

JADWIGA WĘCŁAWEK-TOMPOL, KRZYSZTOF SZMYD, BLANKA RYBKA,
DOROTA NOWOROLSKA-SAUREN, RENATA RYCZAN, ALICJA CHYBICKA

Populacje limfocytów u dzieci z nowotworami hematologicznymi przed rozpoczęciem leczenia oraz na różnych etapach chemioterapii

Populations of Lymphocytes in Children with Hematological Malignancies before and during Chemotherapy

Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej AM we Wrocławiu

Streszczenie

Wprowadzenie. Niedobór odporności obserwowany u chorych z chorobą nowotworową jest związany nie tylko z rozwojem nowotworu, lecz w dużej mierze wynika z immunosupresyjnego wpływu stosowanego leczenia.

Cel pracy. Ocena profilu immunologicznego dzieci z nowotworami hematologicznymi w zakresie różnych populacji limfocytów w zależności od etapu leczenia i rodzaju odpowiedzi na terapię oraz porównanie uzyskanych wyników z wartościami stwierdzanymi u dzieci zdrowych.

Materiał i metody. Badaniami objęto 76 dzieci (30 dziewczynek i 46 chłopców), w wieku od 15 miesięcy do 18 lat (mediana 9 lat), leczonych w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej AM we Wrocławiu, z powodu: ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) – 39 dzieci, ostrej białaczki szpikowej (AML) – 15 pacjentów, chłoniaków nieziarniczych (NHL) – 8 chorych, choroby Hodgkina (HD) – 10 dzieci oraz anaplastycznych chłoniaków wielkokomórkowych (LCAL) – 4 pacjentów. Grupę kontrolną stanowiło 21 zdrowych dzieci w wieku 3–18 lat (mediana 11 lat). Analizę ilościową subpopulacji limfocytów T (Th, Tc/s), limfocytów B oraz komórek NK przeprowadzono techniką cytofluorymetrii przepływową.

Wyniki. U dzieci chorych na NHL, HD, LCAL oraz u większości na ALL i AML stwierdzono obniżenie całkowitej liczby limfocytów przed rozpoczęciem leczenia. Realizacja leczenia przeciwnowotworowego znacznie zmniejszyła subpopulację limfocytów T (zwłaszcza Th), limfocytów B i komórek NK.

Wnioski. Obniżenie liczebności populacji limfocytów T, B i komórek NK jest podstawową przyczyną immunosupresji związanej z terapią, ponieważ powoduje niedobór ich funkcji efektorowych w układzie odpornościowym (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 2, 261–272).

Słowa kluczowe: dzieci, limfocyty, nowotwory, chemioterapia.

Abstract

Background. Immunodeficiency observed in cancer patients results not only from immunosuppressive influence of neoplasm, but mostly from cytotoxic therapy.

Objectives. The aim of the study was to analyze subpopulations of lymphocytes in patients with hematological malignancies at various points of treatment in comparison to the control group.

Material and Methods. The total number of 76 patients: 30 females and 46 males, aged from 15 months to 18 years (median 9 years) treated at the Department of Children Bone Marrow Transplantation, Oncology and Hematology, Wrocław Medical University, Poland (ALL – 39, AML – 15, NHL – 8, HD – 10, LCAL – 4 children) were examined. Control group contained 21 healthy children – potential allogenic BMT donors. The populations of T lymphocytes (Th, Tc/s), B lymphocytes and NK cells were analyzed by flow cytometry.

Results. In children with NHL, HD, LCAL and most of patients with ALL and AML decreased number of lymphocytes before beginning of treatment was observed. Antineoplastic therapy caused significant reduction of populations T lymphocytes (especially Th-cells), B lymphocytes and NK cells.

Conclusions. Decreased number of populations T lymphocytes, B lymphocytes and NK cells during therapy is the main cause of immunosuppression observed in cancer patients (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 2, 261–272).

Key words: children, lymphocytes, neoplasms, chemotherapy.

