

DEBRECENI EGYETEM ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
BELGYÓGYÁSZATI INTÉZET
III. SZ. BELGYÓGYÁSZATI KLINIKA
Orvosszakmai igazgató: Prof. Dr. Zeher Margit

**AZ IMMUNRENDSZER VIZSGÁLATA A MALIGNUS
LYMPHOMÁK KEZELÉSE KÖZBEN**

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Gergely Lajos

Témavezető: Prof. Dr. Szegedi Gyula

Programvezető: Prof. Dr. Szegedi Gyula

Debrecen, 2005

Tartalomjegyzék:

RÖVIDÍTÉSEK	3. OLDAL
CÉLKITŰZÉSEK	5. OLDAL
BEVEZETÉS	7. OLDAL
BETEGEK ÉS MÓDSZEREK	28. OLDAL
EREDMÉNYEK	35. OLDAL
TÚLÉLÉSI ADATOK	36 . OLDAL
B-CLL CYCLOSPORIN A KEZELÉSE	38 . OLDAL
INTRACELLULÁRIS CYTOKIN MÉRÉSEK	40. OLDAL
ENÁ AUTOANTITEST MÉRÉSEK	45. OLDAL
KARDIOLIPIN AUTOANTITEST EREDMÉNYEK	50. OLDAL
IMMUNTHERÁPIA ALKALMAZÁSÁVAL SZERZETT EREDMÉNYEK (ANTI-CD20)	55. OLDAL
MEGBESZÉLÉS	59 . OLDAL
ÚJ EREDMÉNYEK, MEGÁLLAPÍTÁSOK	72. OLDAL
ÖSSZEFOGLALÁS	75. OLDAL
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	77. OLDAL
SAJÁT PUBLIKÁCIÓK	78. OLDAL
IRODALOMJEGYZÉK	83. OLDAL

Rövidítések:

ADCC	-	antitest mediált sejtközvetítette cytotoxicitás
aHSCT	-	autológ hemopoetikus őssejt transzplantáció
AIBL	-	Angioimmunoblasztos lymphoma
ALCL	-	Anaplasztikus nagysejtes lymphoma
APC	-	antigénprezentáló sejt
BEACOPP	-	bleomycin, etopozid, adriamycin, ciklofoszfamid, vincristin, procarbazin, prednisolon polikemoterápia
CD	-	differentiálódási antigének (cluster of differentiation)
CHOP	-	ciklofoszfamid, adriamycin, vincristin, prednisolon polikemoterápia
CLL	-	Krónikus lymphoid leukémia
CML	-	krónikus myeloid leukémia
CODOX-M/IVAC	-	alternáló poli kemoterápiás protokoll: ciklofoszfamid, adriamycin, vincristin, methotrexate, cytozar, ifosfamid, etopozid
CRu	-	Nem teljesen verifikált (nem biztos) komplett remisszió
CVP	-	ciklofoszfamid, vincristin, prednisolon polikemoterápia
DC	-	dendritikus sejt
DHAP	-	cisplatin, cytozar, dexamethason polikemoterápia
DISC	-	Sejthalált közvetítő komplex (death-inducing signalling complex)
DLBCL	-	Diffúz nagy B-sejtes lymphoma
ECOG PS	-	Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (A betegség okozta fizikai aktivitás korlátozás mértéke)
ENA	-	extrahálható nukleáris antigén komplex
ESHAP	-	etopozid, cisplatin, cytozar, metylprednisolon polikemoterápia
FITC	-	Fluorescein isotiocianát (excitáció 488nm, emisszió 525nm)
G-CSF	-	Granulocyta kolónia stimuláló faktor
GM-CSF	-	Granulocyta-monocyta kolónia stimuláló faktor
GVD	-	Graft versus betegség (disease)
GVHD	-	Graft versus host disease
GVL	-	Graft versus leukémia
HACA	-	Humán anti-kiméra antitest (pl. anti-CD20 ellenes antitestek)
HDT	-	Nagy dózisú kemoterápia (transzplantáció előtt)

Hyper-CVAD	-	polikemoterápiás protokoll: ciklofoszfamid, vincristin, doxorubicin, dexametason
IBL	-	Immunoblasztos lymphoma
IC	-	Immunocytoma
ICAM	-	Intracelleuláris adhéziós molekula
iDC	-	éretlen dendritikus sejt
ILSG	-	Nemzetközi lymphoma munkacsoport
IPI	-	International Prognostic Index (Nemzetközi Prognosztikai Index)
IVE	-	ifosfamid, etopozid, epirubicin polikemoterápia
KLH	-	kulcslyuk csiga hemocianin adjuváns (keyhole limpet hemocyanin)
LBL	-	Lymphoblasztos lymphoma
LDH	-	Laktát dehidrogenáz enzim
MALT	-	Nyálkahártya asszociált lymphoid szövet
MBCL	-	Mediastinális B-sejtes lymphoma
MCL	-	Köpenyzóna lymphoma (Mantle cell lymphoma)
MZL	-	Marginális zóna lymphoma
PBS	-	Foszfát puffereelt sóoldat
PCR	-	polimeráz láncreakció
PE	-	Phycoerythrein (excitáció 488nm, emisszió 580 nm)
PET	-	pozitron emissziós tomográfia
ProMACE-CytaBOM	-	ciklofoszfamid, etopozid, vincristin, ara-C, metothrexat, adriamycin, bleomycin, prednisolon polikemoterápia
Quantum Red	-	Tandem fluorescens festék (excitáció 488nm, emisszió 670nm)
REAL	-	Revised European Americal Lymphoma classification (lymphoma osztályozás)
SEREX	-	rekombináns cDNA expressziós klónozás
SLE	-	Szisztémás lupus erythematosus
SLL	-	Kis lymphocytás lymphoma
SNP	-	egy nukleotid polimorfizmus (single nucleotid polimorfizm)
Stanford V	-	vinblastin, doxorubicin, vincristin, bleomycin, mustárnitrogén, etopozid, prednisolon polikemoterápia
T-LGL	-	nagy granulált T-lymphocyta (T - large granular lymphocyte)
Tr1	-	1-es típusú regulatorikus T-sejt
WHO	-	Világ Egészségügyi Szervezet

Célkitűzések:

Az értekezés során a saját immunrendszert vizsgálom non-Hodgkin lymphomás betegek kezelése során. Keresem azokat a mérhető immunológiai eltéréseket, amelyek esetleg lehetőséget teremtenek arra, hogy mérésükkel közelebb kerüljünk a betegség kialakulása és kezelése során végbemenő immunreakciók azonosításához. Ezen immunreakciók megértése, mérése alapot szolgáltathat arra, hogy az alkalmazott kezeléseket ezek figyelembevételével végezhessük.

1. Bemutatom a kezelési eredményeket a klinikánkon kezelt non-Hodgkin lymphomás betegeknél 1996-2004 közötti időszakban. Rávilágítok arra, hogy korszerű kezelési lehetőségek ellenére nincs minden beteg kezelése megoldva.
2. Megvizsgálom, hogy paraneoplasticus pemphigus és B-sejtes krónikus lymphoid leukémia társulása esetén a T sejt funkciókat jelentősen gátló cyclosporin kezelés tartós alkalmazása hogyan befolyásolja a két betegséget.
3. Non-Hodgkin lymphomás betegek perifériás véréből szeparált lymphocyták intracelluláris IL-4 és IFN-gamma termelését jellemzem. Összehasonlítom kezelés előtt és már remisszióban levő betegek adatait egy egészséges kontroll csoporttal. Keresek karakterisztikus eltérést, ami jellemző a betegségre.
4. ENA komplex ellenes autoantitesteket mérem non-Hodgkin lymphomás betegekben és a kezelés során bekövetkező változásokat követve az immunrendszer autoreaktivitását vizsgálom. Keresem a változások összefüggését a betegség kezelésre adott válaszával.

5. Meghatározom a kardiolipin komplex ellenes autoantitestek szintjét non-Hodgkin lymphomás betegek perifériás vérében. Megvizsgálom, hogy van-e olyan mérvű emelkedés, mely rizikófaktor lehet thromboemboliára, valamint keresem az összefüggést az antitestek mennyiségének változása és a kemoterápiás kezelésre adott válasz között.

6. Beszámolok immunterápia (anti-CD20, rituximab) sikeres alkalmazásáról, rávilágítva, hogy az eredmények még közel sem megnyugtatóak. bemutatom a B-sejteken és aktivált T-sejteken mérhető változásokat egy beteg követése során.

Bevezetés:

A nyirokrendszer malignus daganatait először a XIX század elején Thomas Hodgkin írta le, és az általa jól definiált betegséget nevezzük Hodgkin kórnak. A későbbiekben számos a Hodgkin által leírt betegségtől eltérő nyirokszervi daganatot fedeztek fel, így ezeket a non-Hodgkin lymphomák csoportjába sorolták. A XX század közepéig, közel százötven évig nem volt egységes patológiai osztályozása ezen betegségeknek. 1959 –ben készítette el Rappaport a róla elnevezett első beosztását a nyirokrendszer malignus daganatainak, melyet 1966 –ban publikált. Az azóta eltelt 40 év során számos új osztályozás jelent meg, mely jól tükrözi, hogy a betegség diagnosztizálása és kezelése milyen jelentős változáson ment keresztül. Az 1974 -ben megjelent Lukes-Collins osztályozás az első mely külön entitásként kezeli a T és B sejtes malignus lymphomákat (92;93). Ezzel majdnem egyidőben Európában Karl Lennert irányításával megalkották a Kiel-i felosztást, mely a klinikusok számára is igen hasznos volt, mivel bevezette a kifejezett malignitású (agresszív) és a kis malignitású (indolens) lymphomák fogalmát és ezen csoportokon belüli entitásokat hozott létre (84;85). A Kiel-i felosztás a gyakorlatban a 90-es évek közepéig jól szolgálta a klinikusokat a malignus lymphomás betegek kezelése során, de az addigra felhalmozódott információ a felszíni antigének és karakterisztikus genetikai eltérések megismerésével változást sürgetett. Ugyanakkor a kettősség melyet a két földrészen alkalmazott eltérő klasszifikáció jelentett megnehezítette a tudományos eredmények összevetését, egységes kezelését. Ennek feloldására az amerikai nemzeti rákhivatal (National Cancer Institute) vezetésével már 1982 -ben megalkották a Working Formulation osztályozást, mely pusztán morfológiai jellegű volt, de viszonylag jól reprodukálhatónak bizonyult (1) 1994 -ben sikerült feloldani a kettősséget a Kiel-i és Lukes-Collins klasszifikáció között, mivel addigra már számos adat igazolta, hogy egyik sem megfelelően reprodukálható és a klinikusok több prognosztikai adatot vártak a

patológusoktól. Ezen törekvések eredménye az új lehetőségek felhasználásával a REAL osztályozás. Ez volt az első egész világon egységesen alkalmazott felosztás, mely mindössze 10 éve jelent meg (50). A REAL osztályozás során jelentős szerepet kapott az addigra már rutinszerűen alkalmazott lymphocita felszíni antigének CD tipizálása és egyes genetikai eltérések cytogenetikai vagy PCR vizsgálata is. Ekkor már a perifériás vérben is célszerűen lehetett keresni a kóros sejteket az áramlási cytometria segítségével és karakterisztikus mutációk, génexpressziók, mint a bcl-2 kóros expressziója a folliculáris lymphomában PCR technikával kimutathatóak voltak (117;138). A REAL osztályozás a maga bonyolultságával nem segítette megfelelően a klinikusokat. Morfológiai oldalról vizsgálva már 85%-os vizsgáló-vizsgáló közti azonosságot eredményezett, mely lymphomák esetében nagyon jó arány (48). A klinikusok azonban azzal szembesültek, hogy bizonyos entitások például a diffúz nagy B sejtes lymphoma, vagy a grade III. folliculáris lymphoma rendkívül heterogén módon reagálnak a kezelésre, nem lehetett megfelelő prognózist felállítani, így a megfelelő kezelés is nehezen volt alkalmazható. Ezek miatt 1997 -től megalakult egy munkacsoport, a nemzetközi lymphoma csoport (ILSG), mely az ún. WHO klasszifikációt hozta létre, azzal a céllal, hogy a világon egy egységes, a klinikusokat jól segítő és a patológusok által jól alkalmazható osztályozás szülessen (49). A WHO osztályozás már jelentős hangsúlyt fektet a lymphoma kiindulási sejtjének azonosítására, ugyanakkor az egymástól nehezen elkülöníthető csoportokat egységesen kezeli és csak ezen belül határoz meg alcsoportokat, variánsokat. A jelenleg használatos WHO felosztást az 1. táblázatban ismertetem.

1. Táblázat - A Malignus lymphomák WHO osztályozása

B-sejtes lymphomák

1. Prekurzor B-sejtes
 - a. B lymphoblasztos lymphoma/leukémia
2. Perifériás B-sejtes
3. B-sejtes krónikus lymphocytás leukémia / kissejtes lymphoma
 - a. variáns: monoklonális gammopathiával
 - b. variáns: plasmocytoid differenciálódással
 - c. nehézlánc betegség
4. B-sejtes prolymphocytás leukémia
 - a. hairy sejtes variáns
5. Lymphoplasmocytás lymphoma
 - a. variáns: Waldenström makroglobulinaemia
 - b. variáns: gamma nehézlánc betegség
6. Köpenysejtes (Mantle sejtes) lymphoma
 - a. variáns: blastos köpenysejtes lymphoma
7. Folliculáris lymphoma
 - a. Grade I.
 - b. Grade II.
 - c. variáns: bőr folliculáris lymphoma
8. MALT szövetek marginális zóna lymphomája
 - a. variáns: alfa nehézlánc betegség
9. Nodális marginális zóna lymphoma (+/- monocytoid sejtekkel)
10. Lép marginális zóna lymphoma (+/- villosus lymphocytákkal)
11. Hajas sejtes leukémia (Hairy cell leukémia)
12. Diffúz nagy B-sejtes lymphoma (DLBCL)
 - a. variáns: centroblasztos
 - b. variáns: immunoblasztos
 - c. variáns: T sejt vagy hisztocita gazdag
 - d. variáns: anaplasztikus nagysejtes
 - e. variáns: Burkitt szerű
 - f. variáns: lymphomatoid granulomatosis szerű
13. Diffúz nagy B-sejtes lymphoma altípusai:
 - a. mediasztinális B-sejtes lymphoma
 - b. intravaszkuláris B-sejtes lymphoma
 - c. primer effúziós lymphoma (pyothorax asszociált lymphoma)
14. Burkitt lymphoma
 - a. variáns: plasmocytoid differenciálódással
15. Plasmocytoma
 - a. variáns: csont soliter plasmocytoma
 - b. variáns: extramedulláris plasmocytoma
16. Plazma sejtes myeloma
 - a. variáns: indolens myeloma
 - b. variáns: smoldering myeloma
 - c. variáns: oszteoszklerotikus myeloma (POEMS szindróma)
 - d. variáns: plazmasejtes leukémia
 - e. variáns: non-szekretoros myeloma
 - f. variáns: szisztémás könnyűlánc betegség
 - g. variáns: primer amyloidosis

T sejtés lymphomák

1. Prekurzor T-sejtés leukémia/lymphoma
 - a. T-sejtés lymphoblasztos leukémia/lymphoma
2. Perifériás NK/T sejtés daganatok
 - a. T-sejtés prolymphocytás leukémia
 - b. T-LGL leukémia
 - c. NK sejtés leukémia
 - d. Felnőttkori T-sejtés leukémia/lymphoma
3. Nodális perifériás T, NK sejtés daganatok
 - a. Angioimmunoblasztos T-sejtés lymphoma
 - b. Perifériás Z-sejtés lymphoma (nem meghatározott)
 - i. T-zónás lymphoma
 - ii. Lennert (lymphoepitelioid) lymphoma
 - c. Anaplasztikus nagysejtés lymphoma (T és null fenotípus)
4. Extranodális perifériás T, NK sejtés daganatok
 - a. Mycosis fungoides
 - b. Sézary szindróma
 - c. Primer cutan CD30+ lymphoma
 - d. Primer cutan anaplasztikus nagysejtés lymphoma (lymphomatoid papulozissal vagy nélküle)
 - e. Szubcutan panniculitis szerű lymphoma
 - f. Nazális NK/T sejtés lymphoma
 - g. Enteropátia asszociált T-sejtés lymphomák
 - h. Hepatosplenicus gammadelta T-sejtés lymphoma

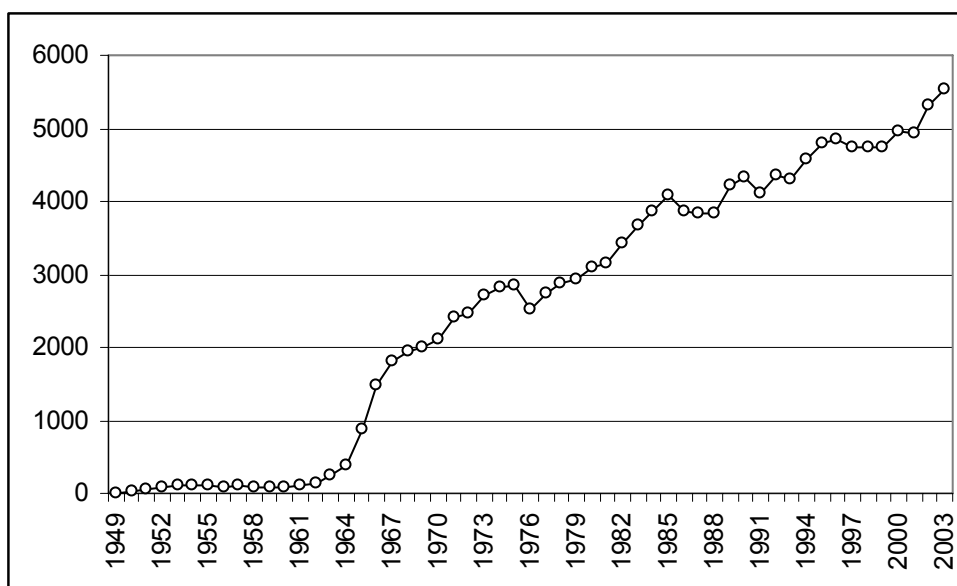
Hodgkin lymphomák

1. Noduláris lymphocytá predomináns Hodgkin kór
2. Klasszikus Hodgkin kór
 - a. Noduláris szklerózis (I, II grade)
 - b. Kevert sejtés Hodgkin kór
 - c. Lymphocytá gazdag klasszikus Hodgkin kór
 - d. Lymphocytá depléció Hodgkin kór

A táblázatból látható, hogy a non-Hodgkin lymphomák csoportja rendkívül heterogén, nagyon sok típusát ismerjük. Megjegyzendő, hogy a génexpressziós profil vizsgálatok egyre nagyobb számban való alkalmazása már rámutatott ennek a felosztásnak is a gyenge pontjaira és hibáira.

A lymphomák felosztásának jelentős fejlődésével párhuzamosan a terápiás lehetőségek is bővültek. A mustárnitrogén kezdeti alkalmazása Hodgkin kórban az 1950 –es évektől a korábban csak nehezen kezelhető betegséget egyes esetekben gyógyíthatóvá tette (6;130). Ezt megelőzően már voltak radioterápiás próbálkozások kisebb eredményekkel, de a radioterápia a kemoterápia megfelelő kiegészítőjeként lett a lymphomák kezelésének szerves része. Azóta a kemoterápiás kezelések folyamatosan fejlődtek, egyre korszerűbb cytosztatikus gyógyszerek váltak elérhetővé és az 1980 –es évek közepére már a lymphomákat viszonylag jól kezelhető betegséggént említi az orvosi irodalom. Ugyanakkor akkor és még ma is van több olyan eset, mely a rendelkezésre álló kezelési lehetőségekkel nem kezelhető. Az 1990 –es évek végéig a kezelés alapelve az volt, hogy a potenciálisan halálos betegségre való tekintettel a lehető legnagyobb még tolerálható cytosztatikus dózist alkalmazva meggyógyítsuk a betegséget. Ezt a törekvést jelentősen segítette a nagy dózisú kemoterápia alkalmazása autológ őssejtszupportációval. A lymphomákkal kapcsolatos ismeretanyag az 1950 –es évektől exponenciálisan emelkedett, amit az 1. ábrán mutatok be, ahol a MEDLINE adatbázisban évente megjelenő lymphomával foglalkozó cikkek számát prezentálom.

1. Ábra – MEDLINE találatok a lymphoma szó keresésére.



Az ábrán látható, hogy 1964 -ig csak sporadikus közlések jelentek meg, majd ezt követően exponenciálisan emelkedett a közlések száma, amit a rohamosan fejlődő és rendelkezésre álló kemoterápiás lehetőségek jelentettek. Ugyanakkor ismert tény, hogy a betegség gyógyítására használt kemoterápiás szerek, különös tekintettel a mustárnitrogénre igen jelentős carcinogén hatással bírtak. Igazolódott, hogy nitrogén mustár alkalmazása után jelentősen emelkedik a myeloid malignitás (66). Már a kezdeti megfigyelések alapján a nitrogén mustár helyett újabb alkiláló szerek kerültek alkalmazásra, elsősorban a ciklofoszfamid (82). A ciklofoszfamid alkalmazását jelentősen segítette Burkitt megfigyelése, aki a róla elnevezett afrikai lymphomában rendkívüli hatásosságot ért el a szer alkalmazásával (15). 1984 -ben jelent meg jelentősebb betegszámot magába foglaló közlemény mely felhívta a második malignitásra a figyelmet (133). 400 Hodgkin lymphomás betegből akiket 1961-84 között kezeltek 35 esetben igazolódott malignus betegség. Itt még nem tudták összehasonlítani a mustárnitrogént más kemoterápiával, de 1991 -ben már Hancock és munkatársai 290 Hodgkin kóros beteg kezelésével szerzett tapasztalat alapján a mustárnitrogén helyett chlorambucilt alkalmazva kevesebb toxicitást és második tumort igazoltak (46). Ezt követően már számos

közlés jelent meg, egyre komolyabb hangsúlyt fektetve a kezelés veszélyeire. Ezzel szemben ugyanakkor a malignus lymphomákat kezelő orvos azzal szembesült, hogy nem tud minden beteget meggyógyítani. Ugyancsak a Hodgkin kór kezelése szolgáltatott egy nagyon fontos tanulságot, és újradefiniálta a kemoterápia alkalmazásának elveit. Két független munkacsoport egy igen intenzív polikemoterápiás protokollt dolgozott ki, azt tartva szem előtt, hogy minél magasabb komplett remissziót tudjon elérni a betegségben. Kaliforniában 1989 -től Horning és munkatársai a Stanford V protokollt, és Európában Diehl és munkatársai a BEACOPP protokollt alkalmazták (32;33;57;59). A BEACOPP protokoll kezdetben kedvező fogadtatásra talált, mivel közel 95%-os gyógyulást (komplett remissziót) tudott eredményezni, de az alkalmazásával szerzett tapasztalataok egyértelműen emelkedett korai és késői toxicitást igazoltak. Ezen adatok már megosztották a szakmát, de mára egyértelművé vált az a tény, hogy nem elég "minden áron" meggyógyítani a betegséget. A lehető legminimálisabb, de a szükséges toxicitású kemoterápiát kell alkalmazni. Ez napjainkban a személyre szabott kemoterápia lenne, de ez még nem minden esetben kivitelezhető. E helyett a malignus lymphomákban az ún. rizikóadaptált kezelést igyekszünk alkalmazni.

A rizikóadaptált kezelés alapvetően azon alapul, hogy a malignus lymphoma pontos szövettani típusát ismerve, azt kiegészítve genetikai markerek vizsgálatával pontosabb képet kapunk arról, hogy a betegség várhatóan hogyan fog a kezelésre reagálni. Itt két különböző csoport különíthető el. Az egyikben várhatóan nem kielégítő regressziót okoz a konvencionális dózisú kemoterápia, ilyen pl. a cyclin-D1 pozitív Mantle sejtes lymphoma (73), vagy a kezdeti jó reagálás után nagy valószínűséggel a betegség ismét kiújul, mint például a mediastinális B-sejtes lymphoma (73;74;121). Ezen utóbbi esetekben a nagy dózisú konszolidációs kezelés autológ őssejtszupportációval jelentette a kuratív kezelést. Mindezen faktorok mellett egy nagyszámú betegen végzett statisztikai analízis alapján létrehozták a non-Hodgkin lymphomák agresszív típusaiban alkalmazott nemzetközi

prognosztikai indexet (IPI) és a korhoz adaptált prognosztikai indexet, amit a 2. és 4. táblázatban ismertetek (2).

2. Táblázat - Nemzetközi prognosztikai index agresszív lymphomákban

BETEGSÉG FELISMERÉSEKOR ÉSZLELT ÉRTÉK	PONTSZÁM
Életkor > 60 év	1
Klinikai stádium > II	1
Extranodális érintettség (lépérintettség is) jelenléte	1
ECOG PS > 1	1
LDH érték emelkedés	1

Az IPI pontrendszer alapján a legrosszabb esetben 5 pont alkalmazható. A kritériumrendszer alapján 4 jelentősen eltérő túlélési statisztikával rendelkező csoportot lehet elkülöníteni, amit a 3. táblázatban ismertetek.

3. Táblázat - Öt éves túlélési valószínűségek az IPI értékek alapján(2).

RIZIKÓCSOPORT	IPI ÉRTÉK	5 ÉVES TELJES TÚLÉLÉSI VALÓSZÍNŰSÉG
Kis rizikó	0-1	73%
Kis intermedier rizikó	2	51%
Nagy intermedier rizikó	3	43%
Nagy rizikó	4-5	26%

Tekintettel arra, hogy az idősebb betegek kezelése nehezebb, a kezelési eredmények nem annyira jók, mint a fiatalabb betegek esetében, megalkották a korhoz adaptált

rizikócsoportokat is, ahol az életkort kiemelve a többi négy tényezőt vizsgálták. A 4. táblázatban az így kapott adatokat mutatom be.

**4. Táblázat - Öt éves túlélési valószínűségek a 60 évnél fiatalabb populációban
a korhoz adaptált IPI értékek alapján(2)**

RIZIKÓCSOPORT	IPI ÉRTÉK	5 ÉVES TELJES TÚLÉLÉSI VALÓSZÍNŰSÉG
Kis rizikó	0-1	83%
Kis intermedier rizikó	2	69%
Nagy intermedier rizikó	3	46%
Nagy rizikó	4	32%

Mindezen adatok jól tükrözik, hogy egy adott szövettannal rendelkező betegség esetén is milyen fontos egyéb tényezők vannak, és a betegség prognózisa ezektől lényegesen függ. Az IPI használatával a klinikusok jól meg tudták tervezni a szükséges kemoterápiás kezelést. Használata annyira elterjedt, hogy kis malignitású lymphomák esetében is megvizsgálva sikerült igazolni prediktív értékét (37). Ugyanakkor mivel a klinikai stádiumbeosztás jelentősen befolyásolhatja az IPI értéket (I-II vs. III-IV), jelentős hangsúlyt kell fektetni a beteg megfelelő vizsgálatára, akár PET, vagy gallium⁶⁷ szcintigráfia alkalmazásával is

Mindezidáig rövid áttekintést adtam a malignus lymphomák kovencionális (kemo- és radioterápia) kezelésének fejlődéséről. Ugyanakkor látható, hogy újabb és újabb kemoterápiás sémák kialakításával lehet próbákozni, de a hatás már nem jelentősen emelkedik. Ezt a klasszikus CHOP polikemoterápia jól igazolja, melynek eredményeit egyértelműen nem lehetett javítani egyik újabb kombinált kezeléssel sem, csak abban az esetben, ha jelentős toxicitással számolunk, ami jelentős életminőségromlást és akár halált is okozhat. Egyértelmű ugyanakkor, hogy a szelektált esetekben a nagy dózisú kezelésnek autológ

őssejtszupportációval feltétlenül létjogosultsága van. Véleményem szerint ez a rendkívül hatásos, de veszélyes beavatkozás jelenti a "klasszikus kemoterápia" vonalának a végpontját, további fejlődésre ezen eszközökkel nincs lehetőség.

