

В. О. ЛОГІНСЬКИЙ, Ю. С. КАРОЛЬ, О. М. ЦЯПКА, Я. І. ВИГОВСЬКА

**ІМУНОЛОГІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ЛІМФОЇДНИХ КЛІТИН  
ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ЛІМФОЇДНУ ЛЕЙКЕМІЮ  
З ІМУННИМИ УСКЛАДНЕННЯМИ В ПРОЦЕСІ ЛІКУВАННЯ  
ПРЕДНІЗОЛОНОМ І ХЛОРАМБУЦИЛОМ**

Відділення гематології (зав. – проф. Я. І. Виговська)  
Львівського НДІ патології крові та трансфузійної медицини

*Проведено порівняльне дослідження імунологічного фенотипу лімфоїдних клітин периферичної крові хворих на хронічну лімфоїдну лейкемію (ХЛЛ) з імуною цитопенією в процесі лікування преднізолоном та хлорамбуцилом з преднізолоном. Показано, що включення до лікування хлорамбуцилу (хлорамбуцил + преднізолон) сприяло досягненню ремісії імуноного процесу у більшості хворих, хоча середня тривалість ремісії суттєво не різнилась. Крайній клінічний результат супроводжувався більш суттєвими змінами лейкемічної В-клітинної популяції, ніж при застосуванні лише преднізолону. Зменшення абсолютної кількості лімфоцитів при ХЛЛ під дією хлорамбуцилу та преднізолону супроводжувалося зниженням експресії лише окремих В-клітинних антигенів дозрілих клітин з мінімальними ознаками активації. Обґрунтовано доцільність поєднання преднізолону з хлорамбуцилом у випадках високого лейкоцитозу і вираженої гіперплазії органів лімфоїдної системи.*

---

**Ключові слова:** хронічна лімфоїдна лейкемія, автоімунні процеси, стероїдні гормони.

---

Пухлини лімфоїдної системи (хронічні лімфопроліферативні захворювання – ХЛПЗ) супроводжуються значним дисбалансом імуноної системи, тому для них характерні автоімунні ускладнення. За даними різних авторів, імунона цитопенія виникає у 5–25% хворих на ХЛПЗ [11, 14]. Найчастіше такі ускладнення, до яких належать імунона гемолітична анемія (ІГА), імунона тромбоцитопенічна пурпура (ІТП) чи їх поєднання – синдром Евенса, спостерігаються у хворих на хронічну лімфоїдну лейкемію (ХЛЛ).

Нині базисним методом лікування автоімунних процесів у хворих на ХЛЛ є терапія кортикостероїдними препаратами (КС), клінічну ефективність яких можна пояснити пригніченням функції макрофагів, зменшенням активності їх Fc-рецепторів та депресивним впливом на антитілогенез [4, 5] і в меншій мірі впливом на лейкемічний клон В-лімфоцитів.

У лікуванні хворих на ХЛЛ важливе місце посідає хлорамбуцил, первинна цитотоксична дія якого при ХЛЛ зумовлена насамперед пошкодженням ДНК хромосом лейкемічних клітин, їх розривами і утворенням перехресних зчеплень (crosslinking) [7, 15].

**Мета дослідження** – вивчення фенотипової характеристики мембрани злоякісних клітин, що може виражати зміни генотипу, у хворих на ХЛЛ з імунними ускладненнями в процесі лікування з урахуванням його ефективності.

**Матеріали і методи.** Обстежено 21 хворого на ХЛЛ з імунними ускладненнями в процесі лікування. У 11 хворих ХЛЛ ускладнилась ІГА, у 4 – ІТП і у 6 хворих – синдромом Евенса. Діагноз ХЛЛ та імунні ускладнення встановлювали на основі результатів клінічного обстеження та лабораторних досліджень. І групу становили 13 хворих (9 чоловіків та 4 жінки віком 45–65 років), яким призначали преднізолон у дозі 1–2 мг/кг маси тіла на добу протягом 18–26 днів з поступовим зниженням дози; ІІ групу – 8 хворих (4 чоловіки та 4 жінки віком 55–73 роки), які одержували преднізолон у дозі 1 мг/кг маси тіла на добу з хлорамбуцилом у дозі 0,15–0,2 мг/кг маси тіла на добу (курсозна доза 200–300 мг).

