

АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ  
І РАДІОБІОЛОГІЇ ім. Р. Є. КАВЕЦЬКОГО

На правах рукопису

СКІВКА  
Лариса Михайлівна

ІМУНОМОДУЛЮЮЧА ДІЯ ЛАЗЕРНОГО  
ВИПРОМІНЮВАННЯ  
ПРИ ЗЛОЯКІСНІЙ МЕЛАНОМІ ШКІРИ

14.00.14 — Онкологія

АВТОРЕФЕРАТ  
дисертації на здобуття вченого ступеня  
кандидата біологічних наук

118 20. 777  
Робота виконана в Українському Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького АН України.

Наукові керівники: доктор біологічних наук, професор  
**М. Ф. Гамалія**  
доктор медичних наук, професор  
**Б. А. Толстоп'ятов**

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук  
**В. Е. Орел**  
кандидат медичних наук  
**В. М. Юдін**

Ведуча установа — Київський Інститут вдосконалення лікарів  
МОЗ України

Захист відбудеться «    » \_\_\_\_\_ 1993 р. о \_\_\_\_\_ год.  
\_\_\_\_\_ хв. на засіданні спеціалізованої ради Д016.38.01 по захисту дисертацій в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького АН України (252022, м. Київ, вул. Васильківська, 45).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці інституту.

Автореферат розісланий «    » \_\_\_\_\_ 1993 року.

*Вчений секретар  
спеціалізованої ради  
кандидат біологічних наук*

Ю. В. Яніш

ЛНБ України ім. В. Стефаніка



00802777 (V)

**АКТУАЛЬНІСТЬ ПРОБЛЕМИ:** В ряді країн світу захворюваність на злоякісну меланому шкіри за останні 10 років подвоїлась. Особливу заповоєність спеціалістів викликає зростання частоти захворювань на меланому серед дітей (Смтнякова Т.С. с соавт., 1989; Maskie R.M. et al., 1988).

Найважливішим фактором в етіології меланоми вважається сонячне УФ-випромінювання (Maskie et al., 1985; Michael T. et al., 1990). Переривчасте сонячне опромінення білях суттєве в етіології меланоми, ніж хронічне, хоч останнє складає фактор ризику для виникнення немеланомних раків шкіри (Maskie R.M. et al., 1982; Sober A.J. et al., 1985). Білях як 80 % хворих на меланому складають люди із слабкою пігментацією шкіри.

Одним з умов розвитку цієї пухлини в організмі вважають фотобіологічні зміни в шкірі, які призводять до порушеної (підвищеної) чутливості до сонячного світла. Однак у таких хворих сприйнятливості до світла (особливо видимої області спектру) різних клітин і, зокрема, імуніцитів, які відіграють найголовнішу роль в протипухлинному захисті організму, практично не вивчалась.

Відомо, що розвиток меланоми в організмі супроводжується вираженим імунідепресією (Debra P. et al., 1985; Lejeune F.J., 1986). В зв'язку з цим актуальним збачається також дослідження можливості фотокорекції імуніологічної активності в організмі, враженому цим захворюванням. Таким чином, вивчення особливостей імунного статусу та реакції на світло імуніцитів у хворих на меланому має велике значення.

**МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ:** Вивчити мелановий взаємозв'язок між функціональною активністю та чутливістю до світла у імунікомпетентних клітин хворих на меланому та інших в кератином меланомов В-16.

#### ГОЛОВНІ ЗАВДАННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ

1. Провести паралельне вивчення функціональної активності та реакції на світло імуніцитів інших в кератинових пухлинах: меланомов В-16 та карцином 4'ніс.

2. Вивчити в паралельних дослідженнях імуніологічну активність та світлову чутливість у лімфоїдних клітин хворих на меланому і порівняти із такою у хворих на рак молочної залози та здорових донорів.

3. Вивчити особливості добової ритміки функціональної активності і фоточутливості імунітетів хворих на меланому у порівнянні із здоровими донорами.

**НАУКОВА ПОВИЗНА:** Вперше встановлені особливості впливу лазерного випромінювання на лімфопроліферативну активність пацієнтів з меланомою в порівнянні з хворими на рак молочної залози та здоровими донорами.

Отримані нові дані про стимуляцію лазерним випромінюванням бласттрансформації лімфоцитів, індукованої меланомними антигенами.

Вперше показано, що направленість фотоімунотуляції у мишей з пухлинно визначається вихідним рівнем показника, що, в свою чергу, пов'язано зі стадією розвитку пухлини.

**ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ:** Результати вивчення реакції на світло імунітетів в організмі з меланомою дозволяють вважати доцільною розробку методичних підходів до внутрішньосудинного лазерного опромінення крові з метою імюнокорекції при комплексній терапії хворих на цю онкопатологію.

**АПРОВАЦІЯ РОБОТИ:** Результати проведених досліджень і головні висновки докладені на Міжнародній конференції "Лазери в медицині і хірургії" (Брест, 1992); конференції молодих вчених ІВНОР ім. Р.С.Кавецького АН України (Київ, 1991).

Дисертація апробована на засіданні експертної ради по збірках ІВНОР ім. Р.С.Кавецького АН України 2 червня 1993 року.

**ПУБЛІКАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ:** За матеріалами дисертації опубліковано 10 наукових робіт.

**СТРУКТУРА І ОБСЯГ ДИСЕРТАЦІЇ:** Дисертація складається з вступу, трьох глав огляду літератури, чотирьох глав власних досліджень, закінчення, висновків і списку літератури. Викладена на 106 сторінках машинописного тексту, зміщує 4 таблиці і 16 малюнків. Список літератури включає 267 джерел, з них 100 відчужених.

#### ГОЛОВНІ ПОЛОЖЕННЯ, ВИНЕСЕНІ НА ЗАХИСТ:

1. Низькоенергетичне лазерне випромінювання спричиняє модуляції функціональної активності імунітетів як в здоровому організмі, так і при пухлинному процесі.

2. В організмі з пухлинно направленість фотоімунотуляції (стимуляція або пригнічення) визначається вихідним рівнем активності лімфоїдних клітин, що, в свою чергу пов'язано зі стадією пухлинного процесу.

3. У 70% хворих на меланому випромінювання гелій-неонового ла-

веру стимулює НК- та фагоцитарну активність. У всіх хворих спостерігається стимуляція антиген- і мітогеніндукованої лімфопроліферації.

4. У хворих на меланому порушені добові ритми фагоцитарної та натуральної кілдерної активності. Характер цих порушень відрізняється значно індивідуальним різноманітністю.

5. Добовий ритм коливань фоточутливості імунитивів у хворих на меланому також має значні відмінності у порівнянні зі здоровими донорами. У донорів характер добового ритму залежить від сезону (тривалості світлового дня), а у хворих - цілком визначається відповідним рівнем імунологічної активності.

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ :

Експериментальні дослідження проведені на 760 мишах (самках) лінії С57/В16 віком 3-6 місяців розводки віварів ІЄНОР ім. Р.С.Кавецького АН України.

Вивчення динаміки імунного статусу та фоточутливості імуноклетентних клітин при розвитку експериментальних пухлин (меланоми В-16 та карциноми Л'віс) проводили у три строки : на 5, 15 та 21 ді з моменту інюкації клітин пухлини.

Вивчення імунного статусу та фоточутливості лімфоїдних клітин у людей проведено з використанням матеріалу від 77 хворих на первинну меланому, 20 хворих на нервинний рак молочної залози та 32 здорових донорів. Матеріал для досліджень був доб'язно наданий відділеннями пухлин опорно-рухового апарату та пухлин молочної залози НДІ онкології і радіології МОЗ України. Де надтожчення у ХНДІОІР хворі не лікувались (табл.1).

Лазерне опромінення в умовах *in vitro* проводили з використанням гелій-неонового лазера ЛРН-111 (довжина хвилі 633 нм). Як правило використовували густину потужності на рівні об'єкту 0,5 Вт/м<sup>2</sup> при експозиції опромінення - 15 с., доза опромінення становила 7,5 Дж/м<sup>2</sup>.

Функціональну активність та фоточутливість імунитивів вивчали за наступними методами : визначення НК-активності в радіоімунному тесті (В.М.Зарецька, 1983; Neilsen L.R. et al., 1989); визначення фагоцитарної активності лейкоцитів та макрофагів в NBT-тесті (М.П.Грачева, 1984; Muller F. et al., 1989); постановка реакції бласттрансформації лімфоцитів (В.Лефкович, 1988; Віоєна Е. et al., 1989). Концентрації циклічних нуклеотидів в тимоцитах нашої визначали радіоімунним методом (Steiner A.L. et al., 1972).

Таблиця 1

Розподіл хворих по групах в залежності від стадії пухлинного процесу.

-----  
 Стадія : Характеристика за системою TNM : Кількість

ХВОРИ НА МЕЛАНОМУ		
Ia	T <sub>1</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub>	1
	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub>	29
Ib	T <sub>3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub>	23
	T <sub>1</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub>	5
II	T <sub>3</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub>	7
	T <sub>4</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub>	7
	T <sub>4</sub> N <sub>2</sub> M <sub>0</sub>	3
III	T <sub>4</sub> N <sub>2</sub> M <sub>0</sub>	3
	T <sub>2</sub> N <sub>1</sub> M <sub>1</sub>	1
IV	T <sub>2</sub> N <sub>2</sub> M <sub>0</sub>	1
	T <sub>2</sub> N <sub>2</sub> M <sub>0</sub>	1
В С Ь О Г О		77 хворих
ХВОРИ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ		
Ia	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub>	10
	T <sub>1</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub>	6
II	T <sub>3</sub> N <sub>1</sub> M <sub>1</sub>	3
	T <sub>2</sub> N <sub>2</sub> M <sub>0</sub>	2
IV	T <sub>2</sub> N <sub>2</sub> M <sub>0</sub>	2
	T <sub>2</sub> N <sub>2</sub> M <sub>0</sub>	2
В С Ь О Г О		20 хворих

Меланомні антигени для антигенної стимуляції лімфопроліферації отримували з видаленого метастатичного матеріалу хворих на меланому за методом Keryn et al., 1977.

