. На иммунограмме установлены все признаки декомпенсации иммунной системы, что позволило заподозрить начало метастазирования без инструментального доказательства. Выводы оказались верны. Смерть больной наступила от генерализации процесса спустя 10 месяцев после обследования. Таким образом, учитывая среднестатистическую продолжительность жизни с момента начала метастазирования, можно утверждать, что на момент иммунологического обследования больная находилась в стадии скрытого метастазирования. И этот момент совпал с признаками иммунной декомпенсации, указанными выше.

Пример 3. Больная С., 1930 года рождения. Оперирована в Московской офтальмологической больнице с диагнозом: меланома хориоидеи ($T_3N_0M_0$) правого глаза. Произведена энуклеация правого глазного яблока. Патогистологическое заключение N 815: эпителиоидно-клеточная меланома хориоидеи с ростанием в эмиссарий, диссеминацией опухолевых комплексов по эписклере. УЗИ печени, рентгенография органов грудной клетки в марте 1996 года исключили метастазы. Полтора года спустя почувствовала слабость. Была направлена на иммунологическое обследование, которое выявило признаки декомпенсации: CD3-59.0 (при норме 65-80%); CD4-39.6 (при норме 30-50%), CD8-16.9, CD4/CD8=2.34 (при норме 1.2-1.8). Направлена в том же месяце на повторное исследование печени. Получено заключение: множественные гемангиомы печени (!?). Учитывая отсутствие таковых при проведении УЗИ в более ранние сроки, а также данные иммунограммы больной, по настоятельной просьбе врача проведена сцинтиграфия печени. Получено подтверждение наличия метастазов в печени с тенденцией к слиянию. Спустя еще 4 месяца у больной появились метастазы в кожу лобной области с одновременным рецидивом меланомы в культе в правой орбите. Повторное иммунологическое исследование спустя месяц после первого показало полное истощение механизмов иммунной защиты: CD3-58.3, CD4-46.53, CD8-11.8, CD4/CD8=3.94. В качестве паллиативного

метода лечения больной предложена ИЛ-2 терапия, которая и была проведена. До настоящего момента жива, но имеет все признаки генерализации процесса.

Пример 4. Г., 1926 года рождения. Поступила в стационар с диагнозом: меланома хориоидеи правого глаза (T₃₋₄N₀M₀). Левый глаз здоров. Произведена энуклеация. Верифицирована

смешанноклеточная меланома с прорастанием до наружных слоев склеры. На момент энуклеации всеми доступными инструментальными методами метастазы не выявлены. Иммунологическое обследование проведено постфактум, спустя 1 год 8 месяцев. Данные иммунограммы от 1 января 1987 года: CD3-71.4, CD4-45.9, CD8-29.1, CD4/CD8=1.5.

1 год спустя: CD3-66.8, CD4-56.2, CD8-35.4, CD4/CD8=1.6. Метастазов не выявлено. Сведений о смерти не поступало.

Таким образом, полученные данные с ретроспективным анализом продолжительности жизни больных с увеальной меланомой позволяют утверждать, что с помощью иммунологических исследований в рамках указанных параметров возможно раннее выявление признаков иммунной декомпенсации,

предшествующих или сопровождающих латентный период метастазирования.

Ценность предлагаемого метода заключается в том, что он позволяет осуществить доинструментальную диагностику скрытого метастазирования с большой долей вероятности, что дает возможность сделать правильный выбор вида лечения и своевременно провести адекватную иммунокоррекцию с целью удлинения продолжительности жизни этого тяжелого контингента больных. Метод достаточно информативен и малотрудоемок при большой практической ценности.

Формула изобретения:

Способ определения скрытого метастазирования при увеальной меланоме, включающий исследование иммунокомпетентных клеток в сыворотке периферической крови, при этом оценку проводят по количественному подсчету клеток субпопуляций Т-лимфоцитов CD 3, CD 4, CD 8 и индекса их соотношения CD 4 / CD 8 и при отклонении всех указанных показателей от нормы с формированием индекса, равным и менее 1,0 или равным и более 2,0, констатируют наличие скрытого метастазирования.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

-7-