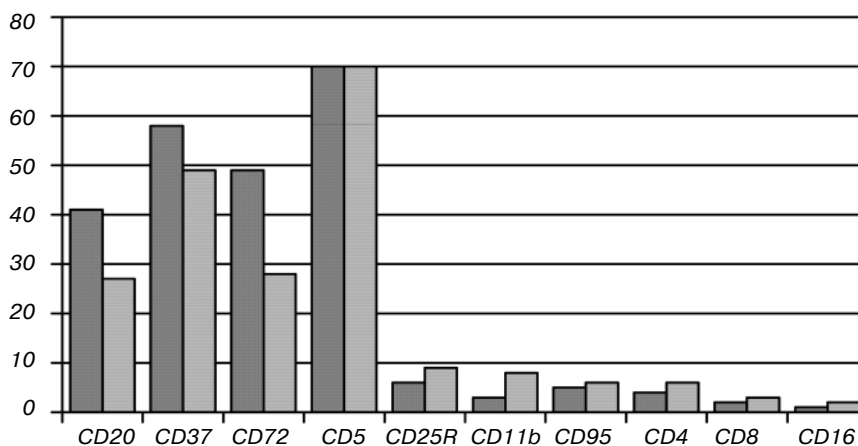
Методи імунофенотипування включали визначення лінійних та диференційних антигенів на мембрані лімфоїдних клітин крові за допомогою моноклональних антитіл (МКАТ), панель яких складалася з 29 МКАТ. Визначали такі маркери: В-клітинні (HLA-DR, CD20, CD21, CD22, CD5, CD37, CD72, CD76, антиген IPO-10, sigM), легкі ланцюги імуноглобулінів (ІКО-106 ( $\lambda$ ), ІКО-107 ( $\kappa$ )); Т-клітинні (CD2, CD3, CD7, CD4, CD8, Thy1, CD1c); активаційні (RFB1, CD25R, антиген-ІПО-38, CD11b, CDw150, CD38, CD95); NK-клітинний (CD16). Імунофенотипування проводили непрямим імуофлюоресцентним методом. У всіх хворих визначали відсоток позитивних клітин до і після лікування. Експресію В-клітинних маркерів вважали позитивною, якщо >20% клітин позитивно реагували з відповідними МКАТ.

Одержані результати оцінювали традиційними методами варіаційної статистики.

**Результати та їх обговорення.** Поверхневий фенотип основної популяції лімфоцитів периферичної крові у всіх хворих I групи відповідав типовому В-ХЛЛ: лейкемічні клітини експресували антигени HLA-Dr, CD5, CD20, CD21 та CD22dim. На переважній популяції лімфоцитів виявлено й інші В-клітинні маркери – CD37, CD72 (рис. 1). За експресією легких ланцюгів Ig у цих хворих встановлено моноклональність лейкемічної популяції В-клітин. Середній клональний ексцес до лікування у них становив  $9,10 \pm 1,91$ . Лейкемічні лімфоцити в основному не експресували активаційних антигенів (<20% позитивних клітин).

На фоні лікування КС у 7 хворих I групи досягнуто клініко-гематологічну ремісію імунного ускладнення тривалістю від 5 до 12 міс, деяке покращання відмічалось у 4 хворих, 2 хворих були резистентними до лікування. Середня тривалість клініко-гематологічної ремісії імунного ускладнення становила ( $5,45 \pm 0,97$ ) міс.

В результаті лікування преднізолоном не настало значних кількісних і якісних змін у популяції лейкемічних В-лімфоцитів, за винятком зниження відсотка CD20<sup>+</sup>- та CD72<sup>+</sup>-клітин (див. рис. 1). Після лікування преднізолоном середній клональний ексцес не змінювався ( $8,10 \pm 2,61$ ;  $P > 0,05$ ).



**Рис. 1.** Експресія поверхневих антигенів лімфоцитів в процесі лікування імунних ускладнень хронічної лімфоїдної лейкемії преднізолоном:

■ – до лікування; □ – після лікування

У процесі лікування преднізолоном збільшилась кількість клітин, що експресують активаційні антигени CD25R та CD11b ( $P < 0,05$ ).

Після курсу лікування преднізолоном при незміненому рівні Т-клітин (CD2<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD7<sup>+</sup>) виявлено достовірне збільшення відносної кількості CD4<sup>+</sup>- і CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів; проте за рахунок більш значного збільшення відсотка CD8<sup>+</sup> співвідношення CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> зменшилось. Істотно збільшилась кількість NK-клітин (CD16<sup>+</sup>) (див. рис. 1).

