

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D) ÉRTEKEZÉS

Interferon-alfa alkalmazása a gyermekonkológiában

Dr. Szegedi István

Témavezető: Dr. Kiss Csongor
egyetemi tanár

Debreceni Egyetem
Orvos és Egészségtudományi Centrum
Gyermecklinika
2006

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke	3. oldal
2. Bevezetés, célkitűzések	5. oldal
3. Irodalmi áttekintés	9. oldal
4. Anyagok és módszerek	25. oldal
5. Eredmények	31. oldal
6. Megbeszélés	37. oldal
7. Összefoglalás, summary	44. oldal
8. Irodalomjegyzék, saját közlemények	46. oldal
9. Új megállapítások	70. oldal
10. Az eredmények hasznosítása	70. oldal
11. Köszönetnyilvánítás	71. oldal
12. Ábrák, táblázatok és mellékletek	72. oldal
13. Függelék: az értekezés alapját képző közlemények másolatai	100. oldal

1. Rövidítések jegyzéke

ALL: akut limfoblasztos leukaemia
AmixL: akut kevert-sejtes leukaemia
AML: akut mieloid leukaemia
AMM: agnogén mieloid metaplázia
ARA-C: cytarabin
ASP: asparaginase
BCP: B-sejt („cell”) progenitor
BFM: Berlin-Frankfurt-Münster munkacsoport
BFU-E: korai eritroid elődsejt („burst forming unit”)
CFU: kolóniaképző elődsejt („colony forming unit”)
CFU-E: késői eritroid elődsejt, eritroid CFU
CFU-GM: mieloid elődsejt, granulocita-makrofág CFU
CFU-MK: trombopoetikus elődsejt, megakariocita CFU
CM: kután mastocytosis
CML: krónikus mieloid leukaemia
CNS: központi idegrendszer („central nervous system”)
CR: komplett remisszió
CSF: kolónia-stimuláló faktor
CT: komputer tomográfia
CYC: cyclophosphamid
DAL-HX-90: Német-osztrák Langerhans-sejtes histiocytosis kezelési protokoll
DNR: daunorubicin
EPO: eritropoetin
ET: essentialis thrombocythaemia
FAB: Francia-Amerikai-Brit munkacsoport
FVIII: VIII-as véralvadási faktor
G/GM-CSF: granulocita/granulocita-makrofág CSF
HHV-8: humán herpeszvírus 8
HR: magas („high”) rizikójú (ALL, illetőleg ALL kezelési blokk)
IFN: interferon
IFN α/γ : interferon-alfa/-gamma
IHES: idiopátiás hypereosinophil szindróma

IL: interleukin
IMF: idiopátiás mielofibrózis
IR: intermediér rizikójú (ALL)
JAK: Janus kináz
JMML: juvenilis mielomonocitás leukaemia
LCH: Langerhans-sejtes histiocytosis
MDS: mielodiszpláziás szindróma
MFI: átlagos fluoreszcencia intenzitás
MIBG: meta-jodo-benzil-guanidin
MPD: mieloproliferatív betegség
MRD: minimális reziduális (MaRaDék) betegség („disease”)
MRI: mágneses rezonancia képalkotás
MTX: methotrexate
My+ALL: mieloid markereket hordozó ALL
NHL: non-Hodgkin lymphoma
OS: teljes túlélés („overall survival”)
PD: progresszív betegség („progressive disease”)
Ph: Philadelphia kromoszóma
PNET: primitív neuroectodermális tumor
PR: parciális remisszió
PV: polycythaemia vera
RAEB: refrakter anaemia blaszt túlsúllyal (RA „with excess blasts”)
rh: rekombináns humán
SCF: őssejt faktor, c-kit ligand
SD: stabil betegség („stable disease”)
SR: standard rizikójú (ALL)
TK: tirozin kináz
TPO: trombopoetin
VCR: vincristin
VEGF: vaszkuláris endoteliális növekedési („growth”) faktor
WHO: Egészségügyi Világszervezet („World Health Organization”)

2. Bevezetés

A debreceni Orvostudományi Egyetem Gyermekklinikája a Magyar Gyermekorvos Társaság Gyermekonkológiai Szekciójának regionális centrumaként működik. A gyermekonkológiai központokban országosan évente mintegy 300 új tumoros, 70-80 új leukaemiás eset kerül diagnosztizálásra, melyből Klinikánkon évente 35-40 új rosszindulatú vérképzőszervi illetőleg egyéb daganatos megbetegedésben szenvedő gyermek ellátása történik. Hasonlóan a nemzetközi halálozási adatokhoz, hazánkban is a rosszindulatú betegségek képviselik a második leggyakoribb halálokat a gyermekkorban, s az esetek egyharmadát kitevő rosszindulatú vérképzőszervi betegek gyógykezelése jelenti napjaink talán legnagyobb terápiás kihívását.

Az elmúlt évtizedekben a biológiai ismeretek bővülése, a diagnosztikus és terápiás lehetőségek fejlődése következtében a korábban csaknem kivétel nélkül fatális gyermekkori daganatos betegségek mintegy 70%-ban gyógyíthatókká váltak [1]. Ez a kedvező változás elsősorban az intenzív kombinált kemoterápiás protokollok és a szupportáló kezelés területén megfigyelhető robbanásszerű fejlődés javára írható, melyek alkalmazása drámai módon javította az akut leukaemiák kezelési eredményeit is [2]. Jelenleg az akut limfoblasztos leukaemiában (ALL) szenvedő gyermekek mintegy 80%-a meggyógyul, 20%-át azonban terápia rezisztencia, relapszus vagy a kezelés toxikus, infekciós szövődményei következtében elveszítjük. Sajnos a túlélési eredmények javulásában megfigyelhető kedvező tendencia lelassult, az utóbbi évtizedben jelentős előrelépés nem történt, minden egyes százalékpontnyi további javulás óriási erőfeszítéseket igényel [3-5]. Sajátságos ellentmondás, hogy az anti-leukaemiás, anti-neoplasztikus protokollok alkalmazásának határt szab toxicitásuk - elsősorban mielotoxikus és immunszuppresszív tulajdonságuk - másrészt viszont a klinikai tanulmányok amellet tanúskodnak, hogy az egyes kezelési sémák agresszivitása kedvezően befolyásolja a gyógyulás eredményességét [6]. Egyre nagyobb hangsúlyt kap a túlélési adatok mellett az életminőség, melynek figyelembe vételével a jelenlegi kezelés intenzitása a kifejezett toxikus hatások miatt masszív szupportáló kezelés mellett sem fokozható tovább.

A gyermekkori akut limfoblasztos leukaemia kapcsán elért eredmények olyan úttörő jellegűek voltak, amelyek a „felnőtt” hematológiára is termékenyítőleg hatottak. Önteltség nélkül állíthatjuk, hogy a gyermekhematológusok a kombinált kemoterápiás protokoll stratégiája kidolgozásának zászlóvivői voltak. Ugyanakkor vannak olyan, a felnőtt betegek között gyakori rosszindulatú vérképzőszervi megbetegedések, így a mieloproliferatív megbetegedések és a mielodiszpláziás szindróma, amelyeknek a létezése a gyermekkorban –

a krónikus mieloid leukaemia kivételével – vitatott volt. A gyermekkori mieloproliferatív kórképekről magyar nyelven a közelmúltban nem jelent meg korszerű összefoglaló cikk, sem tankönyvi adat. Ebben a két betegségcsoportban a gyermekhematológusok „szorultak” a „felnőtt” hematológusok útmutatására. Érdeklődésem úgy az akut leukaemia, mint a krónikus gyermekkori vérképzőszervi rosszindulatú megbetegedések vonatkozásában a már elért szép eredmények további javításának lehetősége és igénye keltette fel.

Előrelépést jelent a betegek rizikó tényezők szerinti csoportosítása, az egyénre, a rosszindulatú betegség altípusára szabott kezelés bevezetése. Új terápiás stratégiai elem a gazdaszervezet ellenálló képességének növelését illetőleg a leukaemia/tumor sejtek biológiai tulajdonságainak módosítását célzó, kevésbé toxikus vegyületek, eljárások alkalmazása. Ezek a terápiás modalitások most kezdik helyüket megtalálni a kezelés fegyvertárában, azonban gyermekkorban csak ritkán alkalmazhatók. A beteg immunválaszának fokozása jelentékenyen hozzájárul a súlyos fertőzések leküzdéséhez csakúgy, mint a kóros klón elpusztításához [7, 8]. A leukaemia sejtek extracelluláris szabályozása, genetikai állományának befolyásolása képes a kóros sejtpopuláció újdonszerűsödése és terminális differenciálódása között fennálló egyensúlyzavar megváltoztatására [9]. Joggal remélhetjük tehát, hogy a monoklonális antitestek, citokinek, a differenciálódást indukáló, az angiogenezist gátló és egyéb biomoduláns vegyületek intelligens kombinációja tovább javítja majd a citoablatív terápiával illetőleg vérképző őssejt-átültetéssel elért eredményeket [10-12].

Az elmúlt évek kutatási eredményei, köztük saját megfigyeléseink mellett szólnak, hogy a citokinek eltérő módon befolyásolják a normál csontvelői vérképző elődsejtek és a leukaemia sejtek szaporodását és érését: bizonyos növekedési faktorok és kombinációk elősegítik a leukaemia sejtek in vitro szaporodását, míg mások elsősorban terminális érésüket és, az apoptózis folyamata révén, pusztulásukat idézik elő [13-16]. Az ismert citokinek közül a granulocita-stimuláló faktor (G-CSF), a granulocita–makrofág (GM)-CSF, valamint interleukin (IL)-3 már bevezetésre került leukaemiás és egyéb klonális limfo-hemopoetikus kórformákban szenvedő betegek terápiás sémájába, a normál csontvelői sejtek serkentése céljából [17-20]. A hemopoetikus növekedési faktorok leukaemia sejtekre kifejtett stimuláló hatása azonban negatívan befolyásolhatja az antileukaemiás kezelés terápiás effektusát. Tekintettel arra, hogy az őssejt faktor (SCF) az őssejteknek és a legkorábbi progenitoroknak, a G-CSF és GM-CSF pedig elsősorban az elkötelezett mieloid, különösen a granulocita-makrofág vonal sejteinek növekedését befolyásolja, nem meglepő ezen faktorok mieloid leukaemia sejteket stimuláló hatása [21-25]. Ugyanakkor T-sejtes, B-sejtes és My+ALL sejteken is igazolható az SCF receptorok jelenléte, s az SCF bizonyítottan fokozza számos

leukaemia sejtvonal proliferációját, köztük elsősorban T-limfoblasztos leukaemia sejtvonalakét [26-32].

A kedvezőtlen, szaporodást serkentő hatás mellett figyelmet érdemel a citokinek illetőleg kombinációjuk proliferációt gátló hatása, mely tulajdonság kiaknázható a neopláziák kezelésében. Legintenzívebben az IL-2 és a tumor nekrozis faktor (TNF) daganat ellenes hatását vizsgálták [33]. Előbbi, többek között a tumor specifikus T-sejtek, a limfokin-aktivált ölő (LAK) sejtek aktiválása révén, utóbbi a monocita citotoxicitás, a peroxid termelés fokozása révén fejt ki hatását [34-36]. Biztató vizsgálatok folynak T-sejt működést szabályozó, angiogenezist gátló és egyéb daganat ellenes hatással rendelkező proinflammatorikus citokinekkel, mint az IL-12, IL-18 és az IL-27 [37-39].

A különböző citokinek és kombinációjuk eltérően változtatják meg a leukaemia/lymphoma sejtek önmegújulása és terminális differenciálódása közötti egyensúlyt. Ezt a differenciális szabályozó hatást önmagában vagy citosztatikus hatású gyógyszerekkel együtt a leukaemiás, neoplasztikus klón gyors és tökéletes elpusztítására használhatjuk ki a normál vérképző elemek viszonylagos megkímélése mellett.

Az interferonok, vírus ellenes hatásuk mellett, elősegítik az emlős sejtek differenciálódását. A sejt szaporodás gátlásával, a szervezet tumor ellenes védekezést serkentő mechanizmusaival erőteljes daganat ellenes hatást fejtenek ki, amelyet felnőttkori rosszindulatú vérképzőszervi és szolid tumoros megbetegedésekben széles körben felhasználnak [40, 41]. A Philadelphia pozitív (Ph+) krónikus mieloid leukaemia (CML) interferon-alfa (IFN α) kezelése kapcsán észlelt kedvező citogenetikai válasz és túlélési előny új korszakot nyitott ezen anti-neoplasztikus glikoproteinek terápiás alkalmazásában. Ph+ CML mellett az IFN α hazánkban törzskönyvezve van follikuláris non-Hodgkin lymphomában (NHL), hajás-sejtes leukaemiában, kután T-sejtes lymphomában, Kaposi sarcomában és malignus melanomában. Terápiás hatékonysága a felnőttkorban gyakori, gyermekkorban elvétve előforduló mieloproliferatív kórképek kezelésében is igazolást nyert (I. táblázat). Az irodalomban közölt, mintegy 50 gyermekkori essentialis thrombocythemiás (ET) eset kevés IFN α kezeléssel szerzett tapasztalatról számol be, azonban felnőtt ET betegek IFN α kezelése kapcsán a tanulmányok 78%-os kedvező válaszreakciót közöltek [42, 43]. Az IFN α kezelés klinikai hatékonyságát gyermekkori rosszindulatú kórképekben kevés számú és kicsiny betegcsoportot átölő klinikai tanulmány, esetközlés demonstrálta [44-46]. A Ph+ CML, amelyben az IFN α kezelés bizonyítottan hatékony, mindössze töredéke a gyermekkori neopláziáknak. Gondos és következetes in vitro kísérletek és klinikai tanulmányok végzésére

van tehát szükség, hogy a már bevezetett citokinek terápiás alkalmazása mellett meggyőződjünk ezen különösen hatékony szabályozó molekulák biztonságos gyermekhematológiai-onkológiai alkalmazásainak lehetőségéről.

Hipotézis

Az interferonok in vitro tumor-ellenes hatása közismert. Terápiás hatékonyságuk számos felnőttkori daganatos megbetegedésben bizonyítást nyert. A gyermekkori rosszindulatú elváltozásokból származó szövet- illetve sejtmintákban kimutatható, funkcionáló I-es típusú IFN receptorok jelenléte joggal enged arra következtetni, hogy az I-es típusú interferonok legelterjedtebb reprezentánsát, az IFN α -t gyermekkori neoplasztikus betegségekből is sikerrel alkalmazhatjuk mono- vagy kombinációs terápia formájában. A potenciális terápiás célbetegségek közé sorolhatjuk az akut leukaemiát, a non-Hodgkin lymphomát, a mielodiszpláziás szindrómát, a mieloproliferatív betegségeket, a Langerhans-sejtes histiocytosist (LCH), a velőcső eredetű és a központi idegrendszeri eredetű tumorokat, a lágyrész sarcomát és az osteosarcomát [47].

Célkitűzés

Az IFN α hatásmechanizmusának, lehetséges terápiás szerepének tisztázására további vizsgálatok szükségesek.

1. Célul tűztem ki az I-es típusú interferonok daganat-ellenes hatásainak és alkalmazásainak irodalmi áttekintését gyermekkori neoplasztikus kórfolyamatokban különös tekintettel a ritka, gyermekkori mieloproliferatív megbetegedésekre.
2. Tanulmányozni kívántam az IFN α -2b hatását egészséges köldökzsinórvér-eredetű B-limfociták és B-sejtes leukaemia/lymphoma sejtvonalak szaporodási és differenciálódási tulajdonságaira in vitro rendszerben.
3. Vizsgálni kívántam, hogy milyen hatást fejt ki az IFN α -2b essentialis thrombocytosisban (ET) szenvedő gyermekbeteg csontvelői progenitor sejtjeire klonogén esszében.
4. Tanulmányozni kívántam az IFN α terápiás alkalmazásának lehetőségeit terápia-refrakter, recidiváló, kiemelten kedvezőtlen kórjóslatú gyermekkori neoplasztikus megbetegedésekben, különös tekintettel az in vitro vizsgálatba is bevont ET beteg esetére, valamint az IFN α kezelés, illetőleg az IFN α kezeléssel párhuzamosan alkalmazott isotretinoin kezelés mellékhatásaira.

3. Irodalmi áttekintés

3.1 A rosszindulatú gyermekkori vérképzőszervi betegségek kezelésének története

Az 1950-es éveket megelőzően a gyermekkori leukaemiát nem különítették el akut limfoblasztos (ALL) és akut mieloid leukaemiás (AML) esetekre. A leukaemia diagnózisa fatális kimenetelt jelentett, 3 hónapos átlagos túléléssel. Az egyedüli kezelési próbálkozást a vörösvérsejt transfúzió képviselte, s fertőzés vagy vérzés jelentette a halál okát. Az 1950-1960-as évek ígéretes előrelépést hoztak. Farber és munkatársai alkalmaztak először kemoterápiát gyermekkori ALL-ben. Kezdetben folsavval, majd annak antagonistájával, a methotrexáthoz (MTX) hasonló kémiai szerkezetű aminopterinnel próbálkoztak [48]. George Hitchings és Trully Elion állították elő elsőként a 6-mercaptopurint (6-MP). Munkájukat Nobel díjjal ismerték el [49]. A prednison (PRED) már ekkor széleskörben alkalmazták számos betegség, így rosszindulatú vérképzőszervi folyamatok kezelésében is. Ezeknek a gyógyszereknek a monoterápiás alkalmazása csupán átmeneti, esetleg csak részleges remissziót idézett elő, jelezve a kemoterápiás próbálkozások hatékonyságát, de ezzel a módszerrel tartós túlélést nem sikerült elérni. 1958-1962 között a gyermekkori leukaemia kezelésére szisztematikus kombinációs kemoterápiás próbálkozások történtek, főleg Emil Frei vezetésével a „National Cancer Institute”-ban és Donald Pinkel irányításával a „Roswell Park Cancer Institute”-ban. Az 1960-1967 közötti periódust a mikroszkópos diagnosztika fejlődése, a leukaemiás folyamat szisztémás jellegének felismerése, a szisztémás kezelési elvek tisztázása, a remisszió lényegének felismerése és definiálása, illetőleg a leukaemiák finomabb osztályozása jellemezte. Ekkor került bevezetésre a Vincristin (VCR), az L-asparaginase (ASP), a cyclophosphamid (CYC), a daunomycin (DNR), a cytarabin (ARA-C), s kezdtek körvonalazódni a kezelés alapvető szakaszai, a remisszó indukció, az intenzifikáció, a konszolidáció, valamint a fenntartó terápia. Pinkel szerepe alapvető a leukaemiás idegrendszeri érintettség/relapszus szerepének, a specifikus központi idegrendszeri kezelés, illetőleg profilaxis szükségességének felismerésében [50-52]. 1962-1965 között végezték az első, a „totális terápia” stratégiáját alkalmazó, klinikai tanulmányt a memphisi (Tennessee, USA) St. Jude kórházban, tesztelve a VCR/PRED indukció, az 500/1200 cGy profilaktikus kraniospinális sugárkezelés, illetve az azt követő fenntartó kemoterápia szerepét. A memphisi protokoll eredményezett először érdemleges arányban tartós túlélést-gyógyulást gyermekkori ALL-ben [53].

Már a próbálkozások ezen korai szakaszában felmerült, hogy az erőfeszítéseknek nem kizárólag a túlélési arány javítására kell irányulniuk, hanem a toxicitás csökkentésére, az

életminőség javítására is. Ez az elv vezetett a féldózisú, a központi idegrendszeri (CNS) sugárprofilaxist elhagyó kezelési séma kipróbálásához - katasztrófális végeredménnyel. A betegek 60%-ában lépett fel CNS érintettség. 1967-től a maximálisan-tolerálható dózis, az agresszív szupportáló kezelés és az optimális CNS profilaxis beállításának vizsgálata folyt. A VCR és PRED kombináció maradt az indukció gerince, magas dózisú 6-MP, MTX és CYC kezelés képviselte az intenzifikációt, amit 2400 cGy CNS sugárkezelés és intrathecalis MTX adása követett. A fenntartó kezelésben 6MP, MTX és CYC, valamint PRED/VCR lökéskézelések szerepeltek. Ez lényegében a ma is használatos protokollok váza, mely már 50%-os tartós túlélést eredményezett [54]. 1968-1970 között a betegeket terápiás csoportokba randomizálták, s a remisszióban kialakuló infekciós halálozás (így pneumocystis carinii pneumonia, varicella) kivédésére irányult a figyelem. 1970-1980 között a kezelés-leállítás optimális időpontjának, a prognosztikai faktorok finomításának, a szupportáló kezelés, így a trombocita (Thr) pótlás, a korszerű antibiotikum terápia fejlesztési lehetőségeinek vizsgálata folyt. Ekkor történt a T-sejtes alcsoport elkülönítése [55, 56]. Az ezt követő évtizedet a citogenetika, a molekuláris genetika fejlődése uralta, mely többek között elvezetett a betegség kialakulásának jobb megértéséhez, a genetikai prognosztikai faktorok megismeréséhez, a maradék betegség (MRD) kimutatásához.

3.2 A gyermekkori akut limfoblasztos leukaemia és non-Hodgkin lymphoma korszerű kezelése

Napjainkban a gyermekkori akut leukaemiás és non-Hodgkin lymphomás betegek 80%-a tartós túlélő. Az ALL kezelésére sok más ország mellett jelenleg Magyarországon is alkalmazott „ALL IC-BFM 2002 protokoll” (I. melléklet) alapvető része a VCR/PRED/DNR/ASP (protokoll I/1. fázis) és az CYC/ARA-C/6MP (protokoll I/2. fázis) indukciós kezelés, a közepes (BCP-ALL), illetőleg nagy dózisú (T-ALL) MTX-szel és intrathecalis MTX-szel folytatott központi idegrendszeri „szentély”-terápia (protokoll-mM/M), az indukcióhoz hasonló reindukció vagy intenzifikáció (protokoll II vagy III), illetve a 1,5 éves MTX/6MP per os fenntartó kezelés. Egyértelmű pozitívuma a jelenlegi kezelési protokollnak, hogy standard rizikó (SR) esetén csökkentett intenzitású, magas rizikó (HR) esetén intenzívebb kezelést alkalmaz az intermedier csoporthoz (IR) képest. A HR csoportba soroljuk a PRED kezelésre kedvezőtlenül reagáló, a csecsemőkori leukaemiára jellemző t(4;11), illetőleg a t(9;22) kromoszóma transzlokációkat hordozó betegeket. Ezen esetek konszolidációs kezelése az SR és IR csoportban alkalmazott protokoll mM/M-hez viszonyítva toxikusabb, kombinált citosztatikus „HR” blokkok adásából áll (II. melléklet), mely blokkok

közötti G-CSF kezelés a kedvezőtlen csontvelői hatás és az azzal járó egyéb szövődmények mérséklését szolgálja. Az allogén, HLA-identikus (testvér vagy idegen donor) csontvelői őssejt átültetés (SCT) abszolút indikációját a t(9;22) transzlokációs esetek, az igen korai relapszust (kezelés befejezését követő 6 hónapon belül) mutató esetek, illetőleg a rossz terápiás választ mutató, elsősorban adolescens korban megjelenő T-sejtes ALL esetek jelentik [57, 58]. Ugyanakkor a t(4;11) transzlokáció, mely korábban abszolút indikáció körébe soroltak átkerült az SCT relatív indikációs körébe. A tartós eseménymentes túlélési eredmények az SR, IR illetve a HR csoportban 85-90%, 75-80% illetve 50-55% [59]. Az ALL-IC-BFM 2002 gyengeségnek tekinthetjük, hogy a kezelés túl komplex, túl költséges, toxikus és a gyógyszerek ugyanazok, amelyeket a 60-as években is használtak. A betegség pontos etiológiája még ismeretlen, prevenciója megoldatlan. A gyermekkori ALL jelenlegi kezelési protokolljaival még mindig a betegek 20%-át veszítjük el!

A nyirokcsomót érintő BCP és T-sejtes limfoblasztos lymphomák (TdT pozitív, FAB L1, L2 morfológiájú sejtek) valamint a ritka perifériás pleomorf T-sejtes lymphomák kezelési elve, terápiás sémája csaknem teljesen megegyezik az ALL kezelésével (NHL-BFM 95 protokoll/I-es terápiás csoport; III. melléklet). Az érett B-sejtes nem limfoblasztos perifériás lymphomák (TdT negatív, FAB L3 morfológiájú sejtek), a perifériás B-sejtes centroblasztos, az immunoblasztos, a nagy diffúz B-sejtes és a nagy mediastinális B-sejtes lymphomák kezelése a magas rizikójú ALL blokk-szerű kezelési sémájára hasonlít (NHL-BFM 95 protokoll/II-es terápiás csoport; IV. melléklet). A gyermekkorban ritkán előforduló nagysejtes anaplasztikus és a limfohisztiocitás lymphomák kezelése a megelőző terápiás csoporthoz hasonló tartamú és időzítésű, de kevésbé intenzív blokkok formájában történik (NHL-BFM-95 protokoll/III-as terápiás csoport; V. melléklet). A NHL-ban, annak második vagy harmadik relapszusa esetén, a kezelés intenzitása autológ SCT alkalmazásával fokozható.

A 80-as évektől a túlélési eredményekben létrejövő minden további 0,5-1%-os javulás óriási küzdelem eredménye, a kezelési intenzitás jelentős növelése a toxikus halálozást fokozná, így további előrelépést új terápiás modalitások bevezetése jelenthet.

3.3 Mieloproliferatív kórképek a gyermekkorban

A vérképző őssejtekből és elődsejtekből kialakuló idült rosszindulatú folyamatok több betegség képében jelentkeznek. A mielodiszplázias szindrómák (MDS) és a mieloproliferatív betegségek (MPD) a krónikus rosszindulatú mieloid vérképzési zavarok jellegzetes manifesztációi (1. ábra) [60]. A klonális eredetű, heterogén MDS-t a csontvelői őssejt károsodott differenciálódási programja, diszplázias jegyeket viselő ineffektív hematopoézis,

progresszív, terápia refrakter perifériás citopénia jellemzi, akut leukaemiás progresszió lehetőségével. Ezzel szemben az MPD rendszerint egy vagy több sejtvonalra kiterjedő mieloid sejt expanzióval, jelentős perifériás sejtszám emelkedéssel jár, diszpláziás jegyek nélkül.

A mieloproliferatív zavar elnevezést Dameshek vezette be 1951-ben [61]. A klasszikus besorolás szerint ide tartozó polycythemia rubra vera (PV), az essentialis thrombocythosis (ET), a krónikus mieloid leukaemia (CML) és az agnogén mieloid metaplázia (AMM), más néven idiopátiás mielofibrózis (IMF) elsősorban az idős korosztály betegsége, de egyre gyakrabban ismerjük fel a sajátos gyermekkori megjelenési formákat is. Az MDS és az MPD pontos gyermekkori incidenciáját nem ismerjük, a vérképzőszervi malignitások mintegy 3-10 %-át alkotják [62]. A leggyakoribb gyermekkorban megjelenő MPD az adult típusú, Ph+, t(9;22)/BCR/ABL átrendeződéssel jellemzett krónikus mieloid leukaemia (CML) és a közel azonos gyakoriságú juvenilis mielomonociter leukaemia (JMML). Az egyéb „klasszikus” formák (PV, ET, IMF/AMM) gyermekkori megjelenése irodalmi ritkaság.

