

Редокс-зависимые процессы в плазме крови, нейтрофилах и эритроцитах больных раком яичников после полихимиотерапии по схеме CAP

Т. П. ГЕНИНГ, Т. В. АБАКУМОВА, Д. Р. ДОЛГОВА, И. И. АНТОНЕЕВА,
С. О. ГЕНИНГ, С. С. ПИРМАМЕДОВА, А. В. ФОМИНА, Е. В. ВАСИЛЬЕВА

Ульяновский государственный университет, Ульяновск

Redox-Dependent Processes in Blood Plasma, Neutrophils and Erythrocytes of Patients with Ovary Cancer after Polychemotherapy by CAP Scheme

T. P. GENING, T. V. ABAKUMOVA, D. R. DOLGOVA, I. I. ANTONEEVA,
S. O. GENING, S. S. PIRMAMEDOVA, A. V. FOMINA, E. V. VASILYEVA

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk

Рассматривается динамика редокс-зависимых процессов в плазме крови, нейтрофилах и эритроцитах больных раком яичников в III клинической стадии по FIGO после полихимиотерапии по схеме CAP. В плазме крови и эритроцитах оценивали показатели окислительной модификации белков — карбонильные производные при $\lambda=346$ нм, 370 нм, 430 нм и 530 нм, параметры перекисного окисления липидов — малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, кетодиены, шиффовы основания; ферментативное звено антиоксидантной системы: активность каталазы, глутатионтрансферазы и супероксиддисмутазы. В нейтрофилах периферической крови цитохимически определяли активность миелопероксидазы и долю активных нейтрофилов в спонтанном НСТ-тесте. Было установлено повышение содержания в плазме крови и эритроцитах больных раком яичников после полихимиотерапии продуктов окислительной модификации белков и перекисного окисления липидов. Одновременное повышение в плазме крови активности изучаемых антиоксидантных ферментов может свидетельствовать о переходе системы «перекисное окисление липидов-антиоксиданты» на более высокий уровень функционирования. При этом одновременное снижение активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах свидетельствует о возможности развития в них оксидативного стресса. После курсов полихимиотерапии достоверно и значимо сокращается общее количество нейтрофилов, в которых после второго курса снижается активность миелопероксидазы и в спонтанном НСТ-тесте. Подобная динамика редокс-зависимых процессов в различных компонентах крови организма-опухоленосителя характеризует биологический портрет опухоли и диктует целесообразность использования дифференцированной многокомпонентной антиоксидантной терапии у больных раком яичников.

Ключевые слова: рак яичников, полихимиотерапия, нейтрофилы, плазма крови, эритроциты, редокс-зависимые процессы.

The dynamics of the redox-dependent processes in blood plasma, neutrophils and erythrocytes of the patients with ovary cancer of the IIIrd clinical stage by FIGO after polychemotherapy according to the CAP scheme is considered. In the blood plasma and erythrocytes there were estimated the values of protein oxidative modification: carbonyl derivatives at $\lambda=346$ nm, 370 nm, 430 nm and 530 nm; the lipid peroxidation parameters: malonic dialdehyde, dienic conjugates, ketodiens, shiff's bases; the fermentative chain of the antioxidant system: activities of catalase, glutathiontransferase and superoxide dismutase. In the peripheral blood neutrophils there were cytochemically determined the myeloperoxidase activity and the number of the active neutrophils in the spontaneous NBTR-test. After the polychemotherapy there were detected higher levels of the protein oxidative modification products and the products of the lipid peroxidation in the blood plasma and erythrocytes of the patients. Simultaneous increase of the activity of the antioxidant enzymes in the blood plasma could be evident of a high level of the lipid antioxidants peroxidation system functioning, whereas the simultaneous decrease of the activity of the antioxidant enzymes in the erythrocytes was indicative of possible development of oxidative stress in them. After the chemotherapy there was observed a significant and reliable decrease of the total number of the neutrophils. After the second course of the chemotherapy the activity of myeloperoxidase in them in the spontaneous NBTR-test as well decreased. Such a dynamics of the redox-depended processes in various components of the blood in the tumour carrier was characteristic of the tumor biological picture and required the use of differential multicomponent antioxidant therapy in patients with ovary cancer.

