

В.О. Логінський

Я.І. Виговська

Ю.С. Кароль

О.М. Цяпка

Г.Б. Лебедь

В.Л. Матлан

І.Й. Євстахевич

В.Л. Новак

Інститут патології крові та
трансфузійної медицини
АМН України, Львів, Україна

Ключові слова: хронічна
лімфоцитарна лейкемія,
CD95-рецептор, імунна цитопенія,
вінкристин, спленектомія.

ЕКСПРЕСІЯ CD95 ПРИ ХРОНІЧНІЙ ЛІМФОЦИТАРНІЙ ЛЕЙКЕМІЇ І КОРЕЛЯЦІЯ З ВІДПОВІДДЮ НА ЛІКУВАННЯ

Резюме. Досліджено експресію CD95 на лімфоцитах периферичної крові у 72 хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію (ХЛЛ) залежно від стадії хвороби, характеру цитопенії під час застосування деяких схем лікування. Виявлено низький рівень CD95⁺-клітин (0–5%) у більшості хворих (78%). Різні схеми лікування неоднозначно впливали на кількість CD95⁺-лімфоцитів. Вірогідне зростання експресії CD95 спостерігали після застосування вінкристину або схеми COP, а також після спленектомії. Тривалість ремісії імунної цитопенії при ХЛЛ після лікування корелювала зі збільшенням кількості CD95⁺-клітин під час курсу лікування.

ВСТУП

Пухлинні CD5⁺ В-лімфоцити при хронічній лімфоцитарній лейкемії (В-ХЛЛ) характеризуються обмеженою здатністю до поділу і росту, перебуваючи у стані спокою (фаза G₀/G₁ клітинного циклу). Нагромадження лейкемічних В-лімфоцитів є наслідком не їхньої посиленої проліферації, а подовженого виживання внаслідок порушення процесів апоптозу [21, 28, 33, 35, 37, 38]. В літературі висвітлені питання щодо механізмів стійкості цих клітин до зовнішніх проапоптичних сигналів, вплив на них різних гуморальних факторів, зокрема цитокінів, які регулюють процеси проліферації і смерті нормальних В-клітин [6, 30, 33, 37, 38].

Серед мембранних рецепторів, через які здійснюється початкова фаза індукції запрограмованої смерті клітин, важливе місце займають надродина рецепторів фактора некрозу пухлин (TNF) та їхні відповідні ліганди. До таких рецепторів відноситься трансмембранний глікопротеїн Fas (APO-1, CD95). Перехресне зв'язування зовнішньоклітинного домену рецептора CD95 та утворення тримерів з Fas-лігандом (FasL, CD95L) чи з моноклональними антитілами (МКАТ) анти-CD95 приводить до активації цитоплазматичного домену смерті рецептора CD95 з наступною каскадною передачею апоптичного сигналу через білок FADD і систему каспаз до клітинних субстратів, в яких відбуваються морфологічні і функціональні зміни, властиві апоптозу [6, 38].

Під час онтогенезу В- і Т-лімфоцитів експресія CD95 значно зростає на проліферуючих та активованих клітинах і знижується на цих клітинах у стадії спокою, виявляючи зворотну кореляцію з активністю гена *bcl-2* та його продуктами [23, 34, 38]. Вважають, що за допомогою системи Fas–FasL здійснюється елімінація аутореактивних клонів лімфоцитів. Тому мутації гена CD95 із заміною амінокислот у рецепторі CD95 та його ліганді можуть бути причи-

ною розвитку аутоімунних процесів як в експериментальних тварин, так і в людини [31, 32]. Незважаючи на численні дослідження, не досить чітко окреслена роль CD95 і CD95L у патогенезі лімфоїдних пухлин [12, 36]. Деякі автори, повідомляючи про низьку експресію CD95 на лейкемічних CD5⁺ В-лімфоцитах, вважають, що вона може бути однією з причин тривалого виживання і нагромадження цих клітин при В-ХЛЛ [4, 6, 20, 22, 33].