CML-ben az eredetileg Philadelphia kromoszómának elnevezett reciprok transzlokáció a t(9;22) a 9-es kromoszómán lévő c-abl gén juxtapozícióját eredményezi a 22-es kromoszóma Bcr régiójába. A fúziós BCR-ABL onkogén tirozin kináz aktivitású kiméra protein, amely kulcsszerepet játszik a malignus transzformációban [63]. A kiméra protein terápiás targetként szolgál, a betegség hatékonyan kezelhető a tirozin kináz gátló imatinib mesyláttal (Glivec®).

Az MPD-ben megfigyelhető kóros növekedési faktor és egyéb citokin érzékenységet magyarázhatja a 9 kromoszóma rövid karján található Janus kináz 2 (JAK2) citoplazmatikus tirozin kináz génjének V617F mutációja [64-69]. Ez a fehérje szerepet játszik a vérképző őssejtek proliferációját, differenciálódását befolyásoló citokinek (IL-3, TPO, G-CSF, GM-CSF, EPO) jelátvitelében. A V617F mutáció eredménye a molekula JH1 doménjének konstans aktiválódása, mely folyamatos foszforilációt, következményes sejtproliferációt és malignus transzformációt eredményez. Felnőttkori PV 65-97%-ában, ET 23-57%-ában, MF 30-57%-ában mutatható ki [66, 67, 70, 71]. A JAK2 V617F mutáció előfordulása gyermekkorban ritkább [72]. A diszregulált kinázok kóros tirozin foszforilációja közös patofiziológiai tényező lehet a hasonló mieloid zavarokban.

A hematopoetikus citokinek szerepe a kóros proliferáció kialakulásában, a neoplasztikus folyamat progressziójában nem pontosan definiált [73]. A rosszindulatú vérképzőszervi betegség kóros citokin reguláció hiányában is kialakulhat. Ismert, hogy MPD-

ben a hematopoetikus sejtek spontán (növekedési faktor hiányában is létrejövő) kolónia képzéssel jellemezhetők [74]. Az eddig vizsgált ET esetekben sem a trombopoietin (TPO), sem receptorának (c-mpl) eltérését nem igazolták. A normál vagy magas TPO szint a negatív visszacsatolás zavarára utal, csakúgy mint a trombociták és a megakariociták csökkent TPO receptor szintje [75, 76]. Úgy tűnik, hogy a növekedési faktorok a mieloproliferatív zavarokban nem kóroki tényezők, azonban a csontvelői fibrózis patogenezisében szerepük lehet [77].

Az MPD klinikai jellemzői

A kezdeti klinikai tünetek az egyes kórképekben eltérők. A kórlefolyást a mieloid sejtek fokozott szaporodásából eredő mikrocirkulációs zavarok, a hemosztázis eltérései (vérzés és trombózis egyaránt előfordulhat), a következményes fertőzések és a leukaemiás transzformáció határozzák meg. A trombohemorrhágiás szövődmények PV és ET esetén a legjellemzőbbek [78]. Az endotél-trombocita-leukocita-koagulációs kaszkád aktiválódás révén kialakuló artériás és vénás trombotikus szövődmények miatt neurológiai szimptómák jelenhetnek meg [79, 80]. A vérlemezkék funkcionális zavarával kísért emelkedett trombocita szám mellett kialakuló spontán vérzéses epizódok rendszerint enyhék [80]. Az emelkedett vörösvérsejt szám relatíve specifikus PV-ra, a thrombocytosis ET mellett CML tünete lehet, mely kórképekben csontvelői fibrózis is megjelenhet AMM-t utánozva.

Az MPD prognózisa változó. A leggyakoribb halálok a trombózis vagy leukaemiás transzformáció. Utóbbi a polycythaemiás betegek 10-25, az essentialis thrombocythaemiás betegek mintegy 5%-ában következik be [81, 82]. A kezeletlen esetek között a túlélés kevesebb mint 5 év AMM-ben, közel normál az életkilátás ET-ban [83].

Adult típusú CML

A felnőttkori leukaemiák 15-20%-a, gyermekkori esetek 1-3%-a. A gyermekkorban leggyakrabban megjelenő mieloproliferatív kórkép, főleg idősebb gyermekekben lép fel. Egyedüli ismert rizikó faktora az ionizáló sugárzás [84]. A kezdeti tüneteket a gyengeség, súlyvesztés, láz, izzadákonyság, sápadtság, splenomegalia, ritkábban hepatomegalia, adenomegalia uralja. A hiperleukocytosis mértéke kifejezettebb fiatakorban (átlag $360,000/\text{mm}^3$) mint felnőttkorban ($137,000/\text{mm}^3$), fokozott központi idegrendszeri, retineális és pulmonális tüneteket okozva. Előfordulhat priapizmus, trombocita diszfunkció következtében kialakuló vérzéses epizód, emelkedett húgysavszint miatt fellépő arthritis. A perifériás vérben granulocytosis, eosinophilia, basophilia, éretlen elemek, thrombocytosis, anaemia alakulnak ki. A „hiatus leukaemicus”-t az érett neutrofil sejtekhez viszonyítva magasabb mielocita arány okozza. Extramedullaris hemopoezis tüneteit észleljük. Csontvelői

mieloid hiperplázia, változó mértékű csontvelői fibrózis, valamint fokozott vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) kifejeződés okozta intenzív csontvelői érezettség jellemzi. Emelkedett a szérumban B12 vitamin szint, csökkent a leukocita alkalikus foszfatáz (LAP/GAPA) aktivitás, szemben a PV-ban tapasztalható, infekciót kísérő normál/emelkedett LAP szinttel.

A CML kezelés nélküli kórlefolyása trifázisos. A kezdeti krónikus fázis, melyre az anaemia, izzadás, testsúlycsökkenés, s főképpen a splenomegália, hasi diszkomfort jellemző, évekig eltarthat. A Philadelphia kromoszóma, mely diagnosztikus értékű, ekkor már kimutatható a csontvelői mintából. Az akcelerált fázis klinikai tünetei nem különböznek lényegesen a kezdeti tünetektől, bár a splenomegalia fokozódik. Mielofibrózis alakul ki, másodlagos kromoszóma eltérések jönnek létre, valamint jellegzetes perifériás és csontvelői eltérések kísérik. Konvencionális citosztatikus kezeléssel nehezen uralható a fehérvérsejtszám emelkedése, rövidül a fehérvérsejt duplázódási idő (<5 nap), emelkedik a blasztok, a bazofilek, az eozinofilek, a promielociták aránya - csökkent differenciációs képességgel kísérve - thrombocytosis lép fel. Megfelelő kezeléssel a betegség hónapokig stabil maradhat, azonban végül blasztos krízisbe progrediál. Az akut leukaemiára hasonlító blasztos fázisra jellemző a 20% feletti blaszt arány a csontvelőben, csontvelői blaszt „clusterek” vagy extramedullaris blasztos infiltrátum (mieloid sarcoma, chloroma) [84, 85]. A progresszió során megjelennek a prognózist rontó genetikai eltérések, mint a 8 triszómia, 19 triszómia, dupla Ph, 17q izokromoszóma [86]. A kezeletlen betegek túlélése 0-10 év, többnyire 2-3 év alatt kialakuló mieloid, elvéve limfoid blasztos krízissel. A „Sokal prognosztikai score” a lép méretet, a blaszt arányt, életkort, vérlemezke számot, egyéb score rendszerek az eosinophilia és basophilia mértékét veszik alapul [87, 88].

Rokon vagy idegen donoros allogén átültetéssel az 5 éves túlélés 87%, konvencionális kemoterápiával gyógyulás nem érhető el [89]. Az IFN monoterápia hatásosabb, mint a citotoxikus monoterápia, legtöbb esetben azonban molekuláris remisszió nem alakul ki. Amennyiben az allogén őssejtátültetés nem kivitelezhető, az IFN kezelés választandó CML krónikus fázisában. Az IFN és citotoxikus kezelés kombinációja egyaránt javítja a hematológiai és a citogenetikai választ, továbbá megnyújtja a remisszió időtartamát. A CML kezelését forradalmasította az imatinib mesylát (Glivec®). A gyógyszer felnőtt betegek krónikus fázisában, 400mg/nap dózisban 88%-ban eredményez hematológiai, 49%-ban citogenetikai remissziót. Nagyobb dózisban alkalmazva az akcelerált fázisban és blasztos krízisben is eredményes. Vizsgálat alatt áll a Glivec kezelés alacsony dózissal IFN-al és

kemoterápiával (ARA-C) történő kombinációja, továbbá újabb tirozin kináz inhibitorok bevezetése [90].

A *Philadelphia-negatív CML* ritka betegség. A CML esetek mintegy 15%-át kitevő, citogenetikai analízissel Philadelphia kromoszóma negatív esetek zömében komplex kromoszóma átrendeződések fedik el a t(9;22) transzlokációt, mely többnyire kimutatható FISH vagy RT-PCR módszerekkel. Az esetek harmadában hiányzik a bcr-abl fúzió molekuláris bizonyítéka, ekkor rosszabb a terápiás válasz, hiányzik a basophilia, gyakori a trombocitopénia, kifejezett a leukocytosis, organomegalia, extramedulláris infiltrációk alakulnak ki csontvelői elégtelenség kíséretében, terminális blasztos fázis nélkül. Valószínű ezen esetek inkább MDS-be sorolhatók. Az *atípusos CML*-re vonatkozóan a WHO klasszifikáció leszögezi, hogy habár nem megfelelő a kifejezés, javasolt ezen kategória fenntartása a granulocita diszpláziát mutató, BCR-ABL fúzió nélküli esetekre [91]. A gyakori, több sejtsort érintő diszplázia a klasszikus CML-ben nem látható, s a túlélés atípusos esetekben mindössze 11-18 hó [92].

A *krónikus neutrophil leukaemia (CNL)* igen kevés felnőttkori esete publikált, főleg más malignitással, leginkább myelomával társult formában, így önálló entitása is kérdéses. Legutóbbi tanulmányok a neutrofilek nem klonális eredetét igazolták, abnormális citokin produkció mellett. Néhány tanulmány klonalitást igazolt [92]. Jellegzetes a BCR-ABL negatív betegben az érett granulocita hiperplázia a periférián és a csontvelőben, hepatosplenomegaliával, emelkedett LAP score-al. Nem progrediál AML-be, ennek ellenére a túlélési idő rövid [94].

A *juvenilis mielomonocitás leukaemia (JMML)* átmenetet képez az MPD és MDS között [95]. A -7/7q aberráció a gyermekkori MDS leggyakoribb citogenetikai eltérése. A citogenetikailag teljes vagy részleges 7-es monoszómiával jellemzett, 4 éves kor alatt manifesztálódó MDS-eseteket számos munkacsoport a morfológiai sajátosságoktól függetlenül, külön entitásként, infantilis 7-es monoszómia szindrómaként (IMo7) tartotta számon. Napjainkban több jelentős nemzetközi munkacsoport véleménye alapján az IMo7 szindróma és a juvenilis krónikus mieloid leukaemia (JCML) az esetek döntő többségében egybeesik. A két alcsoportot közösen tartjuk számon JMML-ként. A JMML jellegzetesen csecsemő és kisdedkorban lép fel, a betegek medián életkora 1 év. Fiúknál mintegy 2,5-szer gyakrabban fordul elő, mint lányoknál. A JMML prezentációs tünetei az ekzema vagy xanthoma-szerű bőrkiütések, a mérsékelt-súlyos hepatosplenomegalia, a lymphadenopathia, a vérzések és légzőszervi tünetek. Leukaemiás transzformáció ritka [96]. Kezelésében az allogén őssejtátültetés hatékonysága, szemben az egyéb terápiás eljárásokkal különösen

szembeszökő, ugyanakkor ígéretesek a cisz-retinsavval és farnezil-transzferáz-inhibitorral folytatott terápiás próbálkozások is [96, 97].

Idiopátiás hypereosinophil szindróma (IHES)

Az IHES diagnosztikai kritériumait 1975-ben Chusid és munkatársai állapították meg [98, 99]. Ezek az 1500/ μ L feletti abszolút eozinofil szám perzisztálása 6 hónapnál hosszabb ideig, szekunder kiváltó ok hiánya, valamint az eozinofil sejtes infiltrációval összefüggésbe hozható szervi működési zavarok. Az IHES heterogén csoport, a legtöbb eset mieloproliferatív vagy limfocitás variánsba sorolható. Utóbbiban (l-HES) a kóros működésű T-sejtek által termelt szolubilis faktorok tehetők felelőssé a kialakuló eosinophiliáért. A mieloproliferatív variáns (m-HES) klonális őssejt eredetű betegség, melynek prognózisa rossz. Gyakori a súlyos kardiális szövődmény (endomiokardiális fibrózis, szívelégtelenség), sokszervi érintettség (tüdő, csontok, bőr, vesék), glükokortikoid rezisztencia, fokozott mieloid malignitási hajlam, blasztos krízis [100].

A *krónikus eosinophil leukaemia (CEL)* elnevezést javasolják az eozinofil túltermeléssel, normál IL-3 és IL-5 szinttel, csontvelői hiperpláziával és mieloid diszpláziával járó esetekre. CEL-ben az eozinofilek klonális eredete igazolható és emelkedett blaszt arány mutatható ki. A kariotípus normális vagy érintheti az 5, 7, 15, 17 kromoszómákat. Ki kell zárni az eosinophilia kóros citokin termeléssel járó egyéb okait: infekció, allergia, paraneopláziás szindróma, lymphoma, továbbá a különálló, eosinophiliával kísért rosszindulatú vérképzőszervi betegségeket: a CML eosinophil variánsát, az AML inv(16)-eltérést hordozó M4Eo formáját, és az ALL t(5;14), IL-3 gént érintő transzlokációját [101, 102].

A kezelésben a glükokortikoidok hatástalanok. IFN α , illetve kemoterápiás szerek alkalmazhatók (VCR, hydroxiurea, chlorambucil, busulfan). Progresszió esetén az őssejt transzplantáció bizonyult hatékonynak. A Glivec kezelés ugyancsak bevált a CML-ben használatos dózisonál kisebb mennyiségben [100].

Átmeneti abnormális mielopoézis Down szindrómában (TAM)

Néhány klasszifikáció, mieloproliferatív jellemzői ellenére, MDS-ként vagy AML-ként osztályozza a gyakori AML-es transzformáció miatt. Típusosan születés után néhány hónapon belül lép fel, a súlyos esetek incidenciája 10% [103]. Újszülöttkorban, mint hydrops foetalis jelenhet meg az anaemia vagy a szívizomzat mieloblaszt infiltrációja következményeként. Hepatomegalia, pleurális, perikardiális, peritoneális effúzió, disszeminált intravaszkularis koaguláció, veseelégtelenség, légzési elégtelenség kísérheti. A periférián jellegzetesen emelkedett a fehérvérsejt szám cirkuláló mielo/megakarioblasztokkal. A

GATA1 transzkripció faktor mutációja összefüggést mutat az esetek 25-30%-ában kialakuló M7-AML/AMKL megjelenésével [103, 104]. Hetven százalékban spontán remisszió jellemző, így kezdeti kezelése szupportív (leukaferézis, transzfúzió), míg AML esetén, mely jobb prognózisú a nem Down-szindrómás eseteknél, AML kezelési séma alkalmazandó.

Polycythaemia Vera (PV)

Megjelenése irodalmi ritkaság gyermekkorban, az átlagéletkor 60 év. A betegek kevesebb, mint 1%-a 25 év alatti, 0,1%-a 20 év alatti. Danish és munkacsoportja kilenc jól dokumentált esetet közölt 5-13 év közötti gyermekekben, hazai esetközlés is ismeretes [105, 106]. Fokozott kockázat észlelhető petróleum, benzol, izopropil-alkohol, aromás vegyületek, benzin, vinil-klorid, epoxi vegyületek expozíciója következtében. A multipotens vérképző őssejt zavara thrombocytosist, leukocytosist, s főképpen eritroid proliferációt, perifériás erithrocytosist okoz alacsony EPO szint mellett. A diagnózis megállapítása a „Polycythemia Vera Study Group” (PVSG) 1971-es ajánlásán alapul (II. táblázat) [107]. A beteg lehet klinikailag tünetmentes, a PV társulhat koagulációs zavarokkal, vérzéses stroke-kal, lépfarkattussal, Budd-Chiari szindrómával, hasi fájdalommal, hepatomegaliával. Kísérheti ascites. Szövődménye az AML, melyben a terápiás szerként alkalmazott ^{32}P vagy alkiláló ágensek oki szerepét is felvetik. Jelenleg kuratív kezelés nem ismeretes, a terápiás cél a hematológiai és klinikai javulás, a szövődmények megelőzése. Szokásos kezelés a hiperviszkozitás csökkentésére a vérlebcsatás vagy a hatékonyabb eritrocitaferézis. Az acetilszalicilsav kis dózisa hatékony a trombotikus események megelőzésében. A mieloszuppresszív hydroxyurea hatékonyan csökkenti a vörösvérsejt és vérlemezke számot. Anagrelid és IFN alkalmazása elsősorban az emelkedett vérlemezke számmal járó esetekben jön szóba, míg a chlorambucil, az alkiláló szerek, a radioaktív ^{32}P alkalmazása kerülendő leukaemogen hatásuk miatt. Szupportív kezelésként emelkedett húgysavszint esetén allopurinol, bőrvizsketésre antihisztamin alkalmazandó.

Essentialis thrombocythaemia (ET)

Extrém ritka gyermekkorban, a szekunder okok miatt kialakuló thrombocytosis eseteinek alig 0,5%-a. Becsült éves incidenciája 0,09/millió gyermek. Az ET a pluripotens őssejt klonális mieloproliferatív betegsége, mely perzisztáló thrombocytosis ($>600 \text{ G/L}$), csontvelői megakariocita, néha eritroid, granulocita-monocita hiperpláziával, vérzéses és trombotikus szövődményekkel jellemezhető (III. táblázat) [108]. Ki kell zárunk a thrombocytosis szekunder okait. Gyakori a fejfájás, pruritus, priapizmus, hepatosplenomegalia. Jellegzetes genetikai eltérés nem ismeretes, a kariotípus rendszerint normális. TPO/TPOR eltérés nem játszik oki szerepet a folyamatban [75, 76]. A mintegy 50, jól dokumentált

gyermekkori eset lefolyása kedvező, leukaemiás progresszió elvétve fordul elő. Kezelése enyhe esetben tüneti (Aspirin), kifejezett tünetek esetén a trombocita termelését specifikusan gátló Anagrelid vagy a hosszú remissziót biztosító IFN α kezelés választható [109].

Idiopátiás mielofibrózis/ Agnogén mieloid metaplázia (IMF/AMM)

Főleg felnőtt korúakat érintő, progresszív anaemiával, kifejezett splenomegaliával, reaktív csontvelői fibrózissal, könnyecsepp alakú vörösvérsejt morfológiával jellemezhető klonális őssejt betegség. A kórismézés alapja a leukoeritroblasztos perifériás vérkép, az extramedulláris vérvérképzés okozta organomegalia és a mielofibrózis. A perifériás vérben emelkedett a granulocita-monocita előalakok száma. Klinikailag jóval gyakoribb a vérzéses mint a trombotikus epizód. A korai prefibrotikus állapot hasonlít a PV vagy ET korai stádiumaira, habár a prominens neutrofil proliferáció, a csökkent eritroid prekursor szám, a jelentős megakariocita vonal atípia segít az elkülönítésben. A III-as és IV-es típusú kollagén emelkedett szérum koncentrációja hasznos marker, a betegek fele fokozott mértékben ürít a vizelettel trombocita faktor 4-et. Gyakori a kromoszóma rendellenesség, mely főleg az 1-es, 5-ös, 8-as és 21-es kromoszómákat érinti. Előfordul aneuploiditás. Ezen eltérések a csontvelői megakariocitákban és mieloid progenitorokban lépnek fel, a fibroblasztok citogenetikailag normálisak, mely alátámasztja a fibrózis reaktív eredetét. Szemben az ET-vel és a PV-vel a betegség rossz prognózisú, mintegy 50%-os 1 éves halálozással jár.

Kezelésében korábban az androgéneknek, az eritropoetikus faktoroknak, a szteroidoknak és az IFN-nek volt szerepe, azonban ezen kezelések mellett csekély válaszreakció volt észlelhető. Jelenleg alacsony dózisú thalidomide (50mg) és 0,5 mg/kg PRED kombinációs kezelés mellett észleltek átmeneti klinikai javulást a betegek mintegy harmadában. Az allogén őssejtátültetés, ablatív előkezeléssel mintegy felére csökkentette az 1 éves letalitást.

Az *akut mielofibrózis (AMF)* felnőttekben gyors lefolyású fatális megbetegedés, aspecifikus tünetekkel, fáradtsággal, súlyvesztéssel. Gyermekekben ritkán előforduló, rossz prognózisú, splenomegaliával, atípusos blaszt infiltrációval kísért entitás. A WHO 2 alcsoportra osztja. Ha a blasztos infiltráció dominálón megakarioblasztos, illetőleg mielofibrózissal kísért, akkor akut megakarioblasztos leukaemia (AMKL, FAB/AML M7), ha több sejtsort érintő diszplázia és éretlenség észlelhető prominens megakarioblasztokkal, megakariocitákkal, akkor akut panmielózis mielofibrózissal (APMF) a besorolás. Előbbi főleg Down szindrómás gyermekekben fordul elő. Familiáris mielofibrózis kizárólag néhány csecsemőkori esete került közlésre az irodalomban [110].

Mastocytosis

A mastocita (hízósejt) csontvelői eredetű bazofil granulocita. A mastocytosis heterogén betegségek csoportja, amelyet a mastociták abnormális szaporodási képessége jellemez egy vagy több szervre lokalizált akkumulációs jelleggel (IV. táblázat). Leggyakoribb kezdeti tünet a különböző kiterjedésű pigmentált makulopapuláris bőrlézió. Ezekhez később szervi zavarok formájában a CNS, a gasztrointesztinális traktus (ulcus, diffúz vérzés), a csontrendszer eltérései (oszteolítikus lézió, patológiás törés), a csontvelői vérképzés zavara, koagulációs zavar, hepatosplenomegalia, hypersplenia, súlyvesztés, lymphadenopathia társulhatnak. Hisztamin, leukotrién, proteáz termelés és kibocsátás révén változatos allergiform tünetek alakulnak ki (urticaria, bronchospasmus, syncope, hypotensio, hasmenés, fejfájás), akár életveszélyes formában. A *kután mastocytosis* (CM) diagnózisa a bőrléziók típusos megjelenésén, a szövettani képen illetőleg a szisztémás tünetek hiányán alapul. A CM-ben szenvedő betegek többsége gyermek, urticaria pigmentosa klinikai képével. Ritkább megjelenési formája a diffúz CM valamint a bőr mastocytomája. A *szisztémás mastocytosis* főleg felnőttekben látható, multifokális csontvelői érintettséggel, szervi infiltrációkkal, a szisztémás betegség egyéb citológiai és biokémiai jeleivel. A szisztémás mastocytosis indolens, egyéb klonális hematológiai betegséggel asszociált, agresszív vagy leukaemiás formában jelenhet meg. Az indolens forma makulopapulózus kiütéssel, jó prognózissal jellemezhető. Az agresszív forma szervi funkciózavarral jár, elsősorban a csontvelőt, májat, lépét, emésztőrendszert, csontokat érintve. A leukaemiás forma esetén a csontvelői mastocita arány 20% feletti, a periférián több mint a leukociták 10%-a, szervi elégtelenséggel, hiányzó bőrtünetekkel, rossz prognózissal társulva. Mastocita sarcomára a lokalizált, destruktívan növekvő, atípusos mastocita infiltrátum jellemző, melyet a benignus mastocytosistól kell elkülöníteni [111].

Kezelése a változatos klinikai tünetek, a megjósolhatatlan klinikai lefolyás miatt individuális. Általánosan használatosak az antihisztaminok, chromolyn vegyületek, az acetil szalicilsav – „flushing”, tacyhycardia, syncope esetén - vagy a ketotifen csontfájdalom, a protonpumpagátlók ulcus betegség esetén. Bőrre lokalizált forma kezelésére PUVA terápia, agresszív formában glükokortikoidok, IFN α alkalmazása jön szóba, bár sok beteg nem mutat kellő választ. Ezen esetekben kuratív, hatásos kezelés nem ismeretes. Ilyenkor nagy dózisú citosztatikus kezelés alkalmazandó, melyet a sarcomatosus formában sebészi kezelés, illetőleg lokális sugárkezelés követ [111].

3.4 Új terápiás lehetőségek

A jelenlegi kezelési sémáknak is fontos jellemzője a betegek rizikófaktorok szerinti csoportosítása, a leukaemiás/lymphomás illetőleg egyéb neoplasztikus folyamat szubtipizálása, mely révén a jobban reagáló folyamat kezelése enyhébb, kevesebb mellékhatással járó, míg rezisztensebb formák kezelése intenzívebb, agresszívabb. Az új kezelési lehetőségek alapja, szemben a szisztémás kemoterápiás kezeléssel, hogy célzottan a leukaemiás, daganatos sejt elpusztítására törekszik, a szervezet normál sejtjeinek lehetőség szerinti épen hagyása mellett, azaz jelentős toxikus hatás nélkül. Ezen kezelési lehetőségek alapját a diagnosztika, a molekuláris genetikai módszerek fejlődése teremtette meg, s napjainkban kezdik megtalálni helyüket a kezelési gyakorlatban. A gyógyszerek, még ha monoterápiás formában nem is kuratívak, alacsony toxicitásuk révén a kezelési sémák integráns részeivé válhatnak.

A gyermekkori ALL mintegy 20%-os halálozási kockázata a toxicitással, relapsussal, terápia rezisztenciával mutat összefüggést. A mellékhatások a régi citosztatikumok új analógjaival (így fludarabin, 2-kloro-dezoxiadenozin), a jelenleg is használatban lévő antileukaemiás és szupportáló gyógyszerek új, azonos mértékben, esetleg fokozottan anti-tumor hatású, ám csökkentett toxicitású, módosított változataival mérsékelhetők (így idarubicin, liposzómás antraciklin származékok). Más gyógyszerek, így az antraciklinek kardiotoxikus mellékhatását kivédő dexrazoxane (Cardioxan®) a szelektív daganatellenes hatás kifejtését mozdítják elő. A mieloszuppresszív mellékhatásokat hatékonyan csökkentik a mielopoetikus növekedési faktorok (G-CSF, GM-CSF, EPO).

A tirozin-kinázok (TK) a sejtprolifерáció, sejttúlélés, sejt differenciálódás, motilitás és számos egyéb sejt funkció fontos szabályozói. A jelenleg ismert mintegy 90 TK és 43 TK-szerű gén potenciális célpont lehet a kontrollálatlan sejtszaporodás gátlásában. A malignus betegségek célzott kezelésének forradalmát a kóros BCR-ABL TK-t megjelenítő CML TK inhibitor imatinib mesylate kezelésének bevezetése indította el. A gyógyszer valószínűleg Ph+ ALL-ben is hatékony. Néhány hematológiai malignitásban a TK-inhibitor kezelésre mutatott kedvező válaszreakció valószínűleg egy vagy több TK szimultán gátlásának következménye. Így az imatinib a BCR-ABL mellett gátolja c-KIT TK-t is a hematopoetikus progenitorokban [112]. A HES és szisztémás mastocytosis egyes eseteiben megfigyelhető fúziós FIP1L1/PDGFR TK szintén gátolható imatinibbal, drámai klinikai és molekuláris válaszreakciót eredményezve [113, 114]. A második generációs TK inhibitor „AMN107” kedvező in vitro hatást mutatott imatinib-rezisztens TEL-PDGFR mutációkban [115]. A kóros FLT3 az AML és kisebb hányadban az ALL blaszt sejtekben fejeződik ki [116]

Számos FLT3 TK gátló áll fejlesztés alatt, melyek gátolják a kóros sejtvonalak proliferációját, indukálják apoptózisukat és a klinikai alkalmazás lehetőségével kecsegtetnek [117, 118].