Key words: ovary cancer, polychemotherapy, neutrophils, blood plasma, erythrocytes, redox-dependent processes.

Известно, что редокс-зависимые процессы, обеспечивающие окислительный метаболизм, включают генерацию активных форм кислорода

(АФК), перекисное окисления липидов (ПОЛ), окислительную модификацию белков (ОМБ) и антиоксидантную защиту (АОЗ). Образующиеся АФК в норме выступают в качестве медиаторов редокс-регулируемых сигнальных путей [1]. На сегодня считается доказанным, что причины, вызывающие интенсификацию свободнорадикальных

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: E-mail: Naum-53@yandex.ru

процессов, могут быть различными, но изменения на молекулярном уровне носят однотипный характер. В частности, общим является разнонаправленные изменения свободнорадикальных процессов и буферной ёмкости антиоксидантной системы [2]. Подобная ситуация рассматривается как оксидативный стресс (ОС) и является патогенетическим звеном онкозаболеваний [3–5].

Рак яичников (РЯ), диагностируемый в основном в III–IV стадии заболевания, представляет актуальную проблему современной онкогинекологии [6]. Разработка патогенетических обоснованных методов ранней диагностики и лечения РЯ остается приоритетной [7]. Доказано, что активация свободнорадикального окисления усиливающаяся при нарастании опухолевой массы, лежит в основе патогенеза РЯ [8]. Злокачественные опухоли яичников чувствительны к проведению лекарственной полихимиотерапии (ПХТ). Однако у пациенток с III–IV стадией возможности ПХТ, обладающей выраженным токсическим воздействием, ограничены в связи с уже имеющимися нарушениями метаболических функций в результате нарастания опухолевой массы в организме. В связи с вышеизложенным возникает необходимость разработки научно-обоснованных подходов проведения ПХТ РЯ, основанных на использовании в схеме комплексного лечения антиоксидантов.

Целью исследования была оценка редокс-зависимых процессов в плазме крови, нейтрофилах (Нф) и эритроцитах (Эр) больных РЯ после ПХТ по схеме САР.

Материал и методы

Обследуемая группа состояла из 96 первичных больных РЯ в III стадии по FIGO, подвергавшихся обследованию и лечению в гинекологическом отделении Ульяновского областного клинического онкологического диспансера. Больные были обследованы до начала лечения, через 3 и 14 дней после первого и через 3 и 14 дней после второго курса ПХТ по схеме САР (цисплатин 75 мг/м², доксорубин 40 мг/м² и циклофосфамид 600 мг/м²). Интервал между курсами составил 21 день. Контрольную группу составили 18 практически здоровых женщин. В плазме и эритроцитах крови оценивали уровень ОМБ по Е.В.Дубининой (1999). Результаты регистрировали при $\lambda=346$ нм и $\lambda=370$ нм (альдегидные и кетонные группы нейтрального характера), при $\lambda=430$ нм и $\lambda=530$ нм (соответственно альдегидные и кетонные группы основного характера) в ед.опт.плотности на мг белка. Для оценки ПОЛ в плазме и Эр крови определяли по И.А.Волчегорскому количество диеновых конъюгатов (ДК) при $\lambda=232-220$ нм, кетодиенов (КД) при $\lambda=278-220$ нм, шиффовых оснований (ШО) при $\lambda=400-220$ нм. Содержание вторичных продуктов ПОЛ — малонового диальдегида (МДА) — оценивали по Андреевой А.И. Для оценки ферментативного звена антиоксидантной системы (АОС) в плазме крови и Эр определяли активность каталазы, глутатион-S'-трансферазы (ГТ) по Карпищенко А. И. (1999). В Эр также определяли активность супероксиддисмутазы (СОД). Нф выделяли из венозной крови центрифугированием на двойном градиенте фиколл-урографина ($\lambda=1,117$ и $1,077$ г/мл). Определяли абсолютное и относительное количество Нф. Цитохимически в Нф определяли активность миелопероксидазы

(МПО) и долю активных Нф (ДАН) в спонтанном варианте НСТ-теста. Результаты выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК). В работе использовались методы непараметрической статистики. Значимость различий вариационных рядов в связанных попарно выборках оценивалась с помощью U-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни, корреляция показателей вычислялась по методу Спирмена. Анализ данных проводился с помощью пакета прикладных программ (Statistica 6). Достоверным считали различия между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95% ($p<0,05$).