Pontosan a csontvelőtranszplantáció volt azonban az, mely rávilágított egy nagyon fontos tényre, és itt jelentős magyar vonatkozást, Kelemen Endre megfigyelését szeretném kiemelni. A dibrómmannit alkalmazásával "nem-myeloablatív" kondicionálást alkalmazva végezték el az allogén csontvelőátültetést. A módszer alkalmazásával a peritranszplantációs mortalitás jelentősen csökkenthető volt és a jól kormányozott GVL hatás tolerálható GVHD mellett rendkívül kedvező túlélési eredményeket eredményezett. A 36 transzplantált CML -es betegnél 36 hónap után 83.3% -os teljes túlélés és 72.2% -os leukémia mentes túlélés volt. Kilenc esetben volt jelentős és csak 2 esetben súlyos GVHD (11;71). Azóta a mini allogén transzplantációt számos centrum sikeresen alkalmazza de az eredmények a kezdeti sikerek után változóan alakulnak, mivel a késői (100 napon túli) szövődmények -elsősorban infekciók- jelentősek (111;118). Ugyancsak fontos, hogy nagyobb tumortömeg esetén a mini-allogén transzplantáció már nem képes hatásos GVD -t létrehozni, ilyen esetben konvencionális nagy dózsiú kezelés vagy tandem transzplantáció szükséges (95).

Az a tény azonban, hogy a leukemiák esetében az allogén csontvelő/őssejt átültetés eredményezhet teljes gyógyulást az autológ átültetéssel szemben rávilágított, hogy megfelelő körülmények között az immunrendszer képes a reziduális tumorsejtek teljes eliminálására. Ez a kedvező hatás megőrizhető jelentősen kevesebb szövődmény árán a nem-myeloablatív transzplantáció során. Matematikai tény, hogy szekvenciálisan alkalmazott kemoterápia sohasem tudja az összes daganatos sejtet elpusztítani. Bármilyen kezelés végén még kell, hogy maradjon élő daganatsejt, ami felelős lehet a betegség későbbi kiújulásáért. Ezen élő daganatsejtek elpusztítása már régóta foglalkoztatja a szakembereket. A kemoterápia indirekt módon, a strómasejtek és a mikro környezet károsításával hozhat létre olyan viszonyokat,

hogyan a megmaradt sejtek elpusztulnak, de ez nem mérhető, nem lehet prognosztizálni. A GVL hatás volt ez első olyan igazolt és kormányozható immunológiai reakció, mely egyértelműen a maradék daganatsejtek elpusztítására irányult és megfelelően kormányozva a mellékhatások elviselhetőek voltak. Ugyanakkor a kutatókat régóta foglalkoztatja az a kérdés, hogy a tumorsejtek miért képesek perzisztálni az egyénben, mi biztosítja a túlélésüket és miért nem tudja az immunrendszer felismerni és/vagy elpusztítani ezeket a sejteket. Mára ezen kérdések részben meg lettek válaszolva, bár ismereteink nem teljesek. Az a tény, hogy a lymphomás betegekben az autoimmun betegségek előfordulása nagyobb a normál populációhoz képest arra enged következtetni, hogy a saját - nem-saját felismerés rendszer működésének zavara jelen van ezen betegekben (140), ugyanakkor ez fordítva is igaz, mivel autoimmun betegekben emelkedett a malignus lymphomák kialakulásának frekvenciája. Itt elsősorban a Sjögren szindrómában kialakuló B-sejtes lymphomák említhetők (124;149) Ugyancsak fontos tény, hogy a daganatsejtek sokszor a tumorantigént nem jelenítik meg felszínükön, illetve lymphomákban a tumorantigén többnyire maga a T és B sejt receptor, mely nem feltétlenül kerül felismerésre a saját immunrendszer által. Ugyancsak fontos a tumorsejtek védekezése a cytotoxikus hatások ellen, részben a Fas (CD95) expresszió csökkentésén és részben más kostimulatorikus molekulák (mint a CD40L a B sejteknél) csökkent expressziója révén. Kimutatható, hogy a CD40 kötődés, mint kostimulatorikus szignál képes a sejtfelszíni Fas expressziót fokozni B sejtes lymphomákban (52). Nemcsak a sejtfelszíni CD95 expresszió lehet azonban csökkent, hanem elsősorban a FasL-Fas kötődést követő apoptotikus szignál közvetítése a DISC komplexen keresztül a sejteket rezisztenssé teszi a Fas közvetítette apoptotikus szignállal szemben (79). Mindez arra mutat, hogy még sikeres tumorsejt felismerés esetén sem alakul ki minden esetben effektív anti-lymphoma immunválasz. Újabban, a felismerés zavarát is igazolni tudták, ugyanis a dendritikus sejtek szerepe alapvető a megfelelő immunválasz kialakulásában. Igazolták, hogy a nem megfelelő

cytokinkörnyezetben végbemenő antigénprezentáció, vagy éretlen dendritikus sejtek antigénprezentálása tolerogén szignált közvetít az immunrendszer felé, mely hosszú távra biztosítja a lymphoma perzisztálását (146). Ugyancsak fontos a regulatorikus T-sejtek szerepe, mivel igazolt, hogy a Tr1 regulatorikus T -sejtek elsősorban az éretlen dendritikus sejtek (iDC) képződését segítik elő. Ez a folyamat nem igényli a CD4+/CD25+ T sejtek közreműködését (86). A reakcióhoz szükséges cytokinkörnyezet biztosításában sok sejt vesz részt, de elsődleges szereppel a T-sejtek bírnak.

A T sejteket cytokintermelésük alapján fel lehet osztani több csoportra. Az 1-es típusú sejtekre elsősorban IFN-gamma termelés jellemző, a 2-es típusú sejtek IL-4 termelésükkel jellemezhetők (21). Az 1-es típusú sejtekre jellemző még az IL-2, TNF-alfa és IL-12 termelés is, míg a 2-es típusú sejtek IL-5, és IL-10 cytokineket is termelnek (105). A CD4+ sejteken belül ezek alapján elkülöníthető Th1 és Th2 típusú sejt. A CD8+ sejteken belül szintén elkülöníthető Tc1 és Tc2 fenotípusú sejt (141). Ismert még a Th0, Tc0 sejt, melyre IL-2, IL-4, IL-10 és IFN-gamma együttes termelése jellemző. Ezek prekursor, még nem elkötelezett sejteknek tekinthetők, cytokintermelésükkel autocrin funkciót látnak el. A CD4 sejteken belül egy TGF-beta termelő regulatorikus Th3 populáció is elkülöníthető, mely mind az 1-es és mind a 2-es típusú sejtek működését gátolja. Ugyancsak igazolták, hogy az IL-10 -et mind 1-es és mind 2-es típusú sejtek termelnek, bár utóbbiak nagyságrendekkel nagyobb mennyiségben, és ezen cytokin funkciója elsősorban regulatorikus, a megfelelő polarizáltságát hivatottak fenntartani az immunválasznak (30). Mára már tudjuk, hogy ez a felosztás rendkívül didaktikus, ezen sejtek mindig együtt, sokszor nehezen elkülönítve vesznek részt az effektor immunválaszban. Az egyes típusok dinamikus egyensúlya jellemzi az immunválaszt, és az arányok szabják meg, a védekezés jellegét (28). Igazolt tény, hogy a 2-es válasz jelentős túlsúlya elsősorban atópiás betegségekre jellemző, fiziológiásan szerepe a helminthiázisok elleni védekezésben jelentős (128). Az 1-es válasz túlsúlya szükséges

ugyanakkor vírusfertőzések és malignus betegségek eliminálásához és igazolták, hogy malignus betegségek többnyire az 1-es válasz zavarával járnak(10;39;104). A Th1 sejtek effektor funkciójukat elsősorban FasL-Fas interakció és apoptózis indukció útján érik el. A bekövetkező apoptotikus sejthalál egy gyengén immunogén sejttörmelék eredményez. Ezzel ellentétben a CD8+ Tc1 sejtek hatásukat granzyme kiválasztásával érik el, mely hatására széteső sejtek alkotórészei a közelben levő APC sejtek által immunválaszt képesek indukálni. Ennek fiziológiai alapja az, hogy a Th1 sejtek elsősorban sérült vagy beteg saját sejteket pusztítanak el és a Tc1 sejtek hivatottak idegen sejteket, parazitákat elpusztítani és feldoldozásuk után így további antigének kerülnek felismerésre az immunrendszerünk által. Ugyancsak igazolták, hogy Th2 domináns immunválasz kedvezőtlen kimenetelt prognosztizál lymphomák esetén (83). Mindezen ismeretanyag rávilágít, hogy milyen komplex rendszert kell vizsgálni, befolyásolni és modulálni, amikor a daganatelleni immunterápiával próbálkozunk. Ugyanakkor, mint ahogy már korábban említettem a klasszikus kemoterápiával és radioterápiával elérhető eredmények jók, de nem elegendők. A továbblépést mindenképpen a daganatsejtek szelektív eliminálása jelentheti, melyet jelen tudásunk szerint legtökéletesebben a saját immunrendszerünk tudna elvégezni. Ez a felismerés és a kemoterápia okozta toxicitás vezette a kutatókat arra, hogy szelektív immunterápiás lehetőségeket kutassanak. A legfontosabb feltétele a megfelelő terápia kifejlesztésének, hogy legyen birtokunkban olyan kizárólagosan a tumoros sejtekre jellemző antigén, melyet felhasználva a daganatsejteket láthatóvá tudjuk tenni az immunrendszer számára. Fontos kritérium, hogy ezen antigén expressziója viszonylag konstans legyen, ne internalizálódjon és ne legyen jelentős "shedding". A felsorolt feltételek együttes teljesülése nehéz. A B sejtek esetén a B-sejt receptor, míg a T sejtek esetén a T-sejt receptor a kizárólagos tumorantigén, mely azonban minden egyén tumorában más, így minden beteg esetében költséges és rendkívül bonyolult módszerrel lehetne tisztított formában előállítani azt. Mindezek miatt más

felszíni antigéneket kerestek. Ideálisnak tűnik a B sejtek felszínén a CD20, CD22, HLA-DR, a T-sejtek felszínén a CD3, CD30, valamint az összes lymphoid sejtre jellemző CD52. Az immunterápiás lehetőségeink főbb csoportjait az 5. táblázatban ismertetem.

5. táblázat - Immunterápiás lehetőségek malignus lymphomákban

I. PASSZÍV IMMUNTERÁPIÁK

- A. Monoklonális antitestek
- B. Radioizotóppal jelölt monoklonális antitestek
- C. Immunotoxinnal jelölt monoklonális antitestek
- D. Bispecifikus monoklonális antitestek
- E. Antigén specifikus T-sejt terápia

II. AKTÍV IMMUNTERÁPIÁK

- A. Tumor antigén vakcináció
- B. Dendritikus sejt vakcináció
- C. DNS vakcináció

III. EGYÉB

- A. Cytokin terápia
- B. Anti-cytokin terápia
- C. Co-stimulatorikus molekula transzfekció (CD80, CD86)
- D. Gátló receptorok blokkolása (CTLA-4)
- E. "Innate" immunitás kihasználása (CpG szekvenciák)

A fent felsorolt immunterápiás lehetőségek közül ma rutinszerűen elsősorban a passzív immunterápia A és B pontja került alkalmazásra és igen ígéretes klinikai eredmények vannak a tumor antigén és dendritikus sejt vakcináció alkalmazásával is. A passzív immunterápiák alkalmazását az anti-CD20 monoklonális antitest forradalmasította a világon. A rituximab

(MabThera) alkalmazása 1997 óta lehetséges CD20 felszíni antigén pozitív B-sejtes lymphomákban (96;97) A B sejtek az érésük korai stádiumától, a felszíni Ig receptor komplex megjelenése előtti állapottól (pro-B sejt) kezdve a felszínükön viszonylag nagy sűrűséggel hordozzák a CD20 molekulát és ez a tulajdonságuk nem változik jelentősen az érés / aktiválódás során. Csak a differenciált plazmasejt stádiumban tűnik el ez a molekula a sejtfelszínről. Azt is megfigyelték, hogy a CD20 felszíni struktúrához kötődő monoklonális ellenanyag hatására a molekula csak igen jelentéktelen mértékben internalizálódik és nincs jelentős szerkezeti vagy konformációs változás sem, tehát az ilyen módon megjelölt sejt látható marad az immunrendszer számára. A rituximab egy humanizált kiméra monoklonális antitest, mivel egér eredetű variábilis régió – antigén determináns - van humán konstans immunglobulin régióhoz kötve. Hatásmechanizmusát tekintve mind apoptózis indukció a CD20 molekulán keresztül, mind ADCC és mind komplement mediált lízis szerepet játszik (20). Kezdetben a rituximab-ot monoterápiában hetente 375 mg/m^2 dózisban összesen 4 alkalommal intravénásan alkalmazták, és indolens lymphomák –elsősorban folliculáris lymphoma- esetében a betegek 40%-a reagált a kezelésre, de alig volt komplett remisszió (CR) és a kezelés befejezése után 2-6 hónappal a betegség progrediált csaknem a betegek 100% -ában (100). Ezek a kezdeti eredmények világossá tették, hogy a gyógyszert monoterápiában elsődleges kezelésre nem lehet használni. Ekkor indultak újabb klinikai kipróbálások, melyekben a rituximab-ot valamilyen kemoterápiával együttesen adták. A gyógyszert többnyire a kemoterápia kezdete előtt közvetlenül adják be. Ennek oka az, hogy rituximab előkezelés fokozza a sejtek apoptózis képességét, még a bcl-2 pozitív esetekben is (4;5;106). Ugyancsak igazolható, hogy cisplatin rezisztens sejtek esetében potenciózza a szer hatásosságát (5), illetve egyéb kemoterápiák esetében is fokozhatja a hatást (31). Számos protokollal alkalmazták együtt, de a legtöbb adat a CHOP és rituximab (R-CHOP, rituximab 375 mg/m^2 + cyclophosphamid, adriablastin, vincristin, prednisolon) alkalmazásáról szól. Az

első közlés 1999 –ben 40 indolens lymphomás betegben 95%-os válaszadást (55% CR és 40% PR) eredményezett és 28 hónap követés után is a betegek 74%-a remisszióban maradt, ami messze meghaladta az addigi kemoterápiával elérhető eredményeket (29). Ezt követően már számos publikáció igazolta az R-CHOP hatásosságát, nemcsak indolens, hanem agresszív lymphomákban is. A diffúz nagy B-sejtes lymphoma (DLBCL) kezelése R-CHOP protokollal forradalmi változást hozott. A korábbi kemoterápiás kezelések alkalmazásakor a betegek jelentős része autológ hemopoetikus őssejttranszplantációra és nagy dózisú konszolidációs kezelésre (HDT + aHSCT) szorult. A rituximab-CHOP kezeléssel az eddigi 75% helyett 85%-os komplett remissziós ráta volt elérhető, és az első 1-2 évben jelentkező 30-40%-os relapszusarány közel harmadára csökkent. A különösen rossz prognózisú 60 évnél idősebb populációban is hasonló jó eredmények voltak kimutathatók, a 65%-os CR arány 75%-ra emelkedett (23). A CHOP mellett más kemoterápiás protokollokkal is kombinálják a rituximabot. Itt elsősorban az R-FCM (rituximab + fludarabin, cyclophosphamid, mitoxantron) vagy R-FC (mitoxantron nélkül) alkalmazásával vannak biztató eredmények indolens lymphomákban és B-CLL-ben (55). Ugyancsak igazolt, hogy CD20 pozitív nodularis lymphocytá túlsúlyos Hodgkin kór relapszusában sikerrel alkalmazható a rituximab monoterápia (125). A szer monoterápiában alkalmazva lehetőséget teremt a HDT + aHSCT előtt és/vagy után ún. in vivo purgingre. A residuális tumorsejtek elpusztítása így tökéletesebb lehet. Ez azért fontos, mert a korábbi in vitro purging alkalmazásával kapott eredmények nem hozták meg a várt eredményeket (14;36). Mantle sejtes lymphomában standard monoterápiát összehasonlítva elnyújtott kezelési sémával /fenntartó kezeléssel/ nem igazolható szignifikáns különbség hatásában (43). Jelentős eredmény agresszív CD20+ B sejtes lymphomák HDT + aHSCT kezelése után alkalmazott fenntartó kezeléssel közölt adat, mely közel 15% -al jobb mint a korábbi eredmények (2 éves eseménymentes túlélés 83%) (60).

A CD22 ellenes monoklonális antitest (epratuzumab) alkalmazásával is vannak kedvező kezdeti tapasztalatok, de ez a CD20 -al ellentétben egy nem stabil, gyorsan internalizálódó felszíni molekula. Előnye, hogy a B sejtérés későbbi szakaszán jelenik meg a felszínen, így ha a korai B sejtek nem betegek azok megkimélhetők. A CD22 kötődést követő internalizáció beindít egy foszforilációs folyamatot, mely a sejtek növekedésének gátlását eredményezi. A gyors internalizáció toxinok célzott sejtbejuttatását teszi majd lehetővé (16;69).

A gyakorlatban is rutinszerűen alkalmazható lehetőség a CD52 molekula elleni antitest (alemtuzumab, MabCampath). A CD52 egy glikozilfoszfatidilinozitol lánc (GPI) által membránhoz rögzített peptid, melyhez nagy szénhidrát molekula kapcsolódik és megtalálható minden T, B lymphocytán. A CD52 molekulák keresztkötéssel való aktivációja a sejtek növekedésének gátlásához vezet. (127). Kezelés hatására a sejtek száma csökken és jelentősen emelkedik a CD52 negatív populáció aránya. Ugyancsak megfigyelték, hogy anti-CD52 kezelést követően a szintén GPI által rögzített CD55 és CD59 expresszió is csökken, ami magyarázza a gyakran jelentkező paroxismalis nocturnalis hemoglobinuriát. Az alemtuzumab kezelést manapság gyakran alkalmazzák az ún. nem-myeloablatív transzplantációban (mini-allogén transzplantáció) mint kondicionáló kezelést. Elsősorban cyclosporinnal, melphalannal vagy fludarabinnal és anti-thymocyt globulinnal (ATG) szokták kombinálni, de számos más kombináció is alkalmazható (40;98). Szintén ígéretes eredmények vannak CLL és egyéb indolens lymphomák kezelésében (70;94;113). Perifériás T-sejtes lymphomák kezelése során a kemoterápia refrakter esetekben is kedvező hatást írtak le (34). Korábbi kemoterápiára rezisztens, vagy visszaeső betegek esetében is 36% -ban volt a subcután alkalmazott monoterápia hatásos.

A passzív immunterápia speciális alkalmazása a radioizotóppal jelölt monoklonális antitest. Meggyőző eredmények a CD20 ellenes antitest Y^{90} (ibritumomab tiuxetan, Zevalin) és I^{131} (tositumomab, Bexxar) konjugált antitestekkel vannak. Ez utóbbi Európában még nem

használható. Az Y^{90} konjugált anti-CD20 jelentősége az, hogy rituximab refrakter esetekben is képes lehet a betegséget visszaszorítani a lokális sugárhatás miatt (145). Hatása a kevésbé vascularizált területeken nemcsak a jelölt, hanem a környező tumorsejtekre is kiterjed. Szintén hatásos a nem homogén felszíni tumorantigént hordozó sejtpopulációkon. Alkalmazása megoldható ambulánsan, mivel az Y^{90} lágy β sugárzása hamar elnyelődik a környező sejtekben. Nem alkalmazható, ha nagy tumortömeg (>25%) van a csontvelőben, mert a kezelés ilyen esetben veszélyes, súlyos apláziát tud okozni (143). A késői mellékhatások tekintetében még nincs elegendő adat, de a csontvelő sugárkárosodása miatt myelodysplasia, acut myeloid leukémia alakulhat ki. Erre vonatkozó adatok ugyanakkor sporadikusak és az első ilyen tanulmányok ezt nem tudták megerősíteni (109). Rituximabbal összehasonlítva refrakter vagy kiújult kis malignitású lymphomában 20% -al nagyobb válaszadást eredményezett (80%) és 15-20% -al magasabb a komplett remisszióba kerülő beteg aránya (144;145).

Az aktív immunterápiás törekvések legjelentősebb beszámolóit Levy munkacsoportjától származnak. Tumorantigén vakcináció minden esetben tisztított protein antigén és immunogenitást fokozó adjuváns együttes alkalmazásával végezhető. A leggyakoribb adjuváns a KLH. Az 1980-as évek közepétől számos jelentős kísérletes eredményről számolnak be a kutatók, de az első eredmény közzlése 1997 –ben történt, amikor átlagban 5.3 éve követett 41 B-sejtes folliculáris lymphomás eset kezeléséről számoltak be. Tisztított idiotípus protein-KLH konjugátummal történt a vakcináció a kemoterápiás kezeléseket után és 20/41 (48.8%) esetben alakult ki idiotípus (Id) specifikus immunválasz. Azon betegekben, akiknél kialakult az immunválasz a progressziómentes túlélés 7.3 évre nőtt szemben a többi beteg 1.3 éves értékével (61). Ugyanezen munkacsoport azonban lényegesen jobb eredményekről számolt be 2002–ben, ugyanis dendritikus sejt vakcináció esetén már a betegek 65.7%-a rendelkezik detektálható antitumor immunválasszal (134). Napjainkban a

vakcinációt talán legelterjedtebben a myelomás betegek kezelésében alkalmazzák, ahol elsősorban HDT + aHSCT után igyekeznek a vakcinációval az eredményességet fokozni. A vakcina itt is tisztított idiotípus és KLH konjugátum. Az eddigi adatok alapján a subcután alkalmazott vakcina mellé GM-CSF adása is javasolt, mert ez fokozza a kialakuló immunválasz erősségét. Megfelelő technikával akár a betegek 85%-ban kialakul mérhető anti-idiotípus immunválasz (27;99). Jelenleg az Amerikai Nemzeti Rákkutató Intézet (NCI) fázis-III tanulmányt folytat, amiben összehasonlítja kemoterápia és a kemoterápia + Idiotípus-KLH + GM-CSF vakcináció eredményeit lymphomában (78). Ennek adatai még nem kerültek közlésre. Érdekes és már régi kísérletes eredmény, hogy a CD30 szerkezetét utánzó anti-idiotípus monoklonális antitesttel történő vakcináció képes anti-CD30 T és B sejt immunválaszt indukálni (120). Mint azt korábban említettem, a tisztított tumorantigén-KLH együttes alkalmazása nem képes minden betegben anti-idiotípus (protektív) immunválaszt indukálni. Amennyiben azonban a dendritikus sejtek számára tesszük hozzáférhetővé a tumorantigént, ezek jóval nagyobb százalékban képesek anti-lymphoma immunválaszt indukálására. Ez a metodika napjainkban rohamléptekben fejlődik, de sajnos megvannak a korlátai. A betegek perifériás véréből a dendritikus sejtek preparálása és in vitro tenyésztése precíz technikát kíván. A tumorantigén a megfelelően tisztított formában kell hogy rendelkezésre álljon és az in vitro antigénprezentációt (antigéntöltést a DC-be) megfelelő határfokkal el kell végezni. Mindezek után a szervezetbe visszaadott dendritikus sejteknek életképesnek kell lenni ahhoz, hogy megfelelő immunválaszt indukáljanak. Fontos az in vitro dendritikus sejt tenyésztés, mely során a monocytoid irányba differenciálódó DC1 sejtek szerepe a fontosabb, mivel ezek képesek 1-es típusú immunválaszt indukálni, míg a plasmocytoid DC2 dendritikus sejtek inkább 2-es típusú választ indukálnak. Az igazolt, hogy a lymphoma eliminációja többnyire 1-es túlsúlyú immunválaszt igényel (83;87). Antigén vagy tumorsejt aktivált dendritikus sejt vakcinációval számos egérkísérlet történt. A kutatások

középpontjában az áll, hogy a szervezetbe visszajuttatott dendritikus sejt minél hatásosabban és tartósan stimulálja az immunválaszt. Eddig kétféle humán lymphoma kezelésében alkalmazták. Az első a már korábban is említett kis malignitású lymphoma kezelés (134). Myelomás esetekben az autológ tandem transzplantáció közel 50% -ban eredményez komplett remissziót, de sajnos viszonylag gyakori a relapszusa a betegségnek. Yi és munkatársai az arkansasi myeloma klinikán a transzplantáció után alkalmazott dendritikus sejt vakcinációval kísérleteznek (147;148). Az első kísérletek problémája az volt, hogy nem alakult ki kellő intenzitású immunválasz, és nem minden betegnél sikerült egyáltalán választ indukálni, ezért most kostimulatorikus szignálok lehetőségét kutatják, illetve GM-CSF egyidejű adását is megpróbálják .

Az eddig ismert adatok rávilágítanak, hogy mennyire komplex ismeretanyaggal rendelkezünk a malignus lymphomák kezelése során, de mindezen tudás még mindig nem elegendő ahhoz, hogy minden beteget meg tudjunk gyógyítani. A mai terápiás próbálkozások egyértelműen az irányba mutatnak, hogy személyre szabott kezelést tudjunk alkalmazni, mely jelenti egyrészt a megfelelő kemoterápiát és/vagy a célzott immunterápiát. Azt, hogy egy beteg milyen kezelést kapjon nagyon nehéz eldönteni. Vannak tanulmányok, melyek statisztikai elemzésekkel alátámasztanak bizonyos kezeléseket, bizonyos típusú lymphomákban, de ha ezeket megvizsgáljuk, akkor elsősorban a betegség szövettani típusát (WHO osztályozás), az IPI értéket és esetleg genetikai vizsgálatokat vesznek figyelembe. Mindez nagyon fontos, hisz a WHO osztályozás által diffúz nagy B-sejtes lymphomaként említett entitás jelentősen különböző prognosztikai csoportokra osztható, a génexpressziós profil cluster analízisével. Az NF-kappaB expresszáló sejtek esetén aktivált B-sejt eredetű a betegség, míg NF-kappaB negatív esetben centrum germinatívum eredetű a kóros B sejtklón (142). Egy harmadik esetben, ha TP53 deléción igazolható, plasmocytoid / plazmablasztos variáns és rendkívül rossz prognózist lehet jósolni (129). Ezen adatok rutin használat esetén

tovább segítik a klinikust a beteg kezelésében (91). Összegezve eddigi ismereteinket, azt lehet modani, hogy a saját immunrendszer és a saját immunreaktivitás kivételével igyekszünk minden prognosztikai faktort figyelembe venni.

