

Я.І. Виговська
В.О. Логінський
Ю.С. Кароль
О.М. Цяпка
В.Л. Матлан

Львівський НДІ патології крові
та трансфузійної медицини
АМН України, Львів, Україна

Ключові слова: хронічна лімфоїдна лейкемія, імунні ускладнення, імунофенотип, преднізолон, вінкрисдин.

АУТОІМУННІ УСКЛАДНЕННЯ ХРОНІЧНОЇ ЛІМФОЇДНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ: ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА КЛІНІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ТА ЗМІН ІМУНОФЕНОТИПУ ЛІМФОЦИТІВ ПІД ЧАС ТЕРАПІЇ ПРЕДНІЗОЛОНОМ АБО ВІНКРИСТИНОМ ТА ПРЕДНІЗОЛОНОМ

Резюме. Проведено порівняльне дослідження імунологічного фенотипу лімфоїдних клітин периферичної крові хворих на хронічну лімфоїдну лейкемію (ХЛЛ) з імунними цитопеніями під час лікування преднізолоном або вінкристином з преднізолоном. Виявлено, що включення до програми лікування вінкристину (вінкрисдин + преднізолон) сприяло досягненню більш тривалої ремісії у значної кількості хворих. Кращий клінічний результат супроводжується більш суттєвими змінами лейкемічної В-клітинної популяції, ніж у разі застосування лише преднізолону, а саме: знижується відсоток HLA-Dr⁺-, CD21⁺-, CD37⁺-клітин. Одночасно істотно підвищується експресія активаційних маркерів CD11b, CD25R та CD95 на лейкемічних клітинах. Обґрунтована доцільність включення до програми лікування хворих з імунними ускладненнями ХЛЛ вінкристину як препарату, що збільшує експресію Fas-антигену.

ВСТУП

Перебіг хронічної лімфоїдної лейкемії (ХЛЛ) у 5–25% випадків ускладнюється імунними цитопеніями, які найчастіше маніфестуються імунною гемолітичною анемією (ІГА), імунною тромбоцитопенічною пурпурою (ІТП) та синдромом Фішера–Івенса (ІГА + ІТП).

Основним методом лікування хворих на ХЛЛ з аутоімунними ускладненнями є терапія кортикостероїдними препаратами, клінічна ефективність яких пояснюється пригніченням функції макрофагів, зниженням активності їх Fc-рецепторів та депресивним впливом на антитілогенез [11, 18].

З цією метою у гематологічній клініці застосовують також вінкрисдин, ефективність якого зумовлена його вираженим імунодепресивним ефектом, що виявляється, насамперед, гальмуванням утворення антитіл та пригніченням активності фагоцитуючих мононуклеарів [14, 26].

Оскільки лікувальний вплив цитостатичних засобів опосередкований генетичними механізмами та активацією апоптозу, які можуть супроводжуватися змінами імунофенотипу клітини, метою нашої роботи стало з'ясування імунофенотипічної характеристики лімфоїдних клітин крові у хворих на ХЛЛ з аутоімунними ускладненнями під час лікування преднізолоном та преднізолоном з вінкристином.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведено обстеження 24 хворих на ХЛЛ з аутоімунними ускладненнями під час лікування. Діагноз

ХЛЛ та її аутоімунного ускладнення встановлювали за даними клінічного обстеження та лабораторних досліджень. Першу групу склали 13 пацієнтів, яким призначали преднізолон, а другу — 11 хворих, які отримували комбінацію вінкрисдин + преднізолон.

У першій групі хворих було 9 чоловіків та 4 жінки. Вік хворих — 45–65 років. У 4 хворих перебіг ХЛЛ ускладнився розвитком ІГА, у 4 — ІТП, у 5 — діагностовано синдром Фішера–Івенса.

Другу групу склали хворі віком 54–69 років. Серед них було 9 чоловіків та 2 жінки. У 6 хворих спостерігали явища гемолітичної анемії, у 4 — ІТП, а у 1 — синдром Фішера–Івенса.