Результаты и обсуждение

На сегодня показано, что усиление редокс-зависимой модификации белков имеет место при поражении различных органов. В отличие от продуктов ПОЛ, карбонильные производные белков плазмы и эритроцитов более стабильны и специфичны, что позволяет использовать их в качестве маркёров оксидативного стресса при патологических процессах [9]. В результате проведённых исследований нами установлено повышение содержания продуктов ОМБ в плазме крови и Эр больных РЯ по сравнению с донорами. Так, содержание альдегидных и кетонных групп нейтрального характера в плазме крови составило $0,510\pm0,048$ ед. опт. плот. против $0,418\pm0,034$ ед. опт. плот. в контроле ($p<0,05$) соответственно. Содержание карбонильных производных основного характера составило для альдегидных производных $0,303\pm0,019$ ед. опт. плот. против $0,230\pm0,022$ ед. опт. плот. в контроле ($p<0,05$) и $309\pm0,029$ ед. опт. плот. против $0,082\pm0,012$ ед. опт. плот. в контроле ($p<0,05$) соответственно. Содержание в Эр больных РЯ альдегидных и кетонных групп нейтрального характера колебалось в пределах коридора нормы. Уровень карбонильных производных основного характера у больных РЯ значимо превышал таковой в Эр доноров и составил для альдегидных групп $0,854\pm0,029$ ед. опт. плот. против $0,706\pm0,048$ ед. опт. плот. в контроле ($p<0,05$) и для кетонных групп $0,501\pm0,035$ ед. опт. плот. против $0,368\pm0,020$ ед. опт. плот. в контроле ($p<0,05$). Результаты изучения уровня ОМБ в плазме на фоне ПХТ крови представлены на рис. 1. Из данных рис. 1 следует, что прогрессивно и значимо на фоне ПХТ в плазме крови увеличивается содержание карбонильных производных основного характера, регистрируемых при $\lambda=430$ нм и $\lambda=530$ нм.

Результаты изучения уровня ОМБ в Эр больных РЯ на фоне ПХТ представлены на рис. 2. Из данных, представленных на рис. 2 следует, что содержание кетонных и альдегидных групп нейтрального характера достоверно увеличенное уже после первого курса ПХТ, продолжало возрастать через 14 дней и оказывалось сниженным после второго курса ПХТ. Уровень карбонильных производных белка в Эр на всех изученных сроках после обоих курсов ПХТ колебался в пределах

показателей до введения химиопрепаратов по схеме САР. Колебания уровней различных продуктов ОМБ имеют свои особенности. Возможно, это связано с условиями их образования. Однако образование карбонильных производных возникает в результате сильных повреждающих форм окислительной модификации как путём прямого окисления аминокислотных остатков, так и при взаимодействии с продуктами ПОЛ — МДА [10]. Их содержание является показателем общего окислительного стресса [11].

В результате проведённых исследований была установлена активация процессов ПОЛ в плазме крови и Эр больных РЯ по сравнению с донорами (табл. 1).

Одновременное повышение активности антиоксидантных ферментов — ГТ в плазме крови и Эр и ГТ и СОД в Эр (см. табл. 1) может свидетельствовать о переходе системы ПОЛ-АО на более высокий уровень функционирования [12]. Снижение активности каталазы как в плазме крови, так в эритроцитах (табл. 1) может свидетельствовать о снижении генерации опухолевыми клетками H_2O_2 , ингибирующий размножение клеток. Данные результаты могут находиться в противоречии с рядом других работ, в которых на клеточных культурах показано повышение продукции H_2O_2 опухолевыми клетками по сравнению с нормальными [13].