Interakcje między nowotworem a układem odpornościowym pacjenta mają złożony charakter. Z jednej strony układ immunologiczny dysponuje mechanizmami efektorowymi zdolnymi do eliminacji komórek nowotworowych, z drugiej – rozwój choroby nowotworowej interferuje z obroną ze strony organizmu.

Do najważniejszych mechanizmów efektorowych odpowiedzi immunologicznej przeciw komórkom nowotworowym należy zaliczyć: aktywność komórek NK (*natural killer cells*), cytotoxyczność limfocytów Tc, aktywność cytokin wydzielanych przez limfocyty T oraz aktywowane makrofagi, cytotoxyczność makrofagów i neutrofilów, cytotoxyczność komórkową zależną od przeciwciał oraz cytotoxyczność przeciwciał zależną od dopełniacza [1]. W wyniku odpowiedzi układu odpornościowego przeciwdziałającej rozwojowi nowotworu może wystąpić selekcja klonów komórek nowotworowych, które wykazują osłabioną wrażliwość na mechanizmy efektorowe reakcji obronnej organizmu, na przykład z powodu zmniejszonej antygenowości. Komórki nowotworowe mogą cechować się obniżoną ekspresją cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej (MHC – *major histocompatibility complex*), co powoduje zmniejszenie wrażliwości tych komórek na cytotoxyczność limfocytów T, może także uwrażliwiać je na cytotoxyczność zależną od komórek NK [1]. Innymi ważnymi mechanizmami interferującymi z obroną ze strony układu immunologicznego są:

- możliwość uwalniania rozpuszczalnych antygenów przez komórki nowotworowe,
- maskowanie antygenów na komórkach nowotworowych,
- opsonizacja komórek efektorowych reagujących z antygenem,
- aktywność przeciwciał antyidiotypowych,
- tworzenie kompleksów antygen nowotworowy – swoiste przeciwciała i blokowanie komórek efektorowych,
- możliwość stymulacji wzrostu komórek nowotworowych przez swoiste przeciwciała obecne w małym stężeniu oraz przez cytokiny uwalniane w reakcjach immunologicznych,
- sekrecja przez komórki nowotworowe cytokin stymulujących autokrynnie rozwój nowotworu, np. IL-6 w szpiczaku mnogim i raku nerki lub ułatwiających tworzenie się przerzutów, np. VEGF w czerniaku złośliwym i guzach mózgu,
- wydzielanie przez komórki nowotworowe cytokin hamujących reaktywność mechanizmów efektorowych odpowiedzi przeciwnowotworowej, np. IL-10 [1].

Niezależnie od immunosupresji związanej z rozwojem nowotworu, samo leczenie choroby nowotworowej, oparte zwłaszcza na chemio- i/lub

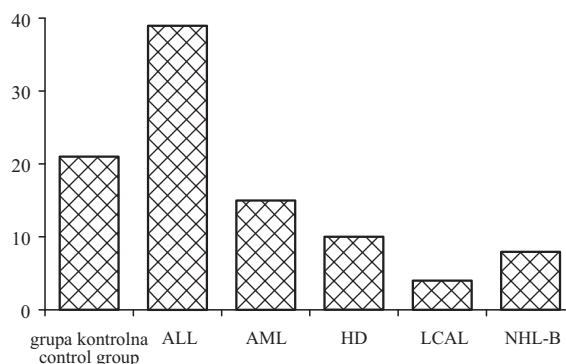
radioterapii, wiąże się z obniżeniem potencjału immunologicznego pacjenta [2–7]. W czasie postępowania terapeutycznego może dochodzić do ciężkich powikłań infekcyjnych będących następstwem immunosupresji, które mogą być ważną przyczyną przerw w prowadzonym leczeniu przeciwnowotworowym i istotnie rzutować na uzyskiwane wyniki terapii [8].

Celem pracy była ocena profilu immunologicznego chorych na nowotwory układu krwiotwórczego w zakresie różnych populacji limfocytów: subpopulacji limfocytów T, limfocytów B, komórek NK, w zależności od etapu leczenia oraz w porównaniu do grupy dzieci zdrowych.