Імунофенотипічні методи включали визначення лінійних та диференційних антигенів на мембрані лімфоїдних клітин крові за допомогою моноклональних антитіл (МКАТ), панель яких складалася з 28 МКАТ. Імунофенотипування проводили непрямим імуофлюоресцентним методом. У всіх хворих визначали відсоток позитивних клітин до і після лікування. Експресія В-клітинних маркерів вважалася позитивною, якщо $\geq 20\%$ клітин позитивно реагували з відповідними МКАТ.

Отримані результати оцінювали за допомогою традиційних методів варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Хворі першої групи отримували преднізолон по 1–2 мг/кг на добу протягом 18–26 днів з поступовим зниженням дози.

На фоні лікування кортикостероїдними препаратами у 7 хворих вдалося досягти клініко-гематологічної ремісії аутоімунного ускладнення тривалістю від 5 до 12 міс, у 4 хворих — деякого покращання стану, 2 хворих були резистентні до лікування. Середня тривалість клініко-гематологічної ремісії становила $5,45 \pm 0,97$ міс.

У всіх хворих виявили моноклональну популяцію В-лімфоцитів відповідно до експресії легких ланцюгів. Середній клональний ексцес до лікування у хворих даної групи складав $9,10 \pm 1,91$.

Поверхневий фенотип основної популяції лімфоцитів периферичної крові відповідав типовому В-ХЛЛ: лейкомічні клітини експресували антигени HLA-D α , CD5, CD20, CD21 та CD22. На переважній популяції лімфоцитів виявлено й інші В-клітинні маркери (CD37, CD72) (табл. 1).

Лейкемічні лімфоцити в основному не експресували активаційних антигенів (< 20% позитивних клітин).

Після проведення курсу лікування преднізолоном значних кількісних і якісних змін в популяції лейкомічних В-лімфоцитів не відзначали. Знизився лише відсоток CD20 $^{+}$ - та CD72 $^{+}$ -клітин. Середній клональний ексцес не змінювався.

Таблиця 1

Експресія В-клітинних, активаційних, Т-клітинних і НК-клітинного антигенів на мембрані лімфоїдних клітин периферичної крові у хворих на ХЛЛ з аутоімунними ускладненнями під час лікування преднізолоном

Вид МКАТ	Клас CD	Кількість позитивних клітин, %	
		до лікування	після лікування
В-клітинні антигени			
ІКО1	HLA-D α	$73,5 \pm 2,9$	$74,0 \pm 1,9$
BCAV	CD20	$43,3 \pm 5,6$	$28,7 \pm 4,6^*$
ЛБ21	CD21	$49,2 \pm 2,5$	$44,9 \pm 3,2$
ІКО12	CD22	$51,0 \pm 5,4$	$50,8 \pm 5,5$
ЛТ1	CD5	$69,5 \pm 2,3$	$69,2 \pm 2,8$
ІПО24	CD37	$58,3 \pm 8,4$	$51,6 \pm 8,2$
ІКО66	CD37	$46,3 \pm 2,2$	$48,5 \pm 2,0$
ЗФ3	CD72	$48,1 \pm 5,4$	$30,0 \pm 4,8^*$
Rs4	CD76	$21,4 \pm 6,0$	$19,0 \pm 5,5$
ІПО10	—	$38,3 \pm 3,1$	$41,7 \pm 2,9$
ІКО107	κ^1	$46,4 \pm 3,6$	$46,8 \pm 4,6$
ІКО106	λ^1	$11,2 \pm 1,7$	$13,8 \pm 0,9$
ІКО106	λ^2	$44,4 \pm 6,9$	$49,7 \pm 9,1$
ІКО107	κ^2	$6,3 \pm 2,8$	$5,7 \pm 1,5$
ІКО30	IgM	$25,1 \pm 4,4$	$20,9 \pm 3,9$
Активаційні антигени			
ІКО40	RFB1	$31,2 \pm 4,9$	$27,5 \pm 4,7$
ІКО105	CD25R	$6,6 \pm 1,3$	$10,7 \pm 0,8^*$
ІПО38	—	$13,9 \pm 3,9$	$17,8 \pm 5,9$
ІКОГМ1	CD11b	$3,0 \pm 0,9$	$9,4 \pm 2,7^*$
ІПО3	CDw150	$1,8 \pm 0,7$	$3,1 \pm 1,1$
ІКО20	CD38	$6,9 \pm 2,4$	$8,8 \pm 2,8$
ІПО4	CD95	$6,3 \pm 1,5$	$7,2 \pm 1,5$
Т-клітинні антигени			
ЛТ2	CD2	$3,2 \pm 0,5$	$3,3 \pm 0,6$
ЛТ3	CD3	$8,3 \pm 0,9$	$5,4 \pm 0,9^*$
ЛТ7	CD7	$5,7 \pm 1,9$	$4,7 \pm 1,8$
ЛТ4	CD4	$6,6 \pm 0,3$	$8,5 \pm 0,4^*$
ЛТ8	CD8	$2,8 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,3^*$
—	CD4 $^+$ /CD8 $^+$	$2,6 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,2^*$
ІКО10	CD90	$2,3 \pm 0,9$	$1,1 \pm 0,3$
ІКО44	CD1c	$1,3 \pm 0,5$	$1,9 \pm 0,7$
НК-клітинний антиген			
ЛНК16	CD16	$0,5 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2^*$