Ugyanakkor rendkívül fontos, hogy az egyén milyen immunrendszerrel rendelkezik, és ez a terápia során hogyan vesz részt a malignus lymphocyták eliminálásában. Véleményem szerint a saját immunrendszer állapota, kezdeti válasza a kezelés során nagyon fontos, valószínűleg független rizikófaktora a malignus lymphomák kezelésének. Klinikánkon korábban már vizsgálták a lymphomás betegek perifériás vérében előforduló lymphocytálosztályokat, az akkor lehetséges metodikákkal. Ez már arra irányuló törekvés volt, hogy az immunrendszer állapotát jellemezzék. Igazolták, hogy a betegeknél lymphocytosis van abban az esetben is ha betegségük aleukemiás jellegű (116). Értekezésemben a saját immunrendszert, elsősorban annak változásait és autoreaktivitását vizsgálom a lymphomás betegek kezelése során. Arra a nagyon tág és nehezen megválaszolható kérdésre keresem a választ, hogy milyen módon tudjuk kihasználni a kezelés közben zajló saját immunreakciókat a sikeres gyógyításban.

Betegek és módszerek:

1. A Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Belgyógyászati Intézetének III. Belgyógyászati Klinikáján 1996 január 1 . - 2004 december 31. között 238 non-Hodgkin lymphomás beteg (115 nő és 123 férfi) került diagnosztizálásra és kezelésre. A betegek átlagéletkora 56 év (16-92 év) volt a diagnózis felállításakor. A betegek szövettani diagnózisának megoszlása a 6. táblázatban látható. A betegeket felosztottam agresszív (n=170) és indolens (n=68) lymphomás esetekre ezek jelentősen eltérő tulajdonságai alapján. A betegek átlagéletkora a betegség diagnosztizálásakor agresszív lymphomák esetén 52,3 év /16-92 év/, indolens lymphomák esetén pedig 63,8 év /24-86 év/ volt. Az agresszív lymphomás esetekben első kezelésként CHOP vagy ProMACE-CytaBOM került alkalmazásra. A mantle sejtjes lymphomák esetén az utóbbi 2 évben már HyperCVAD kezelést alkalmaztunk. Alkalmaztunk még CODOX-M /IVAC alternáló kezelést (Magrath protokoll) Burkitt lymphoma esetén. Lymphoblastos lymphoma esetén HyperCVAD/HD-AraC alternáló protokollt alkalmaztunk. Ugyanakkor az indolens lymphomák esetén CVP vagy CHOP kezelést és CLL esetén elsősorban chlorambucil vagy CVP kezelést kaptak a betegek. Mindkét csoportban salvage kezelésre DHAP, ESHAP, IVE kezeléseket és lehetőség szerint HDT+aHSCT -t alkalmaztunk.

6. táblázat - Klinikánkon 1996-2004 között kezelt Non-Hodgkin lymphomás betegek szövettani típus szerinti megoszlása

	Betegszám	
	Összes	Élő
AIBL	4	2
ALCL	18	10
CLL	26	20
DLBCL	47	34
MBCL	6	4
Burkitt	5	3
Foll. Grade I-II	14	11
Foll. Grade III	7	1
IBL	35	16
IC	5	5
LBL	4	4
MALT	14	12
MCL	4	3
MZL	6	5
SLL	21	16
Egyéb B NHL	9	7
Perif. T NHL	12	11
Thymoma	1	1

A táblázatban feltüntettem az összes betegszám mellett a 2004 december 31.-án élő lymphomás betegek számát is. Ezen betegcsoporton történtek a vizsgálatok a további kutatásokhoz.

2. 52 éves férfibeteg esetét ismertetem, akinél 1998 novemberben B-sejtes CD20+ SLL igazolódott, majd 1999 januárban B-CLL igazolódott a megjelenő leukémiás vérkép alapján. Kiinduláskor betegsége Ann Arbor CS IV/B stádium volt, IPI 3 értékkel (nagy intermedier rizikó). 1998 novemberben CHOP kezelést alkalmaztak, melyre a csomók mérete jelentősen

csökkent, majd testszerte a bőrön és nyálkahártyákon bullosus elváltozások jelentek meg. A klinikum és serológiai vizsgálat paraneoplastikus pemphigust igazolt. A beteg szérumban igazolható volt a 210 KDa molekulatömegű antigén elleni antitest (51). Ekkor már perifériás vérképében jelentős lymphocytosis jelentkezett, 16.8 G/l abszolút lymphocytá számmal 82% CD5+/CD20+ CLL-re jellemző sejttel. A beteg ezt követően nagy dózisú lökés steroid kezelést kapott (500mg/nap metylprednisolon). Alapbetegségére tekintettel 10mg/hét dózisban chlorambucil kezelést alkalmaztunk, de steroid igénye nem csökkent 60mg/nap alá. Megkíséreltünk CVP lökéskezelést, plazmaferezist ciklofoszfamid és intravénás immunglobulin kezeléssel együtt, melyek mellett a CLL jól kontrollálható volt, de a bullák száma nem csökkent jelentősen. Ekkor már szeme is érintett volt a pemphigus által. Tartósan nagy dózisú steroid kezelés volt szükséges és chlorambucilt ismételten alkalmaztunk alapbetegségének kontrollálására. Tünetei tartósan megvoltak, ugyanakkor a nagy dózisú steroidkezelés mellékhatásai is jelentősek lettek. Mindezek miatt 7mg/kg dózisban orális cyclosporin A kezelést kezdtem, kis dózisú steroid kezelés mellett. A kezelés alatt szérumszintet monitorozva 110 ng/liter feletti szérumban cyclosporin szintet tartottunk a betegnél, melyet 4 mg/kg dózissal tudtunk elérni. A pemphigus 6 hét alatt meggyógyult és 36 hónapi tartós kezelés során a B-CLL is tartósan partiális remissióban (CRu) volt.

3. Klinikánkon kezelt 46 non-Hodgkin lymphomás beteg (20 nő és 26 férfi, átlagéletkor diagnóziskor 56,4 év /23-80 év/, szövettan minden esetben B-sejtes lymphoma) esetén végeztünk intracelluláris cytokinszint mérést a diagnózis felállításakor. 21 korábban kezelt és tartósan, legalább 12 hónapja remisszióban levő szintén B-sejtes lymphomás beteg (7 nő és 14 férfi, átlagéletkor 44,8 év /19-74 év/) esetén szintén végeztünk méréseket. Az adatokat 22 egészséges kontroll (9 nő és 13 férfi, átlagéletkor 48,3 év /24-72/) mérési eredményeivel hasonlítottam össze. A 21 kezelt beteg esetén 3 indolens lymphoma CVP polikemoterápiával

volt kezelve. Az agresszív lymphomák esetén CHOP-t alkalmaztunk alacsony és közepes rizikó esetén, míg nagy rizikó esetén ProMACE-CytaBOM került alkalmazásra.

Az intracelluláris cytokinmérést a Jung által publikált metodika módosításával végeztük (7;68). A betegek vénás vérént heparinos vacutainer csőbe vettük (Becton-Dickinson). A cytokintermelés indukálására és mérhetővé tételére a sejteket forbol 12- misztrát 13-acetát 25 ng/ml végkoncentrációjú (PMA, Sigma) oldatával és ionomycin (Sigma) 1 µg/ml koncentrációjú oldatával stimuláltuk CO₂ inkubátorban 37°C -on 4 óráig. A termelt cytokinek intracelluláris tárolásának eléréshez szükséges a Golgi apparátus blokkolása, amit 1µg/ml Brefeldin A (Sigma) hozzáadásával értünk el. Az inkubáció végén a sejteket quantum-red fluorescens festékkel konjugált anti-human CD3, CD4 és CD8 antitestekkel jelöltük 30 percen keresztül sötétben, szobahőmérsékleten. Ezt követően a FACS Lysing solution (Becton Dickinson) használatával a vörösvérsejteket lizáltuk. A törmeléket PBS pH 7.4 oldattal mostuk. Ezt követően a FACS Permeabilization Solution (Becton Dickinson) 10 perces alkalmazásával permeabilizáltuk a sejtek membránját. Ezt követően anti-IFN-gamma-FITC és anti-IL-4-PE monoklonális antitestekkel a cytoplazmatikus cytokineket festettük sötétben szobahőmérsékleten 30 percig. PBS mosást követően a mintákat COULTER XL4 áramlási cytométeren mértük. A sejteket a felszíni antigénexpresszió alapján kapuztuk és külön vizsgáltuk a CD4+ és CD8+ T sejtpopulációt. 5000 kapuzott sejtt vizsgálva százalékos értékben adtuk meg az IL-4 vagy IFN-gamma cytokinre pozitív sejtek számát. IL-4 pozitivitás esetén 2-es típusú sejt (Th2 vagy Tc2), míg IFN-gamma pozitivitás esetén 1-es típusú (Th1 vagy Tc1) sejtet igazoltunk. IL-4 és IFN-gamma együttes expressziója esetén 0 típusú elkötelezetlen sejt igazolható. A statisztikai vizsgálatot SPSS program segítségével vizsgáltam. A normál eloszlást Kolmogorov-Smirnov Z teszttel vizsgáltam. Normál eloszlás esetén 2 független változós t-próba, míg nem normál eloszlás esetén Mann-Whitney próba került alkalmazásra. Szignifikancia szintnek a $p < 0.05$ értéket tekintettem.

4. Extrahálható nukleáris antigén komplex elleni autoantitestek szintjét mértük ELISA technikával (Hycor, Penicuik, UK) klinikánkon kezelt non-Hodgkin lymphomás betegeken. Összesen 66 beteg (30 nő és 36 férfi) esetén végeztünk méréseket. Átlagéletkor a diagnózis felállításakor 54,98 év /24-80 év/ volt. 58 beteg esetén agresszív és 8 esetben indolens lymphoma volt diagnosztizálható. A betegek részletes jellemzőit a 9. táblázatban mutatom be. Egyik betegnél sem volt szervspecifikus vagy poliszisztémás autoimmun betegség igazolható. Két beteg volt HCV szeropozitív, de nem volt igazolható cryoglobulin. A betegek szérumában nem tudtunk monoklonális immunglobulin komponenst igazolni. Az indolens lymphomák esetében az első kezelés CVP polikemoterápia volt. Az agresszív lymphomák esetében CHOP-t alkalmaztunk kivéve az anapláziás nagysejtes lymphomákat, ahol ProMACE-CytaBOM kezelést kezdtünk. Az adatokat 30 random kiválasztott nemből és korban illesztett kontroll értékeihez hasonlítottuk. A non-Hodgkin lymphomás betegeket (n=66) különválasztottam két csoportra a szerint, hogy az első kemoterápiás kezelési sorozatra (általában 6 ciklus) hogyan reagáltak. Jól reagáló betegek (n=36) a kezelés végére komplett remisszióba kerültek és legalább 6 hónapig már remisszióban voltak. A többi (n=30) beteg a kezelésre rosszul reagált, további kezeléseket voltak esetükben szükségesek. Azok a betegek akik elérték ugyan az első komplett remissziót, de 6 hónapon belül betegségük kiújult szintén a rosszul reagáló csoportba kerültek. Az alkalmazott ELISA egy szűrő, sok antigén elleni autoantitest jelenlétét vizsgáló kit. Meghatározható vele az anti-SSA (Ro), anti-SSB (La), anti-Scl70, anti-RNP, anti-Sm antitest jelenléte kvantitatív módon. A mérések esetén nem volt cutoff feletti valós pozitív eredmény, ezért nem határoztuk meg a konkrét autoantitest specificitást.

5. Kardiolipin komplex ellenes antitesteket vizsgáltam 31 non-Hodgkin lymphomás betegen (16 nő, 15 férfi). A betegek átlagéletkora a diagnózis felállításakor 53,4 év /20-80 év/. A betegek részletes jellemzőit a 11. táblázatban ismertetem. Az anti-cardiolipin autoantitestek meghatározása ELISA technikával történt (Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Németország). A betegeket felosztottam 2 csoportba az alapján, hogy a kezdeti kemoterápiás kezelésre jól reagáltak és komplett remissziót értek vagy nem. A jól reagáló csoportba 19 beteg került, itt a kezelés hatására komplett remisszió alakult ki, mely legalább 6 hónapig tartott. A fennmaradó 12 beteg rosszul reagáló volt, mivel további kezelést igényeltek, vagy primeren refrakterek voltak a kezeléssel szemben. 20 kontroll mintát alkalmazva, ehhez hasonlítottam a betegek értékeit. A 20 kontroll random módon lett kiválasztva a laboratóriumban mért olyan esetekből, akiknél nem volt malignus betegség vagy manifeszt autoimmun betegség. A kapott eredményeket SPSS program segítségével Mann-Whitney féle statisztikai analízissel vizsgáltam.

6. Anti-CD20 (rituximab, MabThera) monoklonális antitest kezeléssel szerzett saját tapasztalatokról számolok be. A rituximab kezelést minden esetben előírás szerint alkalmaztuk 375 mg/m^2 dózisban. Monoterápia formájában 4 héten keresztül hetente intravénás infúzió formájában. Kombinált immuno-kemoterápia esetén a klasszikus CHOP protokollt kiegészítve R-CHOP protokollt alkalmaztunk. A rituximabot itt is 375 mg/m^2 dózisban intravénás infúzió formájában alkalmaztuk a kemoterápia előtt. A kemoterápiás kezelést közvetlenül a rituximab után alkalmaztuk ugyanazon a napon. A betegek perifériás vérében áramlási cytometriával követtük a keringő lymphocita alosztályokat. A festés fluorkrómmal konjugált (FITC, PE és Quantum Red) monoklonális antitestekkel történt, melyek anti humán CD19 (Immunotech, Beckman Coulter Inc, CA, USA), CD3, HLA-DR (Serotec, Oxford, Anglia) specificitással rendelkeztek. A mintákat a vörösvérsejtek lizálása,

PBS mosás és 1% paraformaldehides fixálás után COULTER EPICS XL4 áramlási cytométeren mértük. A forward scatter-side scatter hisztogrammon a lymphocytákra kapuzva 5000 kapuzott eseményt mértünk. Az így kapott lymphocyta populáción belüli százalékos arányt határoztuk meg az egyes felszíni antigénre pozitív sejtek esetén. A CD3+ HLA-DR + aktivált T sejteket kettős pozitivitásuk alapján azonosítottuk, tekintettel arra, hogy a CD19+ B sejtek is expresszálják a HLA-DR molekulát.

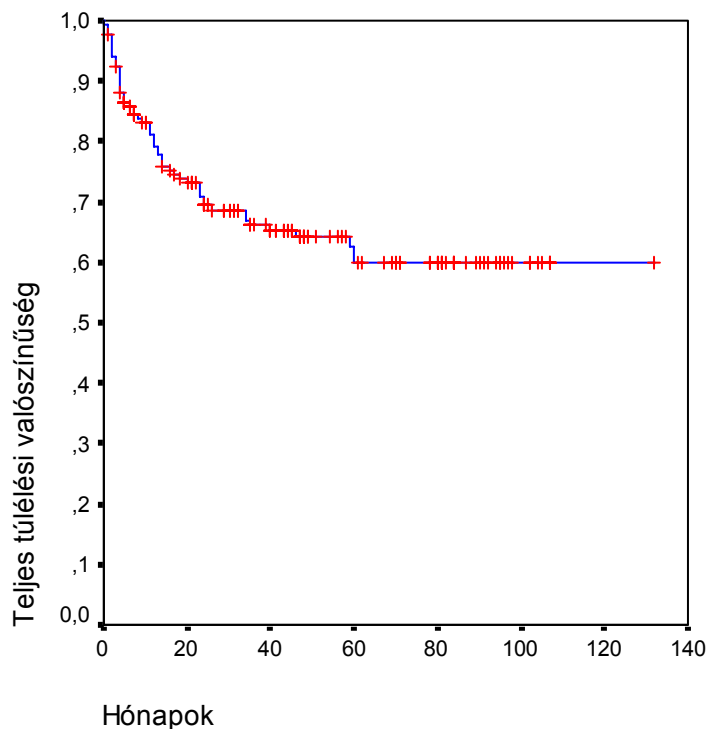
Eredmények:

Klinikánkon 1996 január és 2004 december között diagnosztizált és kezelt 238 lymphomás beteg túlélési adatait ismertetem. A betegek részletes klinikai jellemzői a 6. táblázatban láthatóak. Külön mutatom be az agresszív és külön az indolens lymphomák esetén a teljes túlélési valószínűséget, mivel ezen két betegcsoport klinikai viselkedése, kezelési stratégia alapvetően különbözik egymástól. Az ábrákat Kaplan Meier féle túlélési valószínűség számítással készítettem.

Az 1. ábrán az agresszív lymphomás (n=170) betegek teljes túlélési valószínűségét mutatom be. Látható, hogy a betegek 18%-át az első évben elveszítjük. Négy év után a görbe plató fázist ér el 60%-os túlélési valószínűségnél. Ez alapján azt mondhatom, hogy az agresszív lymphomás betegek 60% -át tudjuk meggyógyítani.

1. Ábra

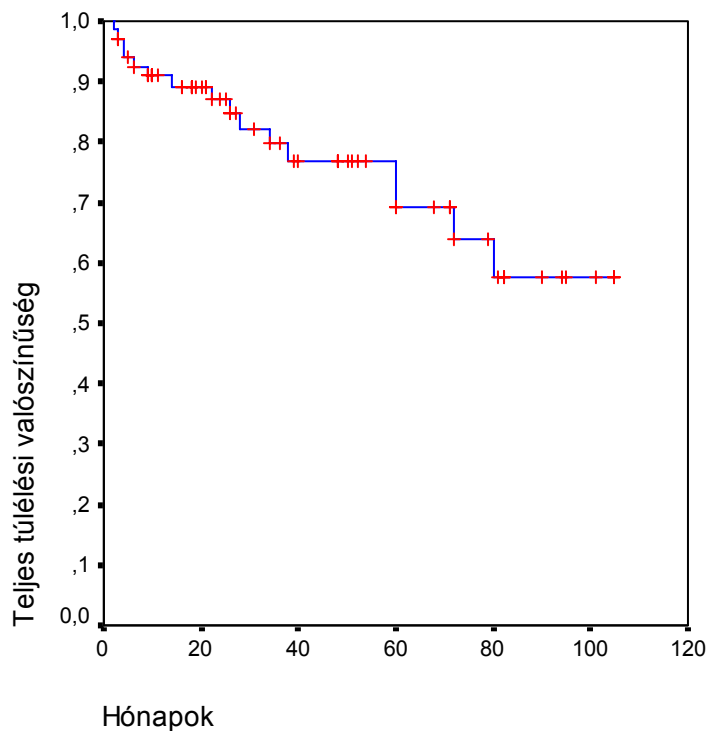
Teljes túlélési valószínűség agresszív non-Hodgkin lymphomás betegeinken.



A 2. ábrán az indolens lymphomák esetében mutatom be a teljes túlélési valószínűséget. Látható, hogy ezen beteg 92%-a él a diagnózist követő 12 hónap múlva, ami lényegesen nagyobb arány, mint agresszív lymphomák esetében. A vizsgált időintervallum alatt a grafikon még nem érte el a plató fázist, de látható, hogy 9 év után a betegek 55%-a él, ami csak mérsékelten alacsonyabb az agresszív lymphomás betegek értékéhez képest.

2. Ábra

Teljes túlélési valószínűség indolens non-Hodgkin lymphomás betegeinken.

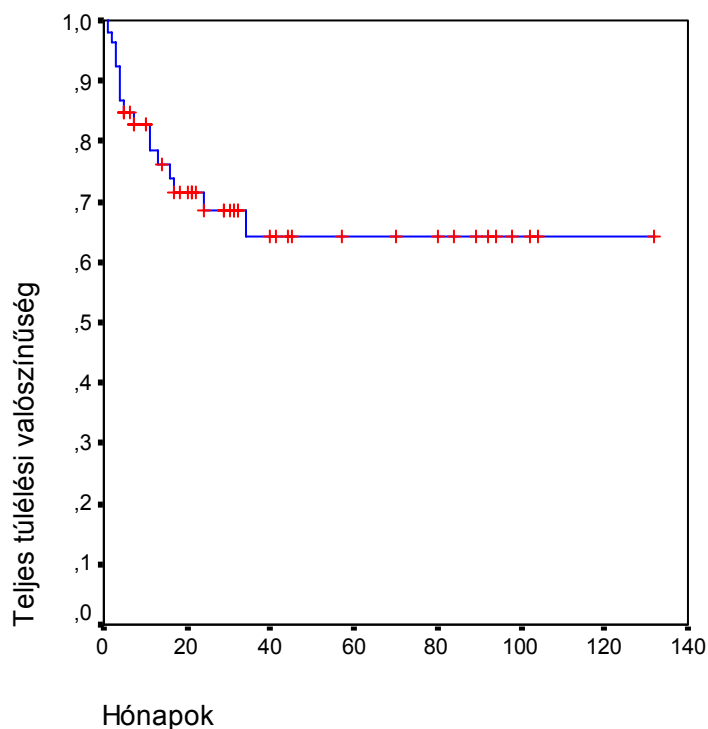


A két betegcsoport bemutatása után, szeretném kiemelni a WHO felosztás diffúz nagy B-sejtes lymphoma csoportját, mely egy rendkívül heterogén több entitást is magába foglaló csoport. A külön prezentációt azért tartom fontosnak mert ebben a szövettani kategóriában, a korai halálozás a kemorezisztencia és kiújulások miatt magas és evidencia alapján ma már rituximab-CHOP immuno-kemoterápiát alkalmazunk. A 3. ábrán látható ezen betegek (n=47)

teljes túlélési valószínűsége. Összehasonlítva az agresszív lymphomák csoportjával 2 jelentős különbség van. Az egy éven belüli halálozás itt 22% körüli, igen magas érték. A betegek 64%-a 36 hónap után eléri a plató fázist. Külön elemezve az R-CHOP kezelést kapott betegeket (n=19) esetükben az első évben a mortalitás 12%, és a plató fázist a betegek 70%-a eléri 18 hónapnál. Ez lényegében csak kismértékben jobb, mint a hagyományos kezelés eredményei, melynek oka, hogy ezen betegek esetében nem volt szükséges autológ őssejtátültetés nagy dózissal. Ez magyarázza, hogy a betegek sokkal hamarabb "meggyógyultak", elérték a plató fázist.

3. Ábra

Teljes túlélési valószínűség diffúz nagy B-sejtes non-Hodgkin lymphomás betegeinken.



2. 52 éves férfibetegben B-CLL talaján kialakult nagyon súlyos paraneoplastikus pemphigus sikeres cyclosporin A kezelését ismertetem. A kezelés azért érdemes ismertetésre, mert a pemphigus kezelésében ismert és elfogadott a cyclosporin A, de B-CLL esetén kevés adat áll rendelkezésre és azok ellentmondóak. Esetünkben a B-sejteket érintő malignus alapbetegséget is jól kontrollálta az immunszuppresszív kezelés, amely elsősorban a T sejtek funkciójának gátlásával hat.

7. Táblázat.

A különböző kezelések alkalmazása az ismertetett beteg esetén

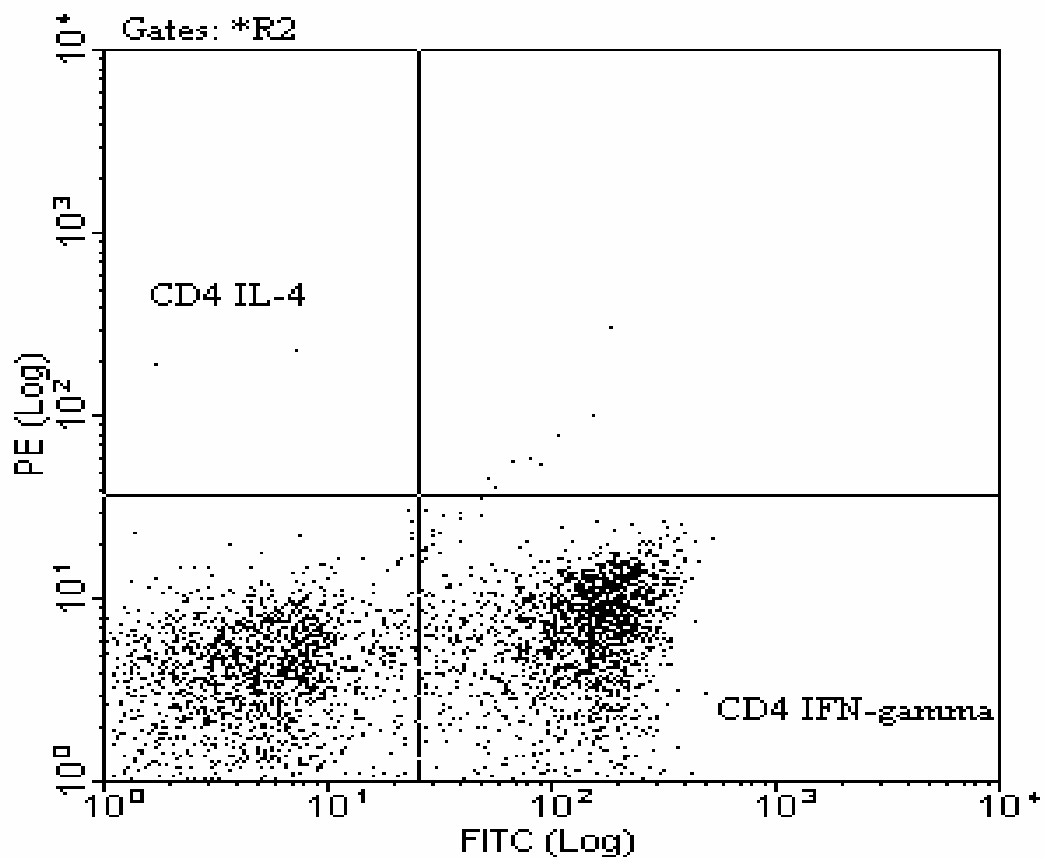
1998 november	CHOP
1998 december	CHOP + 500mg metylprednisolon 4 napig Tartósan 80-120mg metylprednisolon
1999 január	chlorambucil 10mg/hét + 80mg metylprednisolon
1999 április	CVP + 80mg metylprednisolon
1999 május	CVP + 80mg metylprednisolon
1999 június	plazmaferezis (60%-os plazmacsere) + 80mg metylprednisolon
1999 július	plazmaferezis + 900mg ciklofoszfamid + 60mg metylprednisolon
1999 augusztus	plazmaferezis + 0,2mg/kg intravénás immunoglobulin (IVIG) tartós steroid kezelés
1999 szeptember	60-80mg metylprednisolon + chlorambucil 10-20 mg/hét
2001 január	7 mg/kg dózisban per os cyclosporin A + 24 mg metylprednisolon (Szérumszint 110 ng/l felett, tartósan 4mg/kg dózis)
2001 március	Pemphigus eltűnt, 4mg/kg cyclosporin A + 8mg metylprednisolon
2001 augusztus	4mg/kg cyclosporin A, steroidkezelés leáll
2002 május	4mg/kg cyclosporin A, a beteg jól van, CLL komplett remisszióban!
2003 május	4 mg/kg cyclosporin A, a beteg jól van, CLL nem detektálható
2004 január	A beteg önkényesen elhagyta a cyclosporint.
2004 március	pemphigus nem észlelhető, CLL ismét detektálható

Esetünkben a beteg 36 hónapig tartósan kapott cyclosporin A kezelést. Eközben lényeges infekció nem alakult ki. Ugyanakkor a cyclosporin A kezelés hatásosan komplett remisszióban tartotta a B-sejtes krónikus lymphoid leukémiát. A gyógyszer abbahagyását követően 2 hónap múlva már detektálható volt ismételt a CLL klón a perifériás vérben áramlási cytometriával.

3. Intracelluláris IL-4 és IFN-gamma cytokinek termelődését vizsgáltam a klinikánkon kezelt malignus lymphomás betegeken és a kapott eredményeket összehasonlítottam a kontroll populáció értékeivel. A 4. ábrán bemutatom az áramlási cytometriás képet, mely alapján az analízist végeztem. A megfelelő kvadránsokban jelölöm az ott jelet adó sejtek fenotípusát.