Material i metody

Analizą objęto 76 dzieci (46 chłopców i 30 dziewcząt) w wieku od 15 miesięcy do 18 lat (mediana 9 lat) leczonych w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej AM we Wrocławiu z powodu: ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) – 39 dzieci, ostrej białaczki szpikowej (AML) – 15 pacjentów, chłoniaków nieziarnicznych B-komórkowych (NHL-B) – 8 dzieci, choroby Hodgkina (HD) – 10 chorych oraz chłoniaków anaplastycznych wielkokomórkowych (LCAL) – 4 pacjentów. Grupę kontrolną stanowiło 21 zdrowych dzieci (12 chłopców, 9 dziewcząt), potencjalnych dawców szpiku do przeszczepów allogenicznym, w wieku 3–18 lat (mediana 11 lat) (ryc. 1).

Do badań pobierano 1–2 ml krwi obwodowej na heparynę w różnych stanach klinicznych, na różnych etapach diagnostyki i leczenia: przy rozpoznaniu choroby, po osiągnięciu remisji hematologicznej (chorzy na ALL i AML), w czasie badań bilansowych oceniających odpowiedź na leczenie podczas prowadzonej terapii (chorzy na HD,



Ryc. 1. Liczebność grupy badanej i kontrolnej. Charakterystyka rozpoznań grupy badanej

Fig. 1. The numbers of patients and control group. Characteristics of diagnosis in study group

Tabela 1. Etapy pobierania krwi do badań, liczebność grup pacjentów na poszczególnych etapach leczenia**Table 1.** Stage of treatment at which blood samples were collect, number of patient

Rozpoznanie (Diagnosis)	Etap leczenia (Stage of treatment)						
	Diagnostyka (Diagnosis)	Remisja w trakcie leczenia (Remission during treatment)	LPR (Maintenance therapy)	Progresja (Progression)	Wznowa (Relapse)	2. remisja (2nd remission)	Zakończenie leczenia (End of treatment)
ALL	34	33	21	3	8*	2	–
AML	14	11	8	3	2**	1	–
HD	10	9	–	–	–	–	9
LCAL	4	2	1	1	–	–	1
NHL-B	8	7	–	–	–	–	7

* 5 pacjentów z ALL włączonych do badań na etapie rozpoznania wznowy.

** 1 dziecko z AML włączone do analizy na etapie rozpoznania wznowy.

* 5 ALL patients were included to study while diagnosing leukemia relapse.

** 1 AML child was included to study while diagnosing leukemia relapse.

NHL-B, LCAL), przed rozpoczęciem leczenia podtrzymującego remisję (LPR), po zakończeniu terapii, a także w przypadku stwierdzenia nawrotu lub progresji choroby (tab. 1). Warunkiem pobrania materiału do badań, poza przypadkami rozpoznania nowotworu lub jego wznowy, był dobry stan kliniczny pacjenta i wykluczenie aktywnego zakażenia na podstawie badania fizykalnego oraz badań dodatkowych. Każdorazowo krew była pobierana przy okazji rutynowych badań związanych z diagnostyką lub kwalifikacją pacjenta do cyklu chemioterapii, w przypadku grupy kontrolnej – podczas badań HLA lub badań związanych z kwalifikacją do pobrania szpiku.

Ilościową ocenę subpopulacji limfocytów T (Th – CD3⁺CD4⁺, Tc/s – CD3⁺CD8⁺), limfocytów B (CD19⁺), komórek NK (CD3⁺CD56⁺) przeprowadzono techniką cytofluorymetrii przepływowej z użyciem przeciwciał monoklonalnych firmy BD, Biosciences, CA. Przy każdym oznaczeniu analizowano 5–10 × 10³ komórek/próbkę. Analizę uzyskanych wyników przeprowadzono za pomocą programu WinList for Win32, ver. 3.0 (Verity Software House, Inc., USA). Liczbę bezwzględną poszczególnych populacji limfocytów obliczano na podstawie morfologii krwi obwodowej, stosując rozmaz manualny jako metodę referencyjną do określenia udziału procentowego poszczególnych populacji układu białokrwinkowego. Aby móc porównać uzyskane rezultaty oraz obliczyć wartości liczbowe poszczególnych populacji komórek, wyniki uzyskiwane dla danej czystości bramki (czystość i wielkość bramki ustalana na podstawie znakowania z CD14/CD45 wobec kontroli izotypowej, BD Biosciences, CA) przeliczano do

wartości, które uzyskanoby przy czystości bramki 100%.