Враховуючи ці дані, проведено дослідження експресії CD95 на лімфоїдних клітинах крові у пацієнтів з В-ХЛЛ залежно від стадії хвороби, при ускладненні аутоімунною цитопенією під час застосування деяких схем лікування.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Під нашим спостереженням протягом 1992–2001 рр. знаходилося 72 хворих на В-ХЛЛ, у яких проводили імунофенотипові дослідження експресії антигена CD95 на пухлинних В-лімфоцитах периферичної крові, в окремих випадках відповідно і з видаленої селезінки. Діагноз В-ХЛЛ встановлювали за результатами клініко-лабораторних досліджень відповідно до міжнародних критеріїв Національного інституту раку (NCI): збільшення лімфатичних вузлів, гепато- і/або спленомегалія, наявність симптомів інтоксикації, абсолютний лімфоцитоз периферичної крові (> 5 Г/л), відсоток лімфоцитів у кістковому мозку > 30, імунофенотипова характеристика лімфоцитів (В-клітинний фенотип CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺_{dim}, HLA-DR⁺ з високою експресією CD5, низькою щільністю sIg). Показники експресії CD95 у хворих на В-ХЛЛ аналізували залежно від стадії хвороби, характеру цитопенії та схеми лікування. Обстежених хворих розподілили на три групи залежно від стадії хвороби (за Rai): 1-ша — 9 хворих на В-ХЛЛ 0–II стадії без ускладнень; характеру цитопенії: 2-га група — 57 хворих на В-ХЛЛ III–IV стадії з імунною ци-

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

топенією, 3-тя група — 6 хворих на В-ХЛЛ з III–IV стадією захворювання з цитопенією, зумовленою недостатністю кісткомозкового кровотворення. У 53 хворих на В-ХЛЛ, ускладнену імунною цитопенією, кількість CD95⁺-клітин визначали до та після лікування, у частини хворих хімотерапію проводили повторно за різними схемами. Досліджували рівень експресії CD95 лейкоцидними CD5⁺-лімфоцитами під впливом таких схем цитостатичної терапії: преднізолон у дозі 1–2 мг/кг на добу (13 хворих); вінкристин — 2 мг 1 раз на тиждень, курсова доза — 6 мг + преднізолон у стандартній дозі (11 хворих); хлорамбуцил у дозі 0,15–0,2 мг/кг на добу, курсова доза — 200–300 мг + преднізолон у дозі 0,5–1 мг/кг на добу (8 хворих); схема COP (8 хворих). У двох групах хворих на В-ХЛЛ разом з кортикостероїдами у звичайних дозах проводили терапію з можливим біологічним впливом на лейкоцидний процес чи його аутоімунне ускладнення: 9 хворим на фоні лікування преднізолоном призначали активатори Т-системи імунітету у дозі 1 мл внутрішньом'язово, курсова доза — 10 ін'єкцій; 7 — проведено 2–7 сеансів лейкоплазмаферезу з видаленням 800–1200 мл плазми і 50–140 мл лейкоцитарної маси. Спленектомія за клінічними показами виконана у 7 хворих на В-ХЛЛ, які до і після операції одержували кортикостероїдні препарати.

Вказані лікувальні заходи застосовували насамперед для усунення імунних ускладнень ХЛЛ, тому їхню клінічну ефективність оцінювали за впливом на імунну цитопенію. Повну ремісію аутоімунного процесу констатували з нормалізацією гемограми, кількості ретикулоцитів та тромбоцитів, показників біохімічних досліджень. Часткову ремісію визначали при помірному підвищенні концентрації гемоглобіну (до 80–100 г/л), збільшенні кількості еритроцитів (до 2,4–3,0 Т/л), зменшенні кількості ретикулоцитів і зниженні рівня сироваткового білірубину наполовину, збільшенні кількості тромбоцитів вище «критичного числа» (> 30 Г/л). Якщо вказані показники в процесі лікування не покращувались, це оцінювали як відсутність ремісії аутоімунного ускладнення.

Контрольну групу склали 15 здорових осіб (донорів крові).

Визначення поверхневих маркерів лімфоїдних клітин периферичної крові та селезінки проводили непрямим імунофлюоресцентним методом. Антиген CD95 на мембрані лімфоїдних клітин крові та селезінки ідентифікували за допомогою МКАТ ІПО-4 (ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького) [5]. Відсоток антигенпозитивних клітин підраховували на 100–200 мононуклеарних клітин. Експресію маркера вважали позитивною, якщо його виявляли більше як на 20% клітин.