У всіх хворих II групи, лікованих преднізолоном з хлорамбуцилом, встановлено імунологічний профіль лейкоцитів, характерний для типового В-ХЛЛ. Лімфоїдні клітини були CD5<sup>+</sup> та експресували В-клітинні антигени HLA-Dr, CD20, CD21, CD37, CD72, CD76. На них, як правило, не знаходили активаційних антигенів згідно з результатами визначення легких ланцюгів sIg.

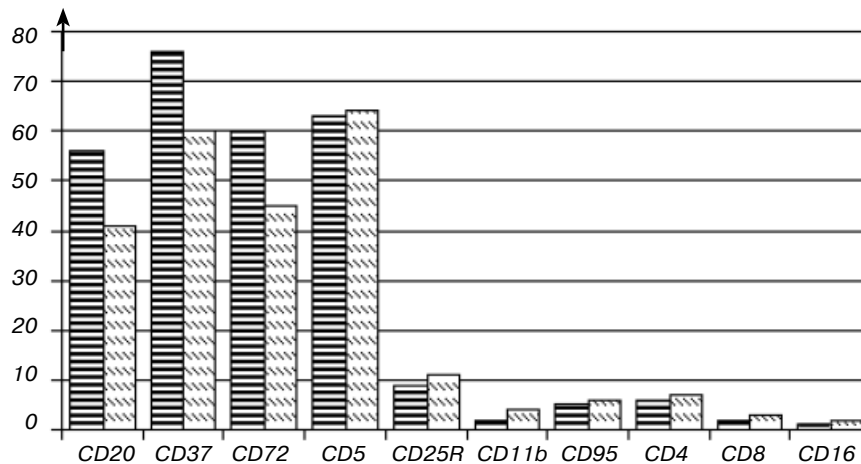
Лейкемічна популяція лімфоцитів представлена моноклональними В-клітинами з поверхневим фенотипом κ<sup>+</sup> у 5 хворих та фенотипом λ<sup>+</sup> – у 3. Середній клональний ексцес до лікування становив 8,62±2,51.

На фоні лікування хлорамбуцилом і преднізолоном у 5 хворих спостерігалась ремісія імунного ускладнення тривалістю 5–11 міс. У 2 хворих відмічено деяке збільшення концентрації гемоглобіну з одночасним зниженням кількості лейкоцитів від 160 · 10<sup>9</sup> в 1 л до 50 · 10<sup>9</sup> в 1 л. У цих випадках клінічний ефект розцінено як часткову ремісію. У 1 хворого лікування було безрезультатним.

Середня тривалість ремісії імунного ускладнення у хворих II групи становила (6,14±1,28) міс і суттєво не відрізнялась від результатів лікування в I групі.

В процесі лікування хлорамбуцилом та преднізолоном значно зменшувалась абсолютна кількість лімфоцитів (на 44,9%), хоча після курсу середній клональний ексцес достовірно не змінювався – (6,93±1,72; P>0,05).

Лікування хлорамбуцилом з преднізолоном неоднаково впливало на експресію основних В-клітинних маркерів. Суттєво знижувалась експресія лише трьох антигенів – CD20, CD37 та CD72 (рис. 2). Кількість HLA-Dr<sup>+</sup>, CD5<sup>+</sup> і CD22<sup>+</sup>-клітин, а також експресія інших В-клітинних антигенів не змінилися.



**Рис. 2.** Експресія поверхневих антигенів лімфоцитів у процесі лікування імунних ускладнень хронічної лімфоїдної лейкемії преднізолоном і хлорамбуцилом:

■ – до лікування; ▨ – після лікування

Експресія активаційних антигенів не зазнавала суттєвих змін під впливом хлорамбуцилу з преднізолоном, крім збільшення експресії CD11b антигену та зменшення кількості IPO-38<sup>+</sup>-клітин.

Після лікування відсоток Т-лімфоцитів не змінювався, проте спостерігалось достовірне збільшення кількості CD4<sup>+</sup>- (P<0,01) та CD8<sup>+</sup>-клітин (P<0,02), в зв'язку з чим співвідношення CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> не змінювалось. Збільшувалась кількість CD16<sup>+</sup>-клітин (P<0,01) (див. рис. 2).