Статистична обробка результатів проведена з використанням критерію Ст'юдента та коефіцієнтів рангової кореляції (Б.В.Губер, 1988).

#### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.

##### ДОСІДИ НА МИШАХ З МЕЛАНОМОЮ В16 ТА КАРЦИНОМОЮ Л'ВІС.

На першому етапі проведено вивчення динаміки функціональної активності імунітетів на різних етапах розвитку меланому В-16 у мишей. Контролем в цих дослідженнях слугували з одного боку інтактні тварини, а з другого - миші з перевитом непігментованих пухлин карциномом Л'віс.

Відомо, що неспецифічний імунітет відіграє ключову роль в про-

типухлинному захисті організму. Серед ряду показників неспецифічного імунітету ми вивчали активність натуральних кілерів та фагоцитарну активність макрофагів.

Фагоцитарну активність макрофагів оцінювали по відновленню нітросинього тетразолів. Активовані макрофаги проявляють протипухлинну дію шляхом секреції ряду розчинних факторів, зокрема токсичних похідних O<sub>2</sub>, котрим властиві сильні бактерицидний та цитотоксичний ефекти (Park A.K. et al., 1968). В процесі канцерогенезу система мононуклеарних фагоцитів пригнічується по мірі росту пухлини (С.М. Гордненко, 1984; С.А. Гусева, 1987).

В наших дослідженнях ми стимулювали респіраторний вибух перитонеальних макрофагів інактивованим опсонізованим стафілококом. Опромінення проводили безпосередньо перед стимуляцією.

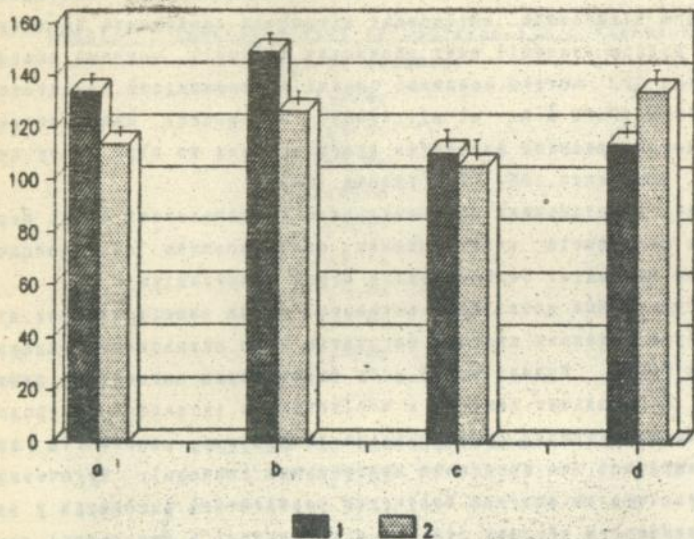
За результатами досліджень виявлено, що на ранніх строках після перевивки меланоми система фагоцитів децю активована (напевно, за рахунок РТНХ). Надалі на 15 добу фагоцитарна активність зникається до мінімальних значень в порівнянні з інтактним контролем. На етапі метастазування функціональна активність макрофагів знов децю підвищується (не досягаючи контрольних значень). Це очевидно може відбуватися за рахунок залучення резидентних фагоцитів у зв'язку з виникненням пухлини іншої (в порівнянні з первинною) локалізації (мал. 1).

Картина, отримана у мишей з карциномою Д'віс практично не відрізнялась від такої у мишей з меланомою Віб. З цієї причини тут і надалі в авторефераті дані, отримані на карциномі Д'віс не представлені. Ці дослідження повністю викладені в дисертації.

Як видно з малюнку 1 випромінювання гелій-неонового лазера виявляє деякий модульничий вплив на фагоцитарну активність макрофагів мишей. У контрольних тварин випромінювання пригнічує фагоцитоз на 8-10%. На ранніх етапах розвитку пухлинного процесу, при початково підвищених базальних значеннях фагоцитозу супресорний ефект посилюється до 15-20%. На етапі зрілої пухлини лазерне випромінювання практично не впливає на фагоцитарну активність. І нарешті в період метастазування лазерне світло проявляє невелику стимульову дію на перитонеальні макрофаги. Таким чином, можна зробити висновок, що направленість і вираженість фотоімунomodulaції цілком визначається базальним рівнем активності макрофагів.

У другій серії експериментів проведено дослідження модульничого впливу лазерного випромінювання на цитотоксичну активність НК-клі-

Індекс стимуляції



маз.1 Динаміка активності та фоточутливості макрофагів при розвитку меланоми В-16.

а - тварини без пухлини; б - 5 день після перевивки пухлини; с - 15 день після перевивки пухлини; д - 21 день після перевивки пухлини.

1 - без опромінення; 2 - при лазерному опроміненні /довжина хвилі 633 нм, 15 с/.

тин. Ми вивчали дію випромінювання гелій-неонового лазера на натуральну кілдерну активність суспензії спленоцитів на різних етапах розвитку меланоми В-16 (має.2).

Як у контрольних тварин, так і по мірі розвитку меланоми В-16 натуральна кілдерна активність під дією лазерного випромінювання дещо зникає. Цей ефект найбільш виражений на етапі метастазування пухлини.