* $p < 0,05$; 1 — група хворих з κ^1 -фенотипом; 2 — група хворих з λ^1 -фенотипом.

Під час лікування преднізолоном збільшилась кількість клітин, що експресують активаційні антигени CD25R та CD11b ($p < 0,05$).

У хворих на ХЛЛ відсоток клітин, на яких виявлено Т-клітинні маркери, був невисоким внаслідок переважання популяції лейкомічних В-клітин (див. табл. 1). Після курсу лікування преднізолоном виявлено зниження рівня CD3 $^+$ -клітин та вірогідне збільшення відносної кількості як CD4 $^+$ -, так і CD8 $^+$ -лімфоцитів; проте через більш значне зростання відсотка клітин з імунофенотипом Т-супресорів співвідношення CD4 $^+$ /CD8 $^+$ знизилось. Вірогідно зростає кількість NK-клітин (CD16 $^+$).

Усі пацієнти другої групи отримували вінкрисдин 1 раз на тиждень по 2 мг в курсовій дозі 6 мг, а також преднізолон з розрахунку 1 мг/кг на добу.

У 8 хворих цієї групи під час лікування спостерігали клініко-гематологічну ремісію аутоімунного ускладнення, в 1 хворої — лише незначне поліпшення, а у 2 хворих позитивного ефекту не було. Ремісія аутоімунного ускладнення в цій групі хворих тривала від 5 міс до 2 років. Середня тривалість ремісії становила $13,5 \pm 2,99$ міс.

Імунофенотип лімфоїдних клітин обстежених хворих характеризувався переважанням експресії основних В-клітинних антигенів HLA-D α , CD5, CD20, CD21 та CD22 (табл. 2). У більшості пацієнтів відзначали експресію на лімфоїдних клітинах інших В-клітинних антигенів CD72, CD76. Середній клональний ексцес становив $11,28 \pm 1,99$. Як правило, лейкомічні клітини не експресували активаційних антигенів.

Після проведення курсу лікування вінкристином і преднізолоном середній клональний ексцес знизився до $5,95 \pm 1,70$ ($p < 0,05$). Зменшилась експресія основних В-клітинних антигенів: HLA-D α -, CD21 $^+$ - та CD37 $^+$ -клітин.

Суттєво зростає експресія активаційних антигенів CD11b, CD25R і майже вдвічі — Fas-рецептора (молекули апоптозу) CD95.

Експресія Т-клітинних антигенів у хворих даної групи до лікування була невисокою (див. табл. 2). Після лікування вінкристином з преднізолоном суттєво збільшилась кількість CD3 $^+$ -клітин ($p < 0,01$), а також кількість Т-хелперів; відсоток Т-супресорів не змінився. Співвідношення T $_H$ /T $_S$ зросло.