Следующим этапом работы было изучение особенностей протекания реакций ПОЛ и уровня ферментов АОЗ в плазме крови и Эр при проведении курсов ПХТ по схеме САР. Было установлено, что уровень МДА в плазме крови повышался через 3 суток после первого курса ПХТ; сохранялся на этом уровне через 14 суток и через 3 суток после второго курса и снижался до уровня, регистрируемого до начала ПХТ через 14 дней после второго курса (рис. 3). Уровень КД значительно возрастал только через 14 дней

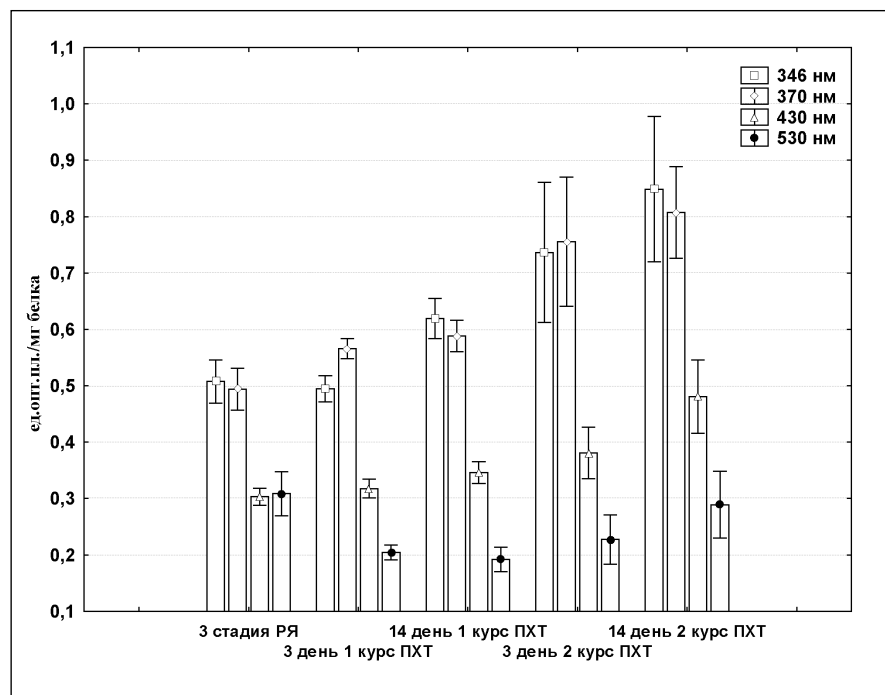


Рис. 1. Содержание продуктов ОМБ в плазме крови больных РЯ на 3-й и 14-й день после первого и второго курса ПХТ по схеме САР.

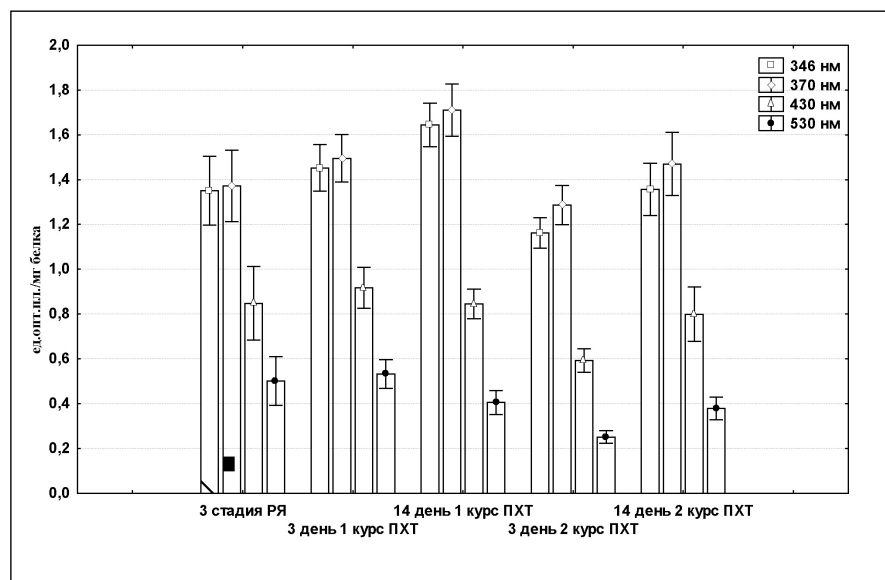


Рис. 2. Содержание продуктов ОМБ в Эр крови больных РЯ на 3-й и 14-й день после первого и второго курса ПХТ по схеме САР.