З метою в'ясування деяких елементів механізму лазерної імуномодуляції ми вивчили рівень циклічних нуклеотидів у тимоцитах мишей-пухлинноносців.

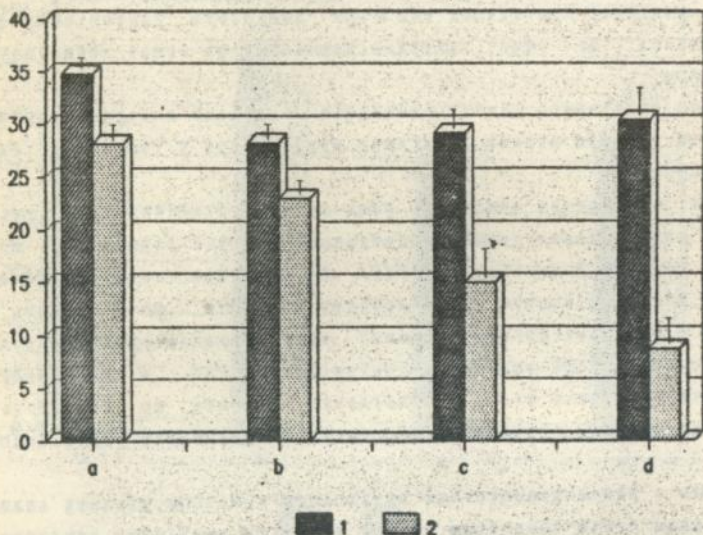
Циклічні нуклеотиди виконують роль вторинних месенджерів-універсальних внутрішньоклітинних посередників при дії гормонів, медіаторів, тощо (А.П.Велюворов, 1977). На підставі співвідношення цГМФ/цАМФ можна оцінювати направленість процесів, що проходять в клітині (М.В.Васильєв, 1975). Високий внутрішньоклітинний рівень 3'5'-АМФ активує цАМФ-залежну протеїніназу, яка, в свою чергу, фосфорилує мембранні білки, стабілізує мембрани, що проявляється в гальмуванні виходу лізосомальних ферментів (Н.А.Федоров, 1979).

Виходячи з вищесказаного нам видавалось логічним вивчити вплив випромінювання гелій-неонового лазера на вміст циклічних нуклеотидів у тимоцитах мишей на різних етапах розвитку меланоми В-16.

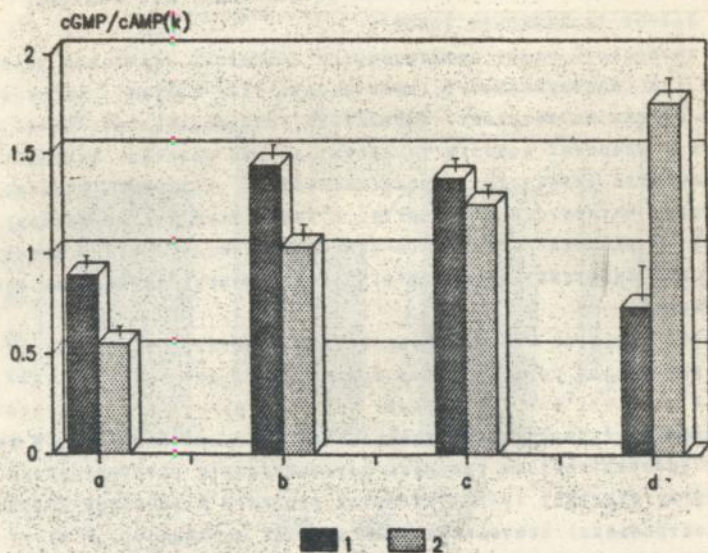
Аналізуючи співвідношення цГМФ/цАМФ у динаміці меланоми В-16 ми одержали результати, представлені на мал.3. Вже на 5 день після перевивки пухлини, коли генерується специфічний імунітет, і аж до етапу зрілої пухлини клітини тимусу активно проліферують, про що свідчить підвищене в порівнянні з контролем співвідношення цГМФ/цАМФ. Лазерне випромінювання в цьому випадку незначно пригнічує показник. На етапі метастазування (коефіцієнт) співвідношення циклічних нуклеотидів у тимусі зникає до контрольного рівня і в цій ситуації спостерігається виражене підвищення співвідношення під дією лазерного опромінення. Співставляючи отримані результати з даними по вивченню фагоцитозу можна висунути таке припущення. Як вже сказано вище, цГМФ стимулює вихід лізосомальних ферментів фагоцитів. І якщо припустити однотипну реакцію на світло тимоцитів і макрофагів, то можна наведені вище дані з фоточутливості макрофагів пояснити фотомодуляцією вмісту цГМФ (порівняти мал.1 та 3).

Пояснити аналогічним шляхом реакцій на опромінення НК-клітин складніше. Очевидно механізм лазерної імуномодуляції - багатоком-

ЛІВНС КЛІТИН-МІШЕНІЙ



мал.2 Динаміка активності та фоточутливості натуральних кілерів при розвитку меланоми В-16.  
а - тварини без пухлини; б - 5 днів після перевивки пухлини; с - 15 днів після перевивки пухлини; д - 21 день після перевивки пухлини.  
1 - без опромінення; 2 - після лазерного опромінення (довжина хвилі 633 нм, 15 с).