Проведене дослідження показало, що включення до лікування імунних ускладнень ХЛЛ хлорамбуцилу призводило до ремісії імунного ускладнення у 75% хворих (для порівняння застосування КС зумовило ремісію тільки у 53,8% хворих). Однак середня тривалість ремісії істотно не змінювалась, незважаючи на суттєве зменшення абсолютної кількості лімфоцитів у процесі лікування хлорамбуцилом з преднізолоном. Подібний ефект спостерігали й інші автори [2, 3, 6], які відмічали зменшення кількості В-клітин після комбінованого лікування алкілюючими препаратами і преднізолоном хворих на ХЛЛ без імунних ускладнень.

Після лікування хлорамбуцилом з преднізолоном виявлено зниження рівня експресії лише трьох В-клітинних антигенів - CD20, CD37 і CD72. Кількість CD5<sup>+</sup>-клітин не зменшилась. Аналогічні зміни поверхневого фенотипу ми констатували під час лікування преднізолоном. При застосуванні обох програм лікування не змінювалось співвідношення В-клітин, які експресували різні типи легких ланцюгів (клональний експрес). Ми спостерігали ознаки активації лейкемічних В-клітин при застосуванні обох програм (підвищення рівня експресії CD11b); в I групі – рецептора IL-2 – CD25R, в II групі – зниження відсотка клітин, які забарвлювались МКАТ IPO-38. Активацію лейкемічних клітин слід розглядати як результат їх виходу із стану спокою та більшої доступності для дії цитотоксичних агентів. Однак експресія Fas-антигена (CD95) на лейкемічних лімфоцитах, яка б свідчила про їх готовність до запрограмованої смерті, не підвищується при застосуванні обох програм. Т. Burger та співавт. [9] також не спостерігали впливу хлорамбуцилу на експресію антигенів лейкемічних В-лімфоцитів. Таким чином, зменшення абсолютної кількості лімфоцитів при ХЛЛ під дією хлорамбуцилу та преднізолону супроводжується зниженням експресії лише окремих В-клітинних антигенів дозрілих клітин з мінімальними ознаками активації. Результати імунофенотипових досліджень відповідають відомому механізму дії алкілюючих препаратів. Як вже вказувалось, первинна цитотоксична дія цих речовин, зокрема хлорамбуцилу, при ХЛЛ зумовлена в першу чергу пошкодженням ДНК хромосом, їх розривами і утворенням перехресних зчеплень (crosslinking) [7, 15]. Алкілювання інших клітинних структур (мембрана, ферменти, мітохондрії, РНК), що відіграє важливу роль в протипухлинній дії препарату [1], має для лейкемічних В-клітин при ХЛЛ менше значення, оскільки вони практично не проліферують [5]. Як результат, хлорамбуцил пригнічує проліферативну і мітотичну активність лейкемічних клітин [1], що підтверджено нами імунофенотиповими дослідженнями. Альтерація ДНК нуклеосом індукуює апоптоз злаякісних В-клітин, тому протипухлинна дія хлорамбуцилу при ХЛЛ відбувається через апоптоз В-клітин, який є дозозалежним [7, 8, 10]. Рядом авторів доведено, що апоптоз В-клітин при ХЛЛ під впливом хлорамбуцилу р53-залежний [7], при лікуванні цим препаратом експресія р53 підвищується [12]. Втрата або мутації гена р53, що зустрічається у 10–15% випадків, зумовлює резистентність до терапії хлорамбуцилом хворих на ХЛЛ. Fas-рецептор, як ми відмічали, не відіграє ролі в терапевтичній дії хлорамбуцилу. Разом з тим рівень експресії онкогенів bc1-2 і bax, який при ХЛЛ досить високий, не впливає на ефективність препарату [7]. В механізмах резистентності до хлорамбуцилу певну роль відіграють цитокіни: IL-2 захищає В-клітини при ХЛЛ від дії препарату – чим нижчий його рівень, тим краший результат лікування [13].

Курс лікування хлорамбуцилом та преднізолоном зумовив майже однакове збільшення субпопуляцій Т-хелперів та Т-цитотоксичних клітин, отже, співвідношення CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> істотно не змінювалось. Підвищувався рівень CD16<sup>+</sup> NK-клітин. Збільшення відносної кількості Т-лімфоцитів у хворих на ХЛЛ після лікування алкілюючими агентами (хлорамбуцилом, циклофосфаном, пафенцилом) відмічено в дослідженні Я. І. Виговської та співавт. [3].