Проведені нами дослідження виявили, що у разі застосування традиційного лікування у хворих на ХЛЛ з аутоімунними ускладненнями преднізолоном клініко-гематологічну ремісію аутоімунного ускладнення відзначено у 7 обстежених із 13, тривалість її становила від 5 до 12 міс. Включення до програми лікування вінкристину (вінкрисдин + преднізолон) сприяло досягненню ремісії у більшого числа хворих (у 8 із 11) та значному її подовженню.

Після курсу лікування вінкристином з преднізолоном паралельно з кращим клінічним результатом спостерігалися більш суттєві зміни імунологічного фенотипу лімфоїдних клітин крові хворих, ніж у разі застосування лише преднізолону. Так, у хворих на ХЛЛ з аутоімунними ускладненнями під дією преднізолону на В-клітинах зменшується експресія лише двох маркерів дозрілих клітин (CD20, CD72). Одночасно підвищується рівень експресії активаційних маркерів CD25R і CD11b, тобто спостерігаються ознаки активації В-клітин.

Під час лікування вінкристином і преднізолоном знижуються відсоток HLA-Dr⁺, CD21⁺, CD37⁺-клітин і, що особливо важливо, клональний експрес, істотно збільшується кількість клітин з активаційними маркерами CD25R, CD11b та CD95.

У доступній літературі зустрічаються лише поодинокі повідомлення про вплив преднізолону на окремі популяції лімфоцитів. Так, G. Pozzato і співавтори [28] вказують на зниження експресії CD23-антигену у хворих з В-ХЛЛ після лікування преднізолоном. Даних про вплив преднізолону на експресію маркерів на лімфоцитах хворих з В-ХЛЛ з аутоімунними ускладненнями в літературі ми не знайшли.

Результати наших досліджень, як і дані літератури [27], свідчать, що кортикостероїди не підвищують експресії APO-1/Fas-рецептора (CD95) на лейкоцитних лімфоцитах при ХЛЛ. Проте деякі дослідники механізм лікувальної дії кортикостероїдних гормонів при ХЛЛ пов'язують з індукцією ними процесів апоптозу в лейкоцитних CD5⁺ В-клітинах [4, 17, 22], в першу чергу шляхом порушення експресії генів [31] та безпосередніх ініціаторів процесів апоптозу — CED-3/ICE-подібних протеаз [9]. Вважають, що цитотоксична дія кортикостероїдів не залежить від активності гена

p53 [8], а онкогени *bcl-2* та *bax*, експресія яких при ХЛЛ підвищена, можуть зумовлювати резистентність до терапії кортикостероїдними препаратами [20, 23]. Ми також відзначали високий відсоток випадків ХЛЛ з аутоімунними ускладненнями, при яких розвивалась резистентність до кортикостероїдної терапії. В той же час кортикостероїдні гормони через ядерну ендонуклеазу можуть спричинювати в деяких випадках зниження активності генів *bcl-2* та *bax* [20]. Ще один можливий механізм захисту лейкоцитних клітин від апоптозу пов'язаний з виявленням нами підвищенням рівня експресії CD25R — рецептора IL-2, який діє як сигнал виживання для CD5⁺ В-клітин [12, 19, 25], хоча вважають, що кортизоніндукований апоптоз не гальмується IL-2, як і деякими іншими цитокинами [10].