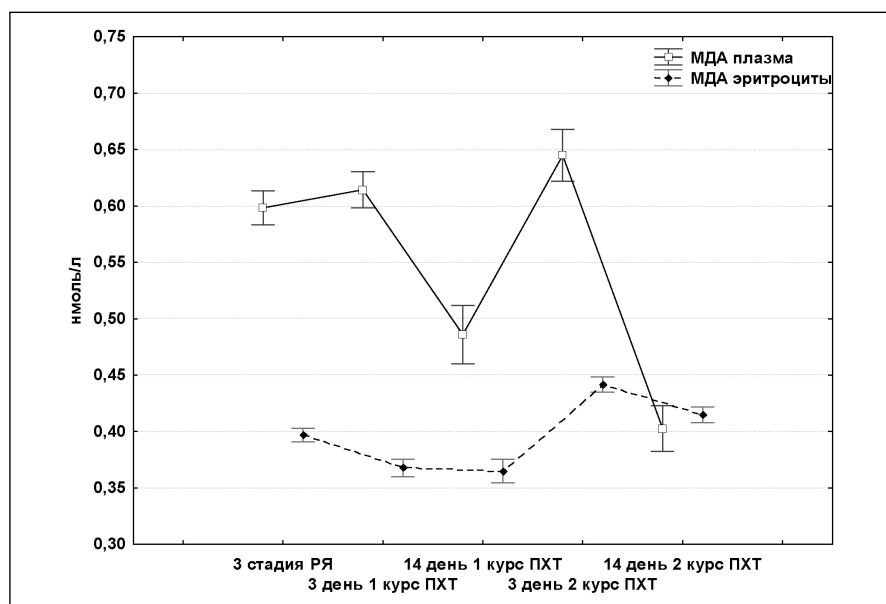
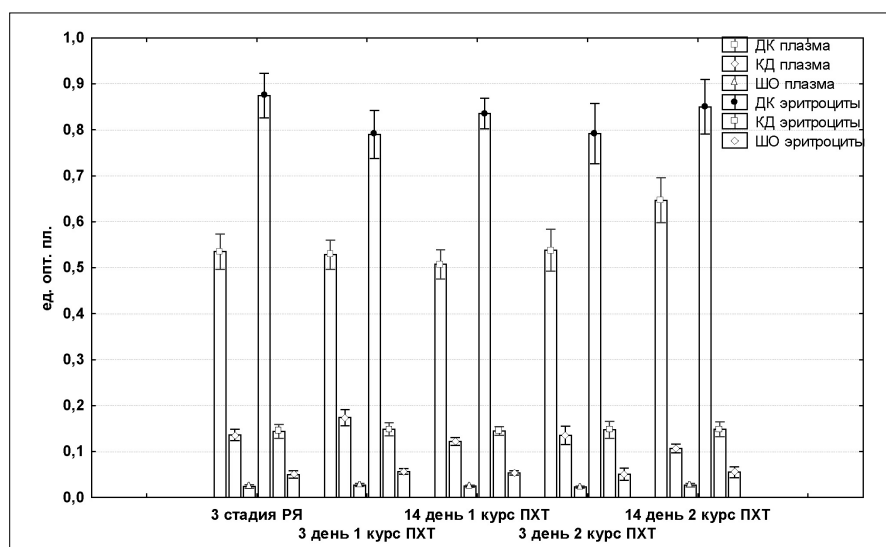
после второго курса; уровень ШО возрастал через 3 и 14 дней после первого курса и затем снижался до исходных величин (рис. 4). Активность антиоксидантных ферментов — ГТ и каталазы — была снижена на всех изученных сроках после ПХТ по сравнению с их уровнем до введения химиопрепаратов у больных РЯ (см. рис. 3).