**Висновок.** Підсумовуючи одержані дані, можна дійти висновку про доцільність застосування при лікуванні імунних ускладнень ХЛЛ преднізолону з хлорамбуцилом у випадках високого лейкоцитозу і вираженої гіперплазії органів лімфоїдної системи.

#### Список літератури

1. Булкина З. П. Противоопухолевые препараты. – К.: Наук. думка, 1991. – 304 с.
2. Борецкий В. А. Популяции лимфоцитов и некоторые показатели иммунитета у больных хроническим лимфолейкозом в процессе цитостатической терапии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 1985. – 21 с.
3. Виговская Я. И., Логинский В. Е., Борецкий В. А. и др. Иммунологический контроль у больных хроническим лимфолейкозом при применении различных схем лечения // Иммунология. – 1982. – № 5. – С. 65–69.

4. *Виговська Я. І., Матлан В. Л., Логінський В. Є.* та ін. Комплексне лікування аутоімунних ускладнень у хворих злоякісними лімфопроліферативними захворюваннями: Метод. рекомендації. – Львів, 1991. – 16 с.
5. *Євстахевич Ю. Л.* Клінічне значення імунофенотипічного дослідження лімфоїдних клітин крові та селезінки при спленектомії у хворих імунними цитопеніями: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 1997. – 19 с.
6. *Файнштейн Ф. Э., Зедгендзе И. Ш., Полянская А. М., Козинец Г. И.* Хронический лимфолейкоз. – Тбилиси: Собчота Сакартвело, 1976. – 239 с.
7. *Begleiter A., Mowat M., Israels L. G., Johnston J. B.* Chlorambucil in chronic lymphocytic leukemia: mechanism of action // *Leuk. Lymphoma.* – 1996. – Vol. 23, N 3–4. – P. 187–201.
8. *Binet J. L., Mentz F., Merle-Beral H.* Apoptosis in blood diseases. Review new data // *Hematol. Cell. Ther.* – 1996. – Vol. 38, N 3. – P. 253–264.
9. *Burger T., Molnar L., Schmelczer M.* et al. Changes of T-lymphocyte-subsets and their consequences in B-CLL // *Folia haematol. int. mag. klin. morphol. blutforsch.* – 1990. – Vol. 117, N 1. – P. 115–125.
10. *Frankfurt O.S., Byrnes J.J., Seckinger D., Sugarbaker E.V.* Apoptosis (programmed cell death) and the evaluation of chemosensitivity in chronic lymphocytic leukemia and lymphoma // *Oncol. Res.* – 1993. – Vol. 5, N 1. – P. 37–42.
11. *Gronbek K., Friis L., Hansen P., Schmidt K.G.* Smmunohaematological phenomena in malignant lymphoproliferative diseases. A population-based study // *Ann. Oncol.* – 1996. – Vol. 7, N 235 (Suppl. 3). – P. 67.
12. *Mentz F., Mossalayi M.D., Ouaaz F.* et al. Theophylline synergizes with chlorambucil in inducing apoptosis of B-chronic lymphocytic leukemia cells / *Blood.* – 1996. – Vol. 88, N 6. – P. 2172–2182.
13. *Morabito F., Caiiera 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. – Vol. 9, N 9. – P. 1450–1455.
14. *Sthoeger Z.M., Sthoeger D., Shtalrid M.* et al. Mechanism of autoimmune haemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia // *Am. J. Hematol.* – 1993. – Vol. 43. – P. 259–264.
15. *Wertz J.W., Haenley M.R.* Diverse molecular provocation of programmed cell death // *TIBS.* – 1996. – Vol. 21, N 10. – P. 359–364.

#### ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ЛИМФОИДНОЙ ЛЕЙКЕМИЕЙ С ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПРЕДНИЗОЛОНОМ И ХЛОРАМБУЦИЛОМ

*В. Е. Логинский, Ю. С. Кароль, О. Н. Цяпка, Я. И. Выговская (Львов)*

Проведено сравнительное исследование иммунологического фенотипа лимфоидных клеток периферической крови больных хронической лимфоидной лейкемией (ХЛЛ) с иммунной цитопенией при лечении преднизолоном и хлорамбуцилом с преднизолоном. Показано, что включение в лечение хлорамбуцила (хлорамбуцил + преднизолон) способствовало достижению ремиссии иммунного процесса у большинства больных, хотя средняя продолжительность ремиссии существенно не различалась. Лучший клинический результат сопровождался более существенными изменениями лейкоцитарной В-клеточной популяции, чем при применении только преднизолона. Уменьшение абсолютного числа лимфоцитов при ХЛЛ под действием хлорамбуцила и преднизолона сопровождалось снижением экспрессии только отдельных В-клеточных антигенов зрелых клеток с минимальными признаками активации. Обоснована целесообразность сочетания преднизолона с хлорамбуцилом в случаях высокого лейкоцитоза и выраженной гиперплазии органов лимфоидной системы.