Результати проведених нами досліджень свідчать, що цитотоксична дія вінкристину у хворих на ХЛЛ спрямована на лейкоцитні В-лімфоцити, процеси активації В-клітин і на підвищення експресії Fas-антигену. Згідно з даними літератури, первинно під дією вінкристину, як і іншого рослинного алкалоїду колхіцину, пошкоджується організація мікротубул, що зумовлює затримку мітозу клітин у стадії веретена [7, 13, 15, 31]. Настає активація Ca⁺⁺/Mg⁺⁺-залежної ендонуклеази і, як наслідок, — фрагментація ДНК, що є ознакою апоптозу [15, 32]. Встановлено, що цитотоксична дія вінкристину не залежить від активності гена *p53* [8]. Вінкрисдин впливає на клітини в стадії G_{2m} і як препарат, який дезорганізує мікротубули, має спричинити фосфоріляцію гена *bcl-2* [16]. Вінкрисдин може пошкоджувати лімфоїдні клітини в інтерфазі, сповільнюючи їх проліферацію [3]. На наш погляд, важливим чинником ефективності вінкристину при ХЛЛ є підвищення рівня експресії на лейкоцитних клітинах Fas-рецептора (CD95) як результату активації, внаслідок чого вони стають більш чутливими до індукції апоптозу цитокинами. APO-1/Fas — це трансмембранний глікопротеїн, який належить до групи рецепторів TNF і здатний передавати апоптичний сигнал в клітину після зв'язування з лігандом. Погляди дослідників щодо значення експресії Fas-рецептора на злоякісних лімфоїдних клітинах, особливо при В-ХЛЛ, розбіжні. Одні автори доводять, що зв'язування Fas-рецептора, який при ХЛЛ не має ознак мутації, не посилює апоптоз злоякісних клітин [27, 30]. В інших спостереженнях виявлено здатність Fas-рецептора при цих захворюваннях індукувати процеси апоптозу клітин [21, 29], тим більше, що поява CD95 на стимульованих В-клітинах супроводжується зниженням активності гена *bcl-2*, інгібітора апоптозу [24]. Вірогідно, що і вінкрисдин як руйнівник мікротубул спричинює фосфоріляцію гена *bcl-2*, хоча окремі автори у випадку ХЛЛ не спостерігали цього явища [16]. Останні повідомлення свідчать, що *in vitro* вінкрисдин стимулює процес апоптозу у хворих з В-ХЛЛ [8].

Вінкрисдин сприятливо впливає на Т-лімфоцити та їх імунорегуляторні субпопуляції, очевидно, за рахунок обмеження лейкоцитного процесу. Після лікування вінкристином з преднізолоном виявлено збільшення кількості CD3⁺ та більш суттєве CD4⁺-клітин, внаслідок чого співвідношення T_H/T_S нормалізувалося, чого не спостерігали у разі застосування тільки преднізолону.

Дані літератури щодо впливу вінкристину на субпопуляції Т-лімфоцитів свідчать про зниження *in vitro*

Таблиця 2

Експресія В-клітинних, активаційних, Т-клітинних та NK-клітинного антигенів на мембрані лімфоїдних клітин периферичної крові у хворих на ХЛЛ з аутоімунними ускладненнями під час лікування вінкристином і преднізолоном

Вид МКАТ	Клас CD	Кількість позитивних клітин, %	
		до лікування	після лікування
В-клітинні антигени			
ІКО1	HLA-Dr	75,8 ± 3,2	61,9 ± 5,3*
ВСАВ	CD20	52,2 ± 7,6	46,2 ± 9,4
ЛБ21	CD21	58,7 ± 5,7	41,0 ± 6,0*
ІКО12	CD22	72,6 ± 3,4	59,9 ± 7,9
ЛТ1	CD5	71,3 ± 3,8	63,5 ± 3,9
ІПО24	CD37	72,7 ± 9,5	64,9 ± 5,9
ІКО66	CD37	69,3 ± 5,7	49,3 ± 6,2*
ЗФ3	CD72	60,1 ± 5,3	53,5 ± 6,7
Rs4	CD76	30,3 ± 9,5	29,4 ± 5,8
ІПО10	—	44,1 ± 6,9	41,3 ± 6,9
ІКО107	κ ¹	71,7 ± 2,6	64,5 ± 4,2
ІКО106	λ ¹	11,5 ± 3,1	22,0 ± 4,3*
ІКО106	λ ²	54,0 ± 7,2	51,0 ± 2,6
ІКО107	κ ²	4,6 ± 0,9	8,8 ± 2,2
ІКО30	IgM	36,5 ± 8,6	25,6 ± 4,3
Активаційні антигени			
ІКО124	CD10	5,0 ± 2,1	4,0 ± 1,6
ІКО40	RFB1	34,0 ± 6,4	53,0 ± 7,3
ІКО105	CD25R	4,2 ± 0,6	6,3 ± 0,7*
ІПО38	—	11,0 ± 6,8	10,0 ± 6,0
ІКОГМ1	CD11b	2,2 ± 0,8	6,1 ± 1,3*
ІПО3	CDw150	9,6 ± 2,6	12,1 ± 2,4
ІКО20	CD38	5,8 ± 1,2	6,1 ± 1,4
ІПО4	CD95	10,6 ± 3,4	20,3 ± 2,6*
Т-клітинні антигени			
ЛТ2	CD2	4,0 ± 0,7	5,0 ± 1,8
ЛТ3	CD3	6,4 ± 0,5	10,0 ± 1,2*
ЛТ7	CD7	3,7 ± 1,2	5,9 ± 1,1
ЛТ4	CD4	6,2 ± 0,6	9,8 ± 1,4*
ЛТ8	CD8	3,2 ± 0,4	4,0 ± 0,6
—	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	2,1 ± 0,2	2,5 ± 0,1*
ІКО10	CD90	3,5 ± 1,6	2,9 ± 0,7
ІКО44	CD1c	2,7 ± 1,1	1,8 ± 0,9
NK-клітинний антиген			
ЛНК16	CD16	2,6 ± 0,9	3,2 ± 1,0