4. Ábra

3 színű festés: CD4+ lymphocytákon mért IFN-gamma-FITC és IL-E-PE jelöléssel.



A fent látható grafikus megjelenítést a cytométer szoftverje százalékos értékben kijelzi, külön-külön az egyes kvadránsban és ezek a számszerű értékek azok, melyeket az adatok feldolgozásánál használok. A cytokinek mérésének számszerű eredményeit részletesen a 8. táblázatban ismertetem.

8. Táblázat

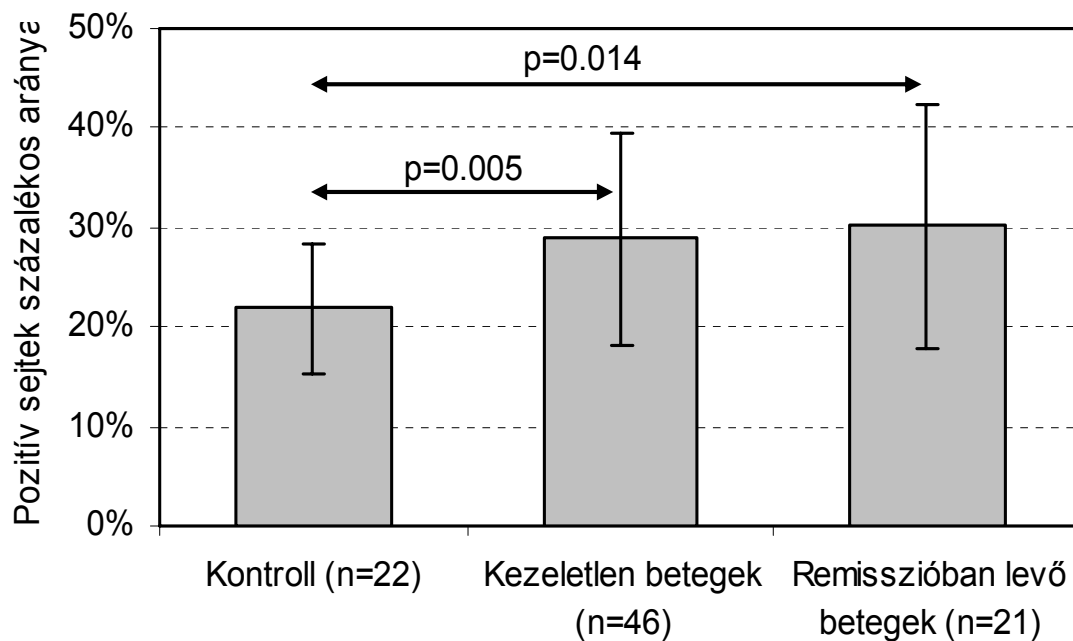
Perifériás lymphocyták intracelluláris cytokintermelése non-Hodgkin lymphomás betegekben

	Kontroll (n=22)	Kezeletlen betegek (n=46)	Remisszióban levő betegek (n=21)
CD4+ IFN-gamma (Th1)	21.83% (+/- 6.42)	28.83% (+/- 10.68)	30.1% (+/- 12.32)
CD4+ IL-4 (Th2)	1.19% (+/- 0.70)	0.96% (+/- 0.9)	0.31% (+/- 0.28)
CD4+ IL4/IFN-gamma (Th0)	0.51% (+/- 0.56)	0.54% (+/- 0.72)	0.6% (+/- 0.78)
CD8+ IFN-gamma (Tc1)	43.32% (+/- 8.8)	42.1% (+/- 19.42)	42.86% (+/- 13.78)
CD8+ IL-4 (Tc2)	0.62% (+/- 0.75)	1.02% (+/- 2.18)	0.51% (+/- 0.69)
CD8+ IL-4/IFN-gamma (Tc0)	0.47% (+/- 0.44)	1.3% (+/- 1.1)	0.82% (+/- 0.7)

46 kezeletlen malignus lymphomás beteg esetében végeztük el a méréseket és az adatokat összehasonlítottam 21 beteg értékével akik már legalább 12 hónapja remisszióban voltak. A lymphomás betegek értékeit 22 egészséges kontroll értékeivel hasonlítottam és ezzel összevetve végeztem a statisztikai analízist. A százalékos értékek mindig a CD3+ lymphocytákon belüli CD4 vagy CD8 felszíni markerre és adott cytokinre pozitív sejtek százalékos arányát jelentik. A vastagon kiemelt számok jelzik azokat az értékeket, ahol a kontrollhoz képest szignifikáns ($p < 0,05$) különbséget találtam.

5. Ábra

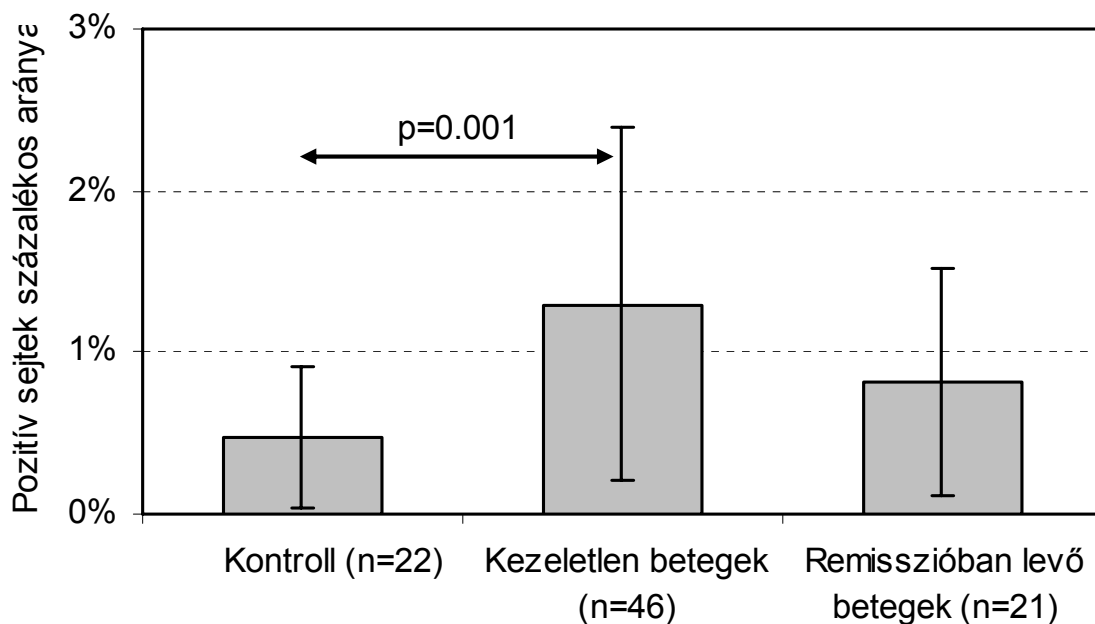
Interferon-gamma termelő CD4+ sejtek (Th1) százalékos aránya.



Az 5. ábrán IFN-gamma termelő CD4+ sejtek százalékos arányát tüntettem fel a különböző csoportokban. Látható, hogy a kontroll populációhoz képest mind a kezeletlen és mind a remisszióban levő lymphomás betegek esetében szignifikánsan emelkedett százalékban van jelen Th1 fenotípusú sejt a perifériás vérben. A kezeletlen betegek értéke alig különbözik a remisszióban levő betegek értékétől, ami érdekes megfigyelés, követést igényel. Az ábrán a szignifikáns különbségeket feltüntettem.

6. Ábra

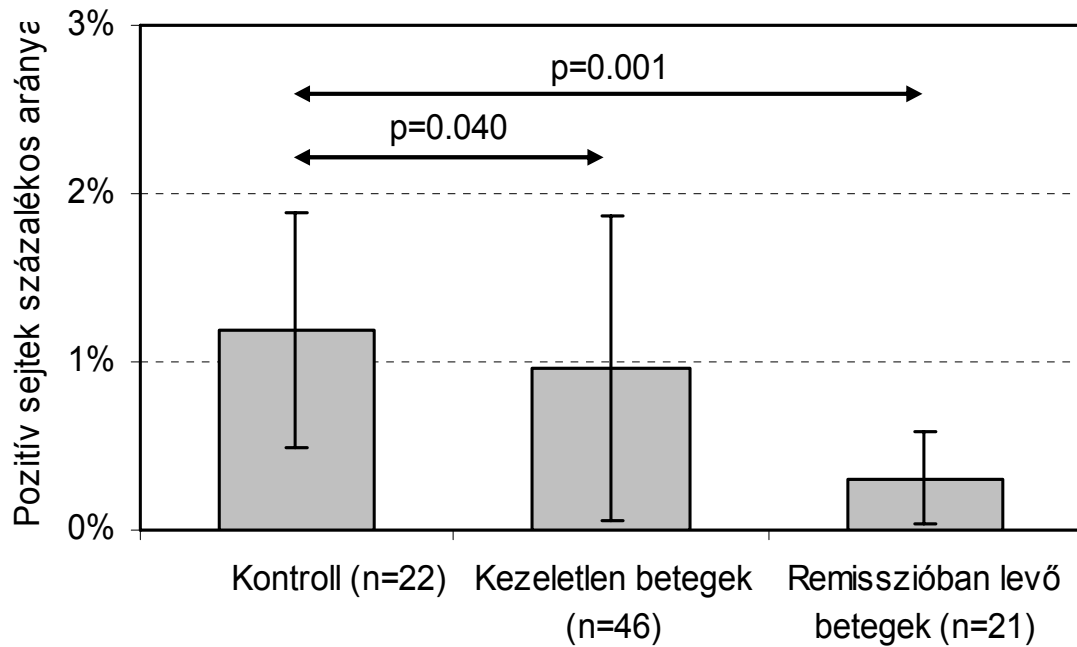
Interferon-gamma és IL-4 cytokineket együttesen termelő CD8+ sejtek (Tc0) százalékos aránya.



A CD8+ sejteken belül az IFN-gamma és IL-4 cytokinek együttes termelődését végző populáció, a Tc0 sejtek elsősorban nem elkötelezett, előalaknak tekinthetők, de valószínűleg regulatorikus szereppel is bírnak. Jól látható, hogy a kezeletlen lymphomás betegek esetében szignifikánsan emelkedett Tc0 arányt találtam a kontrollhoz képest. Kezelés hatására a pozitív sejtek száma csökkent és remisszióban már nem szignifikánsan, de még mindig magasabb értékeket kaptam. Az utolsó ábrán (7. ábra) a mérések során talált talán legérdekesebb eltérést mutatom be, ahol a CD4+ lymphocyták IL-4 termelését (Th2 sejtek) ábrázolom.

7. Ábra

Interleukin-4 termelő CD4+ sejtek (Th2) százalékos aránya.



A kontroll populációhoz képest jelentős eltérést detektáltam tartósan remisszióban levő non-Hodgkin lymphomás betegeinkben. A normál érték közel 30%-ra csökkent a perifériás vérükben a Th2 fenotípusú sejtek száma. Ugyanakkor már a betegség felismerésekor is szignifikánsan csökkent a Th2 sejtek frekvenciája a perifériás vérben.

4. Extrahálható nukleáris antigén komplex elleni autoantitesteket határoztunk meg non-Hodgkin lymphomás betegek (n=66) perifériás vérében az első kemoterápiás kezelés előtt, 2-3 ciklus kemoterápia alkalmazása után és a kemoterápiás kezeléseket után 1 hónappal. Az adatokat 30 random módon kiválasztott egészséges kontroll ENA autoantitest értékével hasonlítottam össze. Azon betegeket (n=36) akik az első kemoterápiás kezelési sorozat végére komplett remisszióba kerültek és így is maradtak jól reagálónak tekintetem, míg a többi beteg (n=30) aki további kezelést igényelt, vagy nem reagált, a rosszul reagáló csoportba került. A betegek klinikai adatait a 9. táblázatban ismertetem. A betegcsoportok között nincs lényeges különbség Ann Arbor klinikai stádium és IPI szerinti eloszlás alapján. Ugyancsak közel megegyező az életkor szerinti megoszlásuk. A férfiak aránya kismértékben magasabb a jól reagáló betegcsoportban (58,3% vs. 50%). Érdekes módon az extranodális megjelenés aránya kissé magasabb a jól reagáló betegcsoportban. A bulky betegség mindkét esetben a rosszul reagáló csoportba került, hisz ezen betegek többnyire komplex kezelést igényelnek. A szövettani típusok eloszlása is közel egyforma. A lymphoblasztos lymphoma mindhárom esetben jól reagált az első kezelésre, mely nem meglepő, és ugyancsak ismert, hogy az egyetlen Mantle sejtes lymphoma viszont rosszul reagált a kezelésre. Meglepő módon ugyanakkor a T-sejtes lymphomás eseteink (WHO: perifériás T sejtes lymphoma) mind igen jól reagáltak a kezdeti kezelésre.

9. Táblázat

A jól és rosszul reagáló non-Hodgkin lymphomás betegcsoportok klinikai jellemzői.

	Jól reagáló betegek (n=36)	Rosszul reagáló betegek (n=30)
Átlagéletkor	53,8 (27-79)	56,1 (23-80)
Nő / férfi	15/21	15/15
IPI érték		
Kis rizikó	15 (42%)	15 (50%)
Közepes rizikó	20 (55%)	12 (40%)
Nagy rizikó	1 (3%)	3 (10%)
Ann Arbor stádium		
I.	2 (5%)	1 (3%)
II.	6 (17%)	8 (27%)
III.	6 (17%)	7 (23%)
IV.	22 (61%)	14 (47%)
B tünetek	9 (25%)	10 (30%)
Bulky megjelenés	0	2 (7%)
Extranodális érintettség	10 (28%)	7 (23%)
Szövettan (WHO):		
DLBCL	14	15
ALCL	2	3
MALT (BALT)	3	3
SLL	4	5
Folliculáris Grade I-II	2	2
Lymphoblastos	3	0
Mantle sejtes lymphoma	0	1
Egyéb B sejtes NHL	4	1
Perif. T sejtes NHL	4	0

Mint látható a két betegcsoport között nincs lényeges különbség, ami azért fontos, mert a továbbiakban össze fogom hasonlítani a mért anti-ENA antitesteket a két csoportban. A következő táblázatban (10. táblázat) a mérések számszerű eredményeit mutatom be mind az összes betegen és mind a külön csoportokban.

10. Táblázat.

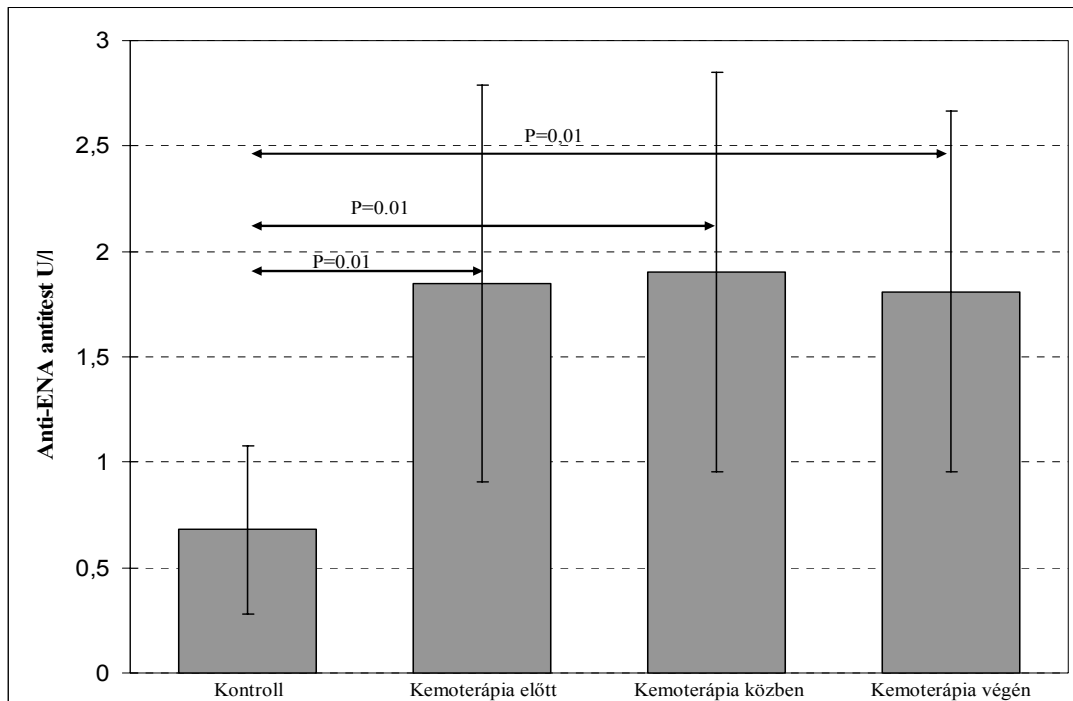
Anti-ENA antitest értékek a különböző lymphomás betegcsoportokban a kezelés során.

	Kezelés előtti ENA antitest	Kezelés közben mért érték	Kezelés után mért érték
Kontroll csoport (n=30)	0,68 U/l ($\pm 0,4$)		
Összes beteg (n=66)	1,85 U/l ($\pm 0,94$)	1,90 U/l ($\pm 0,95$)	1,81 U/l ($\pm 0,85$)
Jól reagálók (n=36)	1,77 U/l ($\pm 0,60$)	2,07 U/l ($\pm 0,61$)	2,10 U/l ($\pm 0,73$)
Roszul reagálók (n=30)	1,94 U/l ($\pm 0,61$)	1,64 U/l ($\pm 0,53$)	1,46 U/l ($\pm 0,46$)

A mért értékek minden esetben a gyári kit normál értékein belül voltak, ennek ellenére jól meghatározható kvantitatív eredményt tud a módszer prezentálni. Látható, hogy a non-Hodgkin lymphomás betegeknél minden esetben a kontroll csoporthoz képest magasabb anti-ENA értékek mérhetőek. Amennyiben az összes beteget vizsgálom, nem tapasztalható lényeges változás a kezelés során, amit a 8. ábrán mutatok be. A kontrollhoz képest szignifikánsan ($p=0,01$) magasabb anti-ENA értékek végig detektálhatóak a kezelés során és a kezelés végén is. Az emelkedett anti-ENA autoantitest értékekhez nem társult semmilyen klinikai jele szervspecifikus vagy poliszisztémás autoimmun betegségnek a betegek esetében. Ezt követően a betegcsoportot szétválasztottam a korábban ismertetett jól és rosszul reagáló esetekre. Ennek adatai láthatóak a 10. táblázatban is, de grafikusán is prezentálom őket a szembeötlő különbségek miatt. A kapott eredményeket a 9. ábrán mutatom be. A kezelés előtt a jól reagáló betegcsoport anti-ENA autoantitest mennyisége mérsékelten kevesebb, mint a rosszul reagáló csoporté, de nincs szignifikáns különbség. A kezelés során azonban egy

8. Ábra

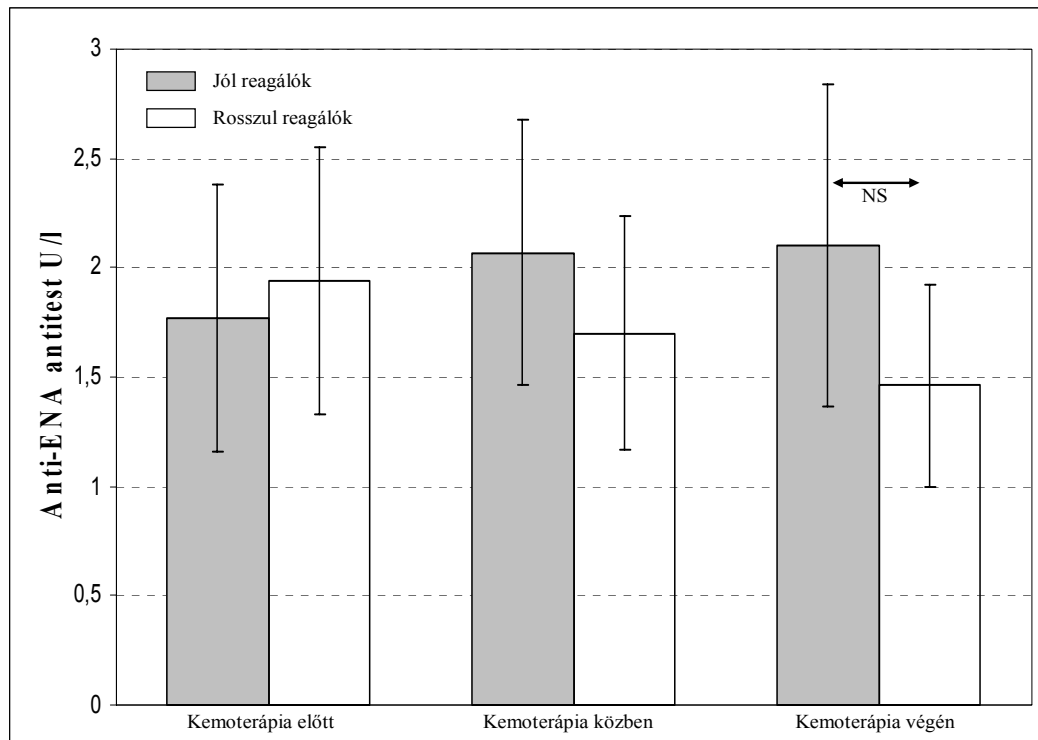
Anti-ENA antitest szintek a non-Hodgkin lymphomás betegek perifériás vérében a kezelés során.



érdekes tendencia figyelhető meg. A jól reagáló csoport, kezdetben alacsonyabb értéke a kezelés során fokozatosan emelkedik, már 2-3 ciklus kemoterápia alkalmazása után nagyobb mint a rosszul reagáló betegcsoport értéke és ez a különbség tovább nő a kezelés végére. Ekkor már szignifikáns különbség sejthető, de a statisztikai analízis ezt nem erősíti meg ($p=0,07$). Azonban, ha a két csoport értékeinek változását figyeljük, és ezt illesztjük egyenesre korrelációval, akkor a kapott két egyenes már statisztikailag különböző jellemzőkkel bír (az adat nincs prezentálva).

9. Ábra

Anti-ENA antitest szintek a jól és rosszul reagáló non-Hodgkin lymphomás betegcsoportok perifériás vérében a kezelés során.



5. Kardiolipin komplex elleni autoantitestek szintjét határoztuk meg klinikánkon kezelt non-Hodgkin lymphomás betegek (n=31) vérében. A kapott eredmények minden esetben a gyári kit normál tartományán belül voltak, de a tartományon belüli mozgások is jól követhetőek kvantitatív módon a módszerrel. A betegeket az első választott kemoterápiás kezelésre adott válaszuk alapján felosztottam jól és rosszul reagáló csoportra, mint ahogy azt az anti-ENA antitest mérés eredményeinél is ismertettem. A betegek klinikai adatait a 11. táblázatban ismertetem.

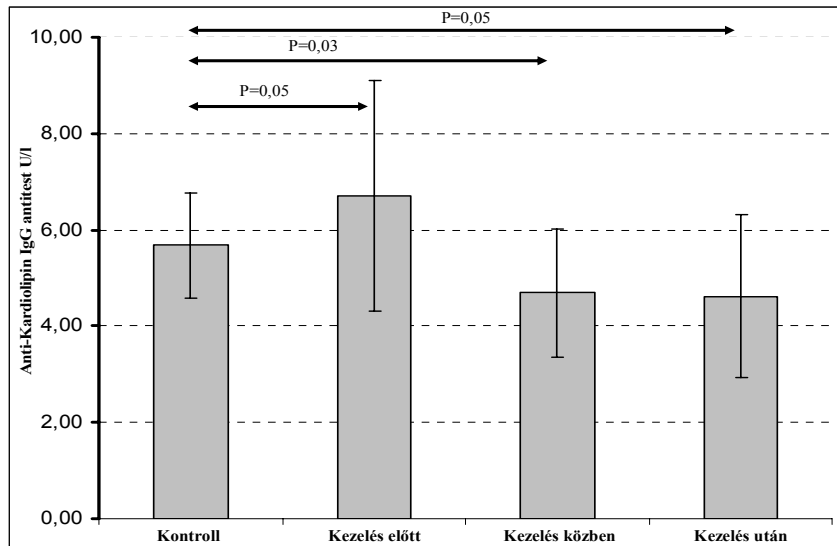
11. Táblázat - Non-Hodgkin lymphomás betegek klinikai adatai a kardiolipin ellenes antitest mérések esetén

	Jól reagáló betegek (n=19)	Roszul reagáló betegek (n=12)
Ann Arbor klinikai stádium		
I	0	0
II	6	0
III	4	1
IV	9	11
B tünet	6	5
Prognosztikai index (IPI)		
Kis rizikó (IPI 0-1)	9	5
Kis intermedier rizikó (IPI 2)	8	3
Nagy intermedier rizikó (IPI 3)	2	2
Nagy rizikó (IPI 4-5)	0	2
Extranodális érintettség	5	3
Agresszív lymphoma	16	8
Indolens lymphoma	3	4

A táblázatból látható, hogy az anti-ENA antitest mérés csoportjaival ellentétben, itt jól látható különbségek vannak a két csoport között. Az Ann Arbor klinikai stádiumbeosztás alapján a rosszul reagáló esetekben jelentősen több a IV. stádiumú betegség. A nemzetközi prognosztikai index (IPI) szerint azonban nem számottevő a különbség a két csoport között. A klinikai sajátosságok alapján nem meglepően a jól reagáló csoportban 85% az agresszív szövettani típusú lymphoma, szemben 67% -al a rosszul reagáló csoportban. Az anti-kardiolipin antitestek között külön vizsgáltam az IgG és IgM izotípusú ellenanyagok jelenlétét. A lymphomás betegek IgG izotípusú anti-kardiolipin antitestjének változása a kezelés során a 10. ábrán látható. Látható, hogy a kontrollhoz képest magasabb értékek észlelhetők kezelés előtt a non-Hodgkin lymphomás betegek vérében. Ez az érték már szignifikánsan nagyobb mint a kontroll populáció. A kezelés hatására a kezdeti emelkedés hamar eltűnik, és a kontroll populációhoz képest szignifikánsan alacsonyabb értékeket mértünk. A csökkenés észlelhető már 2-3 kemoterápiás ciklus után, és ezt követően a kezelés végéig már nem észlelhető további jelentős csökkenés az antitestek mennyiségében. Ugyanakkor a csökkenés szignifikánsan kisebb antitestszintet eredményezett, mint a kezelés előtti érték mindkét esetben ($p < 0,03$). A továbbiakban a 11. ábrán az IgM izotípusú antitestek változását mutatom be. Hasonlóan az IgG izotípusú antitesthez itt is észlelhető szignifikáns emelkedés a kezelés előtt álló non-Hodgkin lymphomás betegek esetében. Itt is megfigyelhető, hogy már 2-3 ciklus kemoterápia szignifikánsan csökkenti a keringő antitestek szintjét, de ez a csökkent érték a kontrollal mutat közel azonos szintet. Ez eltér az IgG antitestnél tapasztalt megfigyeléstől, ahol a kontrollhoz képest is jelentős csökkenést észleltem. A továbbiakban a jól és rosszul reagáló betegcsoport adatait hasonlítottam össze, keresve a különbséget a két csoport között. A csoportokban a betegek száma nem túl nagy (19 és 12 fő) ezért a statisztikai elemzések csak limitált értékkel bírnak. A 12. ábrán IgG izotípusú autoantitestek mennyiségét mutatom be a két betegcsoporton belül.