мал.3 Вплив лазерного випромінювання на співвідношення циклічних нуклеотидів в тимоцитах мишей при розвитку меланоми В-16.

а - тварини без пухлини; б - 5 день після перевивки пухлини; с - 15 день після перевивки пухлини; д - 21 день після перевивки пухлини.

1 - без опромінення; 2 - після лазерного опромінення (довжина хвилі 633 нм; 15 с).

полісентний процес, і, в даному випадку, у нього залучувуться біохімічні реакції, що впливають на межі нашої роботи.

#### ДОСЛІДЖЕННЯ НА КРОВІ ХВОРИХ НА МЕЛАНОМУ, РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ТА ЗДОРОВІХ ДОНОРІВ.

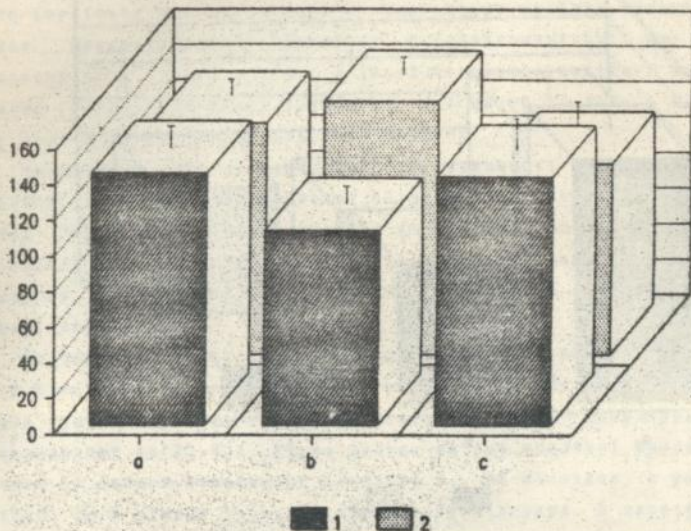
На наступному етапі досліджень ми займалися вивченням імунного статусу та фоточутливості імунокомпетентних клітин, одержаних в крові у хворих на меланому. Паралельно проводились аналогічні дослідження у здорових донорів та хворих на рак молочної залози. Серед показників імунітету вивчали натуральну кіллерну активність, фагоцитарну активність лейкоцитів, а також лімфопроліферативну активність. У здорових донорів (n=32) випромінювання гелій-неонового лазера при експозиції 15с пригнічує фагоцитарну активність лейкоцитів (маа.4).

Аналіз вихідних значень фагоцитарної активності хворих на меланому призвів до розділу групи пацієнтів на дві підгрупи (маа.4). В першій підгрупі (n=57) базальні значення фагоцитарної активності були низькими (значно нижче донорських), і, як наслідок, у таких хворих спостерігається виражена фотостимуляція респіраторного вибуху. Другу підгрупу (n=20) складали пацієнти з високими (близькими до контрольних) значеннями фагоцитарної активності. В цьому випадку лазерне випромінювання пригнічує фагоцитоз.

При дослідженні фоточутливості натуральних кіллерів у хворих на меланому в порівнянні із здоровими донорами отримані наступні дані (маа.5). Випромінювання гелій-неонового лазера незначно пригнічує НК-активність у здорових донорів. Група хворих за величиною вихідних (без опромінення) значень розділилась, як і у випадку з фагоцитозом, на 2 підгрупи. У хворих 1 підгрупи базальна активність натуральних кіллерів значно супресована в порівнянні з контролем (біля як в 2 рази). Лазерне випромінювання при цьому стимулює функціональну активність натуральних кіллерів. У другій підгрупі вихідні значення біля близькі до донорських. Лазерне випромінювання у таких пацієнтів недостовірно пригнічує функції НК-клітин.

Таким чином, лазерне випромінювання модулює НК-активність як у здорових донорів, так і у хворих на меланому. Реакція на світло натуральних кіллерів схожа в танос у фагоцитів. На додаток проведено вивчення корелятивного зв'язку функціонального статусу цих двох типів клітин з їх реакцією на опромінення з використанням коефіцієнту рангової кореляції. В групі хворих він дорівнював 0,624.

індекс стимуляції

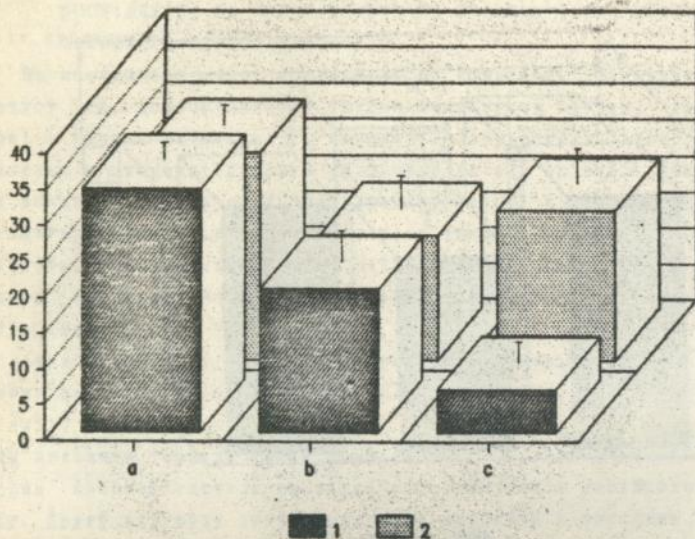


мал.4 Вплив лазерного випромінювання на фагоцитів лейкоцитів.