Az angiogenezis tumor-növekedésben betöltött centrális szerepe miatt vonzó terápiás célpont, főként a kemoterápia-rezisztens esetekben. Az angiogenezist szabályozó legfőbb faktor a VEGF, mely átfogó elnevezés a növekedési faktor-család 6 tagjára vonatkozik, melyek a placenta eredetű növekedési faktor, a VEGF-A, -B, -C, -D és a virális VEGF (VEGF-E) [119, 120]. Kifejezett tumornövekedés gátlást lehet elérni a VEGF szelektív gátlásával anti-VEGF monoklonális antitest (MoAb), a VEGF receptor kináz aktivitást gátló inhibitor vegyület vagy MoAb, illetőleg kompetíciót eredményező szolubilis VEGF receptor alkalmazásával [121-124]. Hematológiai malignitásokban lehetséges terápiás jelentőségük széleskörben tanulmányozott. Alternatív lehetőség a VEGF expressziót stimuláló molekulák gátlása (pl. EGF és receptora; PDGF és receptora; ciklooxygenáz-2 [COX-2] inhibitorok alkalmazása) [125-127]. Az 1960-as évek elején szedatívumként bevezetett, majd teratogén hatása miatt később betiltott thalidomide, mint angiogenezis-gátló szer a tumor ellenes kezelések részeként reneszánszát éli. Számos fokozott érburjánzással kísért neoplasztikus folyamatban ígéretes eredményekről számolnak be alkalmazása kapcsán (így Kaposi sarcoma, melanóma, vese-tumorok), míg a myeloma multiplex relapszusos valamint terápia rezisztens formáiban a standard kezelés részévé vált [128, 129].

Az antiszenz oligonukleotidok rövid 15-25 nukleotidból álló egyszálú DNS molekulák, melyek a target gén mRNS komplementerei [130]. Számos target gén között az egyik legreményteljesebb a bcl-2 gén, mely az első azonosított negatív apoptózis szabályozó [131]. A BCL-2 fehérje emelkedett szintje kimutatható a t(14;18) transzlokációval jellemezhető follikuláris centrumsejtes NHL-ben, számos egyéb felnőttkori humán tumorban így AML-ben, melanómában, tüdő, colorectalis és emlő rákban, mely betegségek potenciális terápiás célpontok lehetnek [132, 133].

A sejtek proliferációjának gátlása, az apoptózis indukálása mellett a gátolt sejtérésű tumorsejtek differenciálódásának indukciója is egy lehetséges kezelés út. A differenciáló ágensek (butirát, fenilacetát, egyéb ágensek) in vitro megváltoztatják a kóros vagy transzformált sejtek fenotípusos és funkcionális jellemzőit [134]. A gyógyszercsoport jellegzetes képviselői a retinoidok (retinsav izomerek és származékaik) vagy deltanoidok (aktív D vitamin analógok), melyek specifikus intracitoplazmatikus/intranukleáris, a szteroid szuperfamíliába tartozó receptoraikhoz kötődve a sejtek differenciálódását idézik elő. AML t(15;17) transzlokációval jellemzett promielocitás (M3) formájában csupatransz-retinsav (Vesanoid®) monoterápiás alkalmazásával remisszió érhető el. Hám atípiával járó

prekancerózisok esetében, neuroblastomában illetőleg MDS kezelésével kapcsolatban 13-cisz-retinsav (isotretionoin, Roaccutan®) alkalmazásával vannak kedvező tapasztalatok [135].

A szervezet tumor elleni védekezésében résztvevő citokinek hatékony terápiás eszköznek bizonyultak. A limfokinek a szervezet aktivált immunsejtjei által termelt glikoproteinek, pleiotrop biokémiai és celluláris hatással. Fokozzák az effektor immunsejtek proliferációját, tumorsejt ellenes citotoxicitását, az antigén felismerést és a neoplasztikus sejtek tumor-asszociált antigénjeinek expresszióját. A tumor-asszociált antigének elleni monoklonális antitestek fokozzák az antitest-függő sejt-mediált citotoxicitást, illetőleg citotoxikus ágenszt szállíthatnak a malignus sejthez („magic bullet”). A szervezet tumor ellenes védekezését fokozó molekulák tovább fokozhatják a konvencionális tumorelles kezelés eljárások hatékonyságát [33].

Az NHL kezelése a WHO osztályozás szerinti patológiai altípustól és a klinikai prognosztikai faktoroktól függ [136, 137]. Óriási az érdeklődés a gyorsan fejlődő új kezelési lehetőségek iránt, mivel, főleg a felnőttkori NHL egyes típusainak konvencionális kezelése mellett, a betegek csak kis része gyógyul és a túlélés hosszú évek óta nem javul számottevően [138]. Az anti-CD20 monoklonális antitest, a rituximab (Rituxan®, Mabthera®) indolens B-sejtes NHL relapszusos formájában 1997-ben került bevetésre 50%-os kedvező válaszreakcióval [139]. Elsősorban agresszív formák nagy dózisú kemoterápiáját, autológ csontvelőátültetést követően alkalmazandók, tekintettel ezen betegek csökkent hematológiai rezervjére [139,140]. Mindemellett a költségeket, mellékhatásokat tekintve kedvezőbb a kombinált kemoterápiás vagy fludarabin monoterápiás kezelésnél [141]. A rituximab sikere jelentős hajtóerő az NHL kezelésben.

A radio-immunoterápia ionizáló sugárzás limfóma sejtekhez célzott szállítása. Fázis II tanulmányok magasabb összes és komplett remissziós rátát mutatnak a nem konjugált antitest kezeléshez viszonyítva, így a „C2B8” anti-CD20 antitesttel, mely lényegében Yttrium 90 [⁹⁰Y] kelált Rituximab [142-144]. Pseudomonas exotoxinnal hasonló eredményekről számolnak be kután T-sejtes lymphoma, hajás-sejtes leukaemia és krónikus limfocitás leukaemia eseteiben [145, 146]. Kaminski és munkatársai közöltek kedvező eredményeket Bexxar® (¹³¹I-el konjugált antiB1 antitest) multi-centrikus alkalmazását követően [147]. Az alemtuzumab (MabCampath®) elsősorban érett B-sejtes CLL eseteiben bevethető, a CD52 sejtfelszíni antigén ellenes monoklonális antitest, mely a normál hematopoetikus őssejtek és progenitor sejtek károsítása nélkül a CD52-t (panlimfocita antigén) kifejező limfociták, leukaemia sejtek líziséhez vezet, kemoterápiával kombinálva jó válasz aránnyal (RR 81%, CR 19%) [148].

3.5 Az I-es típusú interferonok hatásmechanizmusa. A terápiás alkalmazás lehetőségei gyermekkori rosszindulatú megbetegedésekben

Az 1957-ben felfedezett interferonok a szervezetben virális és egyéb stimulusok hatására termelődő, a sejtproliferációt, sejt differenciálódást, immunválaszt szabályozó, antivirális, anti-neoplasztikus hatású glikoproteinek (2. ábra) [149]. Korábban leukocita (alfa) és fibroblaszt (béta) típust különböztettek meg az eredet alapján, melytől savi szenzitivitása révén elkülönítették a limfoid sejtekben termelődő immun (gamma) interferont [150, 151]. Az $\text{IFN}\alpha$, $\text{IFN}\beta$, $\text{IFN}\omega$ és $\text{IFN}\tau$, génjeik és molekuláik homológiája, továbbá receptor specificitásuk alapján, mint I-es típusú, az $\text{IFN}\gamma$ mint II-es típusú interferonok kerültek azonosításra. A 9-es kromoszóma rövid karján legalább 14 $\text{IFN}\alpha$ molekula van kódolva. Az $\text{IFN}\gamma$ a 12q régióba lokalizált, 4 exon, 3 intron által kódolt 143 aminosavból álló molekula [150, 151].

Az $\text{IFN}\alpha$ az IFNABR receptorhoz kötődik, melynek két transzmembrán alegysége (α/β) a 21-es kromoszómán van kódolva [152]. Az $\text{IFN}\gamma$ receptora az IFNGR a 6-os ($\text{IFNGR}\alpha$) és a 21-es ($\text{IFNGR}\beta$) kromoszómára lokalizált [152]. Mindkét receptor a II-osztályú citokin receptor családba tartozik. A receptor-ligand kötődés az intracelluláris Janus kinázok (JAK) révén többek között a Stat transzkripciós faktorok aktiválását eredményezik: az IFNABR útvonalban a Jak1 és a Tyk2, az IFNGR útvonalban a Jak1 és a Jak2 involváltak. A foszforilált, aktivált Stat fehérje dimerizálódik, majd a sejtmagba transzlokálódik. A homo-illetőleg heterodimer Stat1 és Stat3 a pIRE palindrom reszponz elemhez kötődik. A Stat1, Stat3 és p48 DNS-kötő fehérjék kapcsolódásából létrejön az ISGF-3 („ $\text{IFN}\alpha$ -stimulált reszponz elem”). $\text{IFN}\gamma$ esetén a Stat1 homodimerek a GAS-hoz („ $\text{IFN}\gamma$ activated site”) kötődnek, s végeredményben különböző, de az $\text{IFN}\alpha$ -val átfedésben lévő gének csoportját aktiválják [153, 154].

Az $\text{IFN}\alpha$ fokozza az összes effektor immunsejt működést (citotoxikus T-sejtek, természetes ölősejtek [NK] és monociták), melyeknek potenciális szerepe lehet a tumor sejtek felismerésében, elölésében. Aktiválja az antitest-függő sejtes citotoxicitást, a sejt-mediált citotoxicitást, fokozza az immunválasz szabályozásában szerepet játszó citokinek (így IL-2, TNF, IL-12) termelését. Az $\text{IFN}\alpha$ számos fehérje szintézisét indukálja, míg más fehérjék szintézisét és egyes sejt funkciókat gátol (V. táblázat). Hatásában szerepe van a tumor asszociált antigének, az antigén felismerést segítő MHC molekulák kifejeződés fokozódásának valamint egyes onkogén funkciók, illetőleg az angiogenesis gátlásának [33].

Az IFN α antiproliferatív hatása autokrin és parakrin hurkok befolyásolása, a terminális differenciálódás serkentése, apoptózis indukció, sejtropliferációban szereplő gének gátlása és a tumorsejt pusztításában résztvevő citolítikus aktivitású sejtek működésének fokozása, inhibitor citokinek mobilizálása révén valósul meg [155, 156]. A direkt antineoplasztikus hatás az IFNABR által közvetített, melyek jelentős számban mutathatók ki egyebek mellett B-sejtek felszínén, így ez a jelátviteli útvonal kecsegtető terápiás célpontként szolgál B-sejtes malignitásokban [157, 158]. A betegágy melletti felhasználás során az IFN α valóban hatékonynak bizonyult a B-sejtvonal egyes rosszindulatú megbetegedéseinek kezelésében [40, 41].

A Ph+ CML felnőtt betegek IFN α kezelése egyértelműen kedvező citogenetikai választ és túlélési előnyt eredményez, alkalmazása ebben a kórképben már a gyermekkori esetekben is törzskönyvezésre került [159, 160]. A Ph+ CML, az IFN α kezelésre igazoltan jól reagáló szolid tumorok és egyéb hematológiai malignitások (I. táblázat) csak elvétve fordulnak elő gyermekkori korban. Az IFN α alkalmazási területe a gyermekkori malignitások kezelésében nincs meghatározva, annak ellenére, hogy számos gyermekkori leukaemia sejt és szolid tumorsejt felszínén igazolták funkcionáló I-es típusú IFN receptorok jelenlétét [47, 155, 161]. Néhány esetismertetés az in vivo alkalmazással kapcsolatban is kedvező terápiás effektusról számol be [162-168].

4. Anyagok és Módszerek

Sejtek

Sejtvonalak

Az EBV genom pozitív JY, az EBV genom negatív BL-41, valamint a HHV-8 pozitív, EBV és HIV-1 negatív BCBL-1 humán B-leukaemia/lymphoma sejtvonalakat 10% főtális borjú szérummal (FCS; GIBCO, Grand Island, NY), L-glutaminnal és antibiotikumokkal szupplementált RPMI 1640 (GIBCO, Grand Island, NY) tápfolyadékban 37°C fokon CO₂ termosztátban (5% CO₂) tenyésztettem [169, 170, 171]. A sejtszuspenziókat a sejtvonaltól függően 2-4 naponta passzáltam, a kísérleteket a növekedés exponenciális fázisában végeztem.

Csontvelői és köldökszinórvér eredetű mononukleáris sejtek

A csontvelői mintát az essentialis thrombocythaemiás betegből egyszer használatos csontvelő biopsziás, illetőleg aspirációs tű segítségével, crista ilei punkció útján, a köldökszínór vérmintákat egészséges újszülöttek születése kapcsán, azok köldökszínórjából nyertem a szülők tájékoztatását követő beleegyezésével. Alvadásgátlás céljából a mintákat heparinizáltam. A csontvelői mintából steril körülmények között sejtszuspenziót készítettem. A mononukleáris sejteket 1000g-n, 15 percig, Ficoll-Iodamide (Pharmacia, Uppsala, Svédország) grádiensen centrifugálás segítségével szeparáltam. Az interfázisban lévő sejteket 2x mostam 5% FCS-t tartalmazó McCoy 5A médiummal (GIBCO, Grand Island, NY).

Sejtenyésztő módszerek

Kolónia esszé

A BL-41, JY és BCBL-1 sejtvonalakból 1×10^4 mononukleáris sejtet tartalmazó félfolyékony tenyészeteket készítettem. Minden vizsgált sejt minta, valamennyi vizsgálati időpont, exogén stimulus és dózis kapcsán 3 párhuzamos tenyészetet készítettem. A 20% FCS-t tartalmazó McCoy's 5A tápfolyadékot Pike és Robinson szerint aminosavakkal, vitaminokkal, Na-pyruváttal, NaHCO₃-al, penicillinnel és streptomycinnel, valamint $2,5 \times 10^{-5}$ M merkaptotetanollal (LOBA Feinchemie, Fischamend, Németország) szupplementáltam [172]. A lágy gél állapotot 1,2% metilcellulóz (Methocel, 3000-5000 centipoise; FLUKA, Neu-Ulm, Németország) hozzáadásával biztosítottam. 35 mm-es műanyag petri csészéket

(Greiner, Nürtingen, Németország) használva, a tenyészetek 1mL térfogatát 7 napig, 37°C hőmérsékleten, 5% CO₂-t és telített vízgőzt tartalmazó CO₂ termosztátban inkubáltam.

A recombináns humán (rh) IFN α -2b-t (Shering-Plough, Brinny, Írország) közvetlenül a lágygélkultúrákhoz adtam a szélesztést megelőzően, 10, 100, 500, 1000 és 10000 U/mL végkoncentrációban. A több mint 50 sejtet tartalmazó sejtcsoportokat neveztem kolóniának. Ezek értékelésére az inkubációs idő végeztével disszekciós mikroszkóp (SZ6045; Olympus, Hamburg, Németország) segítségével történt.

A szekunder tenyészetekhez a primer kultúrákból származó sejteket McCoy's 5A médiumban reszuszpendáltam, mostam, a primer kolónia lemezek szélesztéséhez felhasznált adalékok alkalmazásával újraszélesztettem és a primer kultúrához hasonló körülmények között további 7 napig inkubáltam. A klonális szaporodás eredményeit mind a primer, mind a szekunder kultúrák esetében az rh IFN α -2b-t nem tartalmazó kontroll kolóniaszámhoz viszonyított %-os arányban adtam meg („relative plating efficiency”).

Az essentialis thrombocythemiás betegből származó csontvelői mononukleáris sejteket a sejtvonalakhoz hasonló körülmények között szélesztettem és inkubáltam. A spontán kolónia képzés értékeléséhez stimuláló ágenszt nem alkalmaztam. Stimuláló ágensként 5 U/mL rh EPO (epoietin-alpha, Eprex[®]; Janssen-Cilag, Sidney) és 10 ng/mL rh granulocita-kolónia stimuláló faktor (G-CSF; Neupogen[®], Hoffmann La Roche, Basel, Svájc) kombinált alkalmazásával 7 illetve 14 nap után értékeltem a késői illetve korai eritroid prekursor sejtek: „colony-forming unit-erythroid” (CFU-E) és „burst-forming unit-erythroid” (BFU-E) képződését, rendre. A mieloid kolóniákat 300 ng/mL rh G-CSF, 100 ng/mL rh granulocita-makrofág (GM)-CSF (Leucomax[®]; Sandoz, Basel, Svájc), 100 ng/mL rh őssejt faktor (c-kit ligand, „stem-cell faktor” - (SCF; Genzyme, Cambridge, Anglia) és 10% (v/v) phytohaemagglutinin A-stimulált leukocita kondicionált médium (PHA-LCM) hozzáadását követően értékeltem. A PHA-LCM által stimulált kolónia képzés gátlásának vizsgálatát 100 illetve 1000 U/mL IFN α -2b hozzáadásával végeztem. Kontrollként hematológiai betegség gyanújával csontvelő vizsgálatra kerülő, későbbiekben egészségesnek bizonyult egyének mintája szolgált.

Phytohaemagglutininrel stimulált humán leukocita kondicionált médium

Egészséges felnőtt önkéntestől (Sz.I.) a Helsink Deklarációban foglaltakat betartva nyertem perifériás vért a humán leukocita tenyészetek számára. Dresch és mtsai szerint az előbbiek alapján szeparált mononukleáris sejtszuspenzióból 4x10⁶/mL sejtkoncentrációban a sejteket 15% autológ humán szérumot tartalmazó McCoy's 5A médiumban 17 mg/mL

phytohaemagglutinin A (DIFCO Laboratories, Detroit, Mich.) és 10 mg/mL levamisole (Decaris[®], Richter Gedeon, Budapest, Magyarország) jelenlétében szuszpenziós kultúrában 37°C-on CO₂ termosztátban tenyésztettem, az 5. napon centrifugálás után a kapott felülúszót 1 mL-es frakciókban steril körülmények között dekantáltam, majd -20°C-on lefagyaszttva tároltam.

Szuszpenziós kultúrák

A sejtfelszíni markerek és az apoptózis vizsgálata céljából az exponenciális növekedési fázisban lévő JY, BL-41 és BCBL-1 sejtvonalak sejtjeit, valamint a köldökzsinórvér eredetű mononukleáris sejteket 5×10^5 /mL töménységben, 35mm-es műanyag tenyésztőedényekben (Greiner), 5 mL RPMI 1640 tápfolyadékban, 37°C-on, 5% humid CO₂ termosztátban 72 órán (sejtvonalak) illetőleg 24 órán át (köldökzsinórvér mononukleáris sejtek) tenyésztettem. A sejtszuszpenziókhoz 100 U/mL, illetőleg 1000 U/mL végkoncentrációban adtam rh IFN α -2b-t, továbbá 10.000 U/mL, 100 ng/mL, illetőleg 50 ng/mL végkoncentrációban rh IFN- γ -t, rh GM-CSF-t és rh SCF-t. A kontroll sejtszuszpenziók nem tartalmaztak exogén citokineket.

Immunfluoreszcens jelölés és áramlási citometriás meghatározás

A sejtszuszpenziót fluoreszcein isotiocianáttal (FITC) jelölt anti-CD32 (IV.3; Medarex, West Lebanon, NH) és fikoeritrinnel (PE) jelzett anti-CD19 monoklonális antitestekkel (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) inkubáltam, egyidejűleg. A mononukleáris sejtszuszpenzió egyéb szubpopulációit is meghatároztam, anti-CD4 és anti-CD8 monoklonális antitestet használva a T-limfociták, anti-CD14 monoklonális antitestet a monociták valamint anti-CD34 monoklonális antitestet használva a primitív hematopoetikus progenitor sejtek azonosításához (valamennyi Becton Dickinson). Kontrollként izotípus-azonos, irreleváns egér monoklonális antitestet használtam. A vörösvérsejtek FacsLysing (Becton Dickinson) oldattal történő lizálása után a mintákat 2x foszfát pufferes (pH 7,4; PBS, Sigma, St Louis, Mo) sóoldatban mostam és 1% (v/v) paraformaldehiddel (Kat-Chem, Budapest, Magyarország) fixáltam.

A minták vizsgálata 15mW argon lézeres FacScan áramlási citométerrel (Becton Dickinson) Lysis II „software” (Becton Dickinson) felhasználásával történt. Minden esetben 10.000 sejt vizsgálata alapján határoztam meg a leukaemia/lymphoma sejtek illetve a köldökzsinórvér mononukleáris sejteinek jellemzőit. Az adott antigénre nézve pozitívnak

tekintettük azt a mintát, amelyikben a sejtek több mint 20%-a az izotípus kontrollhoz képest jelentősen nagyobb fluoreszcencia intenzitást mutatott. A pozitív sejtek arányát illetve az átlagos fluoreszcencia intenzitást (MFI) a kontroll százalékában fejeztem ki.

A CD19 és CD32 koexpresszió detektálása során a szuszpenziós kultúrák 100 U/mL illetőleg 1000 U/mL végkoncentrációban rh IFN α -2b-t továbbá 10.000 U/mL, 100 ng/mL illetőleg 50 ng/mL végkoncentrációban rh IFN γ -t, rh GM-CSF-t és rh SCF-t tartalmaztak. A kontroll sejtkultúrákhoz nem adtam exogén citokint.

Az apoptózis vizsgálata során a sejtuszuszpenziókat az inkubálás után PBS oldattal mostam, majd 70%-os alkohollal történő fixálását követően a sejteket propidium jodiddal (Sigma, San Louis, MO) festettem, majd FacScan készülékkel, CellFIT (Becton Dickinson) program segítségével analizáltam. A DNS hisztogramot a DNS duplikátumok azonosításával kaptam. Azon sejteket tekintettem DNS fragmentációt mutató apoptotikus sejtnak, melyek DNS tartalma kevesebb volt mint a G0/G1 fázisú sejteké (3. ábra). A nekrotikus sejteket akridin oranzs/etidium-bromid festéssel azonosítottam, fluoreszcens mikroszkóp használatával. A kísérletek során a sejtkultúrák a fenti koncentrációban tartalmaztak rh IFN α -2b-, rh IFN γ -t, rh GM-CSF-t és rh SCF-t. A kontroll sejtkultúrához nem adtam exogén citokint.

A trombocita P-szelektin (CD62) meghatározásához az ET-s beteg alvadásgátolt perifériás vérmintáját PE-jelölt anti-CD62 monoklonális antitesttel, illetőleg a trombociták GPIX antigén (CD42a) azonosítására szolgáló FITC-jelölt anti-CD42a monoklonális antitesttel inkubáltam. Kontrollként izotípus-azonos irreleváns egér monoklonális antitestet használtam. A mintát továbbiakban a fent leírt módon, a mononukleáris sejtek esetében ismertetett eljárás szerint, mostam és fixáltam. A minták vizsgálata 15mW argon lézeres FacScan áramlási citométerrel (Becton Dickinson) CellQuest „software” (Becton Dickinson) felhasználásával történt.

Klinikai tanulmány

1994 január és 2000 május között a DE OEC Gyermekklinika hematológiai osztályán 24, kiemelten kedvezőtlen kórlefolyású, terápia refrakter, illetőleg recidív rosszindulatú betegségben szenvedő gyermeket kezeltem IFN α -val. A klinikai tanulmány keretében az adatgyűjtés és adatfeldolgozás 1994-1997 között a betegdokumentációra támaszkodva, retrospektív módon, azt követően prospektív módon történt.

A betegek jellemzőit és az IFN α kezelést megelőző terápiás sémát a VI. táblázatban összesítettem. A 24 betegből 15 fiú, 9 leány volt. Az életkor a diagnózis idején 1 hó és 18 év közötti, az átlagéletkor 5,3 év, medián 3 év volt. A diagnózisokat standard kritériumok alapján állapítottam meg. Hat beteg (1-6. számú) vérképzőszervi malignitásban szenvedett. Közülük 3 eset akut leukaemiás; 1 akut kevert sejtes leukaemia (AMixL: CD7-, CD10-, CD19-, CD33-pozitív), 2 akut mieloid leukaemia (AML: egy M7: CD33-, CD41-, CD42a-, CD7-pozitív, és egy M2: CD33-, CD13-, CD7-pozitív); 2 eset MDS (1 JMML, és 1 RAEB) volt. Osztályozásuk a francia-amerikai-brit (FAB) kritériumok szerint történt [173]. Egy betegnek essentialis thrombocythaemiája (ET) volt. Két beteg (7-es, 8-as) disszeminált Langerhans-sejtes histiocytosissal (LCH), négy beteg (9-12-es) gastrointestinalis malignitással került diagnosztizálásra: 1 hepatocelluláris carcinoma, 2 hepatoblastoma, 1 colon adenocarcinoma. Kilenc betegnek (13-21-es számú) periferiás idegrendszeri (velőcső eredetű) tumora volt: 6 neuroblastoma, 1 ganglioneuroblastoma, 2 primitív neuroectodermális tumor (PNET). Két betegnek (22-es és 23-as) központi idegrendszeri tumora volt: egy medulloblastoma valamint egy cervico-thoracalis gerincvelői astrocytoma (A2). A 24-es betegnek rhabdomyosarcomája volt.

Az IFN α kezelés megkezdése 3 esetben a kórismézéssel egyidőben történt: a hyperleukocytosissal, organomegaliával jellemezhető JMML-es beteg (4-es) esetében az IFN α kezelés a kolónia esszében detektált kiváló in vitro antiproliferatív hatásra alapozva került elindításra; ET-ban (6-os beteg) az IFN α kezelés felnőttkorban bizonyítottan hatékony, a tanulmányban szereplő beteg esetében az IFN α kezelés in vitro hatékonyságát kolónia esszé módszerrel magam igazoltam [156, 45]; a colon adenocarcinomás betegben (11-es) a radikális műtetet követően (hemicolectomia) a minimális maradék betegség gátlására indult IFN α kezelés 5-Fluorouracillal kombinálva. A többi beteg standard antineoplasztikus kezelési protokollok szerint volt kezelve az IFN α adását megelőzően [174-176]. Tizenkét beteg relapszusban volt: 8 lokális (az AML-es beteg csontvelői relapszusát is beleértve), 3 lokális és metasztatikus, 1 metasztatikus relapszus. Három beteg volt kezelésre refrakter. Hat beteg mutatott részleges választ az IFN α alkalmazását megelőző kezelésre és volt így makroszkópos reziduális tumora.

Az IFN α kezelés jellemzőit a VII. táblázatban foglaltuk össze. Az IFN α -t (IFN α -2b; Intron A[®], Schering-Plough, Brinny, Írország; IFN α -2a; Roferon A[®], Hoffmann-LaRoche, Basel, Svájc) heti 3x, subcutan (s.c.) módon alkalmaztam 7 esetben (4/1, 6, 7/1, 8/1, 14, 16 és 23; VI. táblázat) monoterápia formájában, illetőleg a többi esetben egyéb antineoplasztikus

gyógyszerek, protokollok vagy biológiai válasz módosítók, így retinsav (RA) származékok és kis dózisú cytarabine (LD-ARAC) adásával kombinálva (VII. táblázat) [174-177]. Az esetek többségében az IFN α napi dózisa testfelszínre számítva 3 MU/m² volt. A kezdő dózist 2 esetben (13-as, 23-as eset) 6 MU/m²-re emeltem. Az 1-es és 9-es beteg esetén a kezdő dózis 10 MU/m² (később 20 MU/m²-re emelve), illetőleg 5 MU/m² volt.