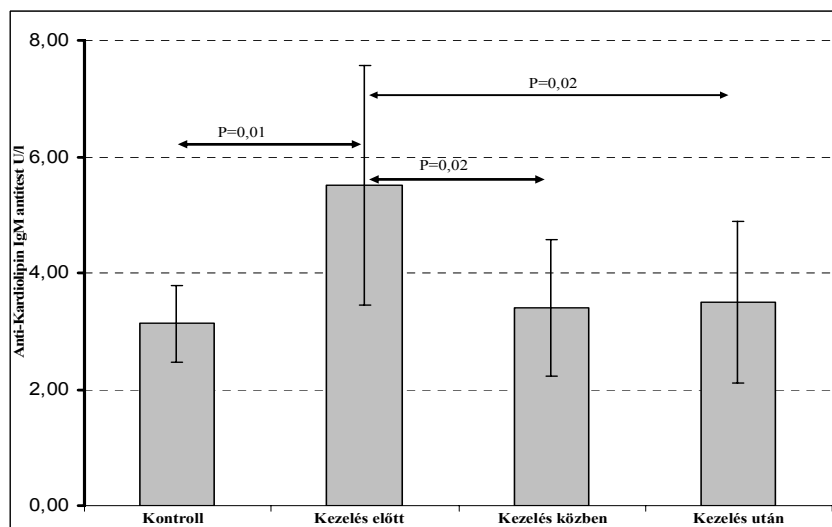
10. Ábra

IgG izotípusú anti-kardiolipin antitestek a non-Hodgkin lymphomás betegek perifériás vérében a kezelés során



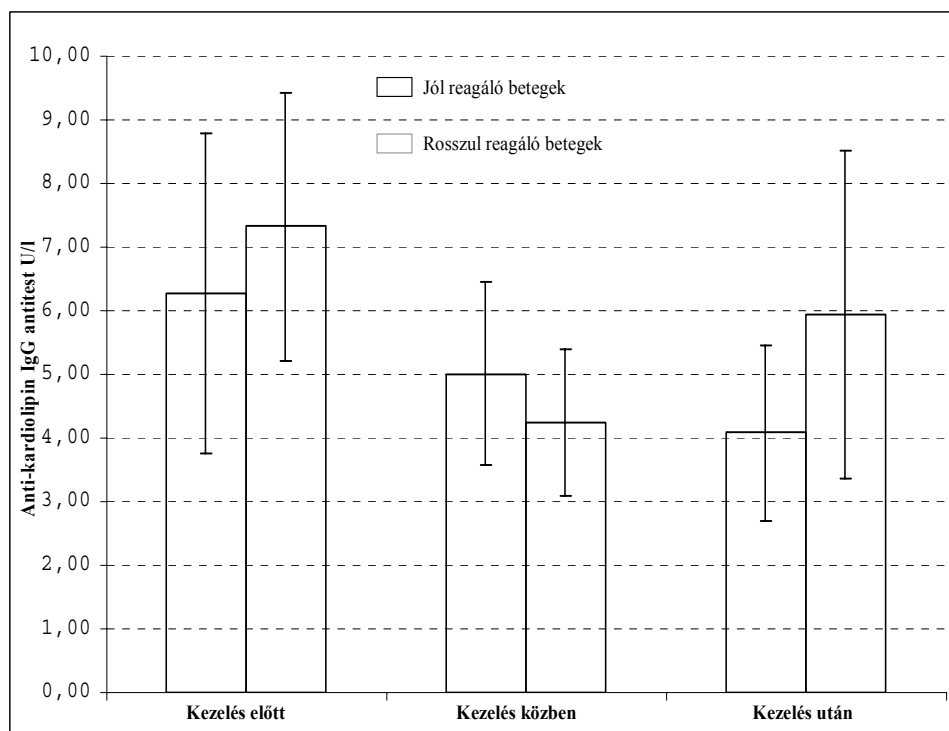
11. Ábra

IgM izotípusú anti-kardiolipin antitestek a non-Hodgkin lymphomás betegek perifériás vérében a kezelés során



12. Ábra

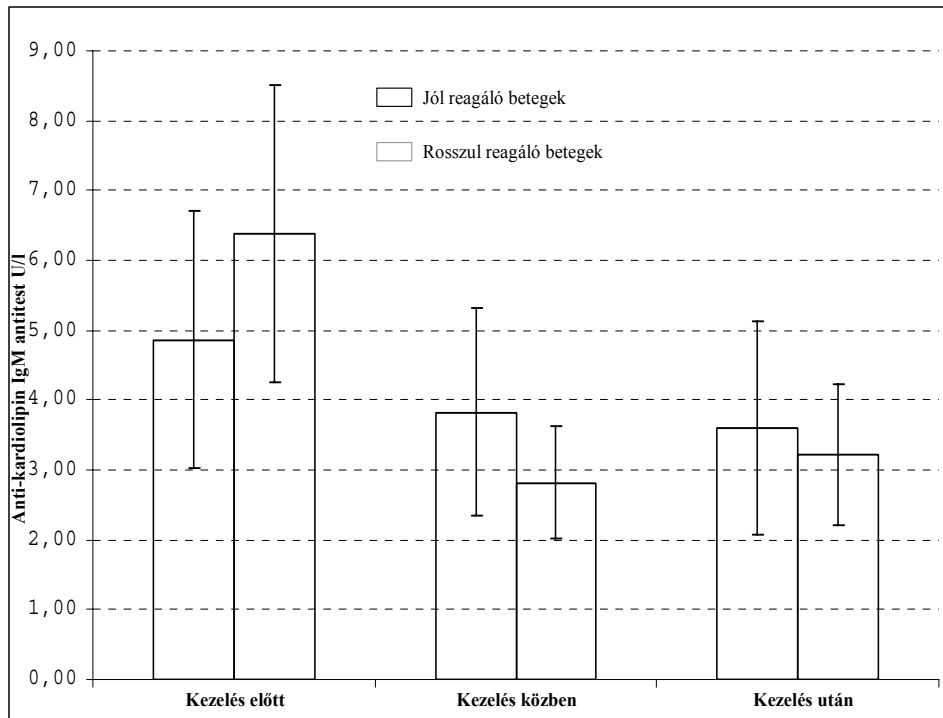
IgG izotípusú anti-kardiolipin antitestek a két betegcsoportban a kezelés során



A jól reagáló betegek az első választott kemoterápiás kezelési sorozattal komplett remiszióba kerültek és abban is maradtak legalább 6 hónapig. A többi beteg további kezelést igényelt, vagy 6 hónapon belül betegsége kiújult, ezért kerültek a rosszul reagáló betegek csoportjába. A nem kezelt betegek vérében a rosszul reagáló csoport esetén mérsékelten több autoantitest igazolható. Kezelés hatására mindkét betegcsoportban csökken az antitest mértéke, de ez lényegesen nagyobb arányú a rosszul reagáló betegek esetén. Ugyanakkor a kezelés végére ismét emelkedést észleltem a keringő antitestek szintjében ebben a betegcsoportban és a kezelés után már szignifikánsan több antitest van a rosszul reagáló betegek vérében a másik csoporthoz képest ($p=0,02$). A többi eltérés nem szignifikáns. A 13. ábrán ugyanezen betegek IgM izotípusú antitest értékeit mutatom be.

13. Ábra

IgM izotípusú anti-kardiolipin antitestek a két betegcsoportban a kezelés során



Látható, hogy hasonlóan az IgG izotípusú autoantitesthez itt is mérsékelten magasabb kiindulási értékkel rendelkezik a rosszul reagáló csoport. A kezelés hatására mindkét csoportban jelentős csökkenés észlelhető, mely a rosszul reagáló betegek esetén szignifikáns mértékű. A kezelés végén nem tapasztalható a rosszul reagáló esetekben a mérsékelt emelkedés, mint IgG autoantitestek esetén. Nincs a kezelés során és utána lényeges különbség a két betegcsoport értékei között és a normál kontrollal közel azonos mennyiségű keringő IgM izotípusú autoantitest mutatható ki.

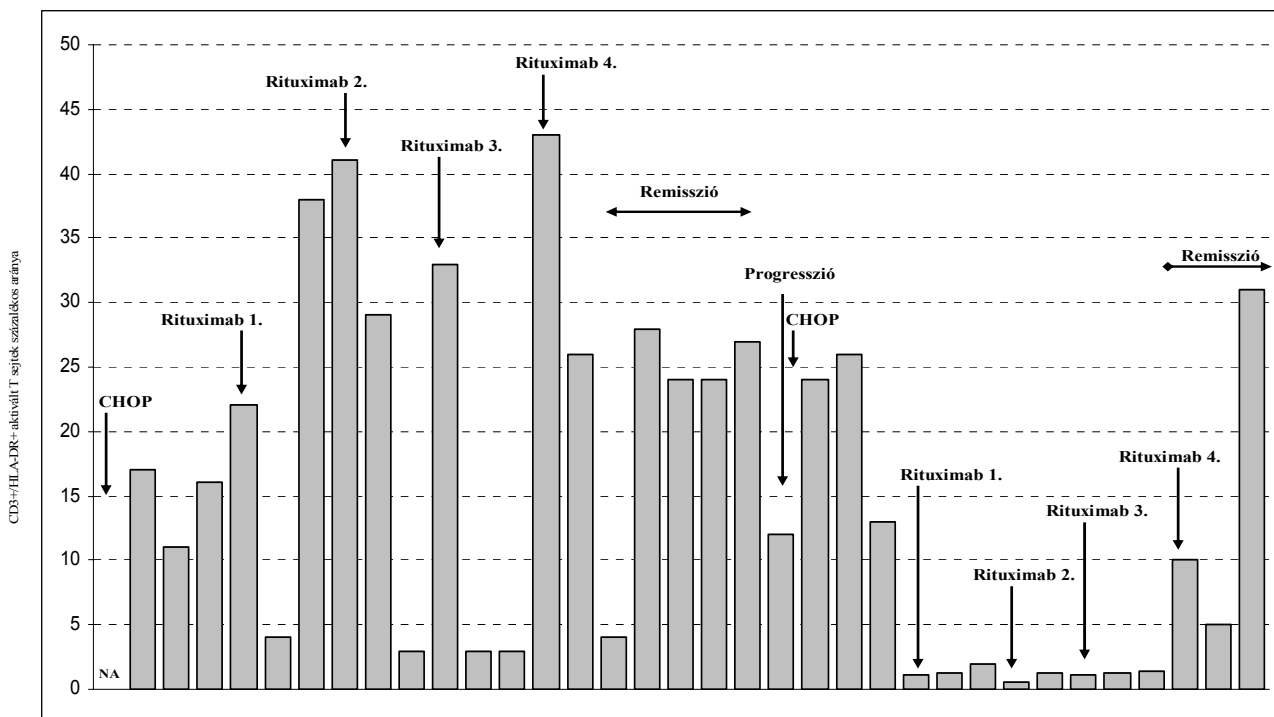
6. A továbbiakban anti-CD20 monoklonális ellenanyag kezeléssel szerzett tapasztalatainkat ismertetem. A keletmagyarországi régió kezdeti tapasztalatait 54 beteg kezelésével publikációban ismertetem. Diffúz nagy B-sejtes non-Hodgkin lymphomás betegek R-CHOP (rituximab-CHOP) kemoterápiával végzett kezelésének adatait elemzem. Tekintettel arra, hogy ezen betegeknek csak egy részét kezeltük klinikánkon, ezen adatokat nem részletezem, hanem saját adatainkat mutatom be, rávilágítva a kezelés előnyeire és a továbbra is meglévő problémákra. A publikációból egyetlen megfigyelést szeretnék kiemelni, mely a kezelés igen kedvező mellékhatásprofilját igazolja. Összesen 231 kezelési ciklust alkalmazva mindössze 16 esetben (7%) volt mellékhatás és ebből 8 (3,5%) volt súlyos infekció G-CSF igénnyel és csak 5 (2.2%) esetben igényelt kórházi kezelést a kialakult infekció.

Anti-CD20 (rituximab) kezelés során a B-sejtek felszíni CD20 molekulájához kötődő antitest több mechanizmuson keresztül vezet a B-sejtek pusztulásához. Fontos, hogy áramlási cytometriával detektálva ne a CD20 antigén alapján mérjük a B-sejteket, mert lehetnek keringő B-sejtek, melyeknek a felszíni CD20 molekulái már nem hozzáférhetők a monoklonális ellenanyag variábilis régiója részére és így tévesen alacsony értéket kapunk. A továbbiakban egy karakterisztikus, ugyanakkor érdekes esetet ismertetek, melynél egy betegnél folyamatosan figyeltük a B sejtek arányát többféle kezelés során. A betegnél 2000 januárban CD20+ B-sejtes follicularis (grade II) non-Hodgkin lymphoma igazolódott. A CD19 felszíni antigén alapján áramlási cytometriával detektált B sejtek mennyiségét a 14. ábrán mutatom be. Az ábrán a perifériás vérből jelzett CD19 ellenes monoklonális ellenanyaggal jelölt és áramlási cytométeren mért lymphocyták kapura vonatkoztatott százalékos értékeket tüntetem fel. Az NA jelölés a hiányzó mérési adatot jelöli. Látható, hogy a kezdeti 8% -os CD19+ B sejtarány a CHOP polikemoterápia (összesen 6 ciklus) alatt jelentősen csökkent, 2% alatti értéken volt. Ezt követően a

alkalmazva, jelentős -a rituximab alkalmazásával egyenértékű- B sejtszám csökkenést detektáltam. Ez a hatás azonban nem volt olyan tartós, és ismételt progresszió miatt újabb 4 ciklus rituximab monoterápiát alkalmaztunk. Látható itt is, hogy a kezdeti rituximab jelentős B sejtszám csökkenést eredményezett, míg a további kezelések során már ez nem volt olyan szembeötlő. A kezelés végén ismételten elnyújtott, tartós B sejtszámcsökkenés volt észlelhető. A 15. ábrán az aktivált T sejtek (CD3+ és HLA-DR+) arányának változását mutatom be ugyanazon időpontokban, amikor B sejtarány méréseket végeztünk.

15. Ábra

CD3+ és HLA-DR+ keringő aktivált T-sejtek follicularis non-Hodgkin lymphomás beteg perifériás vérében.



A két grafikont összevetve érdekes megfigyelések vannak. Látható, hogy az aktivált T-sejtek számának emelkedésével együtt jár a B sejtek számának csökkenése majdnem

minden esetben. Itt is megfigyelhető, hogy emelkedett aktivált T sejtarány esetén alkalmazott rituximab kezelés csökkenti ezt az értéket ami korrelál az előző ábrán megfigyelt B-sejtarány emelkedéssel.

Eddig a rituximab monoterápiával szerzett megfigyelésről számoltam be. Ugyanakkor ma már nem elsősorban monoterápiában alkalmazzuk a rituximabot, mert bizonyítást nyert, hogy ilyenkor átlagban 6-12 hónappal a kezelés után a betegség kiújul. Ma elsősorban a rituximab-CHOP kezelés alkalmazásával vannak tapasztalataink. Klinikánkon eddig 21 esetben alkalmaztunk rituximab-CHOP kezelést diffúz nagy B-sejtes lymphoma esetén. Ezen betegek kezelése most is folyik, a diffúz nagy B-sejtes lymphomában tapasztalt kezdeti túlélési adatokat korábban a 3. ábrán bemutattam az eredmények 1. pontjában. Az ábrát elemezve látható, hogy továbbra sincs megoldva minden beteg kezelése, sok esetben már egy éven belül a beteg meghal (közel 15%). Természetesen a halálozás sokkal magasabb az idős betegek esetében, de a fiatal beteg esetén is 5% körüli 1 éven belüli halálozás van. Ez azért fontos mert potenciálisan nagyon hatásos immunterápiás lehetőséggel és kemoterápiával a kezünkben valamit még mindig kell módosítani, vagy újabb terápia szükséges.

Megbeszélés:

Számos, látszólag diverz eredmény került ismertetésre az eredmények fejezetben. A továbbiakban megpróbálom magyarázatot adni erre és igyekszem összefűzni a kapott eredményeimet. Arra fogok rámutatni, hogy egy rendkívül heterogén, sokszor nehezen diagnosztizálható betegcsoporttal van dolgunk, ahol jelentős eredményeket érünk el a mai kezelési módszerekkel, de vannak esetek ahol nem hatásos a rendelkezésre álló kezelés. Ugyanakkor az is rendkívül fontos, hogy lehetőleg minimális toxicitást érjünk el a betegnél a gyógyítás során, hogy a gyógyult beteg ne szenvedjen később az orvos által okozott más betegség miatt. Mindezekre alkalmas az immunterápia, de bemutatom, hogy ma a rutinszerűen alkalmazott kezeléssel még nem tudunk minden betegen segíteni. Vizsgálom a betegek immunrendszerét, keresve azon a háttérben zajló reakciókat, melyek megértése, figyelembe vétele és esetleges befolyásolása esetleg tovább segítheti a non-Hodgkin lymphomás betegek gyógyítását.

1. Az eredmények 1. pontjában közölt túlélési adatok ismertetése azért fontos, mert általuk látható, hogy valójában mit tud a mai orvostudomány nyújtani ezen betegeknek. Pálóczi és munkatársai klinikánkon kezelt non-Hodgkin lymphomás betegek adatait már elemezték 1985-ben, ennek folytatása a most ismertetett beteganyag (115). A legújabb irodalmi adatokat elemezve, egy nemrég publikált tanulmány lokális (Ann Arbor I-II stádium) diffúz nagy B sejtes lymphomában 8 ciklus CHOP után alkalmazott 30Gy radioterápia előnyét taglalja. A kiegészítő kezelés az eseménymentes túlélést igen, de a teljes túlélést nem befolyásolja. 6 évvel a diagnózis után a radioterápiát kapott betegek 73%-a, míg a csak kemoterápiával kezelték 56% -a volt betegségmentes (58). Fisher és munkatársai ma már klasszikusnak számító közleményükben 1138 agresszív szövettani típusú non-Hodgkin lymphomában (kezelési karonként legalább 218 beteg vizsgálatával) a CHOP kezelést hasonlította össze sokkal agresszívebb polikemoterápiákkal (m-BACOD, ProMACE-CytaBOM, MACOP-B).

Eredményei alapján egyik kezelési forma sem jelentett előnyt a beteg számára ugyanakkor az agresszívebb kezeléseknél egyértelműen több volt a kezelés kapcsán kialakult szövődmény, elsősorban infekció (35). Ugyancsak ez a munkacsoport vizsgálta a 2 hetente alkalmazott CHOP kezelést, és a kezdeti magasabb komplett remissziók ellenére 5 év elteltével a betegek mindössze 60%-a élt (12). Ezt a dilemmát azóta is érzi a hematológus társadalom, több közlemény taglalja, illetve mindig próbálnak újabb és újabb kombinált kemoterápiákat igazolni, de a velük elérhető kissé jobb kezdeti reagálások nem tükröződnek jobb teljes túlélésben és eseménymentes túlélésben (41). Igazi áttörést talán csak a nagy dózisú kezelés összejtszupportációval tudott adni. Itt is azonban elősorban azok a próbálkozások sikeresek, amikor valamilyen módon igazolható, hogy a graft tumormentes, vagy a kemoterápiát in vivo tisztítással egészítik ki. Nagy probléma a nem remisszióba hozható betegek esete. Itt vannak próbálkozások allogén összejtkeléléssel a várható GVD előnyeit kihasználva, de a beavatkozás rendkívül veszélyes, sok mellékhatással és magas mortalitással jár. Az ismertetett adatok tükrében saját adataink is megállják helyüket, sajnos nálunk is 5 év után az agresszív lymphomás betegek mindössze 60%-a él, és ez az arány indolens lymphomás betegeinknél is csak 70% még csökkenő túlélési valószínűség mellett. A külön kiemelt diffúz nagy B-sejtes lymphomás betegek túlélési adatai sem térnek el az irodalmi kontrolltól. Ismert tény, hogy az R-CHOP alkalmazása diffúz nagy B-sejtes lymphomákban a kezdeti komplett remissziók arányát közel 10% -al emeli, de az igazi előnye abban van, hogy a visszaesések aránya felére csökkent elsősorban idősebb betegekben (22;24). Mindezen adatok birtokában azt kell keresni, hogy milyen módon tudunk azokon a betegeken segíteni, akik nem reagálnak a kezelésre és másodsorban a sikeres kezelést követő visszaesések okait kell keresni. Itt fontos a már használt rizikóüadaptált kezelés és lépéseket tészünk az egyénre szabott kezelés felé. Ennek alkalmazásához számos irodalmi adat áll rendelkezésre. Amennyiben a tumortömeg (sejtszám nagyobb) az egyértelműen rosszabb prognózist jelez az indolens folliculáris

lymphomában (123). Ugyancsak a tumoros sejtek genetikailag meghatározott eltérései mint a bcl-2, TP53, Ki67, és P-glikoprotein expressziók szintén jelentősen befolyásolják a prognózist DLBCL -ben (65). Nemcsak a genetikai eltérések, hanem ezek által meghatározott sejtfelszíni markerek, mint a CD23 és CD40 expresszió is jó prognózisú csoportot jelez a DLBCL -en belül (88). Az utóbbi évek kutatásai igazolták, hogy léteznek ún. tumor asszociált antigének, melyek jól azonosíthatók SEREX módszerrel (62;72;77). Ezek ellen a malignus lymphomában vannak kimutatható autoantitestek. Az antitestek jelentősen nagyobb arányban igazolhatók, mint egészséges populáció esetén (72). Ugyanakkor mindezidáig nem kerestek asszociációt az autoantitestek és a betegség lefolyása között. Elmondhatjuk, hogy nem rendelkezünk olyan markerrel ami a saját immunrendszert jellemezné, illetve jelezné, hogy milyen módon reagál a daganatos betegség ellen. A továbbiakban eredményeimet ezen kérdés tükrében vizsgálom.

2. A paraneoplasticus pemphigus kezelése nehéz a klinikus számára és elsősorban az alapbetegség befolyásolása hozza meg a kívánt terápiás hatást (9). Több esetet közölt az irodalom, ahol B-sejtes non-Hodgkin lymphomával társul a betegség (13;54). A kezelés általában ciklofoszfamid, steroid, plazmapheresis, cyclosporin és újabban rituximab alkalmazását jelenti (53;54;80). Olyan esetet, ahol cyclosporin A alkalmazásával kezeltek tartósan B-sejtes lymphoma/paraneoplasticus pemphigus társulását nem találtam közölve. A kérdés azért fontos, mert a cyclosporin A alkalmazásával rengeteg tapasztalat van, de a B sejtekre kifejtett hatását tekintve ellentmondó adatok állnak rendelkezésre. Van közölve adat, ahol B-sejtes lymphomában rövid ideig alkalmazott cyclosporin A hatásosan kezelte a társuló autoimmun cytopéniát, de a lymphomára kifejtett hatásról nem számolnak be (19;26). Ugyancsak van arra vonatkozó adat, hogy in vitro rendszerben a cyclosporin A képes a B-sejtek proliferációját gátolni (81). Vannak próbálkozások cyclosporin A alkalmazásával B-CLL -ben, de az adatok ellentmondóak. Nishi és munkatársai felhívják a potenciális

tumortömeg növekedés veszélyére a figyelmet in vitro kísérleteik alapján (110). Van Den és munkatársai 5 B-CLL -es beteg orális cyclosporin A kezeléséről számolnak be, és csak 1 esetben volt minimálisan hatásos a szer, a többi betegnél mérsékelt progressziót véleményeztek (139). Esetünkben a cyclosporin A orális alkalmazása szérumszint monitorozás mellett és kisdózisú steroiddal adva több hónapon keresztül nemcsak a paraneoplasticus pemphigust gyógyította meg, hanem a perifériás vérből eltüntette a B-CLL sejteket. Ennek oka csak részben ismert. Az mindenképpen kiemelendő, hogy betegünk 36 hónapon keresztül kapott kezelést. Ilyen eset nincs közölve az irodalomban. Tekintettel arra, hogy a rendelkezésre álló ismeretanyag szerint a cyclosporin A hatását elsősorban a T sejteken keresztül fejt ki a cytoplazmaticus cyclophyllin receptor calcineurin nukleáris transzportja révén okozott transzkripciós változások sorával. Elsősorban azt kell feltételezni, hogy a T-sejt és tumoros B-sejt közötti interakciók zavara okozhatott javulást betegünknel. Erre vonatkozó adatok ismertek, hiszen a T sejtek az IL-4 citokin termelése révén, vagy a CD40L-CD40 keresztkötés révén kulcsszerepet töltenek be a B-sejtek érésében és aktiválódásában (56). A bemutatott eset nem bizonyító erejű, de felhívja a figyelmet egy nagyon fontos momentumra. Nem mindig és csak magát a tumorsejtet kell a terápiával célozni. Sok esetben a tumorsejt fennmaradásához, növekedéshez szükséges egyéb sejteket károsítva is igen kedvező hatást tudunk elérni. Ez a mi esetünkben azért különösen érdekes, mert jelen ismereteink szerint az immunrendszer effektor funkcióiért felelős T-sejtek gátlása is kifejtette gátló hatását a B-sejteken. Nagyon merész következtetést levonva, azt mondhatom, hogy az nem elsősorban immunmediált, hanem lokális reakciók révén létrejövő gátlás volt. Indirekt módon bizonyíthatja ezt az a tény, hogy a beteg önkényes gyógyszerelhagyását követően 2 hónapon belül a betegség ismét kiújult. Kérdés még, hogy esetünkben miért volt ilyen hatásos a gyógyszer az eddig közölt pár irodalmi adattal ellentétben. A választ nehéz megadni, de az a tény, hogy a beteg tartósan több hónapon

keresztül kapta a gyógyszert és a kezelés első 7 hónapjában ezt steroiddal együtt alkalmaztuk magyarázatot adhat a kérdésre. A steroid indukálta celluláris változások szinergizálhatnak a cyclosporin A okozta hatással, mely esetünkben a betegség eltűnését eredményezhette (38).