* p < 0,05; ¹ — група хворих з κ¹-фенотипом, ² — група хворих з λ¹-фенотипом.

розеткоутворення лімфоцитами і зменшення *in vivo* кількості Е-РУК та активованих С3- і Fc-РУК [1, 2, 5, 6].

Беручи до уваги наведені дані, можна зробити висновок, що під час лікування хворих з аутоімунними ускладненнями ХЛЛ без значної гіперплазії органів лімфоїдної системи разом із базисною терапією кортикостероїдними гормонами доцільно застосовувати вінкрисдин як препарат, що збільшує експресію Fas-антигену.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Борецкий ВА.** Популяции лимфоцитов и некоторые показатели иммунитета у больных хроническим лимфолейкозом в процессе цитостатической терапии: [Автореф дис ... канд мед наук]: Киев: Киевский НИИ гематологии и переливания крови, 1985. 21 с.
2. **Братусь ГГ, Дарчук ГФ.** Влияние химиоиммунотерапии на чувствительность Т-лимфоцитов к теофиллину при лимфоме. Гематол трансфузиол 1991; (1): 32–4.
3. **Булкина ЗП.** Противоопухолевые препараты. Киев: Наукдумка 1991. 304 с.
4. **Выговская ЯИ, Логинский ВЕ, Цяпка ОН и др.** Аспекты стадирования хронического лимфолейкоза с учетом фенотипической характеристики лейкозных клеток. Пробл гематол 1996; (1): 18–23.
5. **Петров ВВ, Гуськова АК, Данилова НБ и др.** Сравнительная характеристика изменений субпопуляций лимфоцитов крови при хроническом лимфолейкозе. Гематол трансфузиол 1984; (11): 21–8.
6. **Шабалин ВН, Серова ЛД, Розанова ОЕ.** Действие противоопухолевых препаратов на розеткообразующую функцию лимфоцитов. Гематол трансфузиол 1988; (8): 6–12.
7. **Bast RC, Reinherz EL, Myer C, et al.** Contrasting effects of cyclophosphamide and prednisolone on the phenotype of human peripheral blood leukocytes. Clin Immunol Immunopath 1983; **28**: 101–14.
8. **Begleiter A, Mowat M, Israels LG, Johnston JB.** Chlorambucil in chronic lymphocytic leukemia: mechanism of action. Leuk Lymphoma 1996; **23**: 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**: 3378–84.
10. **Dancescu M, Rubio-Trujillo M, Biron G, et al.** Interleukin 4 protects chronic lymphocytic leukemic B cells from death by apoptosis and upregulates Bcl-2 expression. J Exp Med 1992; **176**: 1319–26.
11. **Faguet GB** Chronic lymphocytic leukemia: an update review. J Clin Oncol 1994; **12**: 1974–90.
12. **Fluckiger AC, Durand I, Banchereau J.** Interleukin 10 induces apoptotic cell death of B-chronic lymphocytic leukemia cells. J Exp Med 1994; **179**: 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**: 367–72.
14. **Friedenberg WR, Anderson J, Wolf BC, et al.** Modified vincristine, doxorubicin, and dexamethasone regimen in the treatment of resistant or relapsed chronic lymphocytic leukemia. An Eastern Cooperative Oncology Group study. Cancer 1993; **71**: 2983–9.
15. **Giannakis C, Forbes IJ, Zalewski PD.** Ca²⁺/Mg²⁺-dependent nuclease: tissue distribution, relationship to internucleosomal DNA fragmentation and inhibition by Zn²⁺. Biochem Biophys Res Commun 1991; **181**: 915–20.
16. **Haldar S, Basu A, Croce CM.** Bcl2 is the guardian of microtubule integrity. Cancer Res 1997; **57**: 229–33.
17. **Huang RW, Tsuda H, Takatsuki K.** Interleukin-2 prevents programmed cell death in chronic lymphocytic leukemia cells. Int J Hematol 1993; **58**: 83–92.
18. **Jandl JH.** Blood: Textbook of Hematology. Boston, New York, Toronto, London: Little, Brown and Company 1996. 453 p.
19. **Jewell AP.** Interferon-alpha, Bcl-2 expression and apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Leuk Lymphoma 1996; **21**: 43–7.
20. **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**: 31–2.