Статистичне порівняння сукупностей проводили за параметричним критерієм різниці (тест Стьюдента t); вірогідність різниці між середніми величинами двох сукупностей приймали за $p < 0,05$. Зв'язок між показниками встановлювали за коефіцієнтом кореляції (r).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені нами імунофенотипічні дослідження свідчили про низький рівень експресії антигену CD95 на лейкоцидних лімфоцитах крові у хворих на В-ХЛЛ (таблиця).

Таблиця
Рівень експресії CD95 на лімфоцитах крові у хворих на В-ХЛЛ

Група хворих	Частотний розподіл рівня CD95 ⁺ -клітин, %				Середній відсоток CD95 ⁺ -клітин (M ± m), %
	0–5%	6–10%	11–20%	> 21%	
Здорові особи					4,3 ± 0,7
В-ХЛЛ 0–II стадії	7	2	—	—	1,9 ± 0,8
В-ХЛЛ III–IV стадії	32	11	10	4	7,1 ± 0,9
ХЛЛ III–IV стадії	4	1	—	1	6,0 ± 3,9

Виявлено неоднорідність фарбування МКАТ ІПО-4 злюкисних В-клітин в окремих групах хворих на В-ХЛЛ. Надто низькі показники експресії антигену CD95 констатували на лімфоцитах хворих на В-ХЛЛ ранніх стадій. У пацієнтів із захворюванням III–IV стадії з імунними ускладненнями та III–IV стадії з недостатністю кісткомозкового кровотворення відсоток CD95⁺-клітин був вищим, ніж на ранніх стадіях процесу, однак тільки в окремих випадках перевищував 20%. В цілому, незалежно від стадії хвороби, у більшості хворих на В-ХЛЛ (75,4 %) кількість CD95⁺-лімфоцитів була в межах 0–5%, і тільки у 7% осіб цей маркер реєстрували більше ніж на 20% мононуклеарних клітин крові.

Рівень експресії антигену CD95 на лімфоцитах крові у хворих на В-ХЛЛ з імунною цитопенією до та після застосування різних схем лікування представлено на рисунку, з даних якого видно, що кількість CD95⁺-клітин після курсу лікування преднізолоном суттєво не змінювалась. Не відбувалось також змін експресії рецептора CD95 після курсу лікування хлорамбуцилом з преднізолоном. Вірогідне підвищення експресії Fas-рецептора на лейкоцидних клітинах у хворих на В-ХЛЛ з імунними ускладненнями спостерігали з включенням до програми лікування вінкристину (вінкристин + преднізолон та схема COP): до лікування 10,6 ± 3,5%, після — 20,3 ± 2,7%; ($p < 0,05$). Застосування активаторів Т-системи імунітету в комбінації з преднізолоном та проведення лейкоплазмаферезу сприяло незначному зниженню відсотка

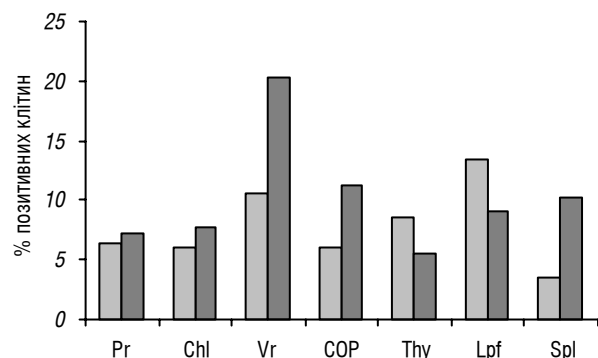


Рисунок. Вплив лікування на експресію антигену CD95: Pr — преднізолон; Chl — хлорамбуцил; Vr — вінкристин; COP — схема COP; Thy — препарати гормонів тимуса; Lpf — лейкоплазмаферез; Spl — спленектомія

CD95⁺-клітин. Спленектомія у хворих на ХЛЛ спричинила збільшення кількості В-клітин, які при імунних ускладненнях ХЛЛ взаємодіяли з МКАТ до CD95. До спленектомії цей показник становив $3,5 \pm 0,7\%$, після — $10,2 \pm 2,3\%$; $p < 0,05$. У той же час величина експресії антигену CD95 на лімфоїдних клітинах виділеної селезінки у хворих на В-ХЛЛ була дещо вища, ніж на клітинах крові, і становила $9,8 \pm 1,9\%$.