3. Mint korábban említettem a cytokinek szerepe rendkívül fontos az immunválasz szabályozásában. Előfordulásuk, egymáshoz viszonyított arányuk alapvetően kormányozhatja az immunrendszert. Egyértelműen bizonyított, hogy effektív immunválaszhoz (de tolerancia indukcióhoz is) meghatározott cytokin milieu szükséges. Ma már egyértelműen igaz, hogy kategorikusan Th1 vagy Th2 válaszról nem lehet beszélni. Számos cytokin együttes jelenléte, az azokat termelő különböző T-sejtek keveréke van mindig jelen. Azt, hogy valóban milyen tulajdonságokkal jellemezhető az immunválasz elsősorban ezen cytokinek és az őket termelő T-sejtek előfordulási aránya valamint az antigénprezentáció helye és körülményei szabják meg (8). Ugyanakkor az antigénprezentációt is jelentősen befolyásolják a cytokinek. Mindezen adatok birtokában elmondhatjuk, hogy a T sejtek cytokintermelése fontos, meghatározásával az immunválasz egy momentumát vizsgálhatóvá válik. Ugyanakkor ezen értékek abszolútizálása és kizárólagos immunfunkciókat befolyásoló voltának értelmezése ma már egyértelműen nem megengedhető. Mára ismertté vált, hogy vannak igazolható genetikai eltérések, melyek befolyásolhatják az egyén Th1/2 reagálási készségét. Ezek között jelen ismereteink szerint a CTLA-IV kostimulatorikus molekula génjének nukleotid polimorfizmusa állhat. Meghatározott SNP -k detektálása együtt járhat Th2 túlsúllyal és atópiás hajlammal (108). Általánosságban elmondható, hogy a Th1 immunválasz elsősorban celluláris effektor funkciókat, míg a Th2 válasz antitesteket eredményez (75). Számos kísérleti adat igazolta, hogy malignus betegségek esetén a Th1 válasz jelenléte esetén kissé jobb a prognózis, illetve a Th2 túlsúly mindig rosszabb kimenetelt eredményez. B-CLL esetén kimutatták, hogy kezdetben, amíg a betegség egyensúlyi állapotban van még Th1 túlsúly van, majd a progresszióval párhuzamosan Th2 túlsúly detektálható (119;126). Részben

ezzel magyarázható az interferon-alfa alkalmazásának hatásossága egyes malignus betegségekben. Exogén interferon képes polarizálni az immunrendszert a Th1 irányába és ezáltal az immunrendszer esetleg képes részben eliminálni a tumort. Ugyanakkor az 1-es típusú válasz sok esetben káros, jelentős sejt és szövetkárosodást okozó túlzott volta. Aplasztikus anaemiában és refrakter anaemiában Th1 túlsúly biztosítja a káros sejtmediált vörösvérsejt előalak károsodást(137). Egérkísérletben is igazolható, hogy autoreaktív, T-sejtes lymphoma elleni T-sejtek esetén Th1 polarizáltság mutatható ki IFN-gamma és TNF-alfa termeléssel. Ugyanakkor ezen autoreaktív T-sejtek között nem volt IL-4 citokint termelő sejt (44). Az immunválasznak igen érzékenyen kell követni egy betegség dinamikáját. Erre jó példa a krónikus hepatitis C, ahol a kezdeti fázisban a Th1 nem megfelelő effektivitása okozza azt, hogy a betegség krónikus formába megy át (18). Ezt követően Th2 domináns fázis van, majd abban az esetben, ha fulmináns necrosis alakul ki, ismét Th1 túlsúly tehető ezért felelőssé. Vizsgálataink során arra kerestünk választ, hogy van-e karakterisztikus eltérés a kezeletlen non-Hodgkin lymphomás betegek és tartósan remisszióban levő betegek intracelluláris citokinprofiljában. Adataink igazolják, hogy kezeletlen betegekben már van Th1 túlsúly, ami a remisszióban levő betegekben igen kifejezetté válik. Ennek oka nem bizonyított, de feltételezhető, hogy az immunrendszer valamilyen módon érzékeli a malignus klónt és igyekszik a sejtek elpusztításához megfelelő mennyiséget létrehozni. B-sejtes lymphomák esetében ez a lokális környezet gátló hatását is jelentheti a lymphomás sejtekre. Megfigyeléseinket irodalmi adatok is alátámasztják. Igazolták, hogy szolid tumorban, mint pl. a tüdőcarcinoma hasonló 1-es túlsúly igazolható (63). B-sejtes lymphomákban és B-CLL -ben is igazolták ezen változásokat (67;104;119). Ugyanakkor kezdeti Th2 emelkedést tudtak igazolni DLBCL esetén, ami magyarázható a nagy tumortömeg által termelt IL-4 hatásával (64;104). Kezelés hatására azonban ez a jelentős emelkedés eltűnt (104). Betegeinken is azt tudtuk kimutatni, hogy sikeres kezelés és tartós remisszió esetén a Th2 sejtek aránya

jelentősen csökken és az egészséges kontrollnál is szignifikánsan kisebb arányban detektálhatóak a betegek vérében. Th1 túlsúly igazolható autológ perifériás őssejtátültetés után non-Hodgkin lymphomák esetében (107). Ennek prognosztikai értéke még nem ismert, de felhívja a jelentős változásra a figyelmet. Elképzelhető, hogy a jelentős kemoterápia után esetleg fennmaradó pár tumorsejtet ilyen polarizáltsággal képes az immunrendszer eliminálni, bár erre vonatkozó direkt adat még nincs. Az IL-4 és IFN-gamma cytokineket egyidőben termelő CD8⁺ (Tc0) sejtek esetén kapott eredményeink érdekesek. Erre vonatkozó hasonló adat még nincs az irodalomban. A kezeletlen lymphomás betegek magasabb Tc0 sejtaránya véleményem szerint az effektor T-sejtek fokozott termelődését jelzi, amit esetünkben a magasabb, de nem szignifikáns Tc2 arány jelez. A Tc1 arány nem volt eltérő a kontrollhoz képest. Ismereteink alapján, azt mondhatjuk, hogy az immunrendszer elsősorban Fas-FasL mediált és másodsorban ADCC mediált tumorsejtölésre törekszik és ezt jelezheti a Tc0 és Tc2 emelkedés. Ez érthető, hiszen saját sejtéként felismert tumorsejtet apoptózis által igyekszik eliminálni immunrendszerünk. Ugyanakkor CML esetén igazolható, hogy kezeletlen betegekben csökkent a Tc0 sejtek aránya (136). Ez a mi adatainkkal pontosan ellentétes, magyarázni talán azzal lehet, hogy felismert CML esetén már jelentős tumortömeg és tumortömeg okozta immunparalízis van az egyénben. Az általunk detektált eltéréseket a cytokintermelésben nehéz értelmezni, a kísérletekben nem vizsgáltuk a dendritikus sejtek szerepét. Az antigénprezentáció körülményei ugyanakkor alapvetően meghatározzák a kialakuló immunválaszt. Az 1-es típusú DC1 dendritikus sejtek (professzionális dendritikus sejtek) képesek protektív immunválaszt indukálni, ugyanakkor az éretlen DC2 (iDC) sejtek inkább tolerogén szignált közvetítenek az immunrendszer felé. Az itt bemutatott adatainkkal rámutattunk, hogy mérhető és karakterisztikus változások jellemzik a lymphomás betegek perifériás vérében keringő T-lymphocyták arányát. A kezdeti emelkedett, majd a remisszióban tartósan meglévő emelkedő Th1/Th2 arány kedvező kimenetelt mutathat. A

CD8+ lymphocyták effektor szerepét igazolja, hogy a kezelés hatására arányuk emelkedik és még remisszióban is nagyobb arányban detektálhatóak a betegek perifériás vérében. Ezen adatok azt sugallják, hogy amíg a remisszióban a normál kontrolltól eltérő cytokinprofilunkat kapunk, nem szabad elvetni, hogy az immunrendszer még "lát" tumorsejtet, mely ellen hatásos immunválaszt igyekszik fenntartani. Ez lehet a tartós gyógyulás felé vezető út lényeges eleme.

4. Mint ahogy a cytokinmeghatározás megbeszélésében említettem a saját immunrendszer a lymphoma sejteket elsősorban apoptotikus úton igyekszik eliminálni. Ugyanakkor kulcsfontosságú momentuma a kialakuló immunválasznak az antigénprezentáció. Az antigénprezentációhoz viszont megfelelő formában rendelkezésre álló antigének szükségesek. Méréseinkkel az ép sejtek által nem expresszált, nukleáris antigénstruktúrákat magába foglaló extrahálható nukleáris antigén komplex elleni autoantitesteket határoztuk meg. Azt feltételeztük, hogy az elsősorban kemoterápia okozta sejtszétválás során subcelluláris alkotórészek kerülnek láthatóvá az immunrendszer számára. De ismert, hogy apoptózis során az apoptotikus bleb-ek is expresszálnak a felszínükön a komplex alkotórészeit (25;112). Az autoantitestek szintje könnyen meghatározható gyári ELISA kit segítségével. Hasonló jellegű mérések az irodalomban nincsenek. Autoantitestek jelenlétét egy nemrég megjelent tanulmány vizsgálja non-Hodgkin lymphomás betegek vérében, de elsősorban antinukleáris antitestek kimutatása történt és ezt vizsgálták. Kimutatták, hogy follicularis lymphoma és mantle sejtes lymphoma esetén volt szignifikáns emelkedés. A pozitív esetekben 28%-ban autoimmun betegségre utaló klinikai jelet is tudtak igazolni (45). Swissa és munkatársai az 1990-es évek elején közöltek emelkedett ENA autoantitest értékeket lymphomás betegek perifériás vérében. A cél azonban itt is a pozitív esetek kimutatása, emelkedett számuknak igazolása volt (131). Méréseinkkel a betegek 20% -ban igazoltak kóros anti-ENA autoantitestet. Transzglutamináz ellenes antitesteket vizsgálva 80 non-Hodgkin lymphomás

betegben az esetek 10% -ban találtak pozitívítást a kontroll populáció 0,4% -os értékével szemben, ugyanakkor felhívták a figyelmet arra, hogy a 8 pozitív esetből csak 2 esetben volt manifeszt coeliakia. A szerzők felvetik, hogy nem patogén autoantitestek lehetnek jelen a non-Hodgkin lymphomás betegek vérében (17). A mi általunk végzett mérések során a munkahipotézisünk szerint a lymphomás betegekben magasabb az anti-ENA ellenanyagok szintje, de ez nem feltétlenül éri el a kóros értéket és nem társul vele autoimmun betegség. Lymphomás betegek vérében a normálisan is előforduló antitest szintjének dupláját tudtuk igazolni, mely nem változott a kezelés során. Ez az emelkedett érték ugyanakkor még a normális tartományban volt. Betegeinket jól és rosszul reagáló csoportra osztva, érdekes különbséget tudtunk tenni a két populáció anti-ENA autoantitest értéke között. A jól reagáló betegek esetében lassan emelkedő, míg a rosszul reagáló betegeknél csökkenő antitest mennyiségeket kaptunk. Az értékek egymáshoz képest nem szignifikánsak, de figyelemre méltóak. Azt feltételezzük, hogy az emelkedő, illetve magasabb értékek fokozott sejtszétését, elsősorban apoptózist jelezhetnek és ilyen módon a tumortömeg csökkenés mértékével korrelálhatnak (112). Betegeink esetében az emelkedő (de nem kóros) autoantitest értékek mellett nem észleltünk semmilyen autoimmun betegségre utaló klinikai jelet. Ez fontos megállapítás, mert a mi adataink alapján emelkedő ENA érték mellett láttunk jobb reagálást a kezelésre. Az irodalom ugyanakkor a kórosan emelkedett autoantitest értékkel rendelkező lymphomás betegek esetében minimálisan rosszabb prognózist igazol (135). Korábban már vizsgálták az apoptózis szerepét non-Hodgkin lymphomában. Korrelációt kerestek az apoptózis index a Ki67 proliferációs markerrel való pozitívítás és p53 expresszió vizsgálatával. A közölt adatok szerint a nagyobb tumortömeg nagyobb apoptózis indexsel járt. A teljes túlélést a szövettan, klinikai stádium és a p53 pozitívítás befolyásolta. Ugyanakkor az apoptotikus frakció volt az egyetlen faktor, mely a relapszust követő túlélést befolyásolta (76). Adataink értelmezéséhez a másik fontos momentum, hogy a mérésekkel

tulajdonképpen autoreaktív folyamatot detektálunk. Nem szabad figyelmen kívül hagyni, hogy a malignus lymphomákban magasabb arányban fordulnak elő autoimmun betegségek mint ahogy ezt munkacsoportunk is közölte (140). Mindezek alapján azt kell feltételezni, hogy károsodott lehet a saját / nem-saját felismerés és az autoreaktív klónok eliminálása. Ez szintén emelkedett anti-ENA autoantitestek képződéséhez vezethet. Ugyanakkor ezzel a mechanizmussal nem tudjuk magyarázni a nem szignifikáns különbséget a két betegcsoport adatai között.

5. Anti-ENA autoantitest méréseink eredményei alapján további kísérleteket végeztünk. ELISA módszerrel meghatároztuk lymphomás betegek vérében az anti-kardiolipin autoantitesteket. A választás azért ennek az autoantitestnek a mérésére esett, mert két fontos szerepe feltételezhető. Ismert, hogy a kemoterápia során fokozott thromboembolia hajlam van és ehhez hozzájárulhatnak az antifoszfolipid antitestek. Másrészt apoptotikus folyamatok szerepe bizonyított, az anti-ENA mérésnél erre már utaltam. A foszfolipidek ugyanakkor hasonló antigéntulajdonságúak mint az ENA komplex. Normális sejten az epitópok rejtve vannak. Apoptotikus folyamat indulásakor, az első detektálható jelentős celluláris változás az addig rejtve levő negatív töltésű foszfolipid részek kifordulása a membrán felszínére és ezáltal ezek, mint autoantigén elérhetővé válnak az immunrendszer részére. Számos tanulmány vizsgálja az anti-kardiolipin autoantitestek jelenlétét és kóros emelkedését lymphomában. Egy nemrég megjelent tanulmány 27% -ban igazolt pozitivitást a 8% -os kontrollhoz képest (122). Német szerzők szintén 27%-os anti-kardiolipin előfordulást detektáltak, de thromboemboliás szövődményt a betegek 13% -ban igazoltak és egyik beteg sem rendelkezett pozitív anti-kardiolipin vagy béta-2-glikoprotein autoantitest értékkel (42). Ugyanakkor a tanulmányok nem figyelték azt az ismert tényt, hogy az anti-kardiolipin autoantitest szintek jelentősen fluktuálnak és nem figyelték a cutoff alatti (normál) értékek mozgását. Ilyen vonatkozásban méréseink szintén egyedülállóak. Kimutattuk, hogy mind IgG és mind IgM izotípusú anti-

kardiolipin autoantitesteket vizsgálva ezek szintje a normál tartományon belül, de szignifikánsan magasabb a kontrollhoz képest. IgG izotípus esetén közel 20%-os és IgM izotípus esetén 80%-os növekedést detektálhattunk kezeletlen lymphomás betegeken. A kemoterápiás kezelés hatására az emelkedett autoantitest szintek jelentősen csökkentek IgG izotípus és normalizálódtak IgM izotípus esetén. Rituximab kezelés során leírtak egy esetet, hogy az emelkedett anti-kardiolipin antitest normalizálódott Sjögren szindrómához társuló marginális zóna lymphoma esetén (47). Ismert, hogy súlyos antifoszfolipid szindróma kezelésére az antikoagulálás mellett cytostatikus terápia is szükséges, mely az autoimmunitás szuppressziója révén fejt ki hatását (114). Akut myeloid leukemia esetén a betegek 68% -ában igazoltak anti-kardiolipin antitesteket. A szerzők felhívták a figyelmet arra, hogy csak mérsékelten emelkedett pozitív értékeket detektáltak (90). Betegcsoportunk kis létszámú volt ugyan, de megvizsgáltuk a jól és rosszul reagáló esetek értékeit külön. Érdekes módon a rosszabbul reagáló betegek rendelkeznek nem szignifikánsan több IgG és IgM izotípusú autoantitestekkel. Az IgM izotípus esetén a kezelés hatására csökkenés van mindkét csoportban, gyakorlatilag nincs különbség a két csoport között. Meg kell azonban jegyezni, hogy tekintettel a magasabb kiindulási értékre, közel 50%-os csökkenés észlelhető. Ennek magyarázata az lehet, hogy a kemoterápiás kezelés károsítja a de novo keletkező IgM izotípusú antitesteket termelő klónokat. Ugyanakkor IgG izotípus esetén nincs ilyen jelentős csökkenés, sőt a kezelés végére a rosszul reagáló csoportban közel a kezelés előtti értékre emelkedik vissza az antitest. Ez jelezheti, hogy itt a sejtkárosodás (kemoterápia hatás) már nem olyan jelentős. A korábban felvetett apoptotikus folyamatokra nem tudunk következtetni az értékekből.

6. Immunterápiás eredményeink bemutatása azért fontos, mert rávilágítanak arra, hogy még így sincs a betegek kezelése minden esetben megoldva. Az anti-CD20 (rituximab) kezelést follicularis grade I-II és diffúz nagy B-sejtes lymphomában alkalmazzuk az alkalmazási előírás

alapján. A bemutatott eredmények a diffúz nagy B-sejtes lymphomában látható túlélést prezentálják. Ez a plató fázist ér el 64% -nál 36 hónapnál. Az irodalmi adatok nagyon hasonló eredményeket mutatnak. Spanyol szerzők kedvező prognózisú (alacsony szerum ICAM-1 szint) DLBCL esetén 58% -os 36 hónapos teljes túlélésről számolnak be (132). A mi esetünkben az érték magasabb, mert szelektált esetekben HDT+aHSCT történt, illetve az utóbbi 18 hónapban rituximab-CHOP kezelést kaptak a betegek. Ugyancsak hasonló eredményeket igazoltak japán szerzők, akik a genetikai faktorokat vizsgálva, azt találták, hogy az Ig gén/bcl-6 fúziós termékkel rendelkező esetekben rossz prognózist (2 éves teljes túlélési valószínűség 18%), és a többi esetben sokkal kedvezőbb prognózist (2 éves túlélési valószínűség 58%) találtak (3). Ennek sok oka van, igazolták fentebb és a bevezetőben is említett genetikai alcsoportok jelentőségét. A tumortömeg és a gyakori extranodális megjelenés is befolyásolja a prognózist (102). Számos egyéb prognosztikai faktort is vizsgáltak, fiatalabb betegek esetén és idősebb populációban is. Összegezve elmondható, hogy az IPI és a B-sejt eredete ami leginkább meghatározza a prognózist (101;103). Mindezen próbálkozások elsősorban a kezelést, a dózisokat és a betegséget magát figyelték. Nem nagyon találunk olyan vizsgálatot, mely kezelés közben figyeli az immunrendszert, próbálja megérteni, hogy mi történik, esetleg az immunrendszer nem próbál-e "bekapcsolódni" a kezelésbe. Egy szemléletes esetet ismertetek az eredmények részben. A betegnél a kezelés folyamán a CD19+ B sejteket és a CD3+/HLA-DR3 aktivált T-sejteket ábrázolom. A megfigyelés nagyon érdekes. Rituximab monoterápia alkalmazása során a standard hetente alkalmazott kezelés terjedt el, de ennek oka elsősorban az, hogy kipróbálva ezt jól tolerálták a betegek és a hatása is jó volt. Esetünk rávilágít arra, hogy figyelve a beteg immunreaktivitását, immunválaszát és B sejtszámát esetleg máshogy kellett volna dönteni. Az első immunterápiás sorozat 2. rituximab infúziójának alkalmazása után paradox módon B-sejtszám emelkedést látunk. Ezt magában nem tudjuk magyarázni, de ha ezzel együtt

vizsgáljuk az aktivált T-sejtek változását érdekes következtetést vonhatunk le. Látható, hogy ebben az időpontban a beteg igen magas aktivált T-sejtaránnyal rendelkezett. A 2. rituximab adása ezt jelentősen csökkentette. Ez alapján felvetem, hogy a betegnél a 2. rituximab adását halasztani lehetett volna, esetleg addig, amíg ezt a kedvezően magas aktivált T-sejtarányt vagy az alacsony B-sejtszámot detektálom. A második immunterápiás kezelési sorozatban ugyanakkor már ez a reakció sokkal később, csak a 3-4 rituximab körül jelentkezik, tehát itt csak a 4. rituximab kezelést lehetett volna halasztani. Az eltérés oka lehet korábban már alkalmazott rituximab és a további kemoterápiás kezelések okozta immunkárosodás. Ugyancsak felmerül rituximab ellenes humán anti kiméra antitest (HACA) megjelenése, mely legújabb ismertetés szerint autoimmun betegségben (SLE) alkalmazott rituximab monoterápia során az esetek 35% -ban fordul elő (89). Tekintettel arra, hogy rituximab monoterápia során mindeképpen szükségünk van a saját immunrendszerre a hatás létrejöttéhez, nagyon fontos, hogy minden egyes egyénben figyeljük és kövessük a saját immunrendszer változásait. Felvetem, hogy a jövő immunterápiáinak alkalmazása során az időzítést nem mereven hetente, havonta kell alkalmazni, hanem a kilakuló és zajló immunválaszt figyelve ezt maximálisan kiszolgálva, támogatva kell majd alkalmazni ezen kezeléseket.

Új eredmények, megállapítások:

1. Klinikánkon kezelt non-Hodgkin lymphomás betegek túlélése az irodalmi adatokkal megegyező.
 - a. Agresszív lymphomák esetén a teljes túlélés 4 év után kerül plató fázisba és ekkor a betegek 60%-a él.
 - b. Agresszív lymphomás betegek 18%-át veszítjük el az első évben.
 - c. Diffúz nagy B-sejtes lymphoma esetén a betegek 64%-a él 3 év elteltével, amikor plató fázist eléri a túlélés.
 - d. Indolens lymphomák esetében 9 év után a betegek 55%-a él, de még nem észlelhető plató fázis a túlélés vizsgálatakor.
 - e. Indolens lymphomák esetén a mortalitás az első évben 8%.
2. Sikeresen kezeltem B-CLL -hez társuló paraneoplasticus pemphigust tartós orális cyclosporin A alkalmazásával. A kezelés hatására a B-CLL is remisszióba került, mely egyedüli irodalmi eredmény. 36 hónap kezelés után, abbahagyva a cyclosporin A alkalmazását a B-CLL kiújult, a pemphigus viszont nem volt detektálható.
3. Intracelluláris cytokinek meghatározásával a Th0-Th1-Th2 és Tc0-Tc1-Tc2 fenotípusú T sejteket határoztuk meg perifériás vérben 46 kezeletlen és 21 remisszióban levő non-Hodgkin lymphomás beteg esetében.
 - a. Megállapítottam hogy kezeletlen malignus lymphomás betegek vérében és tartósan remisszióban levő lymphomásokban is szignifikánsan ($p < 0,05$) emelkedett Th1 sejtarányt lehet detektálni a kontroll populációhoz képest (28,85% és 30,1% vs. 21,83%).

- b. A kontrollhoz képest mind a kezeletlen és mind a remisszióban levő betegek esetén szignifikánsan ($p < 0,05$) csökkent a Th2 sejtek aránya (0,96% és 0,31% vs. 1,19%)
 - c. Kezelés előtt a betegeknél szignifikánsan ($p = 0,001$) magasabb Tc0 fenotípusú sejtarány igazolható (1,3% vs 0,47%).
4. Extrahálható nukleáris antigén elleni antitestek mennyiségét vizsgáltuk 66 non-Hodgkin lymphomás betegek esetén ELISA módszerrel.
- a. Megállapítottam, hogy kezelés előtt, kezelés közben és a kezelés végén is egyformán, szignifikánsan ($p < 0,05$) nagyobb mennyiségű antitest detektálható a kontrollhoz képest (1,85 U/l, 1,80 U/l, 1,81 U/l vs. 0,68 U/l).
 - b. Külön vizsgálva a kemoterápiára jól ($n = 36$) és rosszul ($n = 30$) reagáló csoportot közöttük nem szignifikáns ($p > 0,05$) különbség detektálható: a jó prognózisú csoportban fokozatosan emelkedő antitest mennyiség (1,77 U/l, 2,07 U/l, 2,10 U/l), míg a rosszul reagáló csoportban csökkenő tendencia mutatható ki (1,94 U/l, 1,64 U/l, 1,46 U/l).
5. Anti-kardiolipin autoantitesteket vizsgálva 31 non-Hodgkin lymphomás beteg esetén a következő megállapításokat igazoltam:
- a. Nem tudtam kórosan emelkedett értéket és fokozott thrombózis rizikót igazolni a vizsgált betegpopulációban.
 - b. Kezelés előtt mind az IgG és mind az IgM izotípusú antitestek nagyobb mennyiségben vannak jelen a beteg esetén mint a kontroll populációban (IgG 6,72 U/l, IgM 5,50 U/l, kontroll IgG 5,68 U/l, IgM 3,14 U/l).
 - c. Kezelés hatására mindkét antitest a kontroll értékéhez közeli szintre csökken és nem változik tovább.

- d. Külön vizsgálva a kemoterápiára jól (n=19) és rosszul (n=12) reagáló csoportot, a rosszul reagáló betegek esetén a kemoterápia során észleljük a csökkenést, de a kezelés végére majdnem a kiindulási értékre növekszik az IgG izotípusú antitest mennyisége (5,95 U/l).
6. Rituximab immunterápia alkalmazása során kedvező mellékhatásprofilról számolok be.
- a. Bemutatom egy beteg esetén, hogy a hetente "mechanikusan" alkalmazott rituximab monoterápia milyen immunológiai reakciókat indukál. Bemutatom a CD19+ B sejtek és CD33/HLA-DR+ aktivált T sejtek időbeni változását a kezelés során. Rávilágítok, hogy az alkalmazás időzítésénél figyelni kell a saját immunválasz változását, és ehhez kellene egyénenként változtatva alkalmazni a kezelést.

Összefoglalás:

A malignus lymphomák kezelése az utóbbi 15 évben sokat fejlődött, ma már rutinszerűen alkalmazhatunk immunterápiát mint a rituximab, alemtuzumab vagy ibritumomab tixetan. Rendelkezésre áll az autológ és allogén perifériás össejtszupportáció nagy dózisú kezeléssel. A fejlett szupportív kezelés mellett a kemoterápia mellékhatásai jól kivédhetőek. Mindezek ellenére nem tudunk minden beteget meggyógyítani. Minden eddigi kezelési próbálkozás során a saját immunrendszert nem igazán figyelték a terápia közben, holott annak változása, reagálása kulcsfontosságú lehet, különösen a mai immunterápiák esetén, ahol aktív részvételére is számítunk sok esetben. A munkámban 1996-2004 között kezelt 238 non-Hodgkin lymphomás betegek kezeléséről számolok be. Bemutatom, hogy mind agresszív és mind indolens lymphomák kezelésével nemzetközi összehasonlítással azonos adatokat értünk el. Rávilágítok, hogy agresszív lymphomák esetén a betegek 22%-át egy éven belül elveszítjük, ennek okai csak részben ismertek. Egy esetet ismertetve beszámolok B-CLL-hez társuló paraneoplastikus pemphigus kezelési problémáiról, majd a betegség sikeres cyclosporin A kezeléséről. Tartósan, 36 hónapon keresztül alkalmazva a cyclosporin A-t a B-CLL remisszióban volt, ami elsősorban T-sejt és B-sejt interakciók gátlásán keresztül volt elérhető. Intracelluláris cytokinprofil meghatározást végeztünk betegeinken. Intracelluláris IL-4 és IFN-gamma meghatározásával elkülönítettem a Th0-Th1-Th2 és Tc0-Tc1-Tc2 T sejteket és meghatároztam ezek arányát. Kezeletlen lymphomás betegek esetén szignifikánsan magasabb Th1 sejtarány (28,83% vs. 21,83%) volt a kontrollhoz képest. Remisszióban levő betegeken is hasonló magas értéket kaptunk (30,1% vs. 21,83%). Ugyanakkor a Th2 sejtek aránya jelentősen csökkent a kezelés végére (0,31%), de már a kezelés előtt is szignifikánsan alacsonyabb volt mint az egészséges kontroll csoportban (0,96% vs 1,19%). A Tc0 sejtek esetén kezeletlen betegeken jelentős emelkedést észleltünk (1,3% vs 0,47%). Az emelkedett Th1/Th2 aránya az immunrendszer aktiváltságát, polarizáltságát jelzi, de ennek ellenére nem

volt képes a lymphomát eliminálni. Ezt követően ELISA módszerrel meghatároztuk anti-ENA antitestek jelenlétét lymphomás betegekben. Igazoltam, hogy magasabb értékkel rendelkeznek, mint a kontroll csoport (1,85 U/l vs 0,68 U/l). Az emelkedést a kezelés során végig detektáltam. Az emelkedés oka lehet fokozott spontán apoptózis és az autoreaktív klónok eliminálásának csökkent effektivitása. Külön vizsgálva a kemoterápiára jól és rosszul reagáló eseteket nem szignifikáns különbség igazolható. A jól reagáló esetekben fokozatos emelkedést, míg a rosszul reagáló esetekben lassú csökkenést észleltem. A fokozatos emelkedés jelezhet egy kifejezettebb immunválaszt a lymphoma ellen. ELISA módszerrel vizsgálva az anti-kardiolipin antitesteket kezelés előtt a lymphomás betegek esetén mind az IgM és az IgG izotípus esetén emelkedett értékek igazolhatók, melyek csökkennek a kezelés hatására. Külön vizsgálva itt is a jól és rosszul reagáló csoportot, az IgG izotípusú antitest esetén a kezelés végén jelentős emelkedés volt detektálható a rosszul reagáló esetekben. Végül immunterápiát alkalmazva bemutatom egy follicularis lymphomás beteg esetén a kezelés során hogyan csökken, majd emelkedik a B-sejtarány. Ezt összevetem az aktivált T-sejtek arányával. Rávilágítok, hogy a rituximab alkalmazásának időzítése nem feltétlenül volt optimális.