Несколько иная картина возникает при анализе компонентов системы ПОЛ-АОЗ в Эр больных РЯ после ПХТ по схеме САР (см. рис. 4). Повы-

Таблица 1. Показатели ПОЛ-АОС плазмы крови и эритроцитов больных РЯ в III клинической стадии заболевания

Группа обследуемых	МДА, мкмоль/л	ДК, ед. опт. плот./мг	КД, ед. опт. плот./мг	ШО, ед. опт. плот./мг	ГТ, мкмоль/мин/л	Каталаза, моль/мин/л	СОД, у.е./л
ПЛАЗМА КРОВИ							
Доноры (n=18)	3,020±0,103	0,451±0,026	0,089±0,007	0,015±0,002	0,031±0,004	4,330±0,710	—
РЯ III стадия (n=96)	4,810±0,190*	0,510±0,064	0,150±0,080*	0,030±0,009*	0,110±0,008	0,100±0,020*—	—
ЭРИТРОЦИТЫ							
Доноры (n=18)	305,40±10,36	0,547±0,031	0,121±0,011	0,032±0,005	0,341±0,038	8,796±0,875	0,827±0,136
РЯ III стадия (n=96)	380,82±7,49*	0,876±0,029*	0,146±0,008	0,050±0,006	0,870±0,041	5,710±0,720	1,950±0,102

Примечание. * — данные, статистически значимо отличающиеся от показаний доноров.

**Рис. 3.** Уровень МДА в плазме крови и эритроцитах больных РЯ до и после ПХТ по схеме CAP.**Рис. 4.** Уровни продуктов ПОЛ (КД, ДК и ШО) в плазме крови и эритроцитах больных РЯ до и после ПХТ по схеме CAP.

шенный по сравнению с Эр доноров уровень МДА продолжает возрастать через 3 дня после первого курса ПХТ, несколько снижается через 14 дней и вновь возрастает после 2-го курса ПХТ (см. рис. 3). Уровни ДК, КД и ШО после ПХТ значимо не изменяются (см. рис. 4).

При оценке активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах больных РЯ после ПХТ по схеме CAP установлено достоверное снижение активности ГТ на всех сроках, резкое повышение через 3 суток после первого курса и затем достоверное снижение активности каталазы (рис. 5).

Активность СОД, значимо повышенная у больных РЯ ($1,95 \pm 0,122$ у.е./л против $0,827 \pm 0,136$ у.е./л в контроле), резко снижалась после первого курса ПХТ ($0,873 \pm 0,090$ у.е./л и $0,940 \pm 0,018$ у.е./л через 3 и 14 дней соответственно) и значимо возрастала после второго курса ПХТ ($2,24 \pm 0,274$ у.е./л и $1,75 \pm 0,230$ у.е./л через 3 и 14 дней соответственно). Подобная динамика, свидетельствующая о большей, чем в плазме крови, антиоксидантной ёмкости Эр, тем не менее позволяет предполагать в Эр развитие оксидативного стресса.

Установлено, что у онкологических больных как опухолевый процесс, так и проводимая химиотерапия влияют на редокс-зависимые процессы в Нф [14, 15]. Показано, что объективный клинический ответ

на ПХТ связан со структурной и функциональной сохранностью иммунной системы. Получены данные, что при взаимодействии ПХТ повышается иммуногенность опухолевых клеток за счёт появления на их мембране неоантигенов. Вызываемая цитостатиками транзиторная нейтропения, по мнению ряда авторов [16], возможно по механизму обратной связи, запускает гомеостатическую пролиферацию иммунокомпетентных клеток с отменой опухоль-ассоциированной анэргии. При этом повышается эффективность лечения. Однако, по мнению других авторов [14], онкологические больные после курсов ПХТ составляют группу риска развития инфекционных осложнений как в связи со снижением абсолютного числа Нф, так и в связи со снижением МПО- и НАДФН-зависимой генерации Нф АФК.

Проведённые нами исследования позволили установить, что абсолютное и относительное количество Нф у больных РЯ значимо повышено по сравнению с донорами; достоверное их снижение по сравнению с периодом до начала ПХТ имеет место через 14 дней после первого и через 14 дней после второго курса ПХТ.