а - здорові донори (n-32); б - перша підгрупа хворих на меланому (n-67); с - друга підгрупа хворих на меланому (n-20).

1 - без опромінення; 2 - після лазерного опромінення.

лізис клітин-мішеней



маб.5 Вплив лазерного випромінювання на активність натуральних кілерів.  
а - здорові донори (n-32); б - перша підгрупа хворих на меланому (n-20); с - друга підгрупа хворих на меланому (n-57).  
1 - без опромінення; 2 - після лазерного опромінення.

p-0,05, що свідчить про наявність позитивного корелятивного зв'язку між вихідним функціональним станом натуральних кілаерів і фагоцитів та їх реакцією на лазерне випромінювання.

На закінчення аналізу характеру лазерної модуляції неспецифічного імунітету при пухлинному процесі можна зробити наступний висновок. Направленість і виразність фотостимуляції при розвитку меланоми як у тварин, так і у людей переважно залежить від початкового стану активності імунітетів. У мисей до того ж цей процес пов'язаний із стадією пухлинного процесу.

Визначення лімфопроліферативної активності являє собою добре вивчений показник, що дозволяє оцінити функціональний стан лімфоцитів. В зв'язку з цим ми вважали за доцільне вивчити вплив випромінювання гелій-неонового лазера на лімфопроліферацію у хворих на меланому в порівнянні із здоровими донорами та хворими на рак молочної залози.

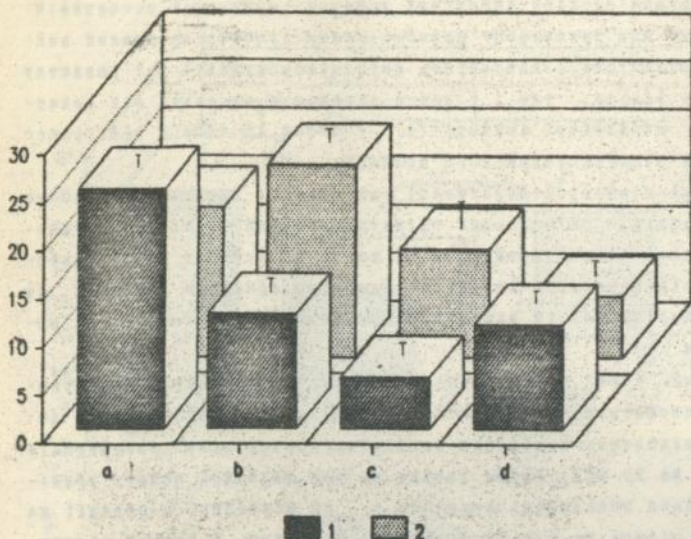
На першому етапі цього розділу досліджень вивчали ФГА-індуковану бласттрансформацію лімфоцитів (мал. 5). У здорових донорів лазерне випромінювання пригнічує лектиніндуковану лімфопроліферацію в середньому на 20-30%. Група хворих на рак молочної залози розділялась (з огляду на початкову величину і, як наслідок, з реакції на світло) на 2 рівні за кількістю хворих підгруп. В першій підгрупі відмічена фотостимуляція (хворі з низьким базальним рівнем активності); в другій - фотосупресія (пацієнти з високими вихідними значеннями). У хворих на меланому лазерне випромінювання відіграє роль кофактора мітогеніндукованої лімфопроліферації, підвищуючи її в середньому на 30-50%. При цьому слід відмітити, що вихідні (без опромінення) значення індексів стимуляції у цих пацієнтів значно нижчі за донорські.

Стимуляція мітогенами - один із способів активації лімфоцитів. Причому, через неспецифічність дії вони є поліклональними активаторами Т- і В-клітин.

Антигенна стимуляція проліферації проходить з участю специфічних, достатньо витчених мембранних структур. Приймаючи до уваги цей факт ми вважали за доцільне дослідити вплив випромінювання гелій-неонового лазера і на антигеніндуковану бласттрансформацію лімфоцитів. За антигени використовували меланінові гранули, виділені нами з операційного матеріалу хворих на меланому.

Як показав результати досліджень, у здорових донорів випромінювання гелій-неонового лазера пригнічує антигенстимульовану лім-

Індекс стимуляції



маж. 6 Вплив лазерного випромінювання на ФГА-індуковану лімфопротірацію.

а - здорові довери (n-32); б - хвори на меланому (n-77); с - першпідгрупа хвори на рак молочної залози (n-9); д - друга підгрупа хвори на рак молочної залози (n-11).