Mіндеzen kísérleti adatok igyekeznek vizsgálni, hogy az immunrendszerben milyen folyamatok zajlanak a kemoterápia vagy immunterápia alkalmazása során. Arra kerestem a választ, hogy rendelkezünk-e olyan mérhető paraméterrel, mely esetleg segíthet minket a terápia vezetése során. A kérdésre a választ csak részben tudom megadni, tekintettel a rendkívüli bonyolultságára.

Köszönetnyilvánítás:

Munkámat a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Belgyógyászati Intézetének III. Belgyógyászati klinikáján végeztem. Mindenekelőtt szeretném megköszönni korábbi igazgatónak és témavezetőmnek Szegedi Gyula Professor Úrnak a rengeteg biztatást és azt a szemléletet melyet átadott nekem, ahhoz hogy e rendkívüli feladatot meg tudjam oldani. Köszönöm a klinikához tartozó Regionális Immunológiai Laboratórium munkatársainak, elsősorban Aleksza Magdolna, Gyimesi Edit, Csípő István, Lakos Gabriella és Sipka Sándornak a mérésekben nyújtott segítséget. Köszönöm Zeher Margit Professzornőnek, hogy lehetővé tette a munka megírását és köszönöm Illés Árpádnak a betegek kezelésében és a mindennapi munkában nyújtott segítségét. Külön köszönetet mondok Váróczy László kollegámnak, aki ifjú hematológusként mellettem nagyon sokat segített az adatok tematikus gyűjtésében.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni Feleségemnek és Kisfiámnak, hogy mellettem voltak és segítettek a munka elkészülésében.

Publikációk:

Az értekezés alapjául szolgáló lektorált folyóiratban megjelent közlemények:

1. **Gergely L**, Varoczy L, Vadasz G, et al. Successful treatment of B cell chronic lymphocytic leukemia-associated severe paraneoplastic pemphigus with cyclosporin A Acta Haematol - Basel 2003; 109 (4): 202-205 (IF: 1.874)
2. **L. Gergely**, M. Aleksza, L.Váróczy, A.Ponyi, S.Sipka, Á.Illés, Gy. Szegedi: Intracellular IL-4 / IFN-gamma Producing Peripheral T Lymphocyte Subsets in B Cell Non-Hodgkin Lymphoma Patients. Eur. J. Haematology. 2004 May; 72 (5): 336-41 (IF: 1.807)
3. **Gergely L.**, Illés Á., Nagy Zs., Adamkovich N., Rejtő L., Szerafin L., Ujj Gy., Váróczy L., Radványi G., Borbényi Z., Varga Gy., Udvardy M.: Kezelési eredmények kombinált immuno-kemoterápiával diffúz nagy B sejtes nem-Hodgkin lymphomában. Magyar Belorvosi Archivum. 2004; 57 (1): 26-30
4. **Gergely L.**, Illés Á.: Malignus lymphomák immunterápiája. Magyar Belorvosi Archivum. 2004; 57 (4): 59-67
5. **L. Gergely**, A. Dankó, I. Csípő, L. Váróczy, S. Sipka, M. Zeher, Á. Illés: Antibodies against extractable nuclear antigen (ENA) in non-Hodgkin lymphoma patients. Scand. J. Immunol. (közlésre elfogadva) (IF: 1.942)

Az értekezéshez fel nem használt, lektorált folyóiratban megjelent közlemények jegyzéke:

1. **L. Gergely**, L. Cook, V. Agnello: A Simplified Method for Ca²⁺ Flux Measurement on Isolated Human B Cells That Uses Flow Cytometry. Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology, 1997 Jan. (4): 70-74 (IF: 1.045)
2. **Gergely L.:** Cryoglobulinaemia és krónikus hepatitis C vírus fertőzés. Magyar Belorvosi Archivum, 1996 (4): 232-237
3. Illés Á., Vadasz Gy., **Gergely L.**, Szegedi Gy.: Hodgkin-kóros betegek kezelésével szerzett tapasztalataink. Magyar Belorvosi Archivum, 1998 (4): 283-288
4. Gyimesi E., Kiss A., Goda K., Bányai A., Kiss Cs., Telek B., Rácz K., **Gergely L.**, Szegedi Gy., Sipka S.: Ciosztatikum-rezisztencia (multidrog-rezisztencia) vizsgálata citofluorimetriás funkcionális teszt alkalmazásával malignus hematológiai betegségekben. Magyar Belorvosi Archivum 1998. 51 (4): 301-305
5. Illés Á., Vadasz Gy., **Gergely L.**, Szegedi Gy.: Időskori Hodgkin kór. Magyar Onkológia, 1999 (43). 211-214
6. Matolcsy A, Borbényi Z, Demeter J, Egyed M, Fekete S, Földi J, **Gergely L**, Kajtár P, Kelényi G, Kiss A, László T, Lehoczky D, Losonczy H, Nagy M, Pál K, Pálóczy K, Radványi G, Semsei I, Varga G, Udvardy M: A minimális reziduális betegség kimutatása

B-sejtes tumorok esetében az immunglobulin nehézlánc génre specifikus polimeráz láncreakció segítségével. Orvosi Hetilap, 2000 Jun 18; 141(25). 1403-6.

7. Á. Illés, G. Vadász, **L. Gergely** and G. Szegedi: Hodgkin's disease in the elderly: A single institution retrospective study of 40 patients aged 65 or over. Hematologia, 2000 (30), 263-271 (IF: 0,405)
8. Illés Á., **Gergely L.**, András Cs., Miltényi Zs., Szegedi Gy.: Hodgkin-kóros betegek hypothyreosisa. Magyar Onkológia 2001 45(5), 411-415
9. Varoczy L, **Gergely L**, Zeher M, Szegedi Gy, Illes A: Malignant lymphoma-associated autoimmune diseases - a descriptive epidemiological study. Rheumatol Int. 2002 Nov; 22 (6): 233-7. (IF: 1,0)
10. Varoczy L, **Gergely L**, Szakall Sz, Illes A: Angiocentric lymphomatoid granulomatosis and severe hypogammaglobulinaemia. Haematologia 2002;109(4): 535-41 (IF: 0,293)
11. Illés Á., Keresztes K., Miltényi Zs., Váróczy L., Olvasztó S., Redl P., **Gergely L.**, Dankó K.: Hodgkin-kóros beteg kezelésének szokatlan késői szövődményei. Magyar Belorvosi Archivum 2002 55, 105-109
12. Miltényi Z, **Gergely L**, Illés Á: Hodgkin kóros betegek pericarditise. Orvosi Hetilap. 2002 Dec 1; 143 (48): 2687-9
13. Á. Illés, **L. Gergely**, Zs. Miltényi, K. Keresztes, S. Olvasztó, P. Redl, K. Dankó: Rare, late complications in a patient with Hodgkin's disease. Haematologia 2002 32(4) 509-518 (IF: 0,293)
14. Varoczy L, **Gergely L**, Illes A: Diagnostics and treatment of pulmonary BALT lymphoma: a report on four cases. Ann Hematol 2003 JUN 82 (6): 363-366 (IF: 1,241)
15. Váróczy L., Miltényi Zs., Keresztes K., **Gergely L.**, Remenyik É., Illés Á.: Malignus kórképek halmozódása krónikus lymphoid leukemiában szenvedő betegünknel. Magyar Belorvosi Archivum 2003 56 (3): 127-130
16. Constantin T., Ponyi A., Garami M., **Gergely L.**, Fekete G., Dankó K.: A juvenilis dermatomyositis klinikai sajátosságai. Orvosi Hetilap. 2003 Jun. 22; 144(25): 1245-50
17. Constantin T., Ponyi A., Bense T., Sallai Á., **Gergely L.**, Fekete Gy., Dankó K.: A juvenilis dermatomyositis klinikai sokszínűsége – esetismertetés és irodalmi összefoglaló. Gyermekgyógyászat. 2004; 55(1)
18. Vánca A., Ponyi A., Constantin T., **Gergely L.**, Dankó K.: Dermatomyositishez társuló, késői megjelenésű extranodális follicularis lymphoma. LAM 2004; 14(2): 139-142
19. Ponyi A, Borgulya G, Constantin T, Vánca A, **Gergely L**, Dankó K.: Functional outcome and quality of life in adult patients with idiopathic inflammatory myositis. Rheumatology (Oxford). 2004 Sep 20 (IF: 3,76)

20. Váróczy L., **Gergely L.**, Miltényi Zs., Illés Á.: Tüdő BALM-lymphoma kezelésével és követésével szerzett tapasztalatok. Magyar Belorvosi Archivum. 2004, 57(2): 83-87
21. L. Váróczy, **L. Gergely**, Zs. Miltényi, M. Aleksza, Á. Illés: Can CD3+/HLA-DR+ activated T cells predict the prognosis of non-Hodgkin's lymphoma patients? Immunology Letters 2005; (97): 155-157 (IF: 1,710)
22. Keresztes K., Aleksza M., Baráth S., Miltényi Zs., Váróczy L., **Gergely L.**, Sipka S., Illés Á.: *Helicobacter pylori*-fertőzés Hodgkin-kóros betegeken. Hematológia Transzfuziológia 2004; 37: 265-71
23. Váróczy L., Krenács L., **Gergely L.**, Bassam A., Illés Á.: Ritka, lymphadenomegálival járó kórképek. Hematológia Transzfuziológia 2004; 37: 248-256
24. Váróczy L., **Gergely L.**, Aleksza M., Miltényi Zs., Illés Á.: Aktivált T-sejtek vizsgálata non-Hodgkin-lymphomás betegek esetében. Magyar Immunológia 2004; 3 (4): 35-39

Könyvfejezetek:

1. KLINIKAI IMMUNOLÓGIA. Szerkesztette: Petrányi Győző, Dobozy Attila, Gergely Péter, Pálóczi Katalin, Szegedi Gyula, Szemere Pál. Medicina Könyvkiadó Rt. 2000.
Ifj. Gergely Lajos, Gyimesi Edit, Antal-Szalmás Péter: Áramlási citometria alkalmazása a klinikai immunológiai laboratóriumi gyakorlatban. (könyvfejezet) 887-892
2. LEUKOCYTE TYPING VI. Editors: Tadimitsu Kishimoto, Hitoshi Kikutami et. Al. Garland Publishing Inc. 1997
 - a. G. Lakos, E. Kiss, P. Soltesz, A. Kiss, E. Gyimesi, **L. Gergely**, Gy. Szegedi: PL15.1 Platelet clinical studies: Reactivity of Platelet monoclonal antibody panel with platelets of patients with antiphospholipid syndrome. P 686-687
 - b. M. Zeher, Á. Olajos, **L. Gergely**, G. Lakos, Gy. Szegedi: CR25.4 Cytokine Receptor clinical studies: Dynamics of cytokine receptor expression in Sjögren's syndrome. P922-925
 - c. E. Gyimesi, E. Kiss, **L. Gergely**, Gy. Szegedi: MC22.6 Myeloid Blind Panel flow cytometric analysis: Reactivity of Myeloid monoclonal antibodies with polymorphonuclear leucocytes and monocytes of patients with systemic lupus erythematosus and modulation of the binding by *in vivo* granulocyte-colony stimulating factor treatment. P1057-1059
3. Illés Á, **Gergely L.**: Malignus lymphomák. In: Klinikai onkológia a gyakorlatban. Szerk: Szántó J, Medicina, 2005, pp 387-391.
4. **Gergely L.**: Non-Hodgkin lymphomák. In: Klinikai onkológia a gyakorlatban. Szerk: Szántó J, Medicina, 2005, pp 391-407.

Idézhető absztraktok:

1. O'Riordan DM, **Gergely L**, Deng N, et al.: Cytokine Messenger-RNA Expression in Acute Pulmonary Infection. Am Rev Respir Dis 1993 Apr. 147 (4): A467-A467 Suppl. S

2. **Gergely L.**, Illés Á., Vadász Gy., Szegedi Gy.: Melanoma malignum után jelentkező rapid progressziójú kifejezett malignitású B-sejtes non-Hodgkin lymphoma. Magyar Belorvosi Archivum 1997. 50(S1); 45
3. Vadász Gy., Illés Á., Nemes Z., **Gergely L.**, Szegedi Gy.: Lethalis midline granuloma. Magyar Belorvosi Archivum 1997. 50(S1); 45
4. Antal-Szalmas P, Aleksza M, **Gergely L.**, et al.: Intracellular cytokine determinations for assessment of Th1/Th2 distribution in autoimmune disorders. Cytometry, 2000 Apr 15. 42 (2): 133-134
5. Aleksza M, Antal-Szalmas P, **Gergely L.**, et al.: Th1/Th2 like phenotype determinations in patients suffering from different autoimmune disorders Cytometry, 2000 Apr 15. 42 (2): 142-142
6. Szomják E., Soltész P., Váróczy L., **Gergely L.**, Veres K., Szabó Z., Szegedi Gy.: HIV-asszociált pneumonia miatt kezelt két esetünk diagnosztikus és terápiás tanulságai. Magyar Belorvosi Archivum 2000. 53(S2): 47
7. Váróczy L., Illés Á., **Gergely L.**, Vadász Gy., Szegedi Gy.: Rapidan progrediáló T-sejtes anaplasticus lymphoma – esetismertetés. Magyar Belorvosi Archivum 2000. 53(S2): 53
8. **Gergely L.**, Illés Á., Vadász Gy., Váróczy L., Kiss E., Zeher M., Szegedi Gy.: Lymphadenopathia, autoimmun betegség és lymphoma. Magyar Belorvosi Archivum, 2000. 53(S3): 80
9. Szomor Á., Molnár L., Iványi J., Radványi G., Nagy Zs., Karádi Á., **Gergely L.**, Bányai A., Demeter J., Aryan H., Gasztonyi Z., Kiss A., Kollár B., Egyed M., Losonczy H., Kelényi G., Kereskai L., Pajor L.: Extranodalis érintettséggel járó és nodalis anaplasias nagy sejtes lymphoma (ALCL) klinikopathológiai összehasonlítása. Magyar Belorvosi Archivum, 2000. 53(S3): 149
10. Illés Á., Redl P., **Gergely L.**, Olvasztó S., Koszta Gy., Szegedi Gy.: Hodgkin-kóros beteg ritka késői szövődményei. Magyar Belorvosi Archivum 2001. 54(S1): 20
11. **Gergely L.**, Váróczy L., Vadász Gy., Illés Á., Remenyik É., Szegedi Gy.: Non-Hodgkin lymphomához társuló paraneoplasticus pemphigus. Magyar Belorvosi Archivum 2001. 54(S1): 62
12. Váróczy L., **Gergely L.**, Vadász Gy., Illés Á.: Tüdő (BALT-) –lymphoma diagnosztikája és kezelése – tapasztalataink három eset kapcsán. Magyar Belorvosi Archivum 2001. 54(S1): 81
13. Á.Szomor, L.Molnár, J.Iványi, G.Radványi, Zs.Nagy, Á.Karádi, **L.Gergely**, A.Bányai, J.Demeter, H.Aryan, Z.Gasztonyi, A.Kiss, B.KOLLár, M.Egyed, H.Losonczy, G.Kelényi, L.Pajor: Extranodal involvement in primary systemic anaplastic large cell lymphoma (ALCL) in adults. /Abstract/ Annals of Hematology 2001 Suppl. III Vol. 80. pB144
14. Miltenyi Z, Illes A, **Gergely L.**, Miltenyi L: Epidural involvement in Hodgkin's disease. Ann Oncol, 2002, 2 suppl: 114

15. L.Varoczy, **L.Gergely**, M.Zeher,G.Szegedi & A.Illes: Malignant Lymphoma-Associated Autoimmune Diseases – A Descriptive Epidemiological Study /Abstract/ Scand. J.Immunol. 2002 55, p527
16. Brúgós B., Szűcs G., **Gergely L.**, Bodolay E., Szegedi Gy., Zeher M.: Felnőttkori hypogammaglobulinaemiás esetek. Magyar Belorvosi Archivum 2002. 55(S2): 39
17. **Gergely L.**, Váróczy L., Aleksza M., Vadász Gy., Szász R., Illés Á.: Intracelluláris cytokinprofil vizsgálata non-Hodgkin lymphomás betegeinkben. Magyar Belorvosi Archivum 2003. 56(S1): 15
18. Rejtő L., Telek B., Kiss A., Batár P., **Gergely L.**, Váróczy L., Udvardy M.: CD20-ellenes monoklonális antitest-kezeléssel szerzett tapasztalataink. Magyar Belorvosi Archivum 2003. 56(S1): 31
19. Vadász Gy., Simon Zs., Bereczky Zs., Hevessy Zs., **Gergely L.**, Illés Á.: Gátlótest-haemophilia egy eset kapcsán. Magyar Belorvosi Archivum 2003. 56(S1): 38
20. Váróczy L., **Gergely L.**, Aleksza M., Vadász Gy., Simon Zs., Batár P., Illés Á.: Aktivált T-sejtek vizsgálata non-Hodgkin lymphomás betegeinknél. Magyar Belorvosi Archivum 2003. 56(S1): 70
21. **Gergely L.**, Váróczy L., Vadász Gy., Keresztes K., Illés Á.: Non-Hodgkin limfómás betegeink kezelési eredményei 1997-2003 között. Magyar Onkológia 2004. 48(S1); 6
22. **Gergely L.**, Illés Á, Nagy Zs., Adamkovich N., Rejtő L., Szerafin L., Ujj Gy., Váróczy L., Radványi G., Borbényi Z., Varga Gy., Udvardy M.: Kezelési eredmények kombinált immuno-kemoterápiával diffúz nagy B-sejtes nem-Hodgkin lymphomában. Magyar Onkológia 2004. 48(S1): 17
23. Váróczy L., **Gergely L.**, Miltényi Zs., Simon Zs., Illés Á.: Hospitalizálható infekciók kemoterápiával kezelt non-Hodgkin lymphomás betegeinknél. Magyar Onkológia 2004. 48(S1): 17
24. L. Varoczy, **L. Gergely**, M. Aleksza, G. Vadasz, Z. Simon, A. Illes: Investigation of Activated T-Cells in Non-Hodgkin Lymphoma Patients. The Hematology Journal. 2004 (5) Suppl. 2., S188
25. **L Gergely**, A Danko, I Csipo, L Varoczy, A Illes, S Sipka, M Zeher: Antibodies Against Extractable Nuclear Antigen (ENA) in Non-Hodgkin Lymphoma Patients. Clin. Invest. Med. 2004. 27(4): 181D
26. Nagy G, Varoczy L, Dobrosi N, **Gergely L**, Szegedi C: Monitoring the intracellular calcium concentrations of lymphocytes during the treatment of malignant lymphomas. Tissue Antigens. 2004; 64 (4): 366-366

Irodalomjegyzék:

- (1) National Cancer Institute sponsored study of classifications of non-Hodgkin's lymphomas: summary and description of a working formulation for clinical usage. The Non-Hodgkin's Lymphoma Pathologic Classification Project. *Cancer* 1982 May 15;49(10):2112-35.
- (2) A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J Med* 1993 Sep 30;329(14):987-94.
- (3) Akasaka T, Ueda C, Kurata M, Akasaka H, Yamabe H, Uchiyama T, et al. Nonimmunoglobulin (non-Ig)/BCL6 gene fusion in diffuse large B-cell lymphoma results in worse prognosis than Ig/BCL6. *Blood* 2000 Oct 15;96(8):2907-9.
- (4) Alas S, Emmanouilides C, Bonavida B. Inhibition of interleukin 10 by rituximab results in down-regulation of bcl-2 and sensitization of B-cell non-Hodgkin's lymphoma to apoptosis. *Clin Cancer Res* 2001 Mar;7(3):709-23.
- (5) Alas S, Ng CP, Bonavida B. Rituximab modifies the cisplatin-mitochondrial signaling pathway, resulting in apoptosis in cisplatin-resistant non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res* 2002 Mar;8(3):836-45.
- (6) Alber M. Haematological results of nitrogen mustard therapy in case of abnormal Hodgkin's disease. *Can J Med Technol* 1950 Jun;12(2):71-6.
- (7) Aleksza M, Lukacs A, Antal-Szalmas P, Hunyadi J, Szegedi A. Increased frequency of intracellular interleukin (IL)-13 and IL-10, but not IL-4, expressing CD4+ and CD8+ peripheral T cells of patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2002 Dec;147(6):1135-41.
- (8) Anderson CF, Lucas M, Gutierrez-Kobeh L, Field AE, Mosser DM. T cell biasing by activated dendritic cells. *J Immunol* 2004 Jul 15;173(2):955-61.
- (9) Anhalt GJ. Paraneoplastic pemphigus. *Adv Dermatol* 1997;12:77-96.
- (10) Aswald JM, Lipton JH, Messner HA. Intracellular cytokine analysis of interferon-gamma in T cells of patients with chronic myeloid leukemia. *Cytokines Cell Mol Ther* 2002 Dec;7(2):75-82.
- (11) Barta A, Batai A, Torbagyi E, Sipos A, Lengyel L, Petranyi GG, et al. Haemopoietic cell transplantation activity and results: a single institution experience. *Bone Marrow Transplant* 1998 Dec;22 Suppl 4:S60-S62.
- (12) Blayney DW, LeBlanc ML, Grogan T, Gaynor ER, Chapman RA, Spiridonidis CH, et al. Dose-intense chemotherapy every 2 weeks with dose-intense cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone may improve survival in intermediate- and high-grade lymphoma: a phase II study of the Southwest Oncology Group (SWOG 9349). *J Clin Oncol* 2003 Jul 1;21(13):2466-73.

- (13) Borradori L, Lombardi T, Samson J, Girardet C, Saurat JH, Hugli A. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) for refractory erosive stomatitis secondary to CD20(+) follicular lymphoma-associated paraneoplastic pemphigus. *Arch Dermatol* 2001 Mar;137(3):269-72.
- (14) Buckstein R, Imrie K, Spaner D, Potichnyj A, Robinson JB, Nanji S, et al. Stem cell function and engraftment is not affected by "in vivo purging" with rituximab for autologous stem cell treatment for patients with low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 1999 Oct;26(5 Suppl 14):115-22.
- (15) Burkitt D, Hutt MS, Wright DH. The African Lymphoma: Preliminary Observations on Response to Therapy. *Cancer* 1965 Apr;18:399-410.
- (16) Carnahan J, Wang P, Kendall R, Chen C, Hu S, Boone T, et al. Epratuzumab, a humanized monoclonal antibody targeting CD22: characterization of in vitro properties. *Clin Cancer Res* 2003 Sep 1;9(10 Pt 2):3982S-90S.
- (17) Carroccio A, Iannitto E, Di Prima L, Cirrincione S, Troncione R, Paparo F, et al. Screening for celiac disease in non-Hodgkin's lymphoma patients: a serum anti-transglutaminase-based approach. *Dig Dis Sci* 2003 Aug;48(8):1530-6.
- (18) Cecere A, Marotta F, Vangieri B, Tancredi L, Gattoni A. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection is related to altered cellular immune response and to different cytokine profile. *Panminerva Med* 2004 Sep;46(3):171-87.
- (19) Cesana C, Carlo-Stella C, Mangoni L, Almici C, Giachetti R, Zappa M, et al. Response to cyclosporin A and recombinant human erythropoietin in a case of B cell chronic lymphocytic leukemia and pure red cell aplasia. *Leukemia* 1996 Aug;10(8):1400-1.
- (20) Chan HT, Hughes D, French RR, Tutt AL, Walshe CA, Teeling JL, et al. CD20-induced lymphoma cell death is independent of both caspases and its redistribution into triton X-100 insoluble membrane rafts. *Cancer Res* 2003 Sep 1;63(17):5480-9.
- (21) Cherwinski HM, Schumacher JH, Brown KD, Mosmann TR. Two types of mouse helper T cell clone. III. Further differences in lymphokine synthesis between Th1 and Th2 clones revealed by RNA hybridization, functionally monospecific bioassays, and monoclonal antibodies. *J Exp Med* 1987 Nov 1;166(5):1229-44.
- (22) Coiffier B. New treatment strategies in lymphomas: aggressive lymphomas. *Ann Hematol* 2004;83 Suppl 1:S73-S74.
- (23) Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002 Jan 24;346(4):235-42.
- (24) Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002 Jan 24;346(4):235-42.

- (25) Coleman ML, Sahai EA, Yeo M, Bosch M, Dewar A, Olson MF. Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. *Nat Cell Biol* 2001 Apr;3(4):339-45.
- (26) Cortes J, O'Brien S, Loscertales J, Kantarjian H, Giles F, Thomas D, et al. Cyclosporin A for the treatment of cytopenia associated with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2001 Oct 15;92(8):2016-22.
- (27) Coscia M, Mariani S, Battaglio S, Di Bello C, Fiore F, Foglietta M, et al. Long-term follow-up of idiotype vaccination in human myeloma as a maintenance therapy after high-dose chemotherapy. *Leukemia* 2004 Jan;18(1):139-45.
- (28) Cousins DJ, Lee TH, Staynov DZ. Cytokine coexpression during human Th1/Th2 cell differentiation: direct evidence for coordinated expression of Th2 cytokines. *J Immunol* 2002 Sep 1;169(5):2498-506.
- (29) Czuczman MS, Grillo-Lopez AJ, White CA, Saleh M, Gordon L, Lobuglio AF, et al. Treatment of patients with low-grade B-cell lymphoma with the combination of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody and CHOP chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999 Jan;17(1):268-76.
- (30) Del PG, De CM, Almerigogna F, Giudizi MG, Biagiotti R, Romagnani S. Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *J Immunol* 1993 Jan 15;150(2):353-60.
- (31) Demidem A, Lam T, Alas S, Hariharan K, Hanna N, Bonavida B. Chimeric anti-CD20 (IDEC-C2B8) monoclonal antibody sensitizes a B cell lymphoma cell line to cell killing by cytotoxic drugs. *Cancer Biother Radiopharm* 1997 Jun;12(3):177-86.
- (32) Diehl V. Dose-escalation study for the treatment of Hodgkin's disease. The German Hodgkin Study Group (GHSg). *Ann Hematol* 1993 Mar;66(3):139-40.
- (33) Diehl V, Sieber M, Ruffer U, Lathan B, Hasenclever D, Pfreundschuh M, et al. BEACOPP: an intensified chemotherapy regimen in advanced Hodgkin's disease. The German Hodgkin's Lymphoma Study Group. *Ann Oncol* 1997 Feb;8(2):143-8.
- (34) Enblad G, Hagberg H, Erlanson M, Lundin J, MacDonald AP, Repp R, et al. A pilot study of alemtuzumab (anti-CD52 monoclonal antibody) therapy for patients with relapsed or chemotherapy-refractory peripheral T-cell lymphomas. *Blood* 2004 Apr 15;103(8):2920-4.
- (35) Fisher RI, Gaynor ER, Dahlborg S, Oken MM, Grogan TM, Mize EM, et al. A phase III comparison of CHOP vs. m-BACOD vs. ProMACE-CytaBOM vs. MACOP-B in patients with intermediate- or high-grade non-Hodgkin's lymphoma: results of SWOG-8516 (Intergroup 0067), the National High-Priority Lymphoma Study. *Ann Oncol* 1994;5 Suppl 2:91-5.
- (36) Flinn IW, O'Donnell PV, Goodrich A, Vogelsang G, Abrams R, Noga S, et al. Immunotherapy with rituximab during peripheral blood stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000;6(6):628-32.