21. **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**: 702–8.

22. **McConkey DJ, Aguilar-Santelises M, Hartzell P.** Induction of DNA fragmentation in chronic B-lymphocytic leukemia cells. J Immunol 1991; **146**: 1072–6.

23. **McConkey DJ, Chandra J, Wright S.** Apoptosis sensitivity in chronic lymphocytic leukemia is determined by endogenous endonuclease content and relative expression of BCL-2 and BAX. J Immunol 1996; **156**: 2624–30.

24. **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**: 302–9.

25. **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**: 1450–5.

26. **Scott CS, Richards SJ.** Classification of large granular lymphocyte (LGL) and NK-associated (NKa) disorders. Blood Rev 1992; **6**: 220–33.

27. **Panayiotidis P, Ganeshaguru K, Foroni L, Hoffbrand AV.** Expression and function of the FAS antigen in B chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia. Leukemia 1995; **9**: 1227–32.

28. **Pozzato G, de Paoli P, Franzin F, et al.** Effects of alpha-interferon and steroids on CD23 expression and release in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Haematologica 1994; **79**: 205–12.

29. **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**: 51–61.

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

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

32. **Zalewski PD, Forbes IJ, Betts WH.** Correlation of apoptosis with change in intracellular labile Zn(II) using zinquin [(2-methyl-8-p-toluenesulphonamido-6-quinolyloxy) acetic acid], a new specific fluorescent probe for Zn(II). Biochem J 1993; **296**: 403–8.

CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA WITH AUTOIMMUNE COMPLICATIONS: COMPARATIVE EVALUATION OF CLINICAL RESPONSE AND IMMUNOPHENOTYPE CHANGES AFTER PREDNISOLONE OR VINCRISTIN AND PREDNISOLONE THERAPY

Ya. I. Vygovska, V. O. Loginsky, Yu. S. Karol, O. M. Tsiapka, V. L. Matlan

Summary. *The changes of peripheral blood lymphoid cell immunophenotype have been compared upon administration of two therapeutic regimens (prednisolone versus prednisolone + vincristine) in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) complicated by immune cytopenias. The regimen with vincristine was proved to favour more durable clinical remission in greater number of the patients. Better clinical results were accompanied by more considerable changes in leukemic B-cell population in comparison with treatment by prednisolone alone. The percent of HLA-Dr⁺, CD21⁺, CD37⁺ cells was reduced in cases of vincristine addition. On the other hand expression of the activation markers CD11b, CD25R and CD95 on leukemic cells increased. These findings suggest that vincristine should be included in the treatment of CLL with immune complications because it promotes Fas-antigen expression.*

Key Words: chronic lymphocytic leukemia, immune complications, immunologic phenotype, prednisolone, vincristine.