Ефективність різних методів усунення імунних ускладнень В-ХЛЛ ми оцінювали, враховуючи частоту, повноту та тривалість ремісії. В групах хворих, яким призначали преднізолон, преднізолон + хлорамбуцил, ремісію імунного ускладнення спостерігали приблизно у половини, а її тривалість в середньому становила $5,4 \pm 0,9$ та $6,1 \pm 1,3$ міс відповідно. Аналогічні низькі показники ефективності терапії були у хворих на В-ХЛЛ після застосування препаратів гормонів тимуса та проведення лейкоплазмаферезу. Значно кращими були результати застосування вінкрістину з преднізолоном та схеми СОР (ремісія імунного ускладнення відзначена у 73 і 75% хворих з тривалістю відповідно $13,5 \pm 3,0$ та $10,4 \pm 3,2$ міс). Найкращі результати отримано після спленектомії — ремісія імунного ускладнення відзначена в усіх хворих, її середня тривалість становила $17,2 \pm 3,8$ міс. Таким чином, кількість CD95⁺-клітин збільшується після програм лікування з високою та середньою результативністю, тобто після спленектомії або курсу терапії вінкрістином з преднізолоном чи застосування схеми СОР.

Проведено кореляційний аналіз для з'ясування наявності зв'язку між рівнем експресії Fas-антигену і тривалістю ремісії імунного процесу. Виявлено, що в групах хворих, які отримували різні схеми лікування, існує кореляція середньої сили ($r = +0,600$) між відсотком CD95⁺-лімфоцитів у кінці курсу лікування та середньою тривалістю ремісії. Тісний кореляційний зв'язок ($r = +0,788$) відзначено між приростом рівня експресії CD95⁺-клітин під час курсу лікування і середньою тривалістю ремісії.

Характерною особливістю лейкоемічних CD5⁺ В-лімфоцитів, яка лежить в основі патогенезу В-ХЛЛ, є їх знижена здатність до проліферації й апоптозу, що приводить до подовження часу життя і поступового нагромадження цих клітин у крові і тканинах. Основною причиною стійкості злоякісних В-клітин до апоптозу вважають високий рівень експресії білка bcl-2 порівняно з бах, а у частини хворих — мутації білка p53 [29]. Крім того, лімфоцити при В-ХЛЛ нечутливі до проапоптичних сигналів, хоча у культурі, стимульовані мітогенами, ці клітини за певних умов можуть набувати здатності як до апоптозу, так і до проліферації [33]. Останнє свідчить про порушення сигнальних шляхів індукції фізіологічної смерті у пухлинних В-лімфоцитах. Важлива роль у регуляції процесів апоптозу нормальних В-клітин, з одного боку, та проліферації і диференціації — з іншого, належить двом рецепторам родини TNF та їх лігандам, а саме: антиапоптичному CD40-CD40L і проапоптич-

ному CD95-CD95L [35, 37, 38]. Висока експресія вказаних рецепторів на певних етапах розвитку В-клітин і наявність їх лігандів на різних субпопуляціях Т-лімфоцитів забезпечують регуляцію і збалансованість процесів росту і диференціації нормальних В-клітин [34, 37].