- (37) Foussard C, Desablens B, Sensebe L, Francois S, Milpied N, Deconinck E, et al. Is the International Prognostic Index for aggressive lymphomas useful for low-grade lymphoma patients? Applicability to stage III-IV patients. The GOELAMS Group, France. *Ann Oncol* 1997;8 Suppl 1:49-52.
- (38) Frankfurt O, Rosen ST. Mechanisms of glucocorticoid-induced apoptosis in hematologic malignancies: updates. *Curr Opin Oncol* 2004 Nov;16(6):553-63.
- (39) Frassanito MA, Cusmai A, Dammacco F. Deregulated cytokine network and defective Th1 immune response in multiple myeloma. *Clin Exp Immunol* 2001 Aug;125(2):190-7.
- (40) Gaspar HB, Amrolia P, Hassan A, Webb D, Jones A, Sturt N, et al. Non-myeloablative stem cell transplantation for congenital immunodeficiencies. *Recent Results Cancer Res* 2002;159:134-42.
- (41) Gaynor ER, Fisher RI. Chemotherapy of intermediate-grade non-Hodgkin's lymphoma: is "more" or "less" better? *Oncology (Huntingt)* 1995 Dec;9(12):1273-9.
- (42) Genvresse I, Luftner D, Spath-Schwalbe E, Buttgerit F. Prevalence and clinical significance of anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol* 2002 Feb;68(2):84-90.
- (43) Ghielmini M, Schmitz SF, Burki K, Pichert G, Betticher DC, Stupp R, et al. The effect of Rituximab on patients with follicular and mantle-cell lymphoma. Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK). *Ann Oncol* 2000;11 Suppl 1:123-6.
- (44) Gonthier M, Llobera R, Arnaud J, Rubin B. Self-reactive T cell receptor-reactive CD8+ T cells inhibit T cell lymphoma growth in vivo. *J Immunol* 2004 Dec 1;173(11):7062-9.
- (45) Guyomard S, Salles G, Coudurier M, Rousset H, Coiffier B, Bienvenu J, et al. Prevalence and pattern of antinuclear autoantibodies in 347 patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2003 Oct;123(1):90-9.
- (46) Hancock BW, Vaughan HG, Vaughan HB, Haybittle JL, Bennett MH, MacLennan KA, et al. British National Lymphoma Investigation randomised study of MOPP (mustine, Oncovin, procarbazine, prednisolone) against LOPP (Leukeran substituted for mustine) in advanced Hodgkin's disease--long term results. *Br J Cancer* 1991 Apr;63(4):579-82.
- (47) Harner KC, Jackson LW, Drabick JJ. Normalization of anticardiolipin antibodies following rituximab therapy for marginal zone lymphoma in a patient with Sjogren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2004 Oct;43(10):1309-10.
- (48) Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J. Lymphoma classification--from controversy to consensus: the R.E.A.L. and WHO Classification of lymphoid neoplasms. *Ann Oncol* 2000;11 Suppl 1:3-10.
- (49) Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, et al. The World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues. Report of the Clinical Advisory Committee

meeting, Airlie House, Virginia, November, 1997. *Ann Oncol* 1999 Dec;10(12):1419-32.

- (50) Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994 Sep 1;84(5):1361-92.
- (51) Hashimoto T, Amagai M, Watanabe K, Chorzelski TP, Bhogal BS, Black MM, et al. Characterization of paraneoplastic pemphigus autoantigens by immunoblot analysis. *J Invest Dermatol* 1995 May;104(5):829-34.
- (52) Haynes AP, Daniels I, Abhulayha AM, Carter GI, Metheringham R, Gregory CD, et al. CD95 (Fas) expression is regulated by sequestration in the Golgi complex in B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2002 Aug;118(2):488-94.
- (53) Heizmann M, Itin P, Wernli M, Borradori L, Bargetzi MJ. Successful treatment of paraneoplastic pemphigus in follicular NHL with rituximab: report of a case and review of treatment for paraneoplastic pemphigus in NHL and CLL. *Am J Hematol* 2001 Feb;66(2):142-4.
- (54) Hertzberg MS, Schifter M, Sullivan J, Stapleton K. Paraneoplastic pemphigus in two patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma: significant responses to cyclophosphamide and prednisolone. *Am J Hematol* 2000 Feb;63(2):105-6.
- (55) Hiddemann W, Dreyling M, Unterhalt M. Rituximab plus chemotherapy in follicular and mantle cell lymphomas. *Semin Oncol* 2003 Feb;30(1 Suppl 2):16-20.
- (56) Ho S, Clipstone N, Timmermann L, Northrop J, Graef I, Fiorentino D, et al. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Clin Immunol Immunopathol* 1996 Sep;80(3 Pt 2):S40-S45.
- (57) Horning SJ, Rosenberg SA, Hoppe RT. Brief chemotherapy (Stanford V) and adjuvant radiotherapy for bulky or advanced Hodgkin's disease: an update. *Ann Oncol* 1996;7 Suppl 4:105-8.
- (58) Horning SJ, Weller E, Kim K, Earle JD, O'Connell MJ, Habermann TM, et al. Chemotherapy with or without radiotherapy in limited-stage diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma: Eastern Cooperative Oncology Group study 1484. *J Clin Oncol* 2004 Aug 1;22(15):3032-8.
- (59) Horning SJ, Williams J, Bartlett NL, Bennett JM, Hoppe RT, Neuberg D, et al. Assessment of the stanford V regimen and consolidative radiotherapy for bulky and advanced Hodgkin's disease: Eastern Cooperative Oncology Group pilot study E1492. *J Clin Oncol* 2000 Mar;18(5):972-80.
- (60) Horwitz SM, Negrin RS, Blume KG, Breslin S, Stuart MJ, Stockerl-Goldstein KE, et al. Rituximab as adjuvant to high-dose therapy and autologous hematopoietic cell transplantation for aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2004 Feb 1;103(3):777-83.

- (61) Hsu FJ, Caspar CB, Czerwinski D, Kwak LW, Liles TM, Syrengelas A, et al. Tumor-specific idiotype vaccines in the treatment of patients with B-cell lymphoma--long-term results of a clinical trial. *Blood* 1997 May 1;89(9):3129-35.
- (62) Huang S, Preuss KD, Xie X, Regitz E, Pfreundschuh M. Analysis of the antibody repertoire of lymphoma patients. *Cancer Immunol Immunother* 2002 Dec;51(11-12):655-62.
- (63) Ito N, Nakamura H, Tanaka Y, Ohgi S. Lung carcinoma: analysis of T helper type 1 and 2 cells and T cytotoxic type 1 and 2 cells by intracellular cytokine detection with flow cytometry. *Cancer* 1999 Jun 1;85(11):2359-67.
- (64) Jain P, Giustolisi GM, Atkinson S, Elnenaei MO, Morilla R, Owusu-Ankomah K, et al. Detection of cyclin D1 in B cell lymphoproliferative disorders by flow cytometry. *J Clin Pathol* 2002 Dec;55(12):940-5.
- (65) Jerkeman M, Anderson H, Dictor M, Kvaloy S, Akerman M, Cavallin-Stahl E. Assessment of biological prognostic factors provides clinically relevant information in patients with diffuse large B-cell lymphoma--a Nordic Lymphoma Group study. *Ann Hematol* 2004 Jul;83(7):414-9.
- (66) Johnson FD, Jacobs EM, Wood DA. Hodgkin's disease terminating in chronic myeloid leukemia. *Calif Med* 1966 Jun;104(6):479-84.
- (67) Jones EA, Pringle JH, Angel CA, Rees RC. Th1/Th2 cytokine expression and its relationship with tumor growth in B cell non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Leuk Lymphoma* 2002 Jun;43(6):1313-21.
- (68) Jung T, Schauer U, Heusser C, Neumann C, Rieger C. Detection of intracellular cytokines by flow cytometry. *J Immunol Methods* 1993 Feb 26;159(1-2):197-207.
- (69) Juweid M. Technology evaluation: epratuzumab, Immunomedics/Amgen. *Curr Opin Mol Ther* 2003 Apr;5(2):192-8.
- (70) Keating MJ, O'Brien S, Kontoyiannis D, Plunkett W, Koller C, Beran M, et al. Results of first salvage therapy for patients refractory to a fludarabine regimen in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2002 Sep;43(9):1755-62.
- (71) Kelemen E, Denes R, Barta A, Masszi T, Remenyi P, Paloczi K, et al. [A new radiation-free conditioning in bone marrow transplantation and dibromo-mannitol therapy in chronic myeloid leukemia]. *Orv Hetil* 1998 Aug 23;139(34):2003-1.
- (72) Kersten C, Delabie J, Gaudernack G, Smeland EB, Fossa A. Analysis of the autoantibody repertoire in Burkitt's lymphoma patients: frequent response against the transcription factor ATF-2. *Cancer Immunol Immunother* 2004 Jun 4.
- (73) Khouri IF, Romaguera J, Kantarjian H, Palmer JL, Pugh WC, Korbling M, et al. Hyper-CVAD and high-dose methotrexate/cytarabine followed by stem-cell transplantation: an active regimen for aggressive mantle-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1998 Dec;16(12):3803-9.

- (74) Khouri IF, Saliba RM, Okoroji GJ, Acholonu SA, Champlin RE. Long-term follow-up of autologous stem cell transplantation in patients with diffuse mantle cell lymphoma in first disease remission: the prognostic value of beta2-microglobulin and the tumor score. *Cancer* 2003 Dec 15;98(12):2630-5.
- (75) Knutson KL, Disis ML. Tumor antigen-specific T helper cells in cancer immunity and immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2005 Jan 27.
- (76) Korkolopoulou P, Angelopoulou MK, Kontopidou F, Tsenga A, Patsouris E, Thomas-Tsagli E, et al. Prognostic relevance of apoptotic cell death in non-Hodgkin's lymphomas: a multivariate survival analysis including Ki67 and p53 oncoprotein expression. *Histopathology* 1998 Sep;33(3):240-7.
- (77) Krackhardt AM, Witzens M, Harig S, Hodi FS, Zauls AJ, Chessia M, et al. Identification of tumor-associated antigens in chronic lymphocytic leukemia by SEREX. *Blood* 2002 Sep 15;100(6):2123-31.
- (78) Kwak LW. Translational development of active immunotherapy for hematologic malignancies. *Semin Oncol* 2003 Jun;30(3 Suppl 8):17-22.
- (79) Lajmanovich A, Irisarri M, Molens JP, Pasquier MA, Sotto JJ, Bensa JC, et al. Impairment of death-inducing signalling complex formation in CD95-resistant human primary lymphoma B cells. *Br J Haematol* 2004 Mar;124(6):746-53.
- (80) Lapidoth M, David M, Ben Amitai D, Katzenelson V, Lustig S, Sandbank M. The efficacy of combined treatment with prednisone and cyclosporine in patients with pemphigus: preliminary study. *J Am Acad Dermatol* 1994 May;30(5 Pt 1):752-7.
- (81) Larsson R, Jonsson B, Csoka K, Kristensen J, Nilsson K, Nygren P. Selective cytotoxic activity of cyclosporins against tumor cells from patients with B cell chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Pharmacol* 1992 Dec 1;228(4):237-40.
- (82) Laszlo J, Grizzle J, Jonsson U, Rundles RW. Comparative study of mannitol mustard, cyclophosphamide, and nitrogen mustard in malignant lymphomas. *Cancer Chemother Rep* 1962 Feb;16:247-50.
- (83) Lee PP, Zeng D, McCaulay AE, Chen YF, Geiler C, Umetsu DT, et al. T helper 2-dominant antilymphoma immune response is associated with fatal outcome. *Blood* 1997 Aug 15;90(4):1611-7.
- (84) Lennert K. Morphology and classification of malignant lymphomas and so-called reticuloses. *Acta Neuropathol Suppl (Berl)* 1975;Suppl 6:1-16.
- (85) Lennert K, Stein H, Kaiserling E. Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphomata. *Br J Cancer* 1975 Mar;31 SUPPL 2:29-43.
- (86) Levings MK, Gregori S, Tresoldi E, Cazzaniga S, Bonini C, Roncarolo MG. Differentiation of Tr1 cells by immature dendritic cells requires IL-10 but not CD25+CD4+ Tr cells. *Blood* 2005 Feb 1;105(3):1162-9.
- (87) Li L, Okino T, Sugie T, Yamasaki S, Ichinose Y, Kanaoka S, et al. Cyclophosphamide given after active specific immunization augments antitumor

immunity by modulation of Th1 commitment of CD4+ T cells. *J Surg Oncol* 1998 Apr;67(4):221-7.

- (88) Linderoth J, Jerkeman M, Cavallin-Stahl E, Kvaloy S, Torlakovic E. Immunohistochemical expression of CD23 and CD40 may identify prognostically favorable subgroups of diffuse large B-cell lymphoma: a Nordic Lymphoma Group Study. *Clin Cancer Res* 2003 Feb;9(2):722-8.
- (89) Looney RJ, Anolik JH, Campbell D, Felgar RE, Young F, Arend LJ, et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of rituximab. *Arthritis Rheum* 2004 Aug;50(8):2580-9.
- (90) Lossos IS, Bogomolski-Yahalom V, Matzner Y. Anticardiolipin antibodies in acute myeloid leukemia: prevalence and clinical significance. *Am J Hematol* 1998 Feb;57(2):139-43.
- (91) Lossos IS, Czerwinski DK, Alizadeh AA, Wechser MA, Tibshirani R, Botstein D, et al. Prediction of survival in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes. *N Engl J Med* 2004 Apr 29;350(18):1828-37.
- (92) Lukes RJ, Collins RD. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer* 1974 Oct;34(4 Suppl):suppl-503.
- (93) Lukes RJ, Collins RD. New approaches to the classification of the lymphomata. *Br J Cancer* 1975 Mar;31 SUPPL 2:1-28.
- (94) Lundin J, Osterborg A, Brittinger G, Crowther D, Dombret H, Engert A, et al. CAMPATH-1H monoclonal antibody in therapy for previously treated low-grade non-Hodgkin's lymphomas: a phase II multicenter study. European Study Group of CAMPATH-1H Treatment in Low-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol* 1998 Oct;16(10):3257-63.
- (95) Maloney DG. Graft-vs.-lymphoma effect in various histologies of non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2003;44 Suppl 3:S99-105.
- (96) Maloney DG, Grillo-Lopez AJ, Bodkin DJ, White CA, Liles TM, Royston I, et al. IDEC-C2B8: results of a phase I multiple-dose trial in patients with relapsed non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1997 Oct;15(10):3266-74.
- (97) Maloney DG, Grillo-Lopez AJ, White CA, Bodkin D, Schilder RJ, Neidhart JA, et al. IDEC-C2B8 (Rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997 Sep 15;90(6):2188-95.
- (98) Maloney DG, Sandmaier BM, Mackinnon S, Shizuru JA. Non-myeloablative transplantation. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2002;392-421.
- (99) Massaia M, Borrione P, Battaglio S, Mariani S, Beggiato E, Napoli P, et al. Idiotype vaccination in human myeloma: generation of tumor-specific immune responses after high-dose chemotherapy. *Blood* 1999 Jul 15;94(2):673-83.

- (100) McLaughlin P, Grillo-Lopez AJ, Link BK, Levy R, Czuczman MS, Williams ME, et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998 Aug;16(8):2825-33.
- (101) Moller MB, Christensen BE, Pedersen NT. Prognosis of localized diffuse large B-cell lymphoma in younger patients. *Cancer* 2003 Aug 1;98(3):516-21.
- (102) Moller MB, Pedersen NT, Christensen BE. Diffuse large B-cell lymphoma: clinical implications of extranodal versus nodal presentation--a population-based study of 1575 cases. *Br J Haematol* 2004 Jan;124(2):151-9.
- (103) Moller MB, Pedersen NT, Christensen BE. Factors predicting long-term survival in low-risk diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Hematol* 2003 Oct;74(2):94-8.
- (104) Mori T, Takada R, Watanabe R, Okamoto S, Ikeda Y. T-helper (Th)1/Th2 imbalance in patients with previously untreated B-cell diffuse large cell lymphoma. *Cancer Immunol Immunother* 2001 Dec;50(10):566-8.
- (105) Mosmann TR, Moore KW. The role of IL-10 in crossregulation of TH1 and TH2 responses. *Immunol Today* 1991 Mar;12(3):A49-A53.
- (106) Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C, Emile JF, Lederlin P, Sebban C, et al. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2--associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Blood* 2003 Jun 1;101(11):4279-84.
- (107) Mukai M, Bohgaki T, Kondo M, Notoya A, Kohno M. Changes in the T-helper cell 1/T-helper cell 2 balance of peripheral T-helper cells after autologous peripheral blood stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol* 2001 Dec;80(12):715-21.
- (108) Munthe-Kaas MC, Carlsen KH, Helms PJ, Gerritsen J, Whyte M, Feijen M, et al. CTLA-4 polymorphisms in allergy and asthma and the TH1/ TH2 paradigm. *J Allergy Clin Immunol* 2004 Aug;114(2):280-7.
- (109) Nabhan C, Peterson LA, Kent SA, Tallman MS, Dewald G, Multani P, et al. Secondary acute myelogenous leukemia with MLL gene rearrangement following radioimmunotherapy (RAIT) for non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2002 Nov;43(11):2145-9.
- (110) Nishii K, Katayama N, Mitani H, Matsumoto T, Miwa H, Kita K, et al. Effects of cyclosporin A on refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Int J Hematol* 2000 Jan;71(1):59-65.
- (111) Oh SJ, Lee KH, Lee JH, Choi SJ, Kim WK, Lee JS, et al. The risk of cytomegalovirus infection in non-myeloablative peripheral stem cell transplantation compared with conventional bone marrow transplantation. *J Korean Med Sci* 2004 Apr;19(2):172-6.
- (112) Ohlsson M, Jonsson R, Brokstad KA. Subcellular redistribution and surface exposure of the Ro52, Ro60 and La48 autoantigens during apoptosis in human

ductal epithelial cells: a possible mechanism in the pathogenesis of Sjogren's syndrome. *Scand J Immunol* 2002 Nov;56(5):456-69.

- (113) Osterborg A, Dyer MJ, Bunjes D, Pangalis GA, Bastion Y, Catovsky D, et al. Phase II multicenter study of human CD52 antibody in previously treated chronic lymphocytic leukemia. European Study Group of CAMPATH-1H Treatment in Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol* 1997 Apr;15(4):1567-74.
- (114) Otsubo S, Nitta K, Yumura W, Nihei H, Mori N. Antiphospholipid syndrome treated with prednisolone, cyclophosphamide and double-filtration plasmapheresis. *Intern Med* 2002 Sep;41(9):725-9.
- (115) Paloczi K, Berenyi E, Illes A, Nemes Z, Krasznai G, Krajczar G, et al. Clinical analysis of patients with non-Hodgkin's lymphomas (1965-1985). *Haematologia (Budap)* 1989;22(4):239-47.
- (116) Paloczi K, Berenyi E, Suranyi P, Kiss SI, Szegedi G. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of patients with non-Hodgkin lymphoma. *Acta Med Hung* 1987;44(2-3):231-41.
- (117) Pegoraro L, Palumbo A, Erikson J, Falda M, Giovanazzo B, Emanuel BS, et al. A 14;18 and an 8;14 chromosome translocation in a cell line derived from an acute B-cell leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984 Nov;81(22):7166-70.
- (118) Petersen SL, Madsen HO, Ryder LP, Svejgaard A, Jakobsen BK, Sengelov H, et al. Haematopoietic stem cell transplantation with non-myeloablative conditioning in the outpatient setting: results, complications and admission requirements in a single institution. *Br J Haematol* 2004 Apr;125(2):225-31.
- (119) Podhorecka M, Dmoszynska A, Rolinski J, Wasik E. T type 1/type 2 subsets balance in B-cell chronic lymphocytic leukemia--the three-color flow cytometry analysis. *Leuk Res* 2002 Jul;26(7):657-60.
- (120) Pohl C, Renner C, Schwonzen M, Sieber M, Lorenz P, Pfreundschuh M, et al. Anti-idiotypic vaccine against Hodgkin's lymphoma: induction of B- and T-cell immunity across species barriers against CD30 antigen by murine monoclonal internal image antibodies. *Int J Cancer* 1992 Apr 1;50(6):958-67.
- (121) Popat U, Przepiork D, Champlin R, Pugh W, Amin K, Mehra R, et al. High-dose chemotherapy for relapsed and refractory diffuse large B-cell lymphoma: mediastinal localization predicts for a favorable outcome. *J Clin Oncol* 1998 Jan;16(1):63-9.
- (122) Pusterla S, Previtali S, Marziali S, Cortelazzo S, Rossi A, Barbui T, et al. Antiphospholipid antibodies in lymphoma: prevalence and clinical significance. *Hematol J* 2004;5(4):341-6.
- (123) Rambaldi A, Carlotti E, Oldani E, Della S, I, Baccarani M, Cortelazzo S, et al. Quantitative PCR of bone marrow BCL2/IgH positive cells at diagnosis predicts treatment response and long-term outcome in Follicular non Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 2005 Jan 6.

- (124) Ramos-Casals M, De VS, Tzioufas AG. Hepatitis C virus, Sjogren's syndrome and B-cell lymphoma: linking infection, autoimmunity and cancer. *Autoimmun Rev* 2005 Jan;4(1):8-15.
- (125) Rehwald U, Schulz H, Reiser M, Sieber M, Staak JO, Morschhauser F, et al. Treatment of relapsed CD20+ Hodgkin lymphoma with the monoclonal antibody rituximab is effective and well tolerated: results of a phase 2 trial of the German Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood* 2003 Jan 15;101(2):420-4.
- (126) Rossmann ED, Lewin N, Jeddi-Tehrani M, Osterborg A, Mellstedt H. Intracellular T cell cytokines in patients with B cell chronic lymphocytic leukaemia (B-CLL). *Eur J Haematol* 2002 May;68(5):299-306.
- (127) Rowan W, Tite J, Topley P, Brett SJ. Cross-linking of the CAMPATH-1 antigen (CD52) mediates growth inhibition in human B- and T-lymphoma cell lines, and subsequent emergence of CD52-deficient cells. *Immunology* 1998 Nov;95(3):427-36.
- (128) Scott P, Pearce E, Cheever AW, Coffman RL, Sher A. Role of cytokines and CD4+ T-cell subsets in the regulation of parasite immunity and disease. *Immunol Rev* 1989 Dec;112:161-82.
- (129) Simonitsch-Klupp I, Hauser I, Ott G, Drach J, Ackermann J, Kaufmann J, et al. Diffuse large B-cell lymphomas with plasmablastic/plasmacytoid features are associated with TP53 deletions and poor clinical outcome. *Leukemia* 2004 Jan;18(1):146-55.
- (130) Spurr CL, Smith TR, Block M, Jacobson LO. The role of nitrogen mustard therapy in the treatment of lymphomas and leukemias. *Am J Med* 1950 Jun;8(6):710-23.
- (131) Swissa M, Cohen Y, Shoenfeld Y. Autoantibodies in the sera of patients with lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1992 May;7(1-2):117-22.
- (132) Terol MJ, Tormo M, Martinez-Climent JA, Marugan I, Benet I, Ferrandez A, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (s-ICAM-1/s-CD54) in diffuse large B-cell lymphoma: association with clinical characteristics and outcome. *Ann Oncol* 2003 Mar;14(3):467-74.
- (133) Tester WJ, Kinsella TJ, Waller B, Makuch RW, Kelley PA, Glatstein E, et al. Second malignant neoplasms complicating Hodgkin's disease: the National Cancer Institute experience. *J Clin Oncol* 1984 Jul;2(7):762-9.
- (134) Timmerman JM, Czerwinski DK, Davis TA, Hsu FJ, Benike C, Hao ZM, et al. Idiotype-pulsed dendritic cell vaccination for B-cell lymphoma: clinical and immune responses in 35 patients. *Blood* 2002 Mar 1;99(5):1517-26.
- (135) Timuragaoglu A, Duman A, Ongut G, Saka O, Karadogan I. The significance of autoantibodies in non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2000 Dec;40(1-2):119-22.
- (136) Tsuda H, Yamasaki H. Type I and type II T cell profiles in chronic myelogenous leukemia. *Acta Haematol* 2000;103(2):96-101.

- (137) Tsuda H, Yamasaki H. Type I and type II T-cell profiles in aplastic anemia and refractory anemia. *Am J Hematol* 2000 Aug;64(4):271-4.
- (138) Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce CM. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science* 1985 Jun 21;228(4706):1440-3.
- (139) Van Den NE, Maerevoet M, Martiat P, Ferrant A, Delannoy A, Michaux JL. Cyclosporin A in the treatment of refractory B chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Leukemia* 1995 Jun;9(6):1102-3.
- (140) Varoczy L, Gergely L, Zeher M, Szegedi G, Illes A. Malignant lymphoma-associated autoimmune diseases--a descriptive epidemiological study. *Rheumatol Int* 2002 Nov;22(6):233-7.
- (141) Vukmanovic-Stejic M, Vyas B, Gorak-Stolinska P, Noble A, Kemeny DM. Human Tc1 and Tc2/Tc0 CD8 T-cell clones display distinct cell surface and functional phenotypes. *Blood* 2000 Jan 1;95(1):231-40.
- (142) Wiestner A, Staudt LM. Towards molecular diagnosis and targeted therapy of lymphoid malignancies. *Semin Hematol* 2003 Oct;40(4):296-307.
- (143) Witzig TE. The use of ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for patients with relapsed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 2000 Dec;27(6 Suppl 12):74-8.
- (144) Witzig TE. Radioimmunotherapy for patients with relapsed B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2001 Aug;48 Suppl 1:S91-S95.
- (145) Witzig TE, Flinn IW, Gordon LI, Emmanouilides C, Czuczman MS, Saleh MN, et al. Treatment with ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy in patients with rituximab-refractory follicular non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2002 Aug 1;20(15):3262-9.
- (146) Yang L, Carbone DP. Tumor-host immune interactions and dendritic cell dysfunction. *Adv Cancer Res* 2004;92:13-27.
- (147) Yi Q. Immunotherapy in multiple myeloma: current strategies and future prospects. *Expert Rev Vaccines* 2003 Jun;2(3):391-8.
- (148) Yi Q, Desikan R, Barlogie B, Munshi N. Optimizing dendritic cell-based immunotherapy in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2002 May;117(2):297-305.
- (149) Zufferey P, Meyer OC, Grossin M, Kahn MF. Primary Sjogren's syndrome (SS) and malignant lymphoma. A retrospective cohort study of 55 patients with SS. *Scand J Rheumatol* 1995;24(6):342-5.