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą programu StatSoft Statistica 6.0.

Wyniki

W celu przedstawienia wyników obrazujących liczebność poszczególnych populacji limfocytów posłużono się wielkością mediany, podając zakresy uzyskiwanych wartości (szczegółowe zestawienie danych przedstawiono w tabelach 2 i 3). Za wyniki istotne statystycznie przyjmowano te, w przypadku których poziom ufności wynosił $p \leq 0,05$.

W grupie kontrolnej całkowita liczba limfocytów: $(1,39–5,52) \times 10^3/\mu\text{l}$; mediana $2,55 \times 10^3/\mu\text{l}$ oraz wartości bezwzględne subpopulacji limfocytów T: CD3⁺CD4⁺: $(0,51–1,76) \times 10^3/\mu\text{l}$ z medianą $0,96 \times 10^3/\mu\text{l}$ oraz CD3⁺CD8⁺: $(0,30–1,48) \times 10^3/\mu\text{l}$ z medianą $0,62 \times 10^3/\mu\text{l}$, CD4/CD8: $(1,18–1,86)$ z medianą 1,55, limfocytów B: $(0,22–1,00) \times 10^3/\mu\text{l}$; mediana $0,29 \times 10^3/\mu\text{l}$, komórek NK: $(0,20–1,03) \times 10^3/\mu\text{l}$; mediana $0,52 \times 10^3/\mu\text{l}$, były porównywalne do wyników uzyskanych przez Comans-Bitter et al., i u poszczególnych badanych mieściły się w normach należnych dla wieku [9].

Limfocyty Th (CD3⁺CD4⁺)

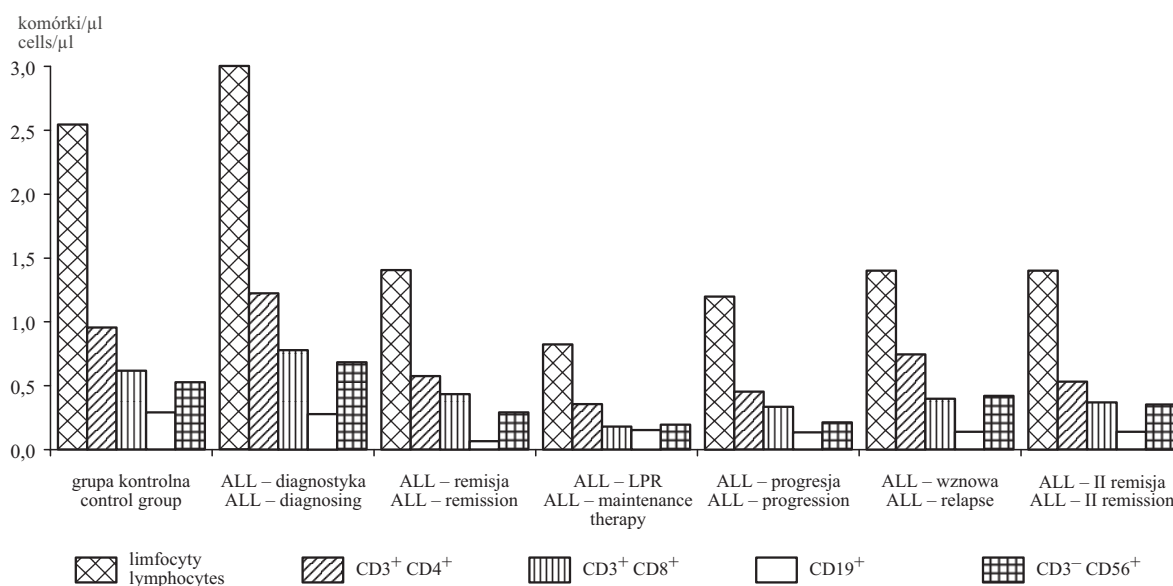
U chorych na ALL i AML przed rozpoczęciem leczenia mediany limfocytów CD3⁺CD4⁺ były wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej (ALL –