Результати наших досліджень співпадають з повідомленнями інших авторів про низьку експресію Fas-рецептора (CD95) на пухлинних лімфоцитах при В-ХЛЛ [4, 28, 32, 35]. В доступній літературі відсутня єдина думка щодо біологічного і клінічного значення Fas-рецептора на CD5⁺ В-лімфоцитах. Одні автори вважають, що зв'язування CD95, який при ХЛЛ не має ознак мутації, не призводить до посилення апоптозу злоякісних клітин [28, 35]. Інші автори виявили здатність CD95 при цій хворобі індукувати процеси апоптозу клітин [22, 32], тим більше, що поява CD95 на стимульованих мітогенами чи цитокінами лейкоемічних В-клітинах супроводжується зниженням активності білка bcl-2, інгібітора апоптозу [26]. Встановлено [3] зворотний кореляційний зв'язок між експресією CD95 і кількістю лімфоцитів у периферичній крові при В-ХЛЛ, і експресія цього антигену має клінічне значення, що дозволяє прогнозувати об'єм циркулюючого пухлинного клону. Існують дані, що лейкоемічні клітини при В-ХЛЛ завдяки наявності на своїй поверхні ліганду CD95L можуть зв'язуватись з рецептором CD95 імуноглобулінсекреторних клітин кісткового мозку, пригнічуючи в такий спосіб продукцію нормальних імуноглобулінів [34]. Внаслідок цього зростає ризик виникнення тяжких інфекцій у хворих на В-ХЛЛ, що пояснює, зокрема, зв'язок між аутоімунними ускладненнями В-ХЛЛ та підвищеною частотою інфекцій і смертності від них [24].

Ми виявили деякі відмінності рівня експресії антигену CD95 на поверхні злоякісних В-клітин у хворих на В-ХЛЛ залежно від стадії процесу: дуже низьку на ранніх і дещо вищу — при III–IV стадії. Тільки у 8% пацієнтів з захворюванням III–IV стадії кількість CD95⁺-клітин перевищувала порогову величину — 20%. Відомо, що поверхнева експресія CD95 на Т- і В-клітинах не завжди співпадає з чутливістю цих клітин до CD95-індукованого апоптозу і залежить від комбінації сигналів, що надходять до клітини через рецептори розпізнавання антигену і такі корцепторні молекули, як CD28 на Т-клітинах та CD40 на В-клітинах [6]. У цьому відношенні має значення секреція злоякісними клітинами деяких цитокінів, зокрема IL-4, IL-8, які аутокринним шляхом через bcl-2 подовжують термін виживання злоякісних клітин при В-ХЛЛ [9, 10, 14, 15, 22].

Препарати та лікувальні заходи, що застосовують при злоякісних процесах, мають неоднаковий, характерний механізм реалізації протипухлинного ефекту, включно зі шляхом активації апоптозу через Fas–FasL [11, 16, 21, 25].

Саме тому різні програми терапії хворих на В-ХЛЛ неоднозначно впливали на експресію антигену CD95

на лейкоцитних В-клітинах. Результати наших досліджень, як і інших авторів [28], свідчать, що кортикостероїди не підвищують рівень експресії CD95-рецептора на лімфоцитах при В-ХЛЛ. Механізм цитостатичної дії кортикостероїдних препаратів пов'язують з індукцією ними апоптозу в лейкоцитних CD5⁺ В-клітинах [13, 18] через цитоплазматичний рецептор шляхом порушення експресії генів [36] та безпосередніх ініціаторів процесу апоптозу — системи каспаз [9]. Встановлено, що цитотоксична дія кортикостероїдів не залежить від активності білка p53 [8], а онкогени *bcl-2* та *bax*, експресія яких при В-ХЛЛ порушена у бік переважання експресії *bcl-2*, можуть зумовлювати резистентність до терапії кортикостероїдними препаратами [22]. Ми спостерігали високий відсоток випадків В-ХЛЛ, імунні ускладнення якої були резистентними до кортикостероїдів. Ефективність кортикостероїдів у частини хворих на В-ХЛЛ з імунними ускладненнями може бути зумовлена тим, що кортикостероїдні гормони через ядерну ендонуклеазу можуть сприяти нормалізації співвідношення активності генів *bcl-2* та *bax* [22]. Крім того, кортикостероїди, знижуючи на лейкоцитних В-лімфоцитах експресію молекул міжклітинної адгезії (ICAM), що було нами доведено для нормальних В-лімфоцитів [2], призводять до аноїкозу пухлинних лімфоцитів шляхом втрати їх здатності до контакту зі стромальними клітинами, необхідного для підтримання тривалого виживання [7, 28, 37].