**Ключевые слова:** хроническая лимфоидная лейкемия, аутоиммунные процессы, стероидные гормоны.

#### IMMUNOLOGICAL PROFILE OF PATIENT'S CELLS WITH CHRONIC LYMPHOID LEUKEMIA AND IMMUNOLOGICAL COMPLICATIONS DURING THE TREATMENT WITH PREDNISOLONE AND CHLORAMBUCIL

*V. O. Loginsky, Yu. S. Karol, O. M. Chyapka, Ya. I. Vygovska (Lviv)*

Comparative study of immunological phenotype of lymphoid cells of peripheral blood of patients with chronic lymphoid leukemia (CLL) and immune cytopenia at the treatment with prednisolone

and chlorambucil has been carried out. It was shown, that inclusion in the treatment of chlorambucil (chlorambucil + prednisolone) enabled the achievement of remission of immune process at the majority of patients though average duration of remission essentially did not differ.

The best clinical result was accompanied by more essential variations of leukemic B-cellular population than during the treatment with prednisolone alone. The reduction of absolute number of lymphocytes in patients with CLL under the treatment with chlorambucil and prednisolone was accompanied by reduction of expression of separate B-cellular antigens of mature cells with minimal signs of their activation.

The expediency of a combination of prednisolone with chlorambucil in cases of high leukocytosis and expressed hyperplasia of organs of the lymphoid systems.

**Key words:** chronic lymphoid leukaemia, autoimmune processes, steroid hormones.

УДК 616.1 : 616.127 : 616.45-001.1/3

Поступила 05.01.2001

В. К. СЕРКОВА, Н. В. КУЗЬМИНОВА, ЯСЕР С. Х. АЛШАНТТИ

## КАЧЕСТВО ЖИЗНИ И СУТОЧНЫЙ ПРОФИЛЬ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Винницкий национальный медицинский университет

*Обследовано 122 больных гипертонической болезнью (ГБ) II стадии в возрасте от 26 до 70 лет, средний возраст – (54,1±2,8) года. Контрольную группу составили 37 здоровых лиц аналогичного возраста. У всех больных проводили суточное мониторирование артериального давления (АД) и определяли качество жизни (КЖ) по стандартизованному опроснику «SF-36 Health Status Survey», который позволяет оценить субъективную удовлетворённость больного своим физическим и психическим состоянием и социальным функционированием. Обработку результатов проводили в соответствии с инструкцией, подготовленной компанией «Эвиденс – Клинико-фармакологические исследования». Результаты представлены в виде оценок в баллах по восьми шкалам, более высокая оценка указывает на лучшее КЖ. У всех обследованных больных ГБ II стадии отмечено снижение КЖ. Уменьшение степени снижения ночного АД ассоциируется с ухудшением психического статуса и более выраженным, чем у больных с нормальным суточным профилем АД, ограничением физической активности.*

---

**Ключевые слова:** артериальная гипертензия, качество жизни, мониторинг артериального давления.

---

Степень тяжести сердечно-сосудистого заболевания определяется, как правило, на основании выраженности жалоб (боль, одышка, слабость, сердцебиение) или объективных данных (частота сердечных сокращений, величина артериального давления, показатели электро- и эхокардиограммы), а эффективность лечения часто оценивают в клинических исследованиях с помощью подсчёта таких показателей, как динамика функционального класса, смертность, частота возникновения аритмии или инфаркта миокарда (ИМ), комплаенс и др. Однако оценка отдельных показателей не даёт полного представления о влиянии заболевания на жизнь больного и эффективность проводимого лечения. Такие аспекты существования индивидуума, как физическое состояние, эмоциональный, психологический и социальный статус, с начала 80-х годов начали объединять в понятие «качество жизни». Качество жизни (КЖ) можно рассматривать как самостоятельную характеристику самочувствия больного и эффективности терапии сердечно-