Tabela 3. Populacje limfocytów CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD19⁺, CD3⁺CD56⁺ oraz stosunek CD4/CD8 u pacjentów z HD, LCAL i NHL-B**Table 3.** Populations of lymphocytes CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD19⁺, CD3⁺CD56⁺ and CD4/CD8 in patients with HD, LCAL and NHL-B

	Mediana – zakres (Median – range)									
	Limfocyty (Lymphocytes)		CD3 ⁺ CD4 ⁺		CD3 ⁺ CD8 ⁺		CD4/CD8	CD19 ⁺	CD3 ⁺ CD56 ⁺	
	× 10 ³ kom./ml (× 10 ³ cells/ml)	%	× 10 ³ kom./μl (× 10 ³ cells/μl)	%	× 10 ³ kom./μl (× 10 ³ cells/μl)	%		%	× 10 ³ kom./μl (× 10 ³ cells/μl)	%
Grupa kontrolna (Control group)	2,55 (1,39–5,52)	38,5 (30,23–42,96)	0,96 (0,51–1,76)	24,95 (17,65–31,15)	0,62 (0,30–1,48)	1,55 (1,18–1,86)	12,13 (5,42–27,46)	20,51 (9,12–23,42)	0,29 (0,22–1,00)	0,52 (0,20–1,03)
	1,5 (0,46–4,33)	39,86 (30,15–46,25)	0,43 (0,21–1,43)	24,44 (20,97–32,89)	0,28 (0,12–1,16)	1,48 (1,21–2,06)	9,64 (4,76–27,11)	15,81 (13,09–28,78)	0,22 (0,04–0,40)	0,21 (0,06–1,25)
	1,21 (0,41–2,33)	30,61 (25,73–35,48)	0,38 (0,27–0,48)	25,12 (16,54–30,15)	0,21 (0,09–0,47)	1,22 (1,18–1,56)	6,63 (0,48–12,78)	12,67 (6,59–18,74)	0,19 (0,09–0,29)	0,24 (0,05–0,43)
	1,02 (0,64–1,10)	31,84 (31,49–32,64)	0,32 (0,20–0,36)	29,72 (19,48–40,15)	0,19 (0,13–0,28)	1,07 (0,79–1,68)	21,83 (6,04–24,82)	15,78 (11,11–23,31)	0,24 (0,04–0,25)	0,11 (0,10–0,26)
LCAL	1,4 (1,03–3,23)	35,52 (30,37–46,87)	0,45 (0,41–1,51)	28,79 (14,82–34,19)	0,4 (0,15–1,02)	1,49 (1,01–2,95)	9,35 (1,15–22,30)	17,39 (15,45–22,60)	0,23 (0,04–0,31)	0,32 (0,17–0,51)
	1,23 (0,64–1,82)	30,65 (18,45–42,84)	0,45 (0,12–0,78)	23,03 (15,89–30,16)	0,33 (0,10–0,55)	1,29 (1,16–1,42)	5,94 (2,45–9,42)	21,44 (18,72–24,15)	0,09 (0,02–0,17)	0,28 (0,12–0,44)
	0,36	35,36	0,13	29,41	0,1	1,2	29,1	1,9	0,11	0,69
	1,42	35,42	0,5	24,96	0,35	1,42	5,32	24,86	0,08	0,35
NHL-B	2,2	31,66	0,69	35,78	0,78	0,88	1,85	20,43	0,04	0,44
	1,86 (1,11–4,88)	30,99 (10,32–39,27)	0,52 (0,13–1,65)	28,08 (25,76–32,57)	0,54 (0,40–0,74)	1,07 (0,58–1,25)	6,99 (0,32–10,98)	13,68 (12,45–26,82)	0,22 (0,01–0,34)	0,29 (0,16–1,31)
	1,55 (1,22–2,09)	30,91 (16,87–39,47)	0,48 (0,35–0,58)	36,98 (25,76–32,57)	0,5 (0,40–0,74)	0,95 (0,66–1,21)	17 (9,43–31,98)	20,07 (12,56–24,75)	0,2 (0,11–0,67)	0,29 (0,15–0,46)
	1,54 (0,69–2,80)	28,4 (25,93–44,34)	0,44 (0,30–0,80)	25,24 (12,45–35,42)	0,39 (0,09–0,69)	1,13 (0,89–3,56)	20,47 (13,74–29,86)	17,27 (12,86–21,53)	0,32 (0,11–0,81)	0,27 (0,14–0,58)