Кортикостероїд-індукований апоптоз не гальмується IL-2, як і деякими цитокінами II типу [10]. Тому виявлене нами після курсу лікування преднізолоном підвищення рівня експресії CD25R, рецептора IL-2 [1], який діє як сигнал виживання для CD5⁺ В-клітин [12, 19, 27], не перешкоджає терапевтичному ефекту кортикостероїдів.

Хлорамбуцил не індукував появи на лейкоцитних В-лімфоцитах антигену CD95, з чого можна зробити висновок, що його цитостатична дія не реалізується через апоптичний шлях CD95—CD95L.

Експресія CD95 на лейкоцитних В-лімфоцитах суттєво підвищувалась після застосування схем терапії, що включали вінкрисдин (вінкрисдин + преднізолон та схема COP). Відомо, що вінкрисдин впливає на клітини в стадії G₂ клітинного циклу, а як препарат, який дезорганізує мікротубули, повинен включати фосфорилування гена *bcl-2* [17]. На наш погляд, підвищення рівня CD95 на лейкоцитних клітинах внаслідок їх активації є важливим фактором ефективності вінкристину при В-ХЛЛ, ускладненої імунною цитопенією, завдяки чому клітини стають більш чутливими до індукції апоптозу цитокінами.

Препарати гормонів тимуса та лейкоплазмаферез не впливали на рівень CD95⁺-клітин у хворих на В-ХЛЛ. Найбільш значне підвищення рівня експресії рецептора CD95 на лейкоцитних В-клітинах крові ми спостерігали у хворих на В-ХЛЛ після спленектомії. Слід відзначити, що кількість CD95⁺-клітин у селезінці цих хворих була у 2 рази більшою порівняно з

кількістю їх у периферичній крові до операції. Після спленектомії експресія антигену CD95 на пухлинних лімфоцитах зростала у 2,5 разу. Можна припустити, що активація Fas-рецептора зумовлена змінами цитокінової мережі після видалення великого органа лімфоїдної системи.

Роль активації системи Fas-рецептора в ефективності цитостатичної терапії підтверджується тісним прямим кореляційним зв'язком ($r = +0,788$) між тривалістю ремісії та приростом кількості CD95⁺-клітин після курсу лікування у хворих на В-ХЛЛ. Зростання експресії CD95 на лейкоцитних В-клітинах у хворих з імунними ускладненнями спостерігається тільки після програм терапії, що відзначаються значною і тривалою ефективністю.

Отже, В-ХЛЛ належить до Fas-негативних пухлин, у стратегії лікування хворих з цією лейкоцією слід враховувати можливість активації Fas-опосередкованого апоптозу або через інші шляхи впливати на процеси запрограмованої смерті лейкоцитних CD5⁺ В-клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Виговська ЯІ, Логінський ВО, Кароль ЮС та ін. Аутоімунні ускладнення хронічної лімфоїдної лейкоїї: порівняльна характеристика клінічної ефективності та змін фенотипу лімфоцитів під час терапії преднізолоном або вінкрисцином та преднізолоном. Онкологія 2000; 2 (4): 260–3.
2. Лебедь Г, Логінський В, Євстахевич І та ін. Вплив кортикостероїдів на імунологічний профіль лімфоїдних клітин селезінки у хворих на імунну тромбоцитопенічну пурпуру. Ліки України 2000; 3: 49–51.
3. Митина ТА, Голенков АК, Полосухина ЕР і др. Клиническое значение экспрессии CD18/CD11b и CD95 при хроническом лимфолейкозе. В: Актуальные уставные вопросы гематологии и трансфузиологии. С-Петербург, 1996. 40.
4. Полосухина ЕР, Заботина ТН, Шишкин ЮВ і др. Исследование экспрессии антигена Fas (APO-1/CD95) с помощью проточной цитометрии и моноклональных антител IPO-4. Эксперим онкол 1997; 19 (3): 206–11.
5. Сидоренко СП, Бердова АГ, Ветрова ЕП і др. Моноклональные антитела IPO-4, распознающие антиген активированных Т- и В-лимфоцитов человека. Эксперим онкол 1990; 12 (3): 21–4.
6. Сидоренко СП. Fas/CD95-опосредуемый апоптоз в патогенезе лимфоидных новообразований. Эксперим онкол 1998; 20 (1): 15–28.
7. Фильченков АА, Стойка РС. Апоптоз и рак. Киев: Морион, 1999. 184 с.
8. Begleiter A, Mowat M, Israels LG, Johnston JB. Chlorambucil in chronic lymphocytic leukemia: mechanism of action. Leuk Lymphoma 1996; 23 (3–4): 187–201.
9. Bellosillo B, Dalmau M, Colomer D, Gil J. Involvement of CED-3/ICE proteases in the apoptosis of B-chronic lymphocytic leukemia cells. Blood 1997; 89 (9): 3378–84.
10. Dancescu M, Rubio-Trujillo M, Biron G, et al. Interleukin 4 protect chronic lymphocytic leukemic B cells from death by apoptosis and upregulates Bcl-2 expression. J Exp Med 1992; 176 (5): 1319–26.
11. Dirks W, Schune S, Uphoff C, et al. Expression and function of CD95 (Fas/APO-1) in leukemia-lymphoma tumor lines. Br J Haematol 1997; 96 (3): 584–93.
12. Fluckiger AC, Durand I, Banchereau J. Interleukin 10 induces apoptotic cell death of B-chronic lymphocytic leukemia cells. J Exp Med 1994; 179 (1): 91–9.
13. Forbes IJ, Zalewski PD, Giannakis C, Cowled PA. Induction of apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells and its prevention by phorbol ester. Exp Cell Res 1992; 198 (2): 367–72.