Активность МПО Нф больных РЯ статистически значимо не изменяется по сравнению с донорами. На фоне проведения ПХТ имеет место снижение активности МПО, значимое и наиболее выраженное через 14 дней после второго курса. Количество Нф в спонтанной реакции НСТ значимо повышено у больных РЯ и сохраняется на этом уровне через 3 и 14 дней после первого курса ПХТ. После второго курса ПХТ в Нф снижается активность в спонтанной НСТ-реакции. Уровень АФК плазмы крови определяется в том числе наработкой их Нф и деградацией антиоксидантами. При оценке коррелятивных связей было установлено, что повышение количества

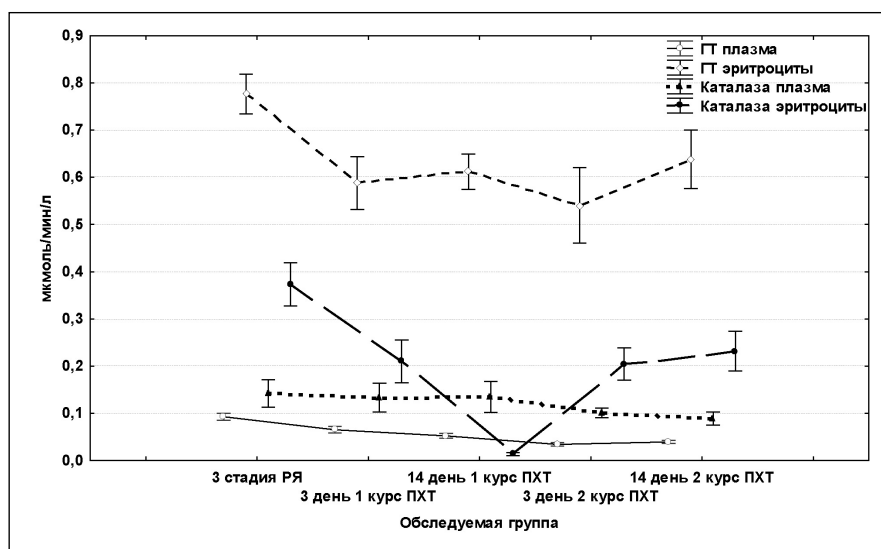


Рис. 5. Активность каталазы и ГТ в плазме крови и эритроцитах больных РЯ до и после ПХТ по схеме САР.

Нф, активных в спонтанном НСТ-тесте, достоверно и сильно коррелирует с уровнем МДА ($r=0,6632$; $p=0,02$) через 3 дня и достоверно со средней силой через 14 дней ($r=0,4819$; $p=0,05$) после первого курса ПХТ. Через 3 дня также достоверно и сильно с возрастанием числа активных Нф коррелируют уровни всех изученных карбонильных производных (коэффициент корреляции колеблется от 0,6205 до 0,7727 при $p=0,02$). Поскольку одновременно возрастает активность каталазы и ГР ($r=0,5145$; $p=0,05$), это подтверждает наши предположения о переходе системы ПОЛ-АО после первого курса ПХТ по схеме САР на более высокий уровень функционирования, инициированным возрастанием количества Нф, активно продуцирующих АФК.

В Эр сильные положительные корреляционные связи между количеством активных Нф и показателями ПОЛ и ОМБ имели место ещё до начала ПХТ. Для МДА $r=0,8465$, $p=0,02$; ДК — $r=0,8100$, $p=0,05$ и ОМБ при $\lambda=370\text{nm}$ — $r=0,6954$, $p=0,05$. После первого и второго курсов ПХТ по схеме САР сильные положительные корреляционные связи между количеством активных Нф и окислительным потенциалом в Эр сохранились.

Таблица 2. Редокс-зависимые показатели Нф больных РЯ в III стадии по FIGO после ПХТ по схеме САР

Показатель	Доноры (n=18)	РЯ III стадия	I курс ПХТ (n=96)		II курс ПХТ (n=89)	
			3 дня	14 дней	3 дня	14 дней
Lei*10 ⁹ /л	6,40±0,31	8,19±0,64	9,40±1,02*	3,07±0,65*#	8,82±1,11*	2,34±0,16*#
Нф*10 ⁹ /л	3,60±0,62	5,81±0,02	7,22±0,02*	1,27±0,05*#	6,29±0,03*	1,09±0,02*#
Нф, %	55,9±4,40	70,93±2,50*	76,00±2,47	41,42±7,27#	71,4±2,97*	44,6±5,62#
МПО, СЦК	2,70±0,09	2,64±0,12	2,63±0,10	2,47±0,08*	2,60±0,12	2,20±0,33*#
НСТ, СЦК	1,06±0,08	1,75±0,10*	1,57±0,09*	1,79±0,11*	1,21±0,07#	1,13±0,05#

Примечание. * — данные, статистически значимо отличающиеся от показателей доноров; # — данные, статистически значимо отличающиеся от данных до начала ПХТ.