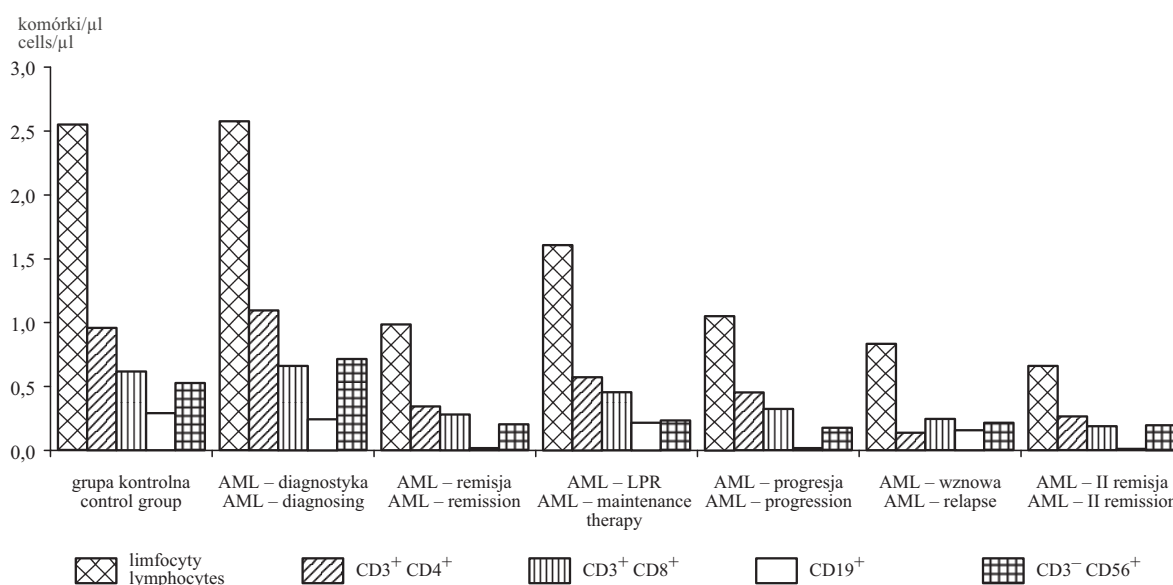
$1,23 \times 10^3/\mu\text{l}$, AML – $1,09 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,96 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$), chociaż wartości stwierdzone u poszczególnych pacjentów przedstawiały znaczne zróżnicowanie, wykazując u niektórych chorych spadek poniżej normy przyjętej dla wieku. Niższe wyniki obserwowano głównie u dzieci z wysokim odsetkiem komórek blastycznych we krwi obwodowej. Po rozpoczęciu leczenia, na etapie uzyskania remisji hematologicznej (pierwszej lub drugiej) oraz przed LPR, w obu grupach chorych odnotowywano istotnie statystycznie obniżenie liczby limfocytów Th w porównaniu do stanu wyjściowego (ALL: pierwsza remisja – $0,57 \times$

$\times 10^3/\mu\text{l}$, druga remisja – $0,53 \times 10^3/\mu\text{l}$ i LPR – $0,36 \times 10^3/\mu\text{l}$, AML: pierwsza remisja – $0,34 \times 10^3/\mu\text{l}$, druga remisja – $0,26 \times 10^3/\mu\text{l}$ i LPR – $0,56 \times 10^3/\mu\text{l}$). W przypadku pacjentów z nawrotem ALL, w chwili rozpoznania wznowy procesu chorobowego mediana limfocytów $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$ była niższa w porównaniu z dziećmi zdrowymi ($0,75 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,96 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$), choć chorzy wykazywali znaczne różnice pod względem odnotowywanych wartości. U pacjentów, u których drugi rzut choroby wystąpił w czasie leczenia konsolidującego, obserwowano wyniki z dolnego zakresu przedziału. Dwoje dzieci