14. **Francia-di-Celle P, Mariani S, Riera L.** Interleukin-8 induces the accumulation of B-cell chronic lymphocytic leukemia cells by prolonging survival in an autocrine fashion. *Blood* 1996; **87** (10): 4382–9.

15. **Frankfurt OS, Byrnes JJ, Villa L.** Protection from apoptotic cell death by interleukin-4 is increased in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients. *Leuk Res* 1997; **21** (1): 9–16.

16. **Friesen C, Herr I, Los M, Debatin K-M.** Drug induced cytotoxicity in leukemia cells involves the CD95 (APO/Fas) pathway of apoptosis. *Br J Haematol* 1996; **93** (367): 95.

17. **Haldar S, Basu A, Croce CM.** Bcl2 is the guardian of microtubule integrity. *Cancer Res* 1997; **57** (2): 229–33.

18. **Huang RW, Tsuda H, Takatsuki K** Interleukin-2 prevents programmed cell death in chronic lymphocytic leukemia cells. *Int J Hematol* 1993; **58** (1–2): 83–92.

19. **Jewell AP.** Interferon-alpha, *bcl-2* expression and apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 1996; **21** (1–2): 43–7.

20. **Kamihira Sh, Yamada Y, Hirakata Y, et al.** Quantitative characterization and potential function of membrane Fas/APO-1 (CD95) receptor on leukemic cells from chronic B and T lymphoid leukaemias. *Br J Haematol* 1997; **99** (4): 858–65.

21. **Kitada S, Andersen J, Akar S, et al.** Expression of apoptosis regulating proteins in chronic lymphocytic leukemia: Correlation with *in vivo* and *in vitro* chemoresponses. *Blood* 1998; **91** (9): 3379–86.

22. **Korner I, Weber-Nordt R, Pfaff P, Finke J.** Analysis of a regulatory element in the 5'-untranslated region of the *bcl-2* gene. *FEBS Lett* 1997; **406** (1–2): 31–2.

23. **Mapara MY, Bargou R, Zugck C, et al.** APO-1 mediated apoptosis or proliferation in human chronic B lymphocytic leukemia: correlation with *bcl-2* oncogene expression. *Eur J Immunol* 1993; **23** (3): 702–8.

24. **Mauro FR, Foa R, Cerretti R, et al.** Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: clinical, therapeutic, and prognostic features. *Blood* 2000; **95** (9): 2786–92.

25. **McGahon AJ, Costa Pereira AP, Daly L, Cotter ThG.** Chemotherapeutic drug-induced apoptosis in human leukemic cells is independent of the Fas (APO-1/CD95) receptor/ligand system. *Br J Haematol* 1998; **101** (3): 539–47.