A tervezett kezelést megelőzően a betegek szüleitől tájékoztatást követő írásos beleegyezést kértem. A 4-es beteg szülei öt és fél hónapos kezelést követően minden további terápiás eljárástól elzárkóztak még az IFN α terápiával együtt alkalmazott AML-BFM-93 protokoll szerinti konszolidációs kezelés befejezését megelőzően.

Az IFN α kezelésre adott válaszreakció felmérése fizikális vizsgálat, kvantitatív és kvalitatív vérkép, hematopoetikus malignitás esetén csontvelő aspiráció, illetve képalkotó vizsgálatok, így konvencionális röntgen, ultrahang, CT és MRI segítségével történt. A tumoros folyamat aktivitásának felmérésében a ⁹⁹Tc csontscan, neuroblastomában a ¹²⁵I-meta-jodo-benzil-guanidin (MIBG) scan, valamint vérkémiai tesztek (laktát dehidrogenáz, neuron specifikus enoláz és ferritin) ismételt alkalmazása is segített. A terápiás effektus szempontjából, konvencionális kritériumok alapján, komplett és parciális remissziót (CR illetve PR, rendre), stabil/stagnáló és progresszív betegséget (SD illetve PD, rendre) különböztettem meg. Regisztráltam a betegek túlélési idejét. A terápiás válasz mellett kiemelten tanulmányoztam az IFN α kezelés mellett jelentkező mellékhatásokat.

A 24 beteg közül részletesen ismertetem az ET-ben szenvedő beteg (VI. táblázat; 6-os beteg) esetét, akinek csontvelői mononukleáris sejtjeit a kórismézés alkalmával kolónia esszé módszerrel jellemeztem. Ugyancsak ismertetem 2 beteg esetét (VI. táblázat; 5-ös, 13-as beteg), akikben az IFN α kezeléssel párhuzamosan alkalmazott 13-cisz-retinsav (isotretionin; Roaccutan[®], Roche, Basel, Svájc) terápia mellett Sweet szindróma alakult ki.

Statisztikai értékelés

A különböző dózisú IFN α -2b dózisok mellett kialakuló apoptózis, kolóniaképzésgátlás, illetőleg CD19 és CD32 expresszió értékében mutatkozó differencia statisztikai szignifikanciáját a Student féle t-teszt segítségével vizsgáltuk, a normál eloszlás ellenőrzése mellett. A statisztikai elemzés kapcsán a 0,05 alatti p értékeket ($p < 0.05$) tekintettem statisztikailag szignifikánsnak.

5. Eredmények

IFN α -2b hatása B-sejtes leukaemia/lymphoma sejtvonalak primer és szekunder kolónia képzésére

Az IFN α -2b mindhárom vizsgált B-sejtes leukaemia/lymphoma sejtvonal esetén a primer (4a. ábra) illetőleg a szekunder (4b. ábra) kolónia képzés dózis dependens gátlását okozta. Primer kolóniák képzését 1000 U/mL IFN α -2b gátolta maximálisan a JY és a BL-41 sejtvonal esetén, míg a BCBL-1 sejtvonal esetében 10 U/mL IFN α -2b idézett elő közel maximális gátlást. A kolónia képzés gátlása a három vizsgált sejtvonal közül kettő esetében nem volt teljes, a túlélő sejtek aránya 70% és 35% volt a JY és a BL-41 sejtvonal primer lágygél kultúrái esetén, 45% illetve 35% a szekunder kultúrákban, rendre. A BCBL-1 sejtek esetében 500 U/mL, illetőleg 100 U/mL IFN α -2b 100%-os klonális proliferáció-gátlást eredményezett a primer, illetőleg a szekunder metilcellulóz kultúrákban.

IFN α -2b hatása leukaemia/lymphoma sejtvonalak és köldökzsínórvér normál B-sejtjeinek apoptózisára és sejtfelszíni Fc γ RII receptor expressziójára

A vizsgált sejtvonalakban, az exponenciális növekedés szakaszában a BL-41 sejtek 2,3-4,1%-a, a JY sejtek 3,6-6,7%-a apoptótikus. Ez a konstans, spontán apoptózis arány 72 óra (JY) illetve 96 óra (BL-41) múlva kezdett szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) emelkedni a nem passzált sejt kultúrában (VIII. táblázat). IFN α -2b 100 U/mL, illetőleg 1000 U/mL dózisban szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) fokozta az apoptótikus sejtek arányát 48 illetve 24 óra múlva a BL-41 (5a. ábra) és a JY sejt kultúrában (5b. ábra). A BCBL-1 sejtenyészeten 24 óra inkubációs időt követően 100 U/mL IFN α -2b kifejezett sejtnekrózist idézett elő.

Ellentétben a leukaemia/lymphoma sejtvonalaknál megfigyelttel, a köldökzsínórvér mononukleáris sejtjeiben 24 órás tenyésztést követően 10-szeresére nőtt az apoptótikus sejtek aránya, külső növekedési faktor hozzáadása nélkül. Az IFN α -2b szupplementáció jelentős csökkenést eredményezett már 100 U/mL dózissal, s további csökkenést 1000 U/mL dózissal (VIII. táblázat). Az IFN α -2b-vel ellentétben IFN γ , GM-CSF és SCF alkalmazása nem előzte meg a köldökzsínórvér mononukleáris sejtfrakcióban kialakuló spontán apoptózist.

Az in vitro IFN α -2b kezelés befolyásolta a vizsgált sejtek sejtfelszíni Fc γ RII (CD32) kifejeződését. A BL-41 és JY sejtek több mint 99%-a CD32 pozitív volt, azaz minden sejt konstitutív módon kifejezte a receptort. 1000 U/mL IFN α -2b jelenlétében az átlagos

fluoreszcencia intenzitás (MFI) 24 óra inkubálást követően $13\pm 9\%$ -kal, valamint $7\pm 3\%$ -kal nőtt a nem kezelt BL-41 valamint JY sejtekhez viszonyítva.

A CD19-CD32 koexpressziót mutató B-sejtek aránya $10,8\pm 5,3\%$ volt a köldökszinórvér mononukleáris sejtjei között, mely arány, IFN α -2b hiányában, 24 órás inkubációs időt követően szignifikánsan ($p<0,05$), $5,8\pm 3,5\%$ -ra csökkent. 1000 U/mL IFN α -2b jelenlétében a CD19-CD32 koexpresszáló sejtek aránya nem változott ($10,0\pm 5,5\%$) lényegesen (6. ábra). Hasonló eltérést a köldökszinórvér mononukleáris sejtjei egyéb szubpopulációiban (T-limfociták, monociták, CD34-pozitív vérképző progenitor sejtek) az IFN α nem idézett elő. Exogén IFN γ , GM-CSF valamint SCF nem akadályozta meg az Fc γ RII-t expresszáló köldökszinórvér B-limfociták szignifikáns csökkenését.

A CD32 MFI hasonló változást mutatott: exogén IFN α -2b hiányában jelentősen csökkent ($p<0,05$) - $4,8\pm 2,8\%$ -ról $2,2\pm 0,7\%$ -ra, ugyanakkor a szignifikáns csökkenés elmaradt az 1000 U/mL IFN α -2b-vel kezelt mintákban ($4,3\pm 1,9\%$) (7. ábra). IFN γ , GM-CSF és SCF nem akadályozta meg a CD19-pozitív köldökszinórvér B-limfociták CD32 MFI csökkenését.

Az inkubációs idő alatt az IFN α -2b nem befolyásolta jelentősen a T-limfociták ($70\pm 5\%$), a monociták ($9\pm 5\%$), és az éretlen CD34-pozitív hematopoetikus őssejtek ($1,5\pm 1\%$) arányát a köldökszinórvér minták mononukleáris sejtfrakcióiban.

IFN α in vitro és in vivo hatása essentialis thrombocythaemiás (ET) betegben

Egy, a jelentkezés idején 3 éves kislány került klinikánkon kivizsgálásra fokozódó fejfájás, szédülés, enyhe splenomegalia miatt (VI. táblázat; 6-os számú beteg). Vérképvizsgálata kifejezett trombocita szám emelkedést (3000 G/L) igazolt, 10,5 fL átlagos trombocita térfogattal. A gyermek csontvelő biopsziás mintája mérsékelten hiperpláziás hematopoézist, az eritroid és mieloid prekursorok normál arányát és lokalizációját, a megakariociták kifejezetten fokozott megjelenését mutatta (8. ábra). A megakariociták a szokásosnál nagyobb méretűek, erősen hiperlobulált magvúak voltak, enyhén fokozott csontvelői retikuláris elemek mellett (Bauermeister grade 1-2). A berlini kék reakció nem mutatott ki gyűrűs szideroblastokat. A citogenetikai analízis normál női kariotípust igazolt (46, XX).

A beteg csontvelő-aspirációs mintájából nyert mononukleáris sejtek kolónia esszé vizsgálata spontán kolónia képzést nem mutatott. 5 U/mL EPO és 10 ng/mL G-CSF kombinált alkalmazása 7 illetve 14 nap tenyésztési idő alatt, normál CFU-E és BFU-E

képződést eredményezett, rendre (IX. táblázat). A normál csontvelői mieloid progenitorokat optimálisan serkentő 300 ng/mL G-CSF, 100 ng/mL GM-CSF, 100 ng/mL rh SCF, illetőleg 10% (v/v) PHA-LCM alkalmazása a betegből származó csontvelői mononukleáris sejt mintákban relatíve kevés számú (50-200), nagy, VIII-as faktor antigénre negatív reakciót adó, mieloid kolóniák képződését indukálta (IX. táblázat). A IFN α -2b a PHA-LCM-indukálta kolónia képzés dózis-dependens gátlását eredményezte, 1000 U/mL dózisban komplett gátlással (IX. táblázat).

A kifejezett in vitro gátló hatást és a felnőtt ET-ben leírt kedvező terápiás effektust figyelembe véve, subcutan IFN α kezelést indítottam 3 MU dózisban heti 3x alkalommal adagolva. Az IFN α dózisát fokozatosan 6 MU-re emeltem. Emellett a beteg a trombocitaszám 1000 G/L alá csökkenéséig 5 mg/ttkg/nap aspirin kezelésben részesült a trombocita aggregáció gátlása céljából. Hatvanöt havi IFN α kezelés mellett a trombocitaszám fokozatosan csökkent, csaknem a normális értékre (440 G/L) (9. ábra). A beteg prezentációs tünetei már két havi IFN α kezelést követően megszűntek, a gyermek hétköznapi életmódot folytat, iskolába jár, tünet- és panaszmentes. Mellékhatásként mindössze enyhe láz és influenza-szerű tünetegyüttes jelentkezett. Az IFN α kezelés leállítását követő időszakban a beteg trombocitaszáma stabilan 400 és 600 G/L közötti.

Az IFN α kezelés befejezését követően 3 hónappal végzett csontvelői minta áramlási citometriás elemzése normál mieloid/eritroid, T-sejt/B-sejt és CD4/CD8 arányt mutatott, s kimutatható volt egy CD45halvány/CD34/cyFXIII-A pozitív, intenzív GPIIb és GPIX expressziót mutató, elkülönülő sejtpopuláció (6%). A perifériás vérminta áramlási citometriás analízise a trombociták kifejezetten fokozott (30%) P-szelektin expresszióját mutatta a normál kontroll trombocitákhoz viszonyítva (0-3%), jelezve a trombocita aktivációt. Tizenöt hónappal az IFN α kezelés leállítását követően a fenti paraméterek normalizálódtak (10. ábra).

Malignus betegségben szenvedő gyermekek in vivo IFN α kezelésével szerzett klinikai tapasztalatok

Az IFN α kezelésben részesült betegek kezelési eredményeit a VII. táblázatban mutatom be. Az IFN α kezelést, mint első-vonalbeli terápiát választottam az ET (6-os beteg) esetében, az irodalmi adatok szerinti hatékonyságra, valamint a JMML (4-es beteg) esetében a kedvező in vitro hatásosságra alapozva. A colon adenocarcinomás (11-es) beteg az IFN α -t irodalmi adatok alapján, a fenntartó kezelés részeként kapta Fluoro-uracillal kombináltan. Előbbi betegen kívül a két LCH-s (7-es, 8-as), a két reziduális masszával bíró velőcső eredetű

tumoros (14-es, 16-os), valamint az astrocytomás betegek (23-as) kapták az IFN α -t - kezelésük során végig, vagy részben - monoterápia formájában. A többi beteg az alapbetegségnek megfelelő kemoterápiával kombinált formában kapta az IFN α kezelést (VI. táblázat).

Az IFN α -val kezelt 24 betegből 14 (58,3%) komplett (CR) vagy parciális (PR) remisszióba került. Ezen alcsoportban a túlélési idő 9-167+ hónap volt (átlag 79,4 hó, medián 79 hó). A reagáló betegek csoportjában található valamennyi túlélő beteg (6-os, 7-es, 14-es, 16-os, 20-as, 21-es, 23-as betegek). A 7 túlélő beteg mellett kedvező terápiás választ észleltem 4 vérképzőszervi rosszindulatú betegségben szenvedő (1-es, 2-es, 3-as, és 4-es betegek) valamint, átmenetileg, a colon adenocarcinomás (11-es), a neuroblastomás (13-as) és az LCH miatt kezelt (8-as), később elveszített betegek esetében. A 3 stabil/stagnáló betegségben (SD; 5-ös, 8-as, 12-es) illetve a 8 progresszív betegségben szenvedő gyermek (PD; 9-es, 10-es, 15-ös, 17-es, 18-as, 19-es, 22-es, 24-es) kivétel nélkül meghalt (11/24, 45,8%). Ezen alcsoportban az átlag túlélési idő 35 hónap volt (8-67 hó, medián 32 hó). Kedvezőtlen válaszreakciót észleltem a gastrointestinalis malignitás miatt kezelés alatt álló 3 beteg (9-es, 10-es, 12-es), az MDS (5-ös), a PNET illetőleg neuroblastoma (15-ös, 17-es, 18-as, 19-es), a medulloblastoma (22-es) valamint a rhabdomyosarcoma (24-es) miatt kezelt betegek esetében.

A rosszindulatú vérképzőszervi betegségben szenvedők (1-6-os számú betegek) közül 5/6 reagált (CR/PR) az alkalmazott IFN α kezelésre. Érdekes módon a három akut leukaemiás beteg mindegyike expresszáta a CD7 antigént a leukaemia sejtek felszínén. Az 1-es számú beteg kizárólag a kombinált citosztatikus kezelés IFN α -val történő kiegészítését követően került remisszióba. A 2-es számú betegben sikeres volt az IFN α kezeléssel kiegészített remisszió indukció (AML, M2, első relapszus), lehetővé téve autológ csontvelő átültetés elvégzését, mely további 2 éven át tartó második komplett klinikai és hematológiai remissziót eredményezett. A 3-as számú betegben (AML, M7, első relapszus) az IFN α kezelés az AML-BFM 93 protokollal kombinálva parciális remissziót eredményezett, a CD7-pozitív klón eltűnésével. A 4-es számú beteg (MDS, JMML) szintén igen jól reagált az IFN α kezelésre, melyet kezdetben monoterápia formájában, majd két hét elteltével az AML-BFM-93 protokollal kombinálva kapott. Az ET-ás, tartós parciális remisszióba került beteg esetét megelőzően részletesen ismertettem.

A 2 disszeminált LCH-s beteg (7-es és 8-as) csak gyenge válaszreakciót mutatott a standard prednisolon/vinblastin kezelésre. A 7-es beteg szülei elzárkóztak az agresszívebb

DAL-HX-90 citosztatikus protokoll bevezetésétől [177]. A gyermek esetében alkalmazott 12 hónapos IFN α kezelés a seborrhoea-szerű bőrléziók és a koponyacsont oszteolitikus lézióinak csaknem teljes eltűnését eredményezte. Az IFN α kezelés elhagyását követően a beteg visszaesett. A recidívát követően ismételten komplett remissziót (CR) eredményezett az IFN α visszaállítása. A gyermek jelenleg él, iskolába jár, daganat-mentes. A 8-as számú beteg extrém fokú nyaki lymphadenomegaliával került osztályunkra. A kezdeti prednisolon/vinblastin kezelés csak minimális regressziót eredményezett. Az IFN α monoterápiára adott válasz is részleges volt. Az IFN α -val egyidejűleg alkalmazott DAL-HX-90 citosztatikus protokoll magas rizikójú ágának bevezetése komplett remissziót eredményezett, 67 hónappal a kórisme megállapítását követően azonban a beteget diffúz tüdőérintettség okozta pneumothorax miatt elvesztettük (11. ábra).

A perifériás idegrendszeri (velőcső) eredetű tumorok képezték a vizsgált betegcsoport legnagyobb részét (13-21-es számú betegek). Az IFN α kezelés mellett 1 esetben CR-t, 4 esetben PR-t, 4 esetben PD-t észleltem. Ezen alcsoport összes túlélője (14-es, 20-as, 21-es beteg) a standard kemoterápia befejezését követően aktivitási tüneteket (klinikai jelek, detektált tumornövekedés ismételt képalkotó vizsgálattal, pozitív MIBG scan, emelkedett LDH érték) mutató makroszópos reziduális szövetszaporulattal bírt. Három beteg (14, 16 és 21-es) a képalkotó vizsgálatok alapján, a kezelés befejeztével is rendelkezett reziduális, azonban tumoros aktivitási jeleket, növekedést nem mutató térfoglaló terimével. A 20-as beteg komplett remisszióba került (CR), amelyet azóta is tart. A csoport többi betegének progresszív betegsége volt, vagy csak átmeneti PR alakult ki, majd a betegeket elvesztettük.

Két betegnek volt központi idegrendszeri tumora. A 22-es, inoperábilis, „könnycsepp” metasztázisokkal kísért, a nyaki gerincet érintő medulloblastomás betegnek IFN α kezelés mellett is progrediált a betegsége (PD), amely a gyermek halálához vezetett. A 23-as, rekurráló, cervicothoracalis lokalizációjú inoperábilis astrocytomás (A2) beteg IFN α kezelésre parciális remissziót mutatott, a klinikai tünetek enyhülése, a tumorméret MRI-vel detektált csökkenése mellett. Ezen PR-ra alapozva az IFN α dózisát 3 MU/m²-ről 6 MU/m²-re emeltem, heti 3x, s.c. módon adagolva. A beteg él, szakképesítést szerzett, dolgozik.

A betegek többsége az IFN α -t 3MU/m² dózisban kapta. Ettől az adagolási rendtől összesen 5 beteg esetében történt eltérés. Az 1-es, standard kezelésre nem reagáló beteg esetében az induló dózis 10 MU/m² volt, melyet 20 MU/m² dózissal emeltem, a szokványos mellékhatások fokozódása nélkül. A 9-es beteg esetében a 3 MU/m² kezdő dózist 5 MU/m²-ig, míg a 6-os, 13-as és 23-as beteg esetében 6 MU/m² dózissal emeltem. A dózis emeléseknél

az addigi kezelésre adott kedvező válaszreakciót és az egyéni toleranciát vettem figyelembe. Az emelt dózisu IFN α -t kapó betegcsoportban a mellékhatások előfordulási gyakorisága és intenzitása nem különbözött a szokványos alapdózist kapó beteghez képest.

Az IFN α kezelést minden egyes beteg jól tolerálta, kizárólag enyhe influenza-szerű tünetek, illetve a s.c. adagolásmód okozta enyhe lokális kellemetlenség jelentkezett mellékhatásként. Csupán egy esetben (14-es beteg) lépett fel számottevő fáradtság, enyhe figyelemdeficittel, étvágy- és testsúlycsökkenéssel kísérve.

Súlyos mellékhatást két, az IFN α kezeléssel egyidejűleg 13-cisz-retinsav (isotretinoin) kezelést kapó betegben észleltem. Az 5-ös számú beteg, egy 18 éves leány, aki cerebelláris medulloblastoma miatt craniospinális irradiációt és VEP (Vincristin/Elobromol/Procarbazin) séma szerinti kemoterápiát kapott [175]. Három évvel később szekunder mielodiszpláziás szindróma (refrakter anaemia blaszt túlsúllyal, RAEB) alakult ki, mely miatt allogén vérképző őssejt átültetés történt. Öt hónappal a transzplantációt követően a diszplasztikus klón újból kimutathatóvá vált. Két alkalommal donor eredetű „buffy coat” transzfúziót, IFN α -át (3MU/m²/hetente 3x), isotretinoint (120 mg/m²) és ismételt alacsony dózisu ARA-C-t kapott. Az isotretinoin adását követő 8. naptól a beteg bőrében fájdalmas vörhenyes csomók jelentkeztek, 2 hónapig tartó láz, leukocytosis (érett neutrofilek), emelkedett vérszejtsűllyedés kíséretében, ismételt negatív tenyésztési eredményekkel. Ezen tünetekhez 4 hét múlva proteinuria, folyadékretenció társult, mely a beteg haláláig fennált, szemben a többi klinikai tünettől, mely az isotretinoin megvonás és az alkalmazott 6-methylprednisolon kezelés mellett jelentősen javult. Hasonló klinikai kép bontakozott ki a 13-as számú, retroperitonealis lokalizációjú neuroblastomás beteg lokális relapszusa valamint májmetasztázis okán alkalmazott, CEV (carboplatin/etoposid/vincristin) ciklusok mellett IFN α -t és ugyancsak isotretinoint tartalmazó kombinációs kezelése során. A beteg mellékhatásnak megfelelő klinikai tünetei (subcutan csomók, láz) az isotretinoin megvonása és 6-methylprednisolon kezelés mellett szanálódtak. A két beteg kezelése kapcsán észlelt klinikai tünetcsoport Sweet szindrómának felelt meg.

6. Megbeszélés

A kísérletek során vizsgáltam az IFN α -2b-nek három B-sejtes leukaemia/lymphoma sejtvonal, az EBV-vel fertőzött, immortalizált JY, a vírusgenom-mentes BL-41 és a HHV-8 genomot hordozó BCBL-1 sejtek klonális növekedésére, apoptózisára, illetőleg bizonyos sejtfelszíni molekulák kifejeződésében megnyílvánuló fenotípus-változására gyakorolt hatását. Az IFN α -2b mindhárom vizsgált sejtvonal esetén szignifikáns, dózis-depenens gátlást idézett elő mind a primer, mind a szekunder kolóniák vonatkozásában. Tekintettel arra, hogy a primer kolónia képzés a terminális differenciálódást jellemzi, míg a szekunder kolónia képzéssel a sejtek önmegújuló képessége jellemezhető, az eredmények alapján az IFN α -2b antiproliferatív hatása a leukaemia őssejt illetőleg a leszármazott, terminális oszlásban résztvevő leánysejtek szintjén is megnyílvánul [178]. A JY és BL-41 sejtek kolóniaképzés-gátlását az apoptotikus sejtek arányának növekedése kísérte. Ezekben a sejtvonalakban az IFN α -2b önmagában nem hozott létre sem teljes fokú kolóniaképzés-gátlást, sem 100%-os apoptózis-indukciót. A túlélő sejtfrakció IFN α -ra természetes rezisztenciát mutató vagy az apoptózis útvonalat megkerülő sejteket reprezentál.

Humán B-sejtes leukaemia/lymphoma sejtvonalakra vonatkozóan az IFN α apoptózist indukáló hatásáról irodalmi adat nem jelent meg. Trubiani és mtsai differenciált humán leukaemia B-sejtvonalra vonatkozóan közöltek saját eredményeinkkel megegyező, IFN γ kezelés kapcsán kialakuló apoptózis indukciót [179].

A HHV-8 infektált BCBL-1 sejtvonal esetén a primer és szekunder kolónia képzés IFN α -kiváltotta komplett gátlása volt megfigyelhető. Az IFN α -kezelt tenyészetben kifejezett volt a nekrotikus sejtek aránya. Ezen sejtvonal humán IL-1 β , IL-10, IL-12, illetőleg két, a β -kemokin családba tartozó makrofág gyulladáshoz asszociált protein, a transformáló-növekedési faktor β -1 (TGFB-1), valamint a virális IL-6 detektálható mennyiségű mRNA-t expresszál [180, 181]. Az IFN α feltehetőleg ezen citokinekkal interferál, a sejt növekedését szabályozó, autokrin hurkok befolyásolása révén fejtette ki proliferáció-gátló hatását.

Az IFN α kezelés képes gátolni a BCBL-1 sejtvonal HHV-8 produkcióját. A vírus hosszú homológ régiójában az interferon-reguláló faktorral (IFR) nagyfokú homológiát mutató ORF-K9 proteint kódol [182]. Igazolható, hogy az IFN α az IFR-1 termelés indukciója és a virális IRF DNS kötődésének kompetíciója révén fejt ki vírus-növekedés gátló hatását [183]. Megfigyelték, hogy az I-es típusú IFN BCBL-1 sejtbe történő transzfektálása a virális

litikus kör aktivációjának gátlásával apoptózist idéz elő és megszünteti a tumorindukáló hatást SCID egértörzsben [184].

Ellentétben a leukaemia/lymphoma sejtvonalak esetében tapasztaltakkal, a köldökzsínórvér eredetű mononukleáris sejtek in vitro spontán apoptózisát az $\text{IFN}\alpha\text{-}2\text{b}$ kezelés kivédte. Ez az új megfigyelés alátámasztja azt az álláspontot miszerint az $\text{IFN}\alpha$ az érett B-sejtek fontos túlélési faktora [185, 186].

A köldökzsínórvér B-limfocitákon megfigyelhető anti-apoptózis hatással párhuzamosan az $\text{IFN}\alpha\text{-}2\text{b}$ megelőzte a CD32-pozitív, $\text{Fc}\gamma\text{RII}$ -t kifejező B-limfociták arányának csökkenését. Ezen megfigyelésekkel egyezően Ruuth és mtsai az $\text{IFN}\alpha$ hatására létrejövő perifériás B-limfociták spontán apoptózisának gátlását igazolták, mely specifikus foszfatidil-inozitol-3 (PI3)-kináz inhibitorral gátolható volt, a PI3, mint másodlagos hírvívó útvonal folyamatban betöltött központi szerepére utalva [187]. Tekintettel arra, hogy a köldökzsínórvér egyéb mononukleáris sejtjeinek szubpopulációiban (T-limfociták, monociták, CD34-pozitív éretlen hemopoetikus elődsejtek) hasonló változás nem volt megfigyelhető, feltételezhető hogy az $\text{IFN}\alpha$ főképpen a normál B-limfocitákban fejt ki anti-apoptotikus hatást. Az $\text{IFN}\alpha$ hatása szelektív, mivel az $\text{IFN}\gamma$, a GM-CSF és az SCF nem volt képes hasonló változást létrehozni sem az apoptotikus sejtarány, sem az $\text{Fc}\gamma\text{RII}$ kifejeződés tekintetében. Habár a mononukleáris sejtfrakcióban jelenlévő monociták és T-sejtek által termelt egyéb, B-sejt túlélési faktorok indirekt hatása nem valószínű, ezt a lehetőséget nem lehet teljesen kizárni.

Ez a megfigyelés új, bár nem váratlan. $\text{IFN}\alpha$ vonatkozásában eddig még nem, $\text{IFN}\gamma$ esetén ismert volt az a jelenség, hogy az $\text{IFN}\gamma$ fokozza az I-es és II-es típusú sejtfelszíni $\text{Fc}\gamma$ receptorok kifejeződését monocita/makrofág illetőleg megakariocita sejtvonalakban. Az $\text{IFN}\gamma$ a „ γ -reszponz régió”-nak nevezett (GRR) specifikus protein komplexek gyors indukcióját idézi elő, az $\text{Fc}\gamma\text{RI}$ gén transzkripció s rátájának kifejezett növekedését eredményezve [188]. Az $\text{IFN}\alpha$ szintén indukálja a reszponz régió n összeálló hasonló komplexek kialakulását, de nem aktiválja a mononukleáris sejtek $\text{Fc}\gamma\text{RI}$ transzkripcióját. Az $\text{Fc}\gamma$ receptorok manifestációjának általam is megfigyelt fokozott szintje jó összefüggést mutat a differenciálódás lépéseivel és az $\text{IFN}\alpha$ -ra adott fokozott válaszkészséggel a B-sejtekben [189, 190].