Ryc. 2. Mediany limfocytów $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$, $\text{CD}3^+\text{CD}8^+$, $\text{CD}19^+$ i $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$ u dzieci z ALL

Fig. 2. Medians of lymphocytes $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$, $\text{CD}3^+\text{CD}8^+$, $\text{CD}19^+$ and $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$ in children with ALL



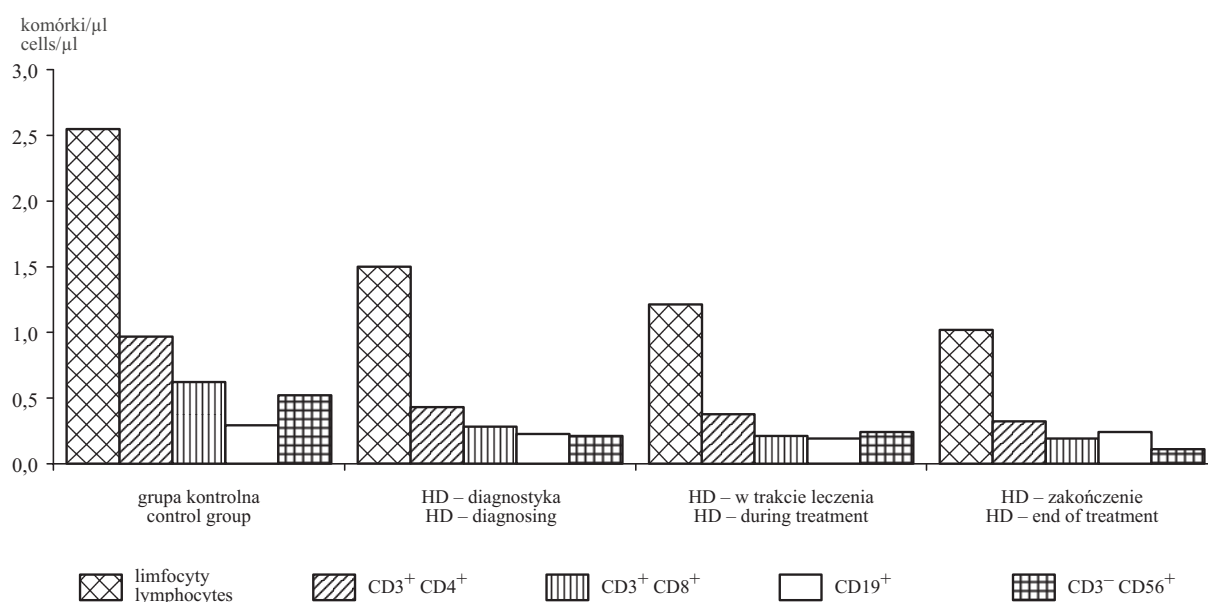
Ryc. 3. Mediany limfocytów $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$, $\text{CD}3^+\text{CD}8^+$, $\text{CD}19^+$ i $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$ u dzieci z AML

Fig. 3. Medians of lymphocytes $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$, $\text{CD}3^+\text{CD}8^+$, $\text{CD}19^+$ and $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$ in children with AML

z AML w chwili rozpoznania wznowy (odpowiednio w 9. i 24. miesiącu od rozpoczęcia terapii) miało znaczną deplecję limfocytów Th ($0,01 \times 10^3/\mu\text{l}$ i $0,26 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,96 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$). U chorych z ALL i AML nieodpowiadających na leczenie, w okresie progresji choroby stwierdzano około dwukrotne obniżenie liczebności omawianej subpopulacji limfocytów T w porównaniu do dzieci zdrowych (ryc. 2 i 3).