26. **Molica S, Mannella A, Dattilo A.** Differential expression of BCL-2 oncoprotein and Fas antigen on normal peripheral blood and leukemic bone marrow cells. A flow cytometric analysis. *Haematologica* 1996; **81** (4): 302–9.

27. **Morabito F, Callera I, Rodino A, et al.** Modulation of purine analogs-induced and chlorambucil-induced cytotoxicity by alpha-interferon and interleukin-2 in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 1995; **9** (9): 1450–5.

28. **Panayiotidis P, Jones D, Ganeshaguru K, et al.** Human bone marrow stromal cells prevent apoptosis and support the survival of chronic lymphocytic leukaemia cells *in vitro*. *Br J Haematol* 1996; **92** (1): 97–103.

29. **Pepper Ch, Thomas A, Hoy T, et al.** Antisense-mediated suppression of *bcl-2* highlights its pivotal role in failed apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Br J Haematol* 1999; **107** (3): 611–5.

30. **Ramenghi U, Dianzani I, Bragardo M, et al.** Functional Fas deficiency without mutations in the Fas gene in patients with autoimmunity lymphoproliferation. *Br J Haematol* 1996; **93** (381): 98.

31. **Rieux-Laucat F, Blachere S, Danielan S, et al.** Lymphoproliferative syndrome with autoimmunity: A possible genetic basis

for dominant expression of the clinical manifestations. *Blood* 1999; **94** (8): 2575–82.

32. **Robertson MJ, Manley TJ, Pichert G.** Functional consequences of APO-1/Fas (CD95) antigen expression by normal and neoplastic hematopoietic cells. *Leuk Lymphoma* 1995; **17** (1–2): 51–61.

33. **Roliński J.** Przewlekła białaczka limfocytowa B-komórkowa — zaburzenia proliferacji czy apoptozy? *Acta Haematol Pol* 1998; **1** (29): 19–24.

34. **Sampalo A, Navas G, Medina F, et al.** Chronic lymphocytic leukemia B cells inhibit spontaneous Ig production by autologous bone marrow cells: role of CD95-CD95L interaction. *Blood* 2000; **96** (9): 3168–74.

35. **Wang D, Freeman GJ, Levine H, et al.** Role of the CD40 and CD95 (Fas/APO-1) antigens in the apoptosis of human B-cell malignancies. *Br J Haematol* 1997; **97** (2): 409–17.

36. **Wertz JW, Haenley MR.** Diverse molecular provocation of programmed cell death. *TIBS* 1996; **21** (10): 359–64.

37. **Wickremasinghe RG, Hoffbrand AV.** Biochemical and genetic control of apoptosis: relevance to normal hematopoiesis and hematological malignancies. *Blood* 1999; **93** (11): 3587–600.

38. **Williams JF, Matthew JP, Wright JA, et al.** Fas-mediated lysis of chronic lymphocytic leukemia cells: role of type I versus type II cytokines and autologous FasL-expressing T cells. *Br J Haematol* 1999; **107** (3): 99–105.

CD95 EXPRESSION IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKAEMIA AND CORRELATION WITH RESPONSE TO TREATMENT

V.O. Loginsky, Ya.I. Vygovska, Yu.S. Karol, O.M. Tsiapka, G.B. Lebed, V.L. Matlan, I.J. Eustakhevych, V.L. Novak

Summary. CD95 expression on peripheral blood lymphocytes of 72 patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL) depending on the stage of disease, cytopenia pattern and the treatment schedules. A low (0–5%) level of CD95⁺ cells was detected in the majority (78%) of patients. Various treatment schedules differed in terms of their effect on CD95⁺ lymphocytes. A significantly increased CD95 expression was observed after vincristine or COP schedule, as well as after splenectomy. The duration of relapse of immune cytopenia in treated CLL correlated with increased number of CD95⁺ cells during the treatment session.

Key Words: chronic lymphocytic leukaemia, CD95-receptor, immune cytopenia, vincristine, splenectomy.

Адреса для листування:

Логінський В.О.
79044, Львів, вул. Генерала Чупринки, 45
Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України