A leukaemia sejtek klonális proliferációjának gátlása, a neoplasztikus és normál B-sejtek apoptózisának eltérő szabályozása ígéretes $\text{IFN}\alpha$ által kiváltott hatás, mely potenciálisan hasznosítható a gyermekkori B-sejtes malignitások ellen irányuló daganat-

ellenes kezelésben. További vizsgálatok szükségesek az IFN α és a citosztatikus gyógyszerek kombinációjának de novo leukaemia/lymphoma sejtekre kifejtett hatásának felmérésére, hogy meghatározhassuk az IFN α mono- illetve kombinációs terápia pontos helyét a gyermek-onkohematológia fegyvertárában.

Az essentialis thrombocythaemia ismeretlen eredetű, a trombocita prekursorok túlzott proliferációjával járó klonális mieloproliferatív betegség. Ellentétben a krónikus és akut mieloid leukaemiával, a citogenetikai és molekuláris genetikai vizsgálatok kromoszóma eltérést rendszerint nem mutatnak. Philadelphia transzlokáció [t(9;22) / bcr-abl átrendeződés] sem mutatható ki. Egy friss tanulmányban vizsgált 7, nem familiáris ET-ás és egy szekunder thrombocytosisos gyermekben sem a trombopoetint (TPO) sem a receptorát, a *c-mpl* gént kódoló szekvenciákban nem találtak módosulást, jelezve, hogy a zavar nem a megakariociták TPO-ra adott válaszában, hanem valószínűleg a jelátviteli mechanizmus szintjén lehet [191].

A felnőtt ET-ás betegek hematopoetikus prekursor sejt klonális proliferációjának tanulmányozása hozzásegített a betegség kórélettanának jobb megértéséhez. Megelőzően Ash és mtsai igazoltak spontán CFU-MK kolónia képzést, később Juvonen és mtsai mutattak ki felnőtt betegekben szignifikáns CFU-MK kolónia képzés-emelkedést szuboptimális dózisú PHA-LCM stimuláció mellett, az egyéb mieloproliferatív betegségben észlelt spontán kolónia képzéssel megegyező jelenséggént [192, 193]. Randi és munkatársai 5 vizsgált ET-ás gyermekben a spontán BFU-E kolónia képzés hiányát detektálták [194]. Florensa és mtsai voltak, akik először tanulmányozták CFU-MK és CFU-GM kolónia képzést ET-ás gyermekekben. Ellentétben a Randi munkacsoport eredményeivel, 4/5 esetben detektáltak spontán BFU-E kolónia képzést. Spontán CFU-MK 4/5 esetben volt kimutatható, spontán CFU-GM kolónia képzést nem találtak. Megfelelő exogén citokin stimuláció után, az átlag BFU-E, CFU-MK és CFU-GM 78,4; 6,6 illetve 36,4 volt 2×10^5 számú mononukleáris sejtre vonatkoztatva [195]. Felnőtt ET-ás betegben Gugliotta és mtsai közlése szerint az IFN α -2b igen alacsony koncentrációban (1-10 U/mL) gátolta a CFU-MK kolóniák növekedést [196].

Gyermekekori ET-ban a kezelés indikációja és fajtája kevésbé meghatározott, mint felnőtt betegekben. Tünetmentes esetekben megfigyelés-követés indokolt. Tüneteket mutató betegben trombocita-ellenes vagy citoreduktív kezelés beállítása szükséges [42]. Az alkiláló ágensek, mint a busulfan vagy hydroxyurea fokozzák a leukaemiás transzformáció rizikóját [197]. Alacsony dózisú aspirin hatékony a kísérőtünetek kezelésében, habár alkalmazása magas trombocita számmal járó ET-ban ellentmondásos [198]. Újabban anagrelide javasolt az emelkedett trombocita szám korrigálására mind felnőtt-, mind gyermekkorban [199]. Az

IFN α használata mint alternatív terápiás lehetőség javasolt [200]. Az IFN α közvetlenül gátolja a TPO-indukált megakariocita növekedést a SOCS-1 gén-indukció következtében létrejövő TPO-szignál gátlása révén [201]. Mivel a humán megakariocita progenitor proliferáció stimulálható TPO-független úton is, az I-típusú interferonok CFU-MK növekedést indirekt módon gátló hatása sem zárható ki [202]. Az IFN α nem mutagén, nem leukaemogén, azonban influenza-szerű mellékhatása és szubkután adagolhatósága korlátozza használatát [203]. Jelentősebb mellékhatást, mint amilyen az irreverzibilis neurológiai károsodás, igen ritkán közöltek [204].

Egy 1999-ben intenzív homloktáji fejfájás panaszával jelentkező 3 éves leánygyermek esete megfelelt a „Polycythemia Vera Study Group” diagnosztikus kritériumainak [205]. A gyermek 3 éves életkorával egyike a legfiatalabb ET-s betegeknek. A gyermek esetében tanulmányoztam a csontvelői eredetű mononukleáris sejtek eritroid és mieloid kolónia képzési tulajdonságát. A betegből származó csontvelői minta nem mutatott spontán kolónia képző tulajdonságot. Az indukált BFU-E, CFU-E és CFU-GM kolónia képzés mértéke a Florensa és munkatársai által dokumentált mintákéhoz hasonlított [195]. A vizsgálat idején nem volt lehetőség a TPO in vitro kolónia képzésre gyakorolt hatásának jellemzésére, azonban a G-CSF, GM-CSF, SCF, PHA-LCM stimulációra képződő kolóniák negatívak voltak intracellularis FVIII antigénre. Felnőtt mintákhoz hasonlóan az IFN α -2b igen hatékonyan gátolta a PHA-LCM-indukált mieloid kolónia képzést.

A felnőtt minták IFN α gátlása és a felnőttkori kedvező klinikai tapasztalatok alapján a beteg IFN α kezelése megkezdődött, melyre szignifikáns trombocitaszám-csökkenés, illetőleg a klinikai tünetek oldódása következett be. Az IFN α kezelés hatása tartósnak bizonyult, mivel a kezelés leállítása óta eltelt 26 hónap alatt a trombocita szám 400-600 G/L érték között stabilizálódott. Az IFN α kezelés leállítását követő 3 hónappal a GPIIb, GPIX és a P szelektin szint emelkedése volt kimutatható, mely jelenség in vivo trombocita aktivációra utalt. A 12 hónap múlva ismételt vizsgálat az in vivo trombocita aktiváció normalizálódását mutatta. Kóros trombocita aktiváció in vivo gyulladásos folyamatok illetve in vitro exogén stimulus hatására alakul ki a megakariocita/trombocita vonalban [206]. Az I-es típusú interferon kezelést a trombociták P-szelektin kifejeződésének csökkenése kísérte krónikus hepatitis C fertőzött egyéneknél, mutatva az IFN α aktivált trombocita-stabilizáló hatását [206]. Ez a megfigyelés felveti, hogy az IFN α kezelés hatékonyságához a trombocita aktivációt gátló hatás hozzájárulhat a kedvező terápiás válaszhoz ET-ban.

Az IFN α terápiát, munkatársaimmal együtt, elsőként alkalmaztam nagyobb számú, 24 esetet számláló gyermekkori kohort kezelésére. A részletesen ismertetett ET esetén kívül 23 gyermeknek recidív, illetőleg az alkalmazott terápiára gyengén reagáló, azaz, akár a javulási tendenciát, akár a gyógyulási esélyeket tekintve kifejezetten rossz prognózisú folyamata volt. Az IFN α terápiát, mint elsővonalbeli kezelést az ET esethez hasonlóan, a kedvező in vitro érzékenység okán JMML-ben, valamint felnőttkori esetekre vonatkozó szakirodalmi adatok alapján, radikális sebészi eltávolítást követően colon adenocarcinomás gyermekben választottam. A többi beteg esetében az IFN α kezelésre a megelőző kemoirradiációs kezelés(ek) mellett észlelt makroszkópos maradék betegség, tumorprogresszió illetőleg recidíva miatt került sor.

Az alapbetegség kifejezetten előrehaladott jellege ellenére a vizsgált 24 betegből 14 kedvezően reagált az IFN α kezelésre. A CD7-pozitív leukaemiás betegek válaszreakciója különösen figyelemre méltó, mivel a CD7 antigén a még véglegesen T-sejtvonal irányba el nem kötelezett, éretlen hematopoetikus elődsejtek felszínén expresszálódik, s az ezen sejtekből transzformálódó leukaemia az IFN α kezelésre jól reagálhat [207]. Komplet vagy parciális terápiás válaszreakció volt látható a már ismertetett ET eset mellett JMML, disszeminált LCH, astrocytoma, valamint neuroblastoma/ganglioneuroblastoma esetén. Az utóbbi kórképek kapcsán a kedvező válaszreakció azokban az esetekben volt megfigyelhető, amelyekben az IFN α terápia a standard multimodális kezelést követően került alkalmazásra, parciális remisszióban, mint fenntartó monoterápia vagy 13-cisz-retinsavval együttesen adva. Egy újabban végzett meta-analízis eredményeihez hasonlóan a colorectalis tumor IFN α kezelése kapcsán mi sem észleltünk kedvező terápiás hatást [208]. Az IFN α kezelésre reagáló 14 malignus betegből 7 tartós túlélő. Közülük 6 gyermek alapfolyamata jelenleg nem mutat aktivitási jeleket, 1 parciális remisszióban (PR) van.

Az IFN α kezelés a betegek számára kifejezetten jól tolerálható volt, enyhe vagy mérsékelt mellékhatások kíséretében. Minden betegben különböző súlyosságú és tartamú lázas, influenza-szerű reakciót észleltem az IFN α adása kapcsán. A s.c. injekciók fájdalmas mivoltára 2 gyermek (8%) panaszkodott. Egy esetben (4%) kellett az IFN α kezelést fáradékonyság, étvágytalanság, kifejezett testsúly-csökkenés miatt átmenetileg szüneteltetni.

Két gyermek esetében, akik az IFN α terápiával párhuzamosan isotretinoin kezelésben is részesültek, Sweet szindróma kialakulását észleltük, amelyet, mint gyermekkorban ritkán előforduló akut neutrofilias dermatózist eredetileg Sweet és mtsai írtak le [209, 210]. A kórkép pontos patogenezise nem ismert. Az IL-1, IL-3, IL-6, IL-8, G-CSF, GM-CSF és IFN γ

citokineket érintő diszreguláció feltételezhető [211]. Jellemző hisztopatológiai eltérés a noduláris perivaszkuláris neutrofil sejtes beszűrődés, a neutrofil karyorrhesis, a nyilvánvaló vasculitis hiánya. Kután erupciók, eritémás papulák és plakkok, magas, intermittáló láz, influenza-szerű felső légúti megelőző tünetek, kötőhártya-, szivárványhártya-, ízületi-gyulladás mellett steril belszervi érintettség (alveolitis, osteomyelitis, veseelégtelenség, máj-, pancreas-, idegrendszeri) fordulhat elő. A kórkép gyakran társul hematológiai neopláziákkal, szolid tumorokkal, immunológiai és gyulladásos folyamatokkal, gyógyszerek, kolónia stimuláló faktorok alkalmazásával illetőleg csupa-transz-retinsav kezeléssel [212-218]. A két eset az első, 13-cis-retinsav (isotretinoin) kezeléssel összefüggésben jelentkező gyermekkori, közlésre került Sweet szindrómás eset, melynek hátterében specifikus citokin háttér gerjesztette, neutrofil-mediált reaktív folyamat állhat [219].

Az IFN α közvetlen és immun-mediált tumor-ellenes hatásán túl gátolja az érújdonképződést is. Utóbbi hatásán alapul alkalmazása hemangioendothelioma, metasztatikus hemangiopericytoma, Kasabach-Merritt szindróma kezelésében [220-222]. Életet veszélyeztető hemangiómák kezelése mintegy 70%-ban regressziót, 30%-ban stabil betegséget eredményezett, az 1-5 éves korcsoportban. A ritka spontán regressziót mutató 1 év alatti korcsoportban 68%-os kedvező terápiás effektusról számoltak be [223]. Részben az angiogenezis gátlásán alapulhat az IFN α hatékonysága neuroblastomában, mely mellett kísérletes állat modellek szólnak. A fázis 2 humán vizsgálatok eredménye egyelőre nem meggyőző [224, 225]. Kedvező kezelési eredményekről számolnak be CD7-pozitív, differenciálatlan sejtes akut leukaemia, allogén csontvelőátültetést követően relapszusba kerülő JMML, illetőleg előrehaladott, kezelésre refrakter, recidív Hodgkin-lymphoma gyermekkori IFN α kezelésével kapcsolatban [162-164].

Az ET IFN α kezelésével felnőttkorban jelentékeny klinikai tapasztalat gyűlt össze, gyermekkorban azonban kevés a klinikai tapasztalat [226]. A PV IFN α kezeléséről szintén kevés nemzetközi és hazai közlemény számol be [227, 106]. A mastocytosis agresszív formáinak, valamint az LCH generalizált folyamatainak IFN α kezelésével, saját eredményeinkkel egyezően kedvezőek a klinikai tapasztalatok [228, 229].

Folyamatban van az osteosarcomás betegek randomizációs vizsgálata az EURAMOS („European and American Osteosarcoma Study Group”) tanulmány keretében. Elsődleges cél a rezekálható, cisplatin-doxorubicin-methotrexate kezelésre kedvező szöveti válaszreakciót mutató betegek fenntartó IFN α kezelése, illetőleg a túlélésre gyakorolt hatásának vizsgálata [230]. Több tanulmány vizsgálja az IFN α kezelés hatékonyságát gyermekkori

agytumороkban. HG („high grade”) gliomában Rajkumar és mtsai 5/9 esetben kedvező válaszreakcióról, míg más szerzők IFN α és kemoterápia kombinációja kapcsán a toxicitás fokozódásáról számoltak be [231, 232]. LG („low grade”) astrocytomában fibroblast-IFN 36%-os remissziós rátát eredményezett [233].

Az IFN α -t sikerrel alkalmazták T-sejtes limfoid leukaemia kezelésében, amikor hepatitis B infekció, illetőleg a kezelés okozta hepato-toxicitás a konszolidációs fázis folytatását nem tette lehetővé. Így az IFN α terápia megfelelő alternatíva lehet azon gyermekkori ALL esetek -elsősorban fenntartó- kezelésében, ahol a beteg hepatitis B vagy C infekció miatt nem részesülhet további kemoterápiás kezelésben [165].

Az IFN α terápiás aktivitása potencírozható citosztatikus gyógyszerekkel, egyéb biológiai válaszmódosítókkal, így platina származékok, nukleotid analógok és antagonisták, epipodophyllotoxin származékok, antraciklin antibiotikumok, alkiláló ágensek, és retinsav derivátumok alkalmazásával. Kihasználva ezen pozitív interakciókat, gondosan megválasztva az IFN α kezeléssel kombinált citosztatikus blokkok megfelelő időrendjét, helyes adagolási módját, alkalmazásukat kiterjeszthetjük a gyermekkori daganatos betegségekben, amelyekben korlátozott a használatukkal szerzett, bizonyítékokon alapuló tapasztalat [156, 46].

7. Összefoglalás

A gyermekkori szolid és hematopoetikus malignus megbetegedések a gyermekkori halálozás legfontosabb tényezői. A kezelési lehetőségek robbanásszerű fejlődése ellenére a gyermekek 20-30%-át napjainkban is elveszítjük. Ígéretes lehetőséget kínálnak a szervezet daganat ellenes védekezését fokozó, illetőleg a neoplasztikus sejt megzavart differenciálódási-érési egyensúlyát helyreállító biológiai választ módosító anyagok. Ezen terápiás csoport jeles képviselje az interferon-alfa, melynek alkalmazásával különösen felnőttkori malignitások terápiájában kedvezőek a tapasztalatok. A gyermekonkológiai alkalmazás pontos helye nem meghatározott.

Áttekintettem az I-es típusú interferonok daganat-ellenes hatásainak és alkalmazásainak irodalmát, különös tekintettel a gyermekkori neoplasztikus, ezen belül a ritka mieloproliferatív kórfolyamatokra. In vitro tanulmányoztam az IFN α -2b hatását egészséges köldökzsínórvér-eredetű B-limfociták és B-sejtes leukaemia/lymphoma sejtvonalak szaporodási és differenciálódási tulajdonságaira, valamint essentialis thrombocytosisban (ET) szenvedő gyermekbeteg csontvelői progenitor sejtjeire klonogén esszében. Értékeltem az IFN α terápiás alkalmazásának lehetőségeit terapia-refrakter, recidiváló, kiemelten kedvezőtlen kórjóslatú gyermekkori neoplasztikus megbetegedésekben, különös tekintettel az ET-ra, illetőleg az IFN α és a vele párhuzamosan alkalmazott isotretinoin kezelés mellékhatásaira.

Az IFN α szignifikáns mértékben dózis dependens módon gátolta három vizsgált B-sejtes leukaemia/lymphoma sejtvonal primer és szekunder kolónia képzést. Szignifikánsan fokozta a vizsgált sejtvonalakban az programozott sejthalál mértékét. A normál köldökzsínórvér eredetű B-limfocitákban a sejtvonalaknál megfigyelttel ellentétben az IFN α megelőzte a spontán apoptózist. Az IFN α klinikai alkalmazása a kedvező in vitro hatással párhuzamosan ET-ban a beteg állapotának tartós javulását eredményezte. A kifejezetten rossz prognózisú neoplasztikus folyamatok kezelése kapcsán 14/24 esetben parciális vagy komplett remisszió alakult ki. A mellékhatások enyhék voltak, így az IFN α klinikai alkalmazása a gyermekonkológiai gyakorlatban biztonságos. Jelentős mellékhatást 2 esetben, Sweet szindróma formájában, isotretinoin kezeléssel párhuzamosan alkalmazott IFN α terapia folytán észleltem.

Megfigyeléseim mások tapasztalataival egybehangzóan azt sugallják, hogy az IFN α kezelés ígéretes lehet gyermekkori malignitások bizonyos típusaiban.

7. Summary

Cancer is one of the most important factor of childhood mortality. Despite of recent advances, 20-30% of children with cancer still succumb to death due to their disease even in the 21st century. Promising results were obtained with biologic response modifiers which enhance anti-cancer defense mechanismus of the body and may help to reverse disturbed differentiation/maturation processes. Interferon-alpha (IFN α) is a well studied representative of biologic response modifiers however, its role in the pediatric oncology remains to be established.

I have performed a literature survey on anti-tumor effects and application of type-I interferons with a particular emphasis on rare childhood myeloproliferative disorders. Effects on proliferation and differentiation of IFN α were studied in vitro using leukemia/lymphoma cell lines of the B-cell lineage, umbilical cord blood-derived B-lymphocytes and bone marrow-derived mononuclear cells of a pediatric patient with essential thrombocythemia (ET). I have assessed the therapeutic application of IFN α in children with advenced cancer, associated with particularly unfavourable outcome.

IFN α has exerted a significant, dose-dependent inhibition both in primary and secondary colony formation of three leukemia/lymphoma cell lines of the B-cell lineage. The drug has enhanced, in parallel, programmed cell death. In contrast to leukemia/lymphoma cell lines however, IFN α has prevented spontaneous in vitro apoptosis in cord blood derived healty B-lymphocytes. In parallel with the robust inhibition of clonal proliferation of myeloid progenitor cells, IFN α treatment resulted in a long-lasting partial remission in a child with ET. In addition, 14/24 children with advanced cancer exhibited a favorable therapeutic response (CR or PR) upon IFN α treatment. The mild side effects, observed in most cases, allow the safe application of IFN α in pediatric patients. Severe complication, in form of Sweet syndrome, was observed only in two patients receiving IFN α therapy in combination with isotretinoin.

These results, together with the observations of other groups suggest, that IFN α is a promising agent in certain forms of childhood cancer.

8. Irodalomjegyzék

1. D'Angio JG: Perspectives in pediatric oncology. *Gyermekegyógyászat* 1998;49:314-318.
2. Pinkel D. Lessons from 20 years of curative therapy of childhood acute leukaemia. *Br J Cancer* 1992;65:148-153.
3. Champlin R, Gale RP. Acute myelogenous leukemia. Recent advances in therapy. *Blood* 1987;69:1551-1562.
4. Poplack DG, Reaman G. Acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Pediatr Clin North Amer* 1988;35:903-932.
5. Lampkin BC, Lange B, Bernstein I, et al. Biologic characteristic and treatment of acute nonlymphocytic leukemia in children. Report of the ANNL strategy group of the Children Cancer Study Group. *Pediatr Clin North Amer* 1988;35:743-744.
6. Henze G, Langermann HJ, Fengler R, et al. Acute lymphoblastic leukemia therapy study BFM 79/81 in children and adolescents: intensified reinduction therapy for patients with different risk for relapse. *Klin Pädiatr* 1982;194:195-203.
7. Gahrton G. Treatment of acute leukemia. *Adv Cancer Res* 1983;40:255-329.
8. Bonavida B, Wright SC. Multistage model of NK cell mediated cytotoxicity involving NKCF as soluble cytotoxic mediators. *Adv Can Res* 1987;49:169-187.
9. McCulloch EA, Minden MD, Curtis JE. The influence of growth regulation on treatment strategy for acute myeloblastic leukemia. *Cancer Surv* 1990;9:169-198.
10. Crowther D. The role of haemopoietic growth factors in the treatment of cancer: perspectives and future prospects. *Cancer Surv* 1990;9:213.
11. HP Koeffler. Induction of differentiation of human acute myelogenous leukemia cells: therapeutic implications. *Blood* 1983;62:709-721.
12. Knapp W. (Ed.) *Leukemia Markers*. Academic Press, London, 1981.
13. Benkő I, Kovács P, Szegedi I, et al. Effect of myelopoietic and pleiotropic cytokines on colony formation by blast cells of children with acute lymphoblastic leukemia. *N-S Arch Pharmacol* 2001;363:499-508.
14. Consolini R, Legitimo A, Cattani M, et al. The effect of cytokines, including IL-4, IL-7, stem cell factor, insulin-like growth factor on childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* 1997;21:753-761.
15. Bradstock KF. The use of hematopoietic growth factors in the treatment of acute leukemia. *Curr Pharm Des* 2002;8:343-355.

16. Zaninoni A, Imperiali FG, Pasquini C, et al. Cytokine modulation of nuclear factor kappaB activity in B-chronic lymphocytic leukemia. *Exp Hematol* 2003;31:185-190.
17. Ganser A, Seipelt G, Lindemann A et al. Effects of recombinant human interleukin-3 in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 1990;76:455-462.
18. Negrin RS, Hauber DH, Nagler A, et al. Maintenance treatment of patients with myelodysplastic syndromes using recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1990;76:36-43.
19. Ohno R, Tomonaga M, Kobayashi T, et al. Effect of granulocyte colony-stimulating factor after intensive induction therapy in relapsed or refractory acute leukemia. *N Engl J Med* 1990;323:871.
20. Gorin NC, Coiffier B, Hayat M, et al. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation with unpurged and purged marrow in non-Hodgkin's lymphoma: A double-blind placebo-controlled trial. *Blood* 1992;80:1149-1157.
21. Asano Y, Shibuya T, Okamura S, et al. Effect of human recombinant granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and native granulocyte colony-stimulating factor on clonogenic leukemic blast cells. *Cancer Res* 1987;47:5647-5648.
22. Budel LM, Touw IP, Delwel R, et al. Granulocyte colony-stimulating factor receptors in human acute myelocytic leukemia. *Blood* 1989;74:2668-2673.
23. Murayama T, Imoto S, Natazuka T, et al. Proliferative reaction of myelogenous leukemia cells with cytokines G-CSF, GM-CSF, M-CSF, SCF and TPO. *Leuk Res* 1998;22:557-560.
24. Pietsch T, Kyas U, Steffens U, et al. Effects of human stem cell factor (c-kit ligand) on proliferation of myeloid leukemia cells: heterogeneity in response and synergy with other hematopoietic growth factors. *Blood* 1992;80:1199-1206.
25. Valverde LR, Matutes E, Farahat N, et al. C-kit receptor (CD117) expression in acute leukemia. *Ann Hematol* 1996;72:11-15.
26. Kiss C, Cesano A, Zsebö KM, et al. Human stem cell factor (c-kit ligand) induces an autocrine loop of growth in a GM-CSF-dependent megakaryocytic leukemia cell line. *Leukemia* 1993;7:235-240.
27. Bene MC, Bernier M, Casasnovas RO, et al. The reliability and specificity of c-kit for the diagnosis of acute leukemias and undifferentiated leukemias. *Blood* 1998;92:596-599.

28. Drach D, Estrov Z, Zhao S, et al. Granulocyte colony stimulating factor, Granulocyte-macrophage colony stimulating factor, PIXY-321, stem cell factor, interleukin-3, and interleukin-7: receptor binding and effects on clonogenic proliferation in acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1994;16:79-88.
29. Knapp W, Strobl H, Majdic O. Flow cytometric analysis of cell surface and intracellular antigens in leukemia diagnosis. *Cytometry* 1994;18:187-198.
30. Lauria F, Bagnara GP, Rondelli D, et al. Cytofluorimetric and functional analysis of c-kit receptor in acute leukemia. *Leuk Lymphoma* 1995;18:451-455.
31. Nishii K, Kita K, Miwa H, et al. C-kit gene expression in CD7-positive acute lymphoblastic leukemia: close correlation with expression of myeloid-associated antigen CD13. *Leukemia* 1992; 6:662-668.
32. Sykora KW, Tomeczkowski J, Reiter A. c-kit in childhood malignant lymphoblastic cells. *Leuk Lymphoma* 1997;25:201-216.
33. Borden EC, Sondel PM. Lymphokines and Cytokines as Cancer Treatment. *Immunotherapy realized. Cancer* 1990;65:800-814.
34. Thompson JA, Peace DJ, Klarnet JP, et al. Eradication of disseminated murine leukemia by treatment with high-dose interleukin 2. *J Immunol* 1986;137:3675-3680.
35. Grimm EA, Mazumder A, Zhang HZ, et al. Lymphokine-activated killer cell phenomenon: Lysis of natural killer-resistant fresh solid tumor cells by interleukin 2-activated autologous human peripheral blood lymphocytes. *J Exp Med* 1982;155:1823-1841.
36. Philip R, Epstein LB. Tumor necrosis factor as immunomodulator and mediator of monocyte cytotoxicity induced by itself, gamma-interferon and interleukin-1. *Nature* 1986;323:86-89.
37. Pressley JS, Elgert KD. Post-chemotherapeutic administration of interleukin-12 retards tumor growth and enhances immune cell function: combination therapy using paclitaxel and IL-12. *Cancer Invest* 2006;24:351-359.
38. Nilkaeo A, Bhuvanath S. Role of interleukin-18 in modulation of oral carcinoma cell proliferation. *Mediators Inflamm* 2006;2006:67120.
39. Shimizu M, Shimamura M, Owaki T, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of IL-27. *J Immunol* 2006;176:7317-7324.
40. Heslop HE, Hoffbrand AV. Interferons in haematological malignancy. *Recent Adv Haemat* 1992;7:131-148.