1 - без опромінювання; 2 - після лазерного опромінювання.

фопроліфераціям (дані представлені в дисертації), при цьому ефект менш виразний, ніж при використанні лектинів. В групі хворих на меланому лазерне випромінювання стимулює антигеніндуковану бласттрансформаціям. При цьому процент стимуляції децю вищий, ніж у випадку з лектинами. У хворих на рак молочної залози низькоенергетичне лазерне випромінювання також стимулює лімфопроліферативну відповідь на антигени, однак децю менше ніж при використанні мітогенів. Слід відзначити, що вихідні значення в групі обслідуваних хворих на рак молочної залози були дуже низькими.

Таким чином, випромінювання гелій-неонового лазера модулює як мітоген-, так і антигеніндуковану лімфопроліфераціям. Направленість фотомодуляції в обох випадках однотипова і залежить від початкових значень показника. Отримані результати дозволяють зробити висновок, що дія лазерного випромінювання не зачінає початкового етапу стимуляції проліферації (дисахариди у випадку мітогенів і TcR/CD3 комплекс у випадку антигенів), а, можливо, діє в точці перехрещення двох різних сигнальних шляхів. Спираючись на дані, отримані на тваринах, можна припустити, що лазерне випромінювання впливає безпосередньо на циклічні нуклеотиди.

Відомо, що функціонування фізіологічних систем, в тому числі й імунної, зазнає сезонних і добових коливань. Багато патологічних процесів в організмі супроводжуються порушеннями часової організації фізіологічних функцій. В той же час розгодження ритмів являється одним з причин розвитку патологічних процесів в організмі (В.М. Диліман, 1986; Ф.М. Комаров, 1989).

Виходячи з вищесказаного, представляло інтерес вивчити особливості добових ритмів функціональної активності та фоточутливості імуннокомпетентних клітин хворих на меланому.

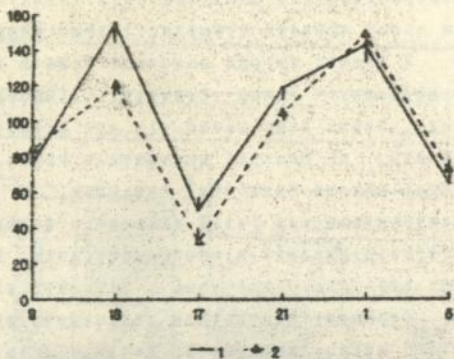
В літературі існують нечисленні дані стосовно добової ритміки лімфоїдних клітин здорових людей (Scheving L.E., 1981; Fernandes G et al., 1979) і практично відсутня інформація щодо циркадних ритмів у онкологічних хворих.

Ми досліджували добові ритми фагоцитарної активності лейкоцитів, активності натуральних кіллерів та фоточутливості цих двох типів клітин у хворих на меланому та здорових донорів. Робота виконувалась злітку. Визначення рівня активності та фоточутливості проводились 6 разів на протязі доби: в 9, 13, 17, 21, 1 та 5 годин.

Отримані результати свідчать про те, що добові ритми активнос-

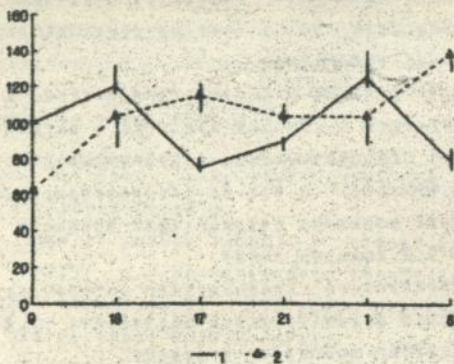
лізіс клітин-мішеней (Z)

ДОНОРИ



лізіс клітин-мішеней (Z)

МЕЛАНОМА



маг.7 Добовий ритм активності та фоточутливості натуральних кілерів у здорових донорів (n-7) та хворих на меланому (n-3).

1 - без опромінення; 2 - після лазерного опромінення.

ті і фоточутливості імунокомпетентних клітин у хворих на меланому відрізняються від донорських, хоч існують значні індивідуальні відмінності в межах групи хворих. У хворих значно менша амплітуда добових коливань активності натуральних кіллерів (мал.7). Реакція на світло НК-клітин у цих хворих також відрізняється від донорів. В донорській групі лазерне випромінювання пригнічує кіллерну активність на протязі доби. В групі хворих реакція на світло більш виразна, а напрямок фотомодуляції (пригнічення чи стимуляція) цілком залежить від вихідних значень НК-активності на цей час. Наведений на мал.7 характер фоточутливості є типовим для всіх трьох обстежуваних хворих на меланому. Щодо ритму суто кіллерної активності, то у одного з них відбулася повна, а у другого - часткова інверсія ритму НК-активності (дані представлені в матеріалах дисертації).

