

## Imūnkompetento šūnu reakcijas raksturojums ap primārām un sekundārām melanomām

Regīna Kleina<sup>1,2</sup>, Simona Doniņa<sup>2,3</sup>, Aija Ozola<sup>4</sup>, Ingrīda Čēma<sup>2,5</sup>,  
Sergejs Dubencovs<sup>6</sup>, Natālija Nikrus<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Rīgas Stradiņa universitāte, Patoloģijas katedra, Latvija

<sup>2</sup> Rīgas Austrumu klīniskā universitātes slimnīca, Latvija

<sup>3</sup> Rīgas Stradiņa universitāte, Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūts, Latvija

<sup>4</sup> Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

<sup>5</sup> Rīgas Stradiņa universitāte, Orālās patoloģijas katedra, Latvija

<sup>6</sup> Rīgas Stradiņa universitāte, Medicīnas fakultāte, Latvija

**Ievads.** Pēdējā laikā pētnieki sliecas dendrītiskās šūnas, citotoksiskos limfocītus, makrofāgus un citas imūnās šūnas audos un asinīs saistīt ar melanomas prognozi [Schmidt, et al., 2012; Lizee, et al., 2010], taču pētījumi par šo jautājumu ir pretrunīgi. Dažu imūnkompetento šūnu produkti tiek jau lietoti kā iepējamā pretmelanomas vakcīna [Chapuis, et al., 2011].

**Darba mērķis.** Izvērtēt imūnkompetento šūnu reakciju primārās un sekundārās melanomās un to (CD8, CD68 un CD1a+) savstarpējās mijiedarbības.

**Materiāls un metodes.** Operāciju materiālā mēs izvērtējām primāras melanomas un to metastāzes limfmezglos un ādā pa 15 gadījumiem no katra. Pētījumā izmantotām arī 5 melanomu gadījumus no autopsiju materiāla. Operācijas un autopsiju materiāla mikropreparāti tika izvērtēti H/E krāsojumā un ar imūnhistoķīmisko izmeklēšanas metodi, lietojot S100, HMB-45 vai Melan-A marķierus, lai verificētu melanomu. Tika izvērtēti: melanomas lokalizācija, klīniskā atrade un melanomas patohistoloģiskais raksturojums. Melanomas raksturojām pēc Breslow, kā arī noteicām audzēja tilpumu pēc formulas  $V = 4/3\pi abc$  (a – puse no garuma, b – puse no platumā un c – puse no dziļuma). Imūnās sistēmas šūnas ādā un metastāzēs tika novērtētas ar CD68, CD1a, CD8 antivielām attiecīgi, lai pierādītu makrofāgus, Langerhansa šūnas un citotoksiskos limfocītus. Kontroles grupai izmantotām ausu paraugus 1 cm attālumā no bazaliomām, neizmēģinātā ādā. Imūnkompetentās šūnas skaitījām 3 redzes laukos 400 × palielinājumā un rēķinājām vidējo aritmētisko un standarta novirzi. Izteikti blīvās marķējuma zonās vērtības izteicām %.

**Rezultāti.** Primārās melanomas bija lokalizētas pārsvarā galvas un muguras apvidū. Metastātiskās melanomas analizējām limfmezglos (n = 15), ādā (n = 15) un citos orgānos: aknās, CNS, pleirā, siekalu dziedzerī.

Primārajās melanomās ādā CD1a : CD8 : CD68 pozitīvo šūnu skaits intratumorozi bija attiecīgi: 30,3 ± 5,0 : 58,7 ± 9,2 : 65 ± 11,3. Bet iekaisuma infiltrātos ap melanomu citotoksisko limfocītu skaits sasniedza 80 marķētas šūnas redzes laukā. Rezekcijas līnijas apvidū imūnkompetento šūnu skaits krītas uz pusi un vairāk.

Limfmezglos ap metastāžu kompleksiem CD1a+ šūnas bija 16,3 ± 4,5. Citotoksiskie limfocīti izvietošanās difūzi limfmezglā ar vidējo vērtību 26,3 ± 2,7. Limfmezglā, analogi ar metastāzi ādā CD68 anti- viela marķēja ne vien makrofāgus, bet arī melanocītus, sasniedzot 95% lielu ekspresiju no analizētajām šūnām. Limfmezgla kapsulas tuvumā brīvā no audzēja šūnām CD68+ bija 51 ± 8,4.

Metastāzēs ādā imūno šūnu raksturojums bija sekojošs: CD1a marķētās šūnas koncentrējās metastāzes vidū, sasniedzot līdz pat 90% pozitīvo šūnu. Metastāzes perifērijā konstatējām atsevišķas iekarēnas CD1a+ šūnas. Savukārt epidermā pret metastāzi dendrītiskās šūnas bija skaitā vidēji 37,6 ± 5,4 un ekspresēja arī S100 antigēnu. CD8+ limfocīti metastāzes vidū bija 42 ± 7,3, bet perifērijā 27 ± 4,9, tai skaitā perivaskulāri. CD68+ marķējums ir pārēķļveidīgs no 75–100%.

### Secinājumi.

1. Imūnkompetento šūnu daudzums intratumorozi melanomās un to metastāzēs ir augsts, bet krasi samazinās 2–4 mm attālumā no primārā audzēja.
2. Mūsu izvērtētie CD1a, CD8 un CD68 antigēni ir glikoproteīni ar attiecīgo molekulārsvaru 49, 68 un 110 kDa, kuru molekulas, iespējams, inkorporējas dažādās šūnās melanomas progresēšanas laikā un rada ļoti variablu imūnfenotipisko atradi.
3. Neskatoties uz imūnkompetento šūnu ievērojamu aktivāciju primārajās un metastātiskajās melanomās, notiek audzēja progresija, taču iegūtie rezultāti varbūt noderīgi turpmākās imūnterapijas shēmu izstrādē Latvijā.