41. McSweeney EN, Giles FJ, Worman CP, et al. Recombinant alpha 2a interferon therapy in the treatment of patients with early stage B chronic lymphatic leukaemia. *Br J Haemat* 1993;85:77-83.
42. Dror Y, Blanchette VS. Essential thrombocythemia in children. *Br J Haematol* 1999;107:691-698.
43. Saba R, Jabbour E, Giles F, et al. Interferon alpha therapy for patients with essential thrombocythemia: final results of a phase II study initiated in 1986. *Cancer* 2005;103:2551-2557.
44. Jakobson AM, Kreuger A, Hagberg H, et al. Treatment of Langerhans cell histiocytosis with alpha-interferon. *Lancet* 1987;2:1520-1521.
45. Simkó R, Nagy K: Interferon-alpha in childhood haematological malignancies. *Postgrad Med J* 1996;72:709–713.
46. Adamson PC, Reaman G, Finkelsestein JZ, et al. Phase I trial and pharmacokinetic study of all-trans-retinoic acid administered an intermittent schedule in combination with interferon-alpha2a in pediatric patients with refractory cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15:3330-3337.
47. Rosolen A, Todesco A, Colamonici OR, et al. Expression of type I interferon receptor in solid tumors of childhood. *Mod Pathol* 1997;10:55-61.
48. Djerassi I, Farber S, Abir E, et al. Continuous infusion of methotrexate in children with acute leukemia. *Cancer* 1967;20:233–242.
49. Skipper HE, Thomson JR, Elion GB, et al. Observations on the anticancer activity of 6-mercaptopurine. *Cancer Research* 1954;14:294–298.
50. Aur RJ, Simone J, Hustu HO et al. Central nervous system therapy and combination chemotherapy of childhood lymphocytic leukemia. *Blood* 1971; 37: 272–281.
51. Hustu HO, Aur RJ, Verzosa MS et al. Prevention of central nervous system leukemia by irradiation. *Cancer* 1973;32:585–597.
52. Simone JV, Pinkel D. Rationale and results of combination chemotherapy and central nervous system irradiation in acute lymphocytic leukemia. *Bibliotheca Haematologica* 1973;39:1068–1073.
53. George P, Hernandez K, Hustu O et al. A study of ‘total therapy’ of acute lymphocytic leukemia in children. *Journal of Pediatrics* 1968;72:399–408.
54. Simone JV. History of the treatment of childhood ALL: A paradigm for cancer cure. *Best Pract Res Clin Haematol* 2006;19:353-359.

55. Borella L, Green AA. Sequestration of PHA-responsive cells (T-lymphocytes) in the bone marrow of leukemic children undergoing long-term immunosuppressive therapy. *J Immunol* 1972;109:927–932.
56. Borella L, Sen L. T cell surface markers on lymphoblasts from acute lymphocytic leukemia. *J Immunol* 1973;111:1257–1260.
57. Borgmann A, von Stackelberg A, Hartmann R, et al. Unrelated donor stem cell transplantation compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukemia in a second remission: a matched-pair analysis. *Blood* 2003;101:3835-3839.
58. Einsiedel HG, von Stackelberg A, Hartmann R, et al. Long-term outcome in children with relapsed ALL by risk-stratified salvage therapy: results of trial acute lymphoblastic leukemia-relapse study of the Berlin-Frankfurt-Munster Group 87. *J Clin Oncol* 2005;23:7942-7950.
59. Schrappe M, Reiter A, Harbott J, et al. Improved Risk-adapted treatment of childhood ALL with a new stratification system based on early response, genetics, age, and WBC: First interim analysis of trial ALL-BFM 95. *Blood* 2001;98:718a.
60. Smith FO, Woods WG. Myeloproliferative and myelodysplastic disorders. In: Pizzo PA, Poplack DG (eds): *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2002:615-636.
61. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951;6:372-375.
62. Emanuel PD. Myelodysplasia and myeloproliferative disorders in childhood: an update. *Br J Haematol* 1999;105:852-863.
63. Tefferei A, Litzow MR, Noel P, et al. Chronic granulocytic leukemia: Recent information on pathogenesis, diagnosis, and disease monitoring. *Mayo Clin Proc* 1997;72:445-452.
64. Kobayashi S, Teramura M, Hoshino S, et al. Circulating megakaryocyte progenitors in myeloproliferative disorders are hypersensitive to interleukin-3. *Br J Haematol* 1993;83:539-544.
65. Alexard AA, Eskinazi D, Correa PN, et al. Hypersensitivity of circulating progenitor cells to megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHu MGDF) in essential thrombocythemia. *Blood* 2000;96:3310-3321.
66. James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythemia vera. *Nature* 2005;434:1144-1148.

67. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365:1054-1061.
68. Kaushansky K. On the molecular origins of the chronic myeloproliferative disorders: It all makes sense. *Blood* 2005;105:4187-4190.
69. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005;7:387-397.
70. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-1790.
71. Amy V, Jones AV, Kreil S, et al. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2005;106:2162-2168.
72. Park MJ, Shimada A, Asada H, et al. JAK2 mutation in a boy with polycythemia vera, but not in other pediatric hematologic disorders. *Leukemia* 2006;20:1453-1454.
73. Kiss C, Benkő I, Kovács P. Leukemic cells and the cytokine patchwork. *Pediatr Blood Cancer* 2004;42:113-121.
74. Siitonen T, Zheng A, Savolainen ER, et al. Spontaneous granulocyte-macrophage colony growth by peripheral blood mononuclear cells in myeloproliferative disorders. *Leuk Res* 1996;20:187-195.
75. Pitcher L, Taylor K, Nichol J, et al. Thrombopoietin measurement in thrombocytosis: Dysregulation and lack of feedback inhibition in essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 1997;99:929-932.
76. Horikawa Y, Matsuma I, Hashimoto K, et al. Markedly reduced expression of platelet c-mpl receptor in essential thrombocythemia. *Blood* 1997;90:4031-4038.
77. Villeval JL, Cohensolal K, Tulliez M, et al. High thrombopoietin production by hematopoietic cells induces a fatal myeloproliferative syndrome in mice. *Blood* 1997;90:4369-4383.
78. Elliott MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 2005;128:275-290.
79. Landolfi R, Marchioli R, Patrono C. Mechanisms of bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders. *Thromb Haemost* 1997;78:617-621.
80. Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, et al. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood* 2000;96:4261-4266.

81. Gaidano G, Guerrasio A, Serra A, et al. Molecular mechanisms of tumor progression in chronic myeloproliferative disorders. *Leukemia* 1994;8:S27-29.
82. Naejan Y, Rain JD. The very long-term evolution of polycythemia vera an analysis of 318 patients initially treated by phlebotomy or P-32 between 1969 and 1981. *Semin Hematol* 1997;34:6-16.
83. Rozman C, Giralt M, Feliu E, et al. Life expectancy of patients with chronic nonleukemic myeloproliferative disorders. *Cancer* 1991;67:2658-2663.
84. Faderl S, Talpaz M, Etrov Z, et al. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999;341:164-172.
85. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 2002;100:2292-2302.
86. Cortes JE, Talpaz M, Giles F, et al. Prognostic significance of cytogenetic clonal evolution in patients with chronic myelogenous leukemia on imatinib mesylate therapy. *Blood* 2003;101:3794-3800.
87. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, et al. Prognostic discrimination in „good-risk” chronic granulocytic leukemia. *Blood* 1984;63:789-799.
88. Bonifazi F, De Vivo A, Rosti G, et al. Testing Sokal’s and the new prognostic score for chronic myeloid leukemia treated with alpha-interferon. *Br J Haematol* 2000;111:587-595.
89. Sharathkumar A, Thornley I, Saunders EF, et al. Allogeneic bone marrow transplantation in children with chronic myelogenous leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002;24:215-219.
90. Pindolia VK, Zarowitz BJ. Imatinib mesylate, the first molecularly targeted gene suppressor. *Pharmacotherapy* 2002;22:1249-1265.
91. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee Meeting, Airlie House. *J Clin Oncol* 1999;17:3835-3849.
92. Hernandez JM, del Canizo MC, Cuneo A, et al. Clinical, hematological and cytogenetic characteristics of atypical chronic myeloid leukemia. *Ann Oncol* 2000;11:441-444.
93. Di Donata C, Croci G, Lazzari S, et al. Chronic neutrophil leukemia: description of a new case with karyotypic abnormalities. *Am J Clin Pathol* 1986;85:369-371.
94. Reilly JT. Chronic neutrophilic leukaemia: a distinct clinical entity? *Br J Haematol* 2002;116:10-18.

95. Kiss C. Myelodysplasiás szindrómák gyermekkorban. Gyermekgyógyászati Továbbképző Szemle 2005;4:145-151.
96. Locatelli F, Nöller P, Zecca M, et al. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in children with juvenile myelomonocytic leukemia (JMML): results of the EWOG-MDS/EBMT trial. Blood 2005;105:410-419.
97. Castleberry RP, Emanuel PD, Zuckerman KS, et al. A pilot study of isotretinoin in the treatment of juvenile chronic myelogenous leukemia. N Engl J Med 1994;331:1680-1684.
98. Vályi-Nagy I, Jákó J, Domján G, et al. Idiopathiás hypereosinophil syndrome. Orvostképzés 1996;71:259-265.
99. Chusid MJ, Dale DC, West BC, et al. The hypereosinophilic syndrome: analysis of fourteen cases with review of the literature. Medicine 1975;54:1-27.
100. Roufosse F, Cogan E, Goldman M. Recent advances in pathogenesis and management of hypereosinophilic syndromes. Allergy 2004;59:673-689.
101. Bain BJ. Eosinophilic leukemias and the idiopathic hypereosinophilic syndrome. Br J Haematol 2003;122:173-179.
102. Grimaldi JC, Meeker TC. The t(5;14) chromosomal translocation in a case of acute lymphocytic leukemia joins the interleukin-3 gene to the immunoglobulin heavy chain gene. Blood 1989;73:2081-2085.
103. Gurbuxani S, Vyas P, Crispino JD. Recent insights into the mechanisms of myeloid leukemogenesis in Down syndrome. Blood 2004;103:399-406.
104. Wechsler J, Greene M, McDevitt MA, et al. Acquired mutations in GATA1 in the megakaryoblastic leukemia of Down syndrome. Nat Genet 2002;32:148-152.
105. Danish EH, Rasch CA, Harris JW. Polycythemia vera in childhood: case report and review of the literature. Am J Haematol 1980;9:421-428.
106. Nagy K, Hunyadi K, Fehér I, et al. Polycythemia vera in an 11-year old girl. Orv Hetil 1996;137:27-30.
107. Wasserman L. The management of polycythemia vera. Br J Haematol 1971;21:371-376.
108. Harrison CN. Essential thrombocythaemia: challenges and evidence-based management. Br J Haematol 2005;130:153-65.
109. Szegedi I, Benkő I, Merő G, et al. Long-lasting partial remission by Interferon-alpha treatment in a child with essential thrombocythemia. Pediatr Blood Cancer 2006; [Epub ahead of print].

110. Sheikha A. Fatal Familial Infantile Myelofibrosis. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004;26:164-168.
111. Valent P, Horny HP, Escribano L, et al. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leukem Res* 2001;25:603-625.
112. Wong S, McLaughlin J, Cheng D, et al. Sole BCR-ABL inhibition is insufficient to eliminate all myeloproliferative disorder cell populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:17456.
113. Cools J, DeAngelo DJ, Gotlib J, et al. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1201.
114. Pardanani A, Ketterling RP, Brockman SR, et al. CHIC2 deletion, a surrogate for FIP1L1-PDGFR fusion, occurs in systemic mastocytosis associated with eosinophilia and predicts response to imatinib mesylate therapy. *Blood* 2003;102:3093.
115. Stover EH, Chen J, Lee BH, et al. The small molecule tyrosine kinase inhibitor AMN107 inhibits TEL-PDGFRbeta and FIP1L1-PDGFRalpha in vitro and in vivo. *Blood* 2005;106:3206.
116. Nakao M, Yokota, S, Iwai T, et al. Internal tandem duplication of the flt3 gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1996;10:1911.
117. Wadleigh M, DeAngelo DJ, Griffin JD, et al. After chronic myelogenous leukemia: tyrosine kinase inhibitors in other hematologic malignancies. *Blood* 2005;105:22.
118. Weisberg, E, Boulton, C, Kelly, LM, et al. Inhibition of mutant FLT3 receptors in leukemia cells by the small molecule tyrosine kinase inhibitor PKC412. *Cancer Cell* 2002;1:433.
119. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669.
120. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol* 2005;23:1011.
121. Ferrara N, Alitalo K. Clinical applications of angiogenic growth factors and their inhibitors. *Nat Med* 1999;5:1359.
122. Vajkoczy P, Menger MD, Vollmar B, et al. Inhibition of tumor growth, angiogenesis, and microcirculation by the novel Flk-1 inhibitor SU5416 as assessed by intravital multi-fluorescence videomicroscopy. *Neoplasia* 1999;1:31.

123. Kim KJ, Li B, Winer J, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 1993;362:841.
124. Prewett M, Huber J, Li Y, et al. Antivascular endothelial growth factor receptor (fetal liver kinase 1) monoclonal antibody inhibits tumor angiogenesis and growth of several mouse and human tumors. *Cancer Res* 1999;59:5209.
125. Tortora G, Caputo R, Damiano V, et al. Combination of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 and protein kinase A antisense causes cooperative antitumor and antiangiogenic effect. *Clin Cancer Res* 2003;9:1566.
126. Brat DJ, Mapstone TB. Malignant glioma physiology: Cellular response to hypoxia and its role in tumor progression. *Ann Intern Med* 2003;138:659.
127. Yeo, EJ, Chun, YS, Cho, YS, et al. YC-1: a potential anticancer drug targeting hypoxia-inducible factor 1. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:516.
128. Thomas DA, Kantarjian HM. Current role of thalidomide in cancer treatment. *Curr Opin Oncol* 2000;12:564-573.
129. Kumar S, Witzig TE, Rajkumar SV. Thalidomid: current role in the treatment of non-plasma cell malignancies. *J Clin Oncol* 2004;22:2477-2488.
130. Dean NM, Bennett CF. Antisense oligonucleotide-based therapeutics for cancer. *Oncogene* 2003;22:9087–9096.
131. Reed JC, Stein C, Subasinghe C, et al. Antisense-mediated inhibition of BCL2 protooncogene expression and leukemic cell growth and survival: comparison of phosphodiester and phosphorothioate oligonucleotides. *Cancer Res.* 1990;50:6565-6570.
132. Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, et al. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science* 1985;228:1440–1443.
133. Reed JC. Regulation of apoptosis by bcl-2 family proteins and its role in cancer and chemoresistance. *Curr Opin Oncol* 1995;7:541–546.
134. Newmark HL, Young CW. Butyrate and phenylacetate as differentiating agents: Practical problems and opportunities. *J Cell Biochem Suppl* 1995;22:247-253
135. Mandelli F, Divero D, Avisati G, et al. Molecular remission in PML/RAR-alpha positive acute promyelocytic leukemia by combined all-trans retinoic acid and idarubicin (AIDA) therapy. *Blood* 1997;90:1014-1021.

136. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: A proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994;84:1361-92.
137. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1993;329:987-94.
138. Horning SJ. Natural history of and therapy for the indolent non-Hodgkin's lymphomas. *Semin Oncol* 1993;20:75-88
139. McLaughlin P, Grillo-López AJ, Link BK, 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;16:2825-33.
140. Tsai DE, Moore HCF, Porter DL, et al. Progressive intermediate grade non-Hodgkin's lymphoma after high dose therapy and autologous peripheral stem cell transplantation (PSCT) has a high response rate to rituximab [Abstract 1713]. 40th Annual Meeting of the Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL, 1998.
141. Sweetenham J, McIntyre AM, Howard P. Comparative economic analysis of the treatment of relapsed low grade B cell non-Hodgkin's lymphoma (NHL) using CHOP, fludarabine or rituximab [Abstract 1715]. 40th Annual Meeting of the Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL, 1998.
142. Soussain C, Patte C, Ostronoff M, et al. Small noncleaved cell lymphoma and leukemia in adults. A retrospective study of 65 adults treated with the LMB pediatric protocols. *Blood* 1995;85:664-674.
143. Wiseman G, White CA, Witzig T, et al. IDEC-Y2B8 radioimmunotherapy: Baseline bone marrow involvement and platelet count are better predictors of hematologic toxicity than dosimetry [Abstract 1721]. 40th Annual Meeting of the Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL, 1998.
144. Witzig T, White CA, Wiseman G, et al. IDEC-Y2B8 radioimmunotherapy: Responses in patients with splenomegaly [Abstract 1722]. 40th Annual Meeting of the Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL, 1998.
145. Weiden P, Breitz H, Press O, et al. Radioimmunotherapy (RIT) in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): Advantage of pretargeted RIT (PRIT[®]) [Abstract 1709]. 40th Annual Meeting of the Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL, 1998.

146. Kreitman RJ, Wilson W, Waldmann TA, et al. Phase I trial of recombinant immunotoxin Anti-Tac(Fv)-PE38 (LMB-2) in patients with hematologic malignancies [Abstract 1708]. 40th Annual Meeting of the Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL, 1998.
147. Kaminski MS, Zelenetz AD, Press O, et al. Multicenter phase III study of iodine-131 tositumobab (anti-B1 antibody) for chemotherapy-refractory low-grade or transformed low-grade non-hodgkin's lymphoma (NHL) [Abstract 1296]. 40th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL, 1998.
148. Keating MJ, Finn I, Jain V, et al. Alemtuzumab in the treatment of CLL. *Blood* 2002;99:3554-3561.
149. Kiss C, Kiss M, Szegedi I, et al. Interferon-alpha therapy in children with malignant diseases: clinical experience in twenty-four patients treated in a single pediatric oncology unit. *Med Pediatr Oncol* 2002;39:115-119.
150. Durum SK, Oppenheim JJ. Pro inflammatory cytokines and immunity. In Paul WE (ed): "Fundamental Immunology," 3rd ed. New York: Raven Press, 1993, pp. 801–835.
151. Howard MC, Miyajima A, Coffman R. T-cell-derived cytokines and their receptors. In Paul WE (ed): "Fundamental Immunology," 3rd ed. New York: Raven Press, 1993, pp. 763–800.
152. Uze G, Lutfalla G, Mogensen KE. a and b interferons and their receptors and their friends and relations. *J Interferon Cytokine Res* 1995;15:3–26.
153. Ghislain J, Sussman G, Goeltz S, et al. Configuration of the interferon-a/b receptor complex determines the context of biological response. *J Biol Chem* 1995;270:21785–21792.
154. Shuai K. Interferon-activated signal transduction to the nucleus. *Curr Opin Cell Biol* 1994;6:253–259.
155. Jewell AP. Interferon-alpha, bcl-2 expression and apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1996;21:43-47.
156. Kiss C. Interferons in pediatric oncology: end of the beginning or beginning of the end? *Med Pediatr Oncol* 1998;30:364-366.
157. Pouge SL, Preston BT, Stalder J, et al. The receptor for type I IFNs is highly expressed on peripheral blood B cells and monocytes and mediates a distinct profile of differentiation and activation of these cells. *J Interferon Cytokine Res* 2004;24:131-9.

158. Martinez-Lostao L, Briones J, Forne I, et al. Role of the STAT1 pathway in apoptosis induced by fludarabine and JAK kinase inhibitors in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2005;46:435-442.
159. Bonifazi F, De Vivo A, Rosti G, et al. Chronic myeloid leukemia and interferon-alpha: a study of complete cytogenetic responders. *Blood* 2001;98:3074.
160. Kantarjian HM, O'Brien S, Cortes JE, et al. Complete cytogenetic and molecular responses to interferon-alpha-based therapy for chronic myelogenous leukemia are associated with excellent long-term prognosis. *Cancer* 2003;97:1033.
161. Lau AS, Lehman D, Geertsma FR, et al. Biology and therapeutic uses of myeloid hematopoietic growth factors and interferons. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:563-575.
162. Sasaki S, Fukawa H, Motomura S, et al. Successful treatment of CD7-positive, undifferentiated acute leukemia with recombinant interferon alpha. *Am J Hematol* 1995;48:203-204.
163. Pulsipher MA, Adams RH, Asch J, et al. Successful treatment of JMML relapsed after unrelated allogeneic transplant with cytoreduction followed by DLI and interferon-alpha: evidence for a graft-versus-leukemia effect in non-monosomy-7 JMML. *Bone Marrow Transplant* 2004;33:113-115.
164. Petropoulos D, Worth LL, Mullen CA, et al. Interferon-alpha after autologous stem cell transplantation in pediatric patients with advanced Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2006;38:345-349.
165. Oren H, Duzovali O, Irken G. Recombinant alpha2a-interferon treatment in a child with T-cell leukemia and chronic hepatitis B. *Ann Hematol* 1998;77:187-190.
166. Adamson PC, Matthay KK, O'Brien M, et al. A phase 2 trial of all-trans-retinoic acid in combination with interferon-alpha2a in children with recurrent neuroblastoma or Wilms tumor: A pediatric Oncology Branch, NCI and Children's Oncology Group Study. *Pediatr Blood Cancer* 2006;[Epub ahead of print]
167. Lampkin BC, Levina AS, Levy H, et al. Phase II trial of poly(I,C)-LC, an interferon inducer, in the treatment of children with acute leukemia and neuroblastoma: a report from the Children's Cancer Study Group. *J Biol Response Mod* 1985;4:531-537.
168. Ochs J, Brecher ML, Mahoney D, et al. Recombinant interferon alfa given before and in combination with standard chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia in first marrow relapse: a Pediatric Oncology Group pilot Study. *J Clin Oncol* 1991;9:777-782.

169. Renne R, Zhong W, Herndier B, et al. Lytic growth of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (Human herpesvirus 8) in culture. *Nature Med* 1996;2:342-346.
170. Sármay G, Koncz G, Gergely J. Human type II Fc γ receptors inhibit B cell activation by interacting with the p21^{ras}-dependent pathway. *J Biol Chem* 1996;271:30499-30504.
171. Szöllősi J, Horejsi V, Bene L, et al. Supramolecular complexes of MHC class I, MHC class II, CD20, and tetraspan molecules (CD53, CD81, and CD 82) at the surface of a B cell line JY. *J Immunol* 1996;157:2939-2946.
172. Pike BL, Robinson WA. Human bone marrow colony growth in agar-gel. *J Cell Physiol* 1970;76:77-84.
173. Bennett J, Catovsky D, Daniel M, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976;33:451-458.
174. Bernard JL, Philip T, Zucker JM, et al. Sequential cisplatin/VM26 and vincristine/cyclophosphamide/doxorubicin in metastatic neuroblastoma: an effective alternating non-cross-resistant regimen? *J Clin Oncol* 1987;5:1952-1959.
175. Schuler D, Somló P, Koós R, et al. The treatment of malignant scala posterior tumors in children: II. Preliminary result of the pre-and postoperative adjuvant chemotherapy of scala posterior tumors. *Med Pediatr Oncol* 1993;21:274-279.
176. Koscielniak E, Jurgens H, Winkler K, et al. Treatment of soft tissue sarcoma in childhood and adolescence. A report of the german Cooperative Soft Tissue Sarcoma Study. *Cancer* 1992;70:2557-2567.
177. Minkov M, Grois N, Heitger A, et al. Treatment of multisystem Langerhans cell histiocytosis. Results of the DAL-HX 83 and DAL-HX 90 studies. DAL-HX Study Group. *Klin Padiatr* 2001;212:139-144.
178. Miyauchi J, Kelleher CA, Yang YC, et al. The effects of three recombinant growth factors, IL-3, GM-CSF, and G-CSF on the blast cells of acute myeloblastic leukemia maintained in short-term suspension culture. *Blood* 1987;70:657-663.
179. Trubiani O, Bosco D, Di Primio R. Interferon-gamma (IFN-gamma) induces programmed cell death in differentiated human leukemic B cell lines. *Exp Cell Res* 1994;215:23-27.
180. Mikala G, Xie J, Berencsi G, et al. Human Herpesvirus 8 in hematologic diseases. *Path Oncol Res* 1999;5:73-79.

181. Picchio GR, Sabbe RE, Gulizia RJ, et al. The KSHV/HHV8-infected BCBL-1 lymphoma line causes tumors in SCID Mice but fails to transmit virus to a human peripheral blood mononuclear cell graft. *Virology* 1997;238:22-29.
182. Pozharskaya VP, Weakland LL, Offermann MK: Inhibition of infectious human herpesvirus 8 production by gamma interferon and alpha interferon in BCBL-1 cells. *J Gen Virol* 2004;85:2779-2787.
183. Zimring JC, Goodburn S, Offerman MK: Human herpesvirus encodes an interferon regulatory factor (IRF) homolog that represses IRF-1 mediated transcription. *J Virol* 1998;72:701-707.
184. D'Agostino G, Arico E, Santodonato L, et al. Type I consensus IFN (IFN-con1) gene transfer into KSHV/HHV-8-infected BCBL-1 cells causes inhibition of viral lytic cycle activation via induction of apoptosis and abrogates tumorigenicity in SCID mice. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:1305-1316.
185. Ferlin-Bezombes M, Jourdan M, Liautard J, et al. IFN-alpha is a survival factor for human myeloma cells and reduces dexamethasone-induced apoptosis. *J Immunol* 1998;161:2692-2699.
186. Jewell AP, Lydyard PM, Worman CP, et al. Growth factors can protect B-chronic lymphocytic leukemia cells against programmed cell death without stimulating proliferation. *Leuk Lymphoma* 1995;18:159-162.
187. Ruuth K, Carlsson L, Hallberg B, et al. Interferon-alpha promotes survival of human primary B-lymphocytes via phosphatidylinositol 3-kinase. *Biochem Biophys Res Comm* 2001;284:583-586.
188. Pearse RN, Feinman R, Shuai K, et al. Interferon γ -induced transcription of the high-affinity Fc receptor for IgG requires assembly of a complex that induces the 91-kDa subunit of transcription factor ISGF3. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:4314-4318.
189. Balmelli C, Vincent IE, Rau H, et al. Fc gamma RII-dependent sensitisation of natural interferon-producing cells for viral infection and interferon-alpha responses. *Eur J Immunol* 2005;35:2406-2415.
190. Santavenere E, Di Pietro R, Centurione MA, et al. Synergistic regulatory effects of TNF alpha, IL-1 alpha and IFN alpha on the growth and differentiation of Daudi lymphoma cells. *Cell Biol Int* 1996;20:335-338.
191. Randi ML, Putti MC, Pacquola E et al. Normal thrombopoietin and its receptor (*c-mpl*) genes in children with essential thrombocythemia. *Pediatr Blood Cancer* 2005;44:47-50.

192. Ash RC, Lindquist D, Mc Ever RP, et al. Differential erythroid and megakaryocytic progenitor cell growth in vitro as a diagnostic discriminant in myeloproliferative disorders. *Clin Res* 1982;30:310A
193. Juvonen E, Partanen S, Ruutu T. Colony formation by megakaryocytic progenitors in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 1987;66:161-164.
194. Randi ML, Putti MC, Fabris F, et al. Features of essential thrombocytosis in childhood: a study of five children. *Br J Haematol* 2000;108:86-89.
195. Florensa L, Zamora L, Besses C, et al. Cultures of myeloid progenitor cells in pediatric essential thrombocythemia. *Leukemia* 2002;19:1876-1877.
196. Gugliotta L, Bagnara GP, Catani L, et al. In vivo and in vitro inhibitory effect of alpha-interferon on megakaryocyte colony growth in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 1989;71:177-181.
197. Randi ML, Ruzzon E, Tezza F, et al. Toxicity and side effects of hydroxyurea used for primary thrombocythemia. *Platelets* 2005;16:181-184.
198. Michiels JJ. Platelet-mediated microvascular inflammation and thrombosis in thrombocythemia vera: a distinct aspirin-responsive arterial thrombophilia, which transforms into a bleeding diathesis at increasing platelet counts. *Pathol Biol* 2003;51:167-175.
199. Michiels JJ, Van Genderen PJ. Essential thrombocythemia in childhood. *Semin Thromb Haemost* 1997;23: 295-301.
200. Elliot MA, Tefferi A. Interferon- α therapy in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Haemost* 1997;23:463-472.
201. Wang Q, Miyakawa Y, Fox N, et al. Interferon- α directly represses megakaryopoiesis by inhibiting thrombopoietin-induced signaling through induction of SOCS-1. *Blood* 2000;96:2093-2099.
202. Muraoka K, Tsuji K, Yoshida M, et al. Thrombopoietin-independent effect of interferon- γ on proliferation of human megakaryocyte progenitors. *Br J Haematol* 1997;98:265-273.
203. Legenferder E, Griesshammer M, Hehlmann R. Interferon- α in treatment of essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 1996;22:135-142.
204. Michaud AP, Bauman NM, Burke DK, et al. Spastic diplegia and other motor disturbances in infants receiving interferon- α . *Laryngoscope* 2004;114:1231-1236.
205. Murphy S, Iland H, Rosenthal D, et al. Essential thrombocythemia: an interim report from Polycythemia Vera Study Group. *Semin Hematol* 1986;23:217-220.