Заключение

Таким образом, химиотерапия по схеме CAP у больных РЯ в III клинической стадии по FIGO индуцирует радикалообразование и изменяет уже нарушенный опухолевым процессом гомеостаз больного. При этом система ПОЛ-АОС в плазме крови переходит на более высокий уровень функционирования, в Эр развивается оксидативный стресс, и среди Нф, абсолютное и относительное количество которых на фоне ПХТ резко и значительно снижается, воз-

растает число клеток, активных в спонтанном НСТ-тесте. Подобная динамика редокс-зависимых процессов в различных компонентах крови организма-опухоленосителя характеризует биологический портрет опухоли и диктует целесообразность использования дифференцированной многокомпонентной антиоксидантной терапии у больных РЯ.

Работа поддержана государственным заданием МИНОБРНАУКИ России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток: (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические процессы. СПб.: изд-во «Мед. Пресса», 2006; 397.
2. Linnane A.W., Eastwood H. Cellular redox regulation and prooxidant signaling systems: a new perspective on the free radical theory of aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1067: 47–55.
3. Chiarugi P., Cirri P. Redox regulation of protein tyrosine phosphatases during receptor tyrosine kinase signal transduction. *Trends Biochem Sci* 2003; 8: 9: 509–514.
4. Kinnula V.L., Crapo J.D. Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 6: 718–744.
5. Zhang Y., Chen F. Reactive oxygen species (ROS), troublemakers between nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) and c-Jun NH(2)-terminal kinase (JNK). *Cancer Res* 2004; 64: 6: 1902–1905.
6. Greenlee R.T., Hill-Harmon M.B., Murray T., Thun M. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2001; 1: 1: 15–36.
7. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии. М.: Медицина, 2002; — 534.
8. Антонеева И.И., Абакумова Т.В., Арсланова Д.Р., Чеснокова Н.П. О патогенетической взаимосвязи процессов липопероксидации, ферментативного звена антиоксидантной системы неоплазмы и функционального состояния нейтрофилов асцитической жидкости при прогрессировании рака яичников у крыс. *Вест нов мед технол* 2008; 4: 16–17.
9. Горошинская И.А., Светицкий П.В., Качесова П.С., Светицкий А.П. Применение наночастиц железа в термохимиотерапии экспериментальных опухолей. *Онкохирургия* 2013; 1: 84.
10. Kemp M., Go Y.M., Jones D.P. Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulfide redox systems: a perspective on redox systems biology. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 6: 921–937.
11. Zitnanová I., Sumegová K., Simko M., Maruniaková A., Chovanová Z., Chavko M., Duracková Z. Protein carbonyls as a biomarker of foetal-neonatal hypoxic stress. *Clin Biochem* 2007; 40: 8: 567–570.
12. Лю М.Б., Подобед И.С., Едыгенова А.К. Активные формы кислорода и пероксигенации в инвазии и метастазировании неоплазм. *Успех соврем биол* 2004; 124: 4: 329–341.
13. Dorward A., Sweet S., Moorehead R., Singh G. Mitochondrial contributions to cancer cell physiology: redox balance, cell cycle, and drug resistance. *J Bioenerg Biomembr* 1997; 29: 4: 385–392.
14. Никифорова З.Н., Варлан Г.В., Шевченко В.Е., Дмитриева Н.В. Влияние химиотерапии на кислородзависимую антимикробную активность нейтрофилов у больных раком молочной железы. *Вестн РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН* 2007; 18: 3: 61–66.
15. Антонеева И.И. Кислородзависимая антимикробная система нейтрофилов в динамике развития рака яичников. *Казан мед журн* 2008; 89: 4: 476–478.
16. Zitvogel L., Tesniere A., Apetoh L., Ghiringhelli F., Kroemer G. Immunological aspects of anticancer chemotherapy. *Bull Acad Natl Med* 2008; 192: 7: 1469–1487.