При порівняльному аналізі циркадних ритмів фагоцитарної активності та фоточутливості лейкоцитів у хворих на меланому і у здорових донорів також виявились значні індивідуальні відмінності в групі хворих. З 5 хворих у трьох добовий ритм практично повністю співпадає з донорським (дані представлені в дисертації), однак реакція на опромінення відрізняється від такої в контролі: лазерне випромінювання у донорів переважно пригнічує респіраторний вибух фагоцитів; у хворих таке пригнічення відмічене тільки в першій половині доби, а фотостимуляція вночі. По до рентг двох хворих, то у них відбулася часткова інверсія добових ритмів фагоцитозу, а реакція на світло цілком залежала від вихідного рівня показника.

#### ВИСНОВКИ.

1. Низькоенергетичне лазерне випромінювання модулює функціональну активність лімфоїдних клітин як у здорових тварин, так і при рості експериментальних пухлин. При цьому імунокомпетентні клітини мийей в двох різних пухлинах - меланомов В-16 та карциномов Д'віс, не відрізняються за характером світлової чутливості.

2. Направленість фотоімуномодуляції (стимуляція або пригнічення) у мийей в пухлинно визначається вихідним рівнем активності лімфоїдних клітин, до, в свою чергу, пов'язане із стадією росту пухлини.

3. Лазерне випромінювання модулює функціональну активність імунокомпетентних клітин як у хворих на меланому та рак молочної залози, так і у здорових донорів. Направленість і виразність фотоімуномодуляції залежить від вихідного значення показника.

4. У 70% хворих на меланому лазерне випромінювання стимулює натуральну кіллерну та фагоцитарну активність.

5. Реакція бласттрансформації є найбільш чутливим до світлового впливу імунопоказником у хворих на меланому. При цьому виражена фотостимуляція реакції спостерігається як при мітогенній, так і при антигенній активації.

6. У хворих на меланому порушені добові ритми коливань показників неспецифічного імунітету. Характер цих порушень відрізняється значною індивідуальною різноманітністю.

7. Добовий ритм фоточутливості імунокомпетентних клітин у хворих на меланому також має значні відмінності в порівнянні із здоровими донорами. У донорів характер добового ритму залежить від сезону (тривалості світлового дня), а у хворих - цілком визначається вихідним значенням показника.

#### СПИСОК НАУКОВИХ РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Иммуномодулирующие эффекты низкоэнергетического лазерного излучения при опухолевом росте // Международная конференция "Лазеры в медицине и хирургии" (тез. докладов). - Брест. - 1992 (соавт. Федорчук А.Г., Толстопапов Б.А.)

2. Динамика лимфопрлиферативного ответа и НК-активности у больных раком молочной железы // Там же (соавт. Федорчук А.Г., Скляр С.В.)

3. Клиническая и иммунологическая оценка эндоскопического лазерного облучения крови в лечении заболеваний народокта // Там же (соавт. Рудых Э.М., Федорчук А.Г., Воробьева С.А.)

4. Суточные колебания чувствительности натуральных киллеров и фагоцитирующих лейкоцитов к излучению гелий-неонового лазера // Там же (соавт. Гамалея Н.Ф., Федорчук А.Г., Краценко В.Н.)

5. Лечение больных раком молочной желез с использованием гипертермии, гипергликемии и лазерной иммуоферации // Республикаская онкологическая конференция "Эффективность современных методов диагностики и лечения злокачественных опухолей". - Переяслав-Хмельницкий (тез. докл.) - 1991, - с.66-69 (соавт. Тарутинов В.И., Гамалея Н.Ф., Скляр С.В., Стадник В.Я., Федорчук А.Г.)

6. Использование лазерного облучения крови в лечении больных раком молочной железы // Международный семинар Австралийского общества врачей "Рак молочной железы, колоректальный рак. Проблемы лечения" (тез. докл.). - Львов. - 1992. - с.75-85 (соавт. Тарутинов В.И., Гамалея Н.Ф., Стадник В.Я., Вербецкий В.В., Федорчук А.Г.)

7. Оценка метода ВЛОК в лечении заболеваний пародонта и слизистой оболочки рта // Актуальные проблемы магнитных и электромагнитных полей в медицине . Всесоюзная научная конференция (тез. докладов). - Ленинград. - 1990. - с.17 (соавт. Рудых З.М., Воробьева С.А., Федорчук А.Г.)

8. О влиянии электромагнитного излучения крайне высокой частоты и низкой интенсивности на цитотоксическую активность естественных киллерных клеток человека // Биофизика . - 1992. - 37. - Вып. 57 - С.957-961 (соавт. Федорчук А.Г., Столяров З.Е., Левчук В.Н., Мостовая А.В.)

9. Влияние лазерного облучения крови на некоторые показатели иммунитета у мышей // Действие низкоэнергетического лазерного излучения на кровь . Всесоюзная конференция (тез. докл.). - Киев. - 1989. - С.48 (соавт. Федорчук А.Г.)

10. Гематологические и иммунологические изменения при ВЛОК // Там же. - С.160 (соавт. Стадник В.Я., Федорчук А.Г., Карасевская Е.А.)

Підписано до друку 18.10.93. Формат 60x84 1/16. Офсетний друк. Ум. друк. арк. 1,16. Тираж 100 прим. Сам: 1972а.

ВІСНІВКОВА КОМПАНІЯ УКРАЇНИ, 252171, Київ, вул. Горького, 180.

463941

AB 28.444  
**AB 28.444**