206. Panasiuk A, Prokopowicz D, Zak J, et al. Inhibition of activated blood platelets by interferon alpha 2b in chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 2004;51:1417-1421.
207. Sasaki S, Fukawa H, Motomura S, et al. Successful treatment of CD7-positive, undifferentiated acute leukemia with recombinant interferon alpha. *Amer J Hematol* 1995;48:203-204.
208. Thirion P, Piedbois P, Buyse M, et al. Alpha-interferon does not increase the efficacy of 5-fluorouracil in advanced colorectal cancer. *Br J Cancer* 2001;84:611-620.
209. Sweet RD. An acute febrile neutrophilic dermatosis. *Br J Dermatol* 1964;76:349-356.
210. Boatman BW, Taylor RC, Klein LE, et al. Sweet's syndrome in children. *South Med J* 1994;87:193-196.
211. Reuss-Borst MA, Pawelec G, Saal JG, et al. Sweet's syndrome associated with myelodysplasia: Possible role of cytokines in the pathogenesis of the disease. *Br J Hematol* 1993;84:356.
212. Veres K, Haraszi A, Nemes Z, et al. Granulocyte-colony stimulating factor-therapy mellett kialakuló Sweet-szindróma. *Orv Hetil* 1999;140:1059-1061.
213. Török L, Kirschner A, Gurzó M, et al. Leukémiás neutrofil dermatosis. *Orv Hetil* 1999;140:715-718.
214. Károly Z, Erős N, Újszászy L, et al. Gyulladásos bélbetegségek bőr- és nyálkahártya tünetei. *Orv Hetil* 2000;141:1391-1395.
215. Levi I, Raanani P, Shalmon B, et al. Acute neutrophilic dermatosis induced by all-trans retinoic acid treatment for acute promyelocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1999;34:401-404.
216. Takada S, Matumoto K, Sakura T, et al. Sweet's syndrome followed by retinoic acid syndrome during the treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans retinoic acid. *Int J Hematol* 1999;70:26-29.
217. Tomasini C, Aloï F, Osella-Abate S, et al. Immature myeloid precursors in chronic neutrophilic dermatosis associated with myelodysplastic syndrome. *Am J Dermatopathol* 2000;22:429-433.
218. Magro CM, De Moraes E, Burns USA. Sweet syndrome in the CD34-positive acute myelogenous leukemia treated with granulocyte colony stimulating factor: evidence for a clonal neutrophilic dermatosis. *J Cutan Pathol* 2001;28:90-96.

219. Györfy Á, Kovács T., Szegedi I, et al. Sweet syndrome associated with 13-cis-retinoic acid (isotretinoin) therapy. *Med Ped Oncol* 2003;40:135-138.
220. Lackner H, Urban C, Dornbusch HJ, et al. Interferon alfa-2a in recurrent metastatic hemangiopericytoma. *Med Pediatr Oncol* 2003;40:192-194.
221. Deb G, Donfrancesco A, Ilari I, et al. Hemangioendothelioma: successful therapy with interferon-alpha: a study in association with the Italian Pediatric Haematology/Oncology Society (AIEOP). *Med Pediatr Oncol* 2002;38:118-119.
222. Wakanukul S, Nuchprayoon I, Seksarn P. Treatment of Kasabach-Meritt syndrome: a stepwise regimen of prednisolone, dipyridamole, and interferon. *Int J Dermatol* 2003;42:741-748.
223. Garmendia G, Miranda N, Borroso S, et al. Regression of infancy hemangiomas with recombinant IFN-alpha 2b. *J Interferon Cytokine Res* 2001;21:31-38.
224. Streck CJ, Ng CY, Zhang Y, et al. Interferon-mediated anti-angiogenic therapy for neuroblastoma. *Cancer Lett* 2005;228:163-170.
225. Adamson PC, Matthay KK, O'brien M, et al. A phase 2 trial of all-trans-retinoic acid in combination with interferon-alpha2a in children with recurrent neuroblastoma or Wils tumor: A pediatric Oncology Branch, NCI and Children's Oncology Group Study. *Pediatr Blood Cancer* 2006;[Epub ahead of print].
226. Rametta V, Ferrara F, Marottoli V, et al. Recombinant interferon alpha-2b as treatment of essential thrombocythemia. *Acta Haematol* 1994;91:126-129.
227. Reinhard H, Klingebiel T, Lang P, et al. Stem cell transplantation for polycythemia vera. *Pediatr Blood Cancer* 2006;[Epub ahead of print].
228. Pardanani A, Akin C, Valent P. Pathogenesis, clinical features, and treatment advances in mastocytosis. *Best Pract Res Clin Haematol* 2006;19:595-615.
229. Culic S, Jakobson A, Culic V, et al. Etoposide as the basic and interferon-alpha as the maintenance therapy for Langerhans cell histiocytosis: a RTC. *Pediatr Hematol Oncol* 2001;18:291-294.
230. Smeland S, Wiebe T, Böhling T, et al. Chemotherapy in osteosarcoma. The Scandinavian Sarcoma Group experience. *Acta Orthop Scand* 2004;75:92-98.
231. Rajkumar SV, Buckner JC, Schomberg PJ, et al. Phase I evaluation of radiation combined with recombinant interferon alpha-2a and BCNU for patients with high-grade glioma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;40:297-302.
232. Buckner JC, Schomberg PJ, McGinnis WL, et al. A phase III study of radiationtherapy plus carmustine with or without recombinant interferon-alpha in the

- treatment of patients with newly diagnosed high-grade glioma. *Cancer* 2001;92:420-433.
233. Watanabe T, Katayama Y, Yoshino A, et al. Treatment of low-grade diffuse astrocytomas by surgery and human fibroblast interferon without radiation therapy. *J Neurooncol* 2003;61:171-176.

8.2. Saját közlemények jegyzéke

8.2.1 Az értekezés témakörében készült, a tézisek alapját képező, lektorált folyóiratokban megjelent saját közlemények

1. Kiss C, Kiss M, **Szegedi I**, Árvai K, Tóth J, Oláh É. Interferon-alpha therapy in children with malignant diseases: clinical experience in twenty-four patients treated in a single pediatric oncology unit. *Medical and Pediatric Oncology* 2002;39:115-119.

IF: 1.216

2. Györfy Á, Kovács T, **Szegedi I**, Oláh É, Kiss C. Sweet syndrome associated with 13-cis-retinoic acid (isotretinoin) therapy. *Medical and Pediatric Oncology* 2003;40:135-138.

IF: 1.216

3. **Szegedi I**, Kiss C, Karászi É, Vámosi G, Szöllősi J, Kovács P, Benkő I. Differential regulation of umbilical cord blood and leukemic B cells by interferon-alpha (IFN- α): observations in cultured cells. *Pathology Oncology Research* 2006;12:159-163.

IF: 1.16

4. **Szegedi I**, Kiss C. Myeloproliferatív szindrómák gyermekkorban. *Gyermekegyógyászati Továbbképző Szemle* 2006;5:149-155.

5. **Szegedi I**, Benkő I, Merő G, Prinzing Á, Kappelmayer J, Kiss C. Long-lasting partial remission by interferon-alpha treatment in a child with essential thrombocythemia. *Pediatric Blood and Cancer* 2006;[Epub ahead of print].

IF: 1.512

8.2.2 Az értekezés témaköréhez szorosan nem kapcsolódó egyéb saját közlemények

1. Karászi É, Kiss C, Jakab Z, **Szegedi I**, Hevessy Z, Kappelmayer J: Gyermekkori akut leukémiák vizsgálata sejtfelszíni markerek és ploiditás alapján. *Gyermekegyógy* 1998; 49:319-329.
2. Kiss C, **Szegedi I**, Jakab Z, Kiss M, Felszeghy E, Oláh É. Kolónia-stimuláló faktorok alkalmazása másodlagos granulocytopeniás gyermekekben. *Magyar Belorv Arch* 1998;51:237-242.
3. Oláh VA, **Szegedi I**, Nagy E, Varga J, Kiss C, Oláh É. Plasma levels of anthracyclines and their effect on the kidney. *Adv Chromatogr Electrophor Relat Separat Methods* 1998;1:161-167.

4. Kerenyi A, Schlamadinger A, Ajzner E, **Szegedi I**, Kiss C, Pap Z, Boda Z, Muszbek L. Comparison of PFA-100 closure time and template bleeding time in patients with inherited disorders causing defective platelet function. *Thrombosis Res* 1999;96:487-492. **IF: 1.207**
5. Kerényi A, **Szegedi I**, Sarudi S, Kappelmayer J, Kiss C, Muszbek L. A Glantzmann thrombasthenia II. tipusa. Esetleírás. *Klin Kísérl Lab Med* 1999;25:162-168.
6. Benkő I, Kovács P, **Szegedi I**, Megyeri A, Kiss A, Balogh E, Oláh É, Kappelmayer J, Kiss C. Effect of myelopoietic and pleiotropic cytokines on colony formation by blast cells of children with acute lymphoblastic leukemia. *N-S Arch Pharmacol* 2001;363:499-508. **IF: 2.472**
7. Jakab Z, **Szegedi I**, Balogh E, Kiss C, Oláh E. Duchenne muscular dystrophy-rhabdomyosarcoma, ichthyosis vulgaris-acute monoblastic leukemia: association of rare genetic disorders and childhood malignant diseases. *Med Pediatr Oncol* 2002;39:66-68. **IF: 1.216**
8. **Szegedi I**. Húgyúti infekciók kezelése csecsemő és gyermekkorban. *Családorvosi Fórum* 2004;4:32-35.
9. Bárdi E, **Szegedi I**, Kiss C. Harmadik folyadéktér szerepe a methotrexát toxicitás kialakulásában, esetbemutatók kapcsán. *Gyermekegyógyászat* 2005;56:438-442.
10. Sohajda Z, Damjanovich J, Bárdi E, **Szegedi I**, Berta A, Kiss C. Combined local treatment and chemotherapy in the management of bilateral retinoblastomas in Hungary. *J Pediatr Hematol Oncol* 2006;28:399-401. **IF: 1.282**
11. **Szegedi I**. Immunthrombocytopenia a gyermekkorban. *Gyermekegyógyászat*; [in press].

IF (összesen): 11.281

8.2.3 Lektorált folyóiratban megjelent idézhető kongresszusi absztraktok

1. **Szegedi I**, Jakab Z, Kiss M, Felszeghy E, Oláh É, Kiss C. Idarubicin in pediatric ALL and non-Hodgkin's lymphoma. Induction therapy in relapsed disease. *Med Pediatr Oncol* 1997;29:474. **IF: 1.693**
2. Benkő I, Kovács P, Megyeri A, **Szegedi I**, Kiss C. Stimulation of blast cells in vitro in children with acute lymphoblastic leukaemia by granulocyte-macrophage colony stimulating factor (rhGM-CSF), granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF) and stem cell factor (SCF). *N-S Arch Pharmacol* 1997;356:R20. **IF: 2.492**

3. Oláh VA, **Szegedi I**, Nagy E, Kiss M, Kiss C, Oláh É. Új diagnosztikai és preventív lehetőségek anthracyclin kezelések során. *Klin Kísérl Lab Med* 1997;24:103.
4. Kiss C, Benkő I, Kiss M, Jakab Z, **Szegedi I**. Interferons in pediatric oncology. *Med Pediatr Oncol* 1998;31:349. **IF: 1.783**
5. Kiss C, Benkő I, Karászi É, Vámosi G, **Szegedi I**, Kappelmayer J, Szöllősi J: Interferon- α -2b induces growth inhibition, apoptosis and differentiation in human B-cell lineage leukemic cell lines. *Med Pediatr Oncol* 1999;33:271. **IF: 1.518**
6. **Szegedi I**, Benkő I, Karászi E, Vámosi G, Kappelmayer J, Szöllősi J, Kiss C: Interferon-alpha-2b induces growth inhibition, apoptosis, and differentiation in human B-cell-lineage leukemic cell lines. *Cytometry* 2000;42:156. **IF: 2.557**
7. Benkő I, Kovács P, **Szegedi I**, Megyeri A, Kiss A, Balogh E, Oláh E, Kappelmayer J, Kiss C. Effect of myelopoietic and pleiotropic cytokines on colony formation of blast cells of children with acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 2000;35:226. **IF: 1.301**
8. Bárdi E, **Szegedi I**, Udvardi E, Kiss C, Rényi I. Preliminary experiences with recombinant urate oxidase (Fasturtec®) for prevention of hyperuricemia in children with leukemia or lymphoma. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:272. **IF: 2.607**
9. Kiss C, **Szegedi I**, Katona K, Aradi J, Kappelmayer J. BCL-2 antisense oligonucleotid inhibits clonal growth of leukemia cell lines. *Pediatric Blood and Cancer* 43:398,2004. **IF: 1.512**

8.2.4 Könyvrészletek

1. **Szegedi I**: Lágyrészsarcomák a gyermekkorban. Szántó J (ed). *Klinikai Onkológia a Gyakorlatban, Medicina, Budapest, 2005;458.*
2. **Szegedi I**: Májtumороk. Szántó J (ed). *Klinikai Onkológia a Gyakorlatban, Medicina, Budapest, 2005;462-463.*
3. **Szegedi I**: Csírasejtes tumorok. Szántó J (ed). *Klinikai Onkológia a Gyakorlatban, Medicina, Budapest, 2005;464-465.*

8.2.5 Nemzetközi és országos kongresszusokon tartott előadások és poszterek.

Szegedi I, Jakab Zs, Zs Nagy I, Balogh E, Kiss C, Oláh É. Veleszületett fejlődési rendellenességek és malignus betegségek társulása. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) Nagygyűlése. Debrecen,1995.

Szegedi I, V Oláh A, Nagy E, Kiss M, Kiss C, Oláh É. Anthracyclin kezelés hatása a vesére és az antioxidáns rendszerre. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) Gyermek Haematológiai-Onkológiai szekció. Hajdúszoboszló, 1996.

Szegedi I, V Oláh A, Nagy E, Kiss M, Kiss C, Oláh É. Anthracyclin kezelés hatása a vesére és az antioxidáns rendszerre. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) ÉKM-i szekció Területi Szervezetének Tudományos Ülése. Eger, 1996.

Szegedi I, Benkő I, Megyeri A, Kovács P, Kiss C, Humán rekombináns cytokinek eltérő hatása egészséges, Fanconi anémiás és leukémiás hematopoetikus prekursor sejteken. Magyar Immunológiai Társaság XXVII. Kongresszusa. Szeged, 1997.

Szegedi I, Jakab Z, Kiss M, Felszeghy E, Oláh É, Kiss C: Idarubicin in pediatric ALL and non-Hodgkin's lymphoma: Induction therapy in relapsed disease. International Society of Pediatric Oncology (SIOP) XXIX. Congress meeting. Törökország, Istambul, 1997.

Szegedi I, Benkő I, Széll E, Kiss C. Juvenilis chronicus myeloid leukaemiás csecsemő esete. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) ÉKM-i Szakcsoport Ülése. Miskolc, 1998.

Szegedi I. Alfa interferon hatása leukémia sejtek szaporodására és apoptosísára-kísérletes és klinikai megfigyelések. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) 75 éves Jubileumi Kongresszusa. Debrecen, 1999.

Szegedi I, Benkő I, Karászi É, Vámosi G, Kappelmayer J, Szöllősi J, Vályi-Nagy I, Kiss C. Az interferon- α -2b proliferáció-gátló, apoptózist és differenciálódást okozó hatása leukaemia sejtvonalakban. Magyar Haematológiai és Transzfúziológiai Társaság (MHTT) XVII. Kongresszusa. Budapest, 1999.

Szegedi I. Glanzmann thrombasthenia II. típusának esete. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) 75 éves Jubileumi Kongresszusa. Debrecen, 1999.

Szegedi I, Benkő I, Balogh E, Oláh É, Kovács P, Kiss C. Serkentő és gátló cytokinek hatása myelodysplasiás szindrómában és essentiális thrombocythemiában. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) Nagygyűlése. Debrecen, 2000.

Szegedi I, Benkő I, Kovács P, Aradi J, Kiss C. Alfa intefreron és anti bcl-2 oligonukleotid hatása leukaemiás sejtvonalak proliferációjára. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) Nagygyűlése. Pécs, 2001.

Szegedi I, Győrfy Á, Bobok I. Schönlein-Henoch purpurás betegek heparin kezelésével szerzett tapasztalataink. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) ÉKM-i Szakcsoport Ülése. Nyíregyháza, 2002.

- Szegedi I**, Benkő I, Karászi E, Vámosi G, Kappelmayer J, Szöllősi J, Kiss C. Interferon-alpha-2b induces growth inhibition, apoptosis, and differentiation in human B-cell-lineage leukemic cell lines. Future trends in quantitative cytology for clinical and research application. International Society for Analytical Cytology (ISAC) Hortobágy-Epona, 2000.
- Szegedi I**, Katona K, Kappelmayer J, Aradi J, Kiss C. Bcl-2 antisense oligonukleotid gátolja a leukaemia sejtek szaporodását és a BCL-2 kifejeződését. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) Nagygyűlése. Debrecen, 2004.
- Kiss C, **Szegedi I**, Katona K, Aradi J, Kappelmayer J. BCL-2 antisense oligonucleotid inhibits clonal growth of leukemia cell lines. International Society of Pediatric Oncology (SIOP) XXXVI. Congress meeting. Oslo, Norvégia, 2004.
- Szegedi I**, Katona K, Kappelmayer J, Aradi J, Kiss C. BCL-2 antisense oligonukleotid hatása leukaemia sejtvonalakra. TDK és Ph.D Konferencia. Debrecen, 2005.
- Szegedi I**. A Magyar gyermekhematológiai és Onkológiai hálózat működése. Ady Endre Nyári Akadémia, Orvosi Szekció Ülése. Debrecen, 2005.
- Szegedi I**. Thrombosis a gyermekkorban. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) ÉKM-i Szakcsoport Ülése. Eger, 2005.

9. Új megállapítások

- Hazánkban elsőként tekintettem át összefoglaló klinikai közleményben a gyermekkori mieloproliferatív betegségek klinikai képét, korszerű (XXI. századi) besorolását és kezelését, különös tekintettel az IFN α terápiás alkalmazására.
- Elsőként figyeltem meg, hogy az IFN α -2b dózis-dependens módon gátolja B-sejtes leukaemia/lymphoma sejtvonalak klonális szaporodását a sejtpusztulás egyidejű fokozódásával, míg egészséges, köldökzsinórvér eredetű B-limfocitákra eltérő hatást fejt ki, gátolja azok spontán, in vitro apoptózisát.
- Elsőként figyeltem meg, hogy az IFN α fokozza a CD32 (Fc γ RIIA) kifejeződését B-limfocitákon és limfoblasztokon.
- Elsők között, hazánkban elsőként, közöltem 3 éves essentialis thrombocythemiában szenvedő beteg esetét, karakterizáltam a beteg csontvelői mononukleáris sejteinek kolónia-képző tulajdonságait, írtam le az IFN α kezelés kedvező in vitro és in vivo hatásait.
- Szerzőtársaimmal elsők között figyeltük meg IFN α kedvező in vivo hatásait súlyos, előrehaladott rosszindulatú betegségben szenvedő gyermekekben.
- Szerzőtársaimmal elsők között figyeltük meg Sweet szindróma kialakulását együttes IFN α és isotretinoin kezelés kapcsán.

10. Az eredmények hasznosítása

- Az IFN α kezelés, törzskönyvi előírása alapján, eredményesen alkalmazható CML-es gyermekekben.
- Eredményeim alapján olyan klinikai tanulmányok országos folytatását kezdeményezem a Magyar Gyermekonkológiai Társaság Gyermekonkológiai Szekció központjainak részvételével, amelyek során IFN α kezelésben részesítünk ALL-es, NHL-es, LCH-s, mieloproliferatív betegségben szenvedő, neuroblastomás/ganglioneuroblastomás és alacsony gárdusú agytumoros gyermekeket.
- Eredményeim alapul szolgálnak további kísérletes kutatómunka folytatására - tudományos diákkörös és PhD hallgatók bevonásával – melyek során az IFN α alkalmazási lehetőségeit vizsgáljuk, önállóan és más biomoduláns anyagokkal együtt, gyermekkori malignitásokat reprezentáló in vitro rendszerekben.

11. Köszönetnyilvánítás

A munkát az Egészségügyi, Szociális és Családügyi Minisztérium (ETT-308/96, ETT-508/2000, ETT-6090/1/1999, ETT-542/2000, ETT 552/2000, OTKA T16809/T038307/T048745/T043061/NK61412) pályázatai, a „Leukémiás gyermekekért” és a „Remény a leukémiás gyermekemért” alapítvány támogatta.

Köszönetet mondok témavezetőmnek, Dr. Kiss Csongor egyetemi tanár úrnak aki kutatómunkám feltételeit biztosította és annak minden szakaszában segítséget, útmutatást nyújtott.

Köszönöm Dr. Oláh Éva egyetemi tanár, klinikaigazgató asszony folyamatos buzdítását.

Kiemelten mondok köszönetet Dr. Benkő Ilona egyetemi docens asszonynak, akitől a kolónia esszé-módszert elsajátítottam és aki első kísérleteim végzése során segített. Köszönöm Dr. Kovács Péter egyetemi tanár úr segítségét a kolónia esszé megfigyelések interpretálásában.

Köszönöm Dr Szöllősi János egyetemi tanár úrnak és Dr. Kappelmayer János egyetemi docens úrnak az áramlási citometriás kísérletek megtervezéséhez és interpretációjához, Dr. Karászi Éva főorvosasszonynak és Dr. Vámosi György tanársegéd úrnak azok kivitelezéséhez nyújtott segítségét.

Köszönöm Gellértné Bartha Magdolna laboratóriumi asszisztensnek a kísérletek előkészítése és kivitelezése során nyújtott segítséget.

Köszönöm a Gyermekklinika Hematológiai-Onkológiai Szakrendelőjében és Osztályán dolgozó munkatársaim, orvosok, nővérek és asszisztensek segítségét, kiemelten Dr. Kiss Magdolnáét, Dr. Gyórfy Ágnesét és Dr. Kovács Tamását, akikkel együtt a klinikai kutatómunkába bevont betegeket gondoztam.

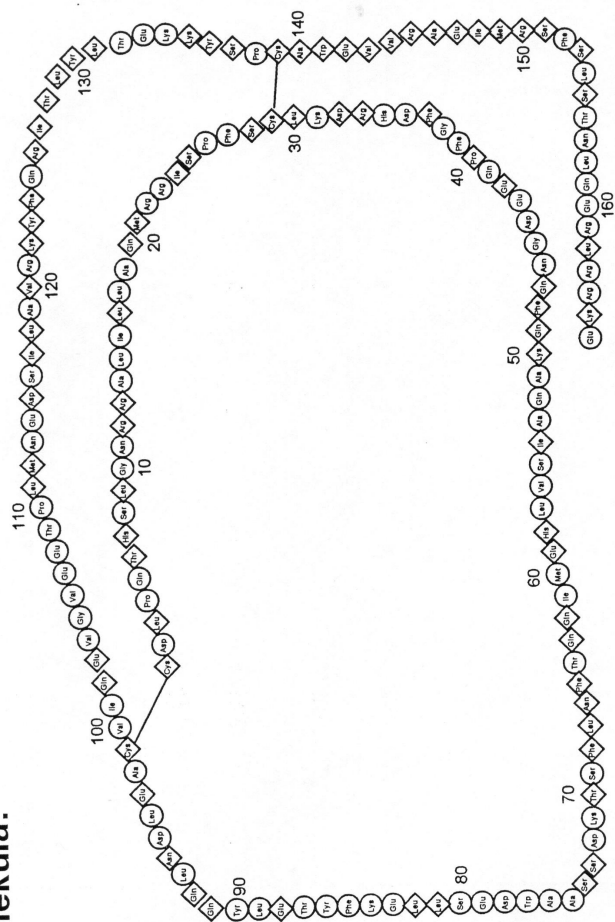
Köszönöm Dr. Balogh Erzsébet tudományos főmunkatárs asszonynak az essentialis thrombocythemiás beteg citogenetikai vizsgálatát.

A biztos családi háttér, gyermekeim türelme biztosította a munka létrejöttét.

11. Ábrák, táblázatok és mellékletek

2. ábra: Az IFN α molekula és főbb biológiai hatásai

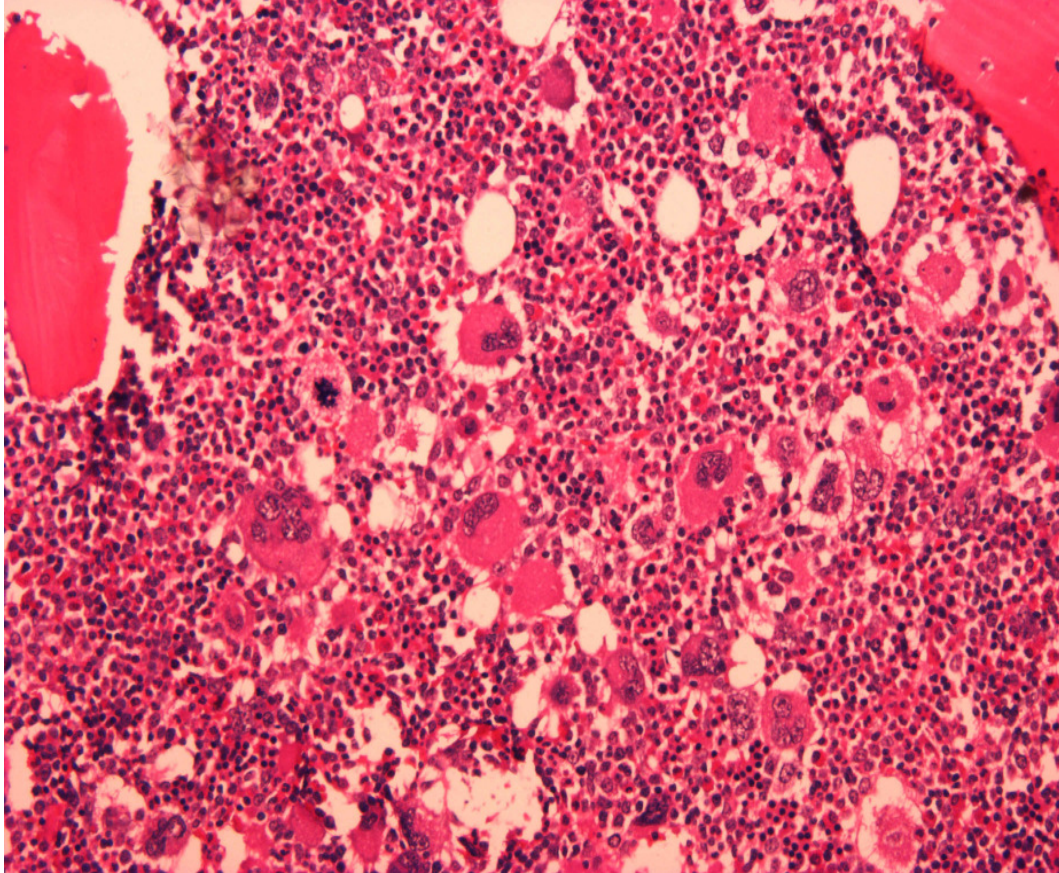
Az α -IFN molekula:



Az α -IFN biológiai hatásai:

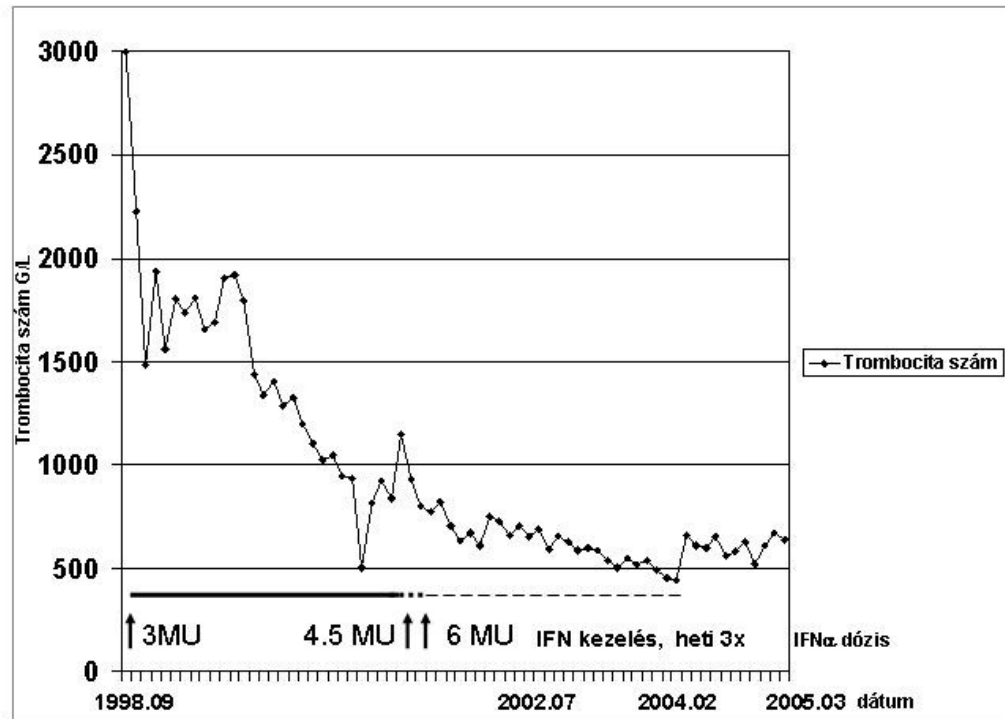
antiproliferatív
antivirális
immunmoduláns

8. ábra: Essentiális thrombocythemiában szenvedő 3 éves leány csontvelő biopsziás minta mikrofotója



Kifejezetten nagy számban láthatók hyperlobulált megakariociták. Hematoxylin-eosin festés.
Eredeti nagyítás: 250X

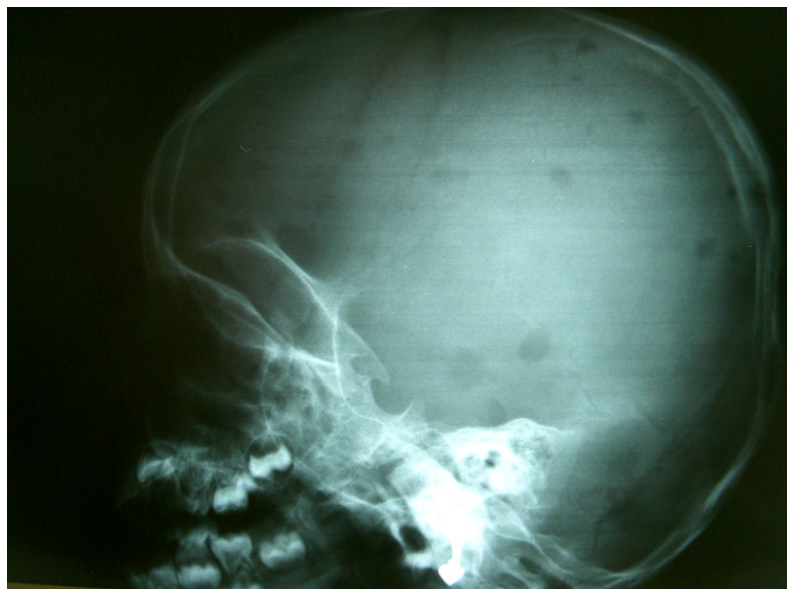
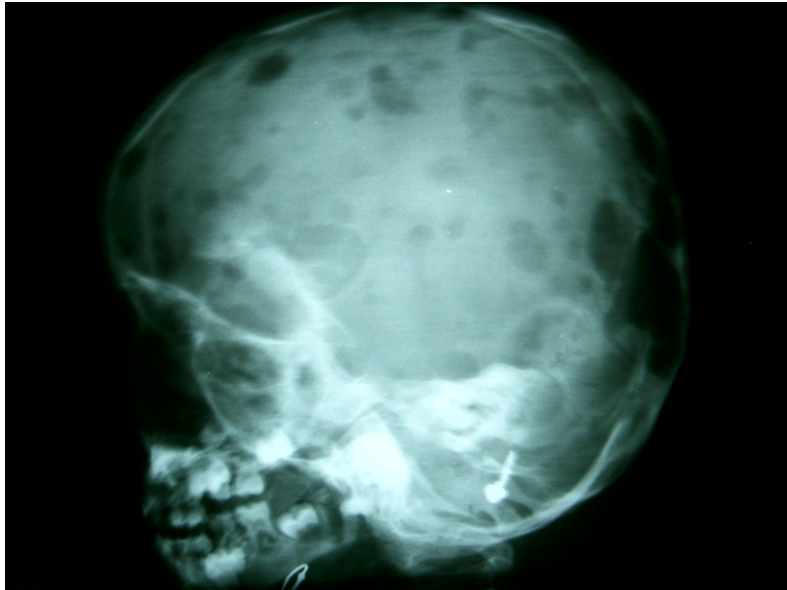
9. ábra: In vivo IFN α -2a kezelés hatása essentialis thrombocythemiás beteg trombocita számának alakulására



A folyamatos és szaggatott vonalak a kezelési periódusokat, a nyilak az IFN α dózisokat jelzik.

Rövidítések: MU: Millió egység; s.c.: subcutan; IFN: Interferon α -2a

11. ábra: LCH miatt kezelt beteg koponya röntgen felvétele az IFN α -2b kezelést megelőzően (felső ábra), illetőleg a kezelést követő parciális remisszó kapcsán (alsó ábra)



I. Táblázat: IFN α megalapozott terápiás alkalmazása az onkológiában

Hematopoetikus malignitás

Ph+ CML

Egyéb mieloproliferatív megbetegedések

Hajas-sejtes leukaemia

Myeloma multiplex

„Low grade” lymphomák

Cutan T-sejtes limfóma

Szolid tumorok

Kaposi sarcoma

Malignus melanoma

Gastrointestinális malignitás

Vese-sejtes carcinoma

Basal-sejtes carcinoma

Elszarusodó laphám carcinoma

II. táblázat: A PV „Polycythemia Vera Study Group” által ajánlott diagnosztikus kritériumai.

Major kritériumok

- emelkedett vörösvérsejt szám
- szekunder ok hiánya (O₂ saturáció>92%)
- splenomegalia

Minor kritériumok

- thrombocytosis
- leukocytosis
- emelkedett LAP score
- emelkedett B12 szint, nem szaturált B12 kötő kapacitás

A diagnózishoz 3 major vagy az első 2 major és további 2 minor kritérium szükséges

III. táblázat: Az essentialis thrombocythaemia (ET) diagnosztikus kritériumai a WHO ajánlása alapján

- Következtesen emelkedett trombocita szám (>600 G/L)
- A csontvelői aspirátum, illetőleg biopsziás minta megakariocitás hiperpláziája
- Philadelphia kromoszóma negativitás rutin citogenetikai vizsgálattal
Javasolt molekuláris vizsgálat a BCR/ABL átrendeződés kizárására
- Szekunder, reaktív thrombocytosist okozó egyéb tényezők hiánya
- Mielodiszpláziára vagy agnogén mieloid metapláziára utaló eltérés hiánya a perifériás vérben, a csontvelőben, illetőleg a citogenetikai eredményben
- Normál vasraktárak, normál szérum ferritin szint és normál vörösvérsejt térfogat (MCV)

IV. táblázat: A mastocytosis WHO klasszifikációja

Cután mastocytosis

Indolens szisztémás mastocytosis

Szisztémás mastocytosis, egyéb klonális hematológiai betegséggel társulva

Aggresszív szisztémás mastocytosis

Mastocytia leukaemia

Mastocytia sarcoma

Extracutan mastocytoma

V. táblázat: Az IFN biológiai válaszmódosító hatásai

Sejtfunkció fokozás	IFN indukált proteinek	Gátolt sejtfunkciók
T sejt	HLA komplex	Angiogenezis
NK sejt	- <i>ABC, DR, DP, DQ</i>	Onkogén expresszió
Makrofág	- <i>B₂ mikroglobulin</i>	- <i>myc, ras</i>
	Protein kináz	HMG-CoA reduktáz
	Guanilát-kötő fehérje	Ornitin-dekarboxiláz
	Indolamin-dioxigenáz	P-450 mikroszómális enzim
	Mx protein	
	Metallothionein II	
	Tumor aszociált antigének	
	- <i>CEA, B72.3</i>	
	2-5A szintáz	

VI. táblázat: Az IFN α kezelésben részesült betegek jellemzői

Sorszám	Életkor	Nem	Diagnózis	Kezdeti kezelés
1	7 év	Leány	Akut kevert-sejtes leukaemia	ALL-BFM-90
2	1 év	Fiú	Akut mieloid leukaemia M7	AML-BFM-93
3	3 év	Fiú	Akut mieloid leukaemia M2	AML-BFM-93
4	8 hónap	Fiú	Mielodiszpláziás szindróma JMML	Interferon-alfa (IFN α)
5	18 év	Leány	Mielodiszpláziás szindróma RAEB	alloBMT, donor leukocita
6	3 év	Leány	Essentialis thrombocythaemia	IFN α
7	3 év	Leány	Langerhans sejtes histiocytosis	Prednisolon-vinblastin
8	6 hónap	Leány	Langerhans sejtes histiocytosis	Prednisolone-vinblastin
9	12 év	Fiú	Hepatocellularis carcinoma	Rezekció. 5-fluorouracil
10	2 év	Fiú	Hepatoblastoma	PLADO
11	14 év	Leány	Colon adenocarcinoma	Komplett rezekció
12	9 év	Fiú	Hepatoblastoma	Parciális rezekció, PLADO
13	3 év	Fiú	Neuroblastoma	Parciális rezekció, OPEC. OPEC/OJEC
14	2 év	Leány	Ganglioneuroblastoma	Parciális rezekció, OPEC, irradiáció
15	14 év	Fiú	Peripheriás neuroectodermalis tumor	OPEC/OJEC
16	6 hónap	Leány	Neuroblastoma	Parciális rezekció, OPEC/OJEC, irradi.
17	3 év	Fiú	Neuroblastoma	OPEC/OJEC, rezekció, CADO
18	16 év	Fiú	Peripheriás neuroectodermalis tumor	Parciális rezekció
19	3 év	Fiú	Neuroblastoma	Rezekció, OPEC/OJEC
20	1 hónap	Leány	Neuroblastoma	Parciális rezekció, OPEC/OJEC
21	10 hónap	Fiú	Neuroblastoma	Parciális rezekció, OPEC/OJEC
22	7 év	Fiú	Medulloblastoma	Rezekció, irradiáció
23	6 év	Fiú	Astrocytoma A2	Rezekció, irradiáció
24	3 év	Fiú	Rhabdomyosarcoma	Rezekció, CWS-HR ág

VII. táblázat: Az IFN α kezelés adatai

Sor-szám	Indikáció	Időtartam (hónap)	Adjuváns kezelés	Kimenetel	Túlélés (hónap)
1a	Válaszreakció hiánya	7	ALL-BFM-90 high risk branch (HR)6	CR→relapszus	9
2	Korai relapszus	8	AML-BFM-93	PR→PD	16
3	Relapszus	5	AML-BFM-93	CR→relapszus	56
4/ 1	Hyperleukocytosis organomegalia, in vitro válaszreakció	1/2	---	PR	
4/ 2	Parciális remisszió	5	AML-BFM-93	PR→relapszus SD→leukémiás transzformáció	11
5	Relapszus	12	12- <i>cis</i> -RA.LD-ARA-C		45
6	Essentialis thrombocythaemia	29	---	PR	90+
7 / 1	Renyhe válaszreakció	12	---	PR	
7 / 2 d	Relapszus	18	13- <i>cis</i> -RA (6 hónap) --- 12 (hónap)	CR	116+
8 / 1	Renyhe válaszreakció	6	---	SD	
8 / 2	Renyhe válaszreakció	6	DAL-HX HR	CR	67
9b	3. Lokális kiújulás	8	Fluorouracil	PD	66
10	Progresszív betegség	3	PLADO	PD	13
11	Fenntartó kezelés	24	Fluorouracil	CR-agyi metasztázis	24
12	Lokális kiújulás	12	CEV + 13- <i>cis</i> -RA	SD- tüdő metasztázis	25
13c	Lokális és metasztatikus kiújulás	8	CEV + 13- <i>cis</i> -RA	PR-progresszív betegség	72
14	Nagy reziduális tumormassza	12	---	PR	167+
15	Progresszív betegség	1 1/2	OPEC/OJEC	PD	15
16	Nagy reziduális tumormassza	12	---	PR	152+
17	Lokális és metasztatikus kiújulás	8	CEV	PD	51
18	Lokális és metasztatikus kiújulás	3	OPEC/OJEC	PD	8
19	Lokális kiújulás	2	CEV	PD	18
20	Nagy reziduális tumormassza	12	13- <i>cis</i> -RA	CR	94+
21	Nagy reziduális tumormassza	12	13- <i>cis</i> -RA	PR	86+
22	Metasztatikus kiújulás	4	Cisplatin	PD	50
23	Lokális kiújulás	24	---	PR	152+
24	2. lokális kiújulás	4	ATRA	PD	32

A táblázat túlélési adatai 2006.07.15-én lettek aktualizálva. IFN α adása heti 3x, subcutan, 3 MU/m² dózisban.

a: IFN α kezdő dózis 10 MU/m², majd 20 MU/m² –re emelve

b: IFN α dózisa 5 MU/m²-re emelve, **c:** IFN α dózisa 6 MU/m²-re emelve

d: IFN α kezelés szülői elutasítás miatt leállítva

+: túlélő betegek

VIII. táblázat: IFN α hatása köldökzsínórvér mononukleáris sejtek, illetőleg JY és BL-41 sejt vonal apoptózisára

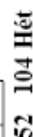
<u>Inkubációs idő (óra)</u>	<u>Apoptótikus sejt arány (%)</u>		
	<u>Köldökzsínór-vér mononukleáris sejtek</u>		
	<u>IFNα-2b nélkül</u>	<u>100 U/mL IFNα-2b</u>	<u>1000 U/mL IFNα-2b</u>
0	1.0±0.2*		
24	10.0±6.4*§¶	6.5±4.8§	5.1±3.6¶
	<u>JY sejtek</u>		
4	3.6±0.8	6.6±0.7	12.0±2.3
24	6.0±0.8*§	15.3±3.1*¶	22.6±2.0§¶
48	3.8±1.1*§	11.9±2.0*	16.3±1.8§
72	6.7±2.8*§	22.4±3.2*	27.4±1.9§
96	11.0±1.4§	20.7±10.0	30.5±3.8§
120	23.4±7.6	30.6±18.2	43.7±11.5
	<u>BL-41 sejtek</u>		
4	3.5±0.3	6.6±0.7	12.0±2.3
24	2.3±1.2	4.3±3.0	5.6±1.9
48	1.8±0.33*§	8.7±0.3*	12.0±1.2*§
72	4.1±0.4*§	13.3±1.3*	26.7±11.2§
96	3.7±0.4	23.7±16.3	27.6±17.9
120	25.7±1.2*	33.3±1.9§	57.8±1.9§

* § ¶: IFN α -2b különböző koncentrációinak jelenlétében illetőleg hiányában, azonos ideig tenyésztett köldökzsínórvér mononukleáris sejtek, JY sejtek és BL-41 sejtek apoptózisa közötti szignifikáns (P<0,05) változások.

IX. táblázat: A csontvelői eredetű mononuclearis sejtek kolónia képzése essentialis thrombocythaemiában szenvedő 3 éves betegben

Kolónia típusa	Kolónia szám/5x10⁵ sejt	Kolónia szám/5x10⁵ sejt
A stimuláló ágens típusa és dózisa	Beteg értékei Átlag ± SD	Kontroll értékek Átlag ± SD
CFU-E EPO 5 U/mL+ G-CSF 10 ng/mL	16.5 ± 2.5	78.6 ± 9.2
BFU-E EPO 5 U/mL+ G-CSF 10 ng/mL	30.5 ± 1.5	19.6 ± 1.7
CFU-GM G-CSF 300 ng/mL	23 ± 3.0	36.7 ± 4.3
CFU-GM GM-CSF 100 ng/mL	20.5 ± 4.0	34.9 ± 6.5
CFU-GM SCF 100 ng/mL	37.5 ± 4.5	13.6 ± 3.4
CFU-GM PHA LCM 10% (v/v)	27 ± 1.0	32.3 ± 2.4
CFU-GM PHA LCM 10% + 100 U/mL IFN	17 ± 1.5	23.4 ± 4.1
CFU-GM PHA LCM 10% + 1000 U/mL IFN	0 ± 0	8.1 ± 1.1

ALL IC-BFM 2002



CNS- központi idegrendszeri status 1/2: preventív CranialRadioTerápia = 12 Gy dózis 1.5 Gy frakció-ban
CNS status 3: rCRT: 12/18 Gy dózis 1.5 Gy frakció-ban – életkor szerint adagolva
1 éves életkor alatt: sem preventív CRT sem terápiás CRT nem alkalmazható

⁹ allogén SCT a HR betegekben

^bAIEOP vs. BFM kiválasztása az onkológiai munkacsoport által

SSR-alacsony, IR-közepes, HR-magas rizikócsoport, R: randomizáció

BCP: precursor B sejtes ALL, T:T sejtes ALL

II. melléklet: Az ALL IC-BFM 2002 „high risk” (HR1/HR2/HR3) intenzív kezelési blokkjai

ALL IC-BFM 2002

Weight = _____ kg
 Height = _____ cm
 BSA = _____ m²

ALL IC-BFM 2002 :Block HR-1'

Therapy arm: ☐ 1. HR - 1 ☐ 2. HR - 1' block ☐ 3. HR - 2A ☐ 4. HR - 2B

Center:

Name: _____

DOB: _____

DEXA p.o. s.d. 20 mg/ml² id = _____ mg/id

VCR i.v. 1.5 mg/ml²/id = _____ mg/SD
 (maximum : 2.0 mg/SD)

HD ARA-C p.i. (ph) 2,000 mg/m² x2 = _____ mg/SD
 (q 12h)

HD MTX p.i. (ph) 5,000 mg/m² = _____ mg
 CF-Rescue i.v. 15 mg/m² = _____ mg/SD
 x3 q 42,45,54

CPM p.i. (ph) 200 mg/m² x5 (q 12h) = _____ mg/SD
 (MESNA 70 mg/m² i.v. x3 at 0, 4, 8h)

L-ASP p.i. (ph) 25,000 U/m² id = _____ U
 (E.coli-MEDAKOYOWA)

MTX/ARA-C/PRED i.r. = _____ mg

dose by age		
> 3 Y	10 mg	to after start HD-MTX
> 3 < 3 Y	10 mg	
> 1 x 2 Y	8 mg	
< 1 Y	6 mg	

BM

Day 1 2 3 4 5 6 11

Date _____

Date before start of block: _____

Patient in remission ? ☐ Yes ☐ No

Dose modification? Cytostatic agents added or omitted?
 YES - NO _____

Description of modification(s) & reason(s): _____

MTX (μmol)	CF-Rescue (mg)	Extended Rescue
24 h		☐ Yes ☐ No
36 h		
42 h		until hour _____
48 h		
54 h		

Fill in additional toxicity form if !

Signature _____

Appendix 3.0g

ALL IC-BFM 2002

Weight = _____ kg Height = _____ cm BSA = _____ m ²	ALL IC-BFM 2002 : Block HR-2' ☐ 1. ☐ 2. HR - 2' block Therapy arm: ☐ HR - 1 ☐ HR - 2A ☐ HR - 2B	Center: Name: DOB:														
BM ○ ↑↑↑ ↑↑↑ * □□ Day 1 2 3 4 5 6 11 Date DEXA p.o.i.v. 20 mg/m²/d = _____.mg/d VDS i.v. 3 mg/m²/d = _____.mg/SD (maximum: 5.0 mg/SD) DNR p.i. (24h) 30 mg/m² = _____.mg/SD HD MTX p.i. (24h) 5,000 mg/m² = _____.mg CF-Rescue i.v. 15 mg/m² = _____.mg/SD x3 (3: 42,48,54) IFO p.i. (1h) 800 mg/m² x5 = _____.mg/SD + MESNA: 300 mg/ml i.v. x3 at 0, 4, 8h) L-ASP p.i. (2h) 25,000 U/m²/d = _____.U (E.coli-MEDACKYOWA) MTX/ARA-C/PRED i.t. = ____/_/_/____.mg dose by age <table border="0" style="width: 100%;"><tr><td style="width: 33%;">12 - 30</td><td style="width: 33%;">10 mg</td><td style="width: 33%;">≥ 1 year</td></tr><tr><td>10 - 26</td><td>8 mg</td><td>> 2 < 3 yr</td></tr><tr><td>8 - 20</td><td>6 mg</td><td>> 1 < 2 yr</td></tr><tr><td>6 - 16</td><td>4 mg</td><td>> 1 < 1 yr</td></tr></table> 1h after start HD MTX			12 - 30	10 mg	≥ 1 year	10 - 26	8 mg	> 2 < 3 yr	8 - 20	6 mg	> 1 < 2 yr	6 - 16	4 mg	> 1 < 1 yr		
12 - 30	10 mg	≥ 1 year														
10 - 26	8 mg	> 2 < 3 yr														
8 - 20	6 mg	> 1 < 2 yr														
6 - 16	4 mg	> 1 < 1 yr														
Data before start of block: Patient in remission? ☐ Yes ☐ No <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"><thead><tr><th>MTX (μmol/l)</th><th>CF-Rescue (mg)</th><th>Extended Rescue</th></tr></thead><tbody><tr><td>24 h _____</td><td>_____</td><td rowspan="5" style="vertical-align: middle; text-align: center;">☐ Yes ☐ No</td></tr><tr><td>36 h _____</td><td>_____</td></tr><tr><td>42 h _____</td><td>_____</td></tr><tr><td>48 h _____</td><td>_____ until hour []</td></tr><tr><td>54 h _____</td><td>_____</td></tr></tbody></table> * Only in CNS-positive pts Fill in additional toxicity form if more than 1 grade 3 or higher toxicity occurs Signature _____			MTX (μmol/l)	CF-Rescue (mg)	Extended Rescue	24 h _____	_____	☐ Yes ☐ No	36 h _____	_____	42 h _____	_____	48 h _____	_____ until hour []	54 h _____	_____
MTX (μmol/l)	CF-Rescue (mg)	Extended Rescue														
24 h _____	_____	☐ Yes ☐ No														
36 h _____	_____															
42 h _____	_____															
48 h _____	_____ until hour []															
54 h _____	_____															
Does modification? Cytostatic agents added or omitted? YES – NO Description of modification(s) and reason(s):																

Send copy on completion to national study coordinator

ALL IC-BFM 2002

Weight = _____ kg
 Height = _____ cm
 BSA = _____ m²

ALL IC-BFM 2002 : Block HR-3'

☐ 1. ☐ 2. ☐ HR- 3' block
 Therapy arm: ☐ HR- 1 ☐ HR- 2A ☐ HR- 2B

Center: _____
 Name: _____
 DOB: _____

DEXA p.o./i.v. 20 mg/m²/d = _____ mg/d

HD ARA-C p.i. (th) 2,000 mg/m² x4 = _____ mg/SD
 (q 12 h)

VP-16 p.i. (th) 100 mg/m² x5 = _____ mg/SD
 (q 12 h)

L-ASP p.i. (th) 25,000 U/m²/d = _____ U
 (E.coli-MEDAC/YOWA)

MTX/ARA-C/PRED i.f. = _____ mg

<table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>12</td><td>30</td></tr> <tr><td>10</td><td>20</td></tr> <tr><td>8</td><td>20</td></tr> <tr><td>6</td><td>10</td></tr> </table>	12	30	10	20	8	20	6	10	<table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>10</td><td>mg</td></tr> <tr><td>=> 2 < 3 Y</td></tr> <tr><td>8 mg</td></tr> <tr><td>= 1 < 2 Y</td></tr> <tr><td>4 mg</td></tr> <tr><td>< 1 Y</td></tr> </table>	10	mg	=> 2 < 3 Y	8 mg	= 1 < 2 Y	4 mg	< 1 Y
12	30															
10	20															
8	20															
6	10															
10	mg															
=> 2 < 3 Y																
8 mg																
= 1 < 2 Y																
4 mg																
< 1 Y																

Fill in additional toxicity form !

Date _____

Data before start of block:
 Patient in remission? ☐ Yes ☐ No

Dose modification? Cytostatic agents added or omitted? YES – NO

Description of modification(s) and reason(s): _____

Signature

Send copy on completion to national study coordinator

13. Függelék

A függelék az értekezés alapjául szolgáló alábbi közleményeket tartalmazza:

1. Kiss C, Kiss M, **Szegedi I**, Árvai K, Tóth J, Oláh É. Interferon-alpha therapy in children with malignant diseases: clinical experience in twenty-four patients treated in a single pediatric oncology unit. *Medical and Pediatric Oncology* 2002;39:115-119. **IF: 1.216**
2. Győrfy Á, Kovács T, **Szegedi I**, Oláh É, Kiss C. Sweet syndrome associated with 13-cis-retinoic acid (isotretinoin) therapy. *Medical and Pediatric Oncology* 2003;40:135-138. **IF: 1.216**
3. **Szegedi I**, Kiss C, Karászi É, Vámosi G, Szöllősi J, Kovács P, Benkő I. Differential regulation of umbilical cord blood and leukemic B cells by interferon-alpha (IFN- α): observations in cultured cells. *Pathology Oncology Research* 2006;12:159-163. **IF: 1.16**
4. **Szegedi I**, Kiss C. Myeloproliferatív szindrómák gyermekkorban. *Gyermekegyógyászati Továbbképző Szemle* 2006;5:149-155.
5. **Szegedi I**, Benkő I, Merő G, Prinzinger Á, Kappelmayer J, Kiss C. Long-lasting partial remission by interferon-alpha treatment in a child with essential thrombocythemia. *Pediatric Blood and Cancer* 2006;[Epub ahead of print]. **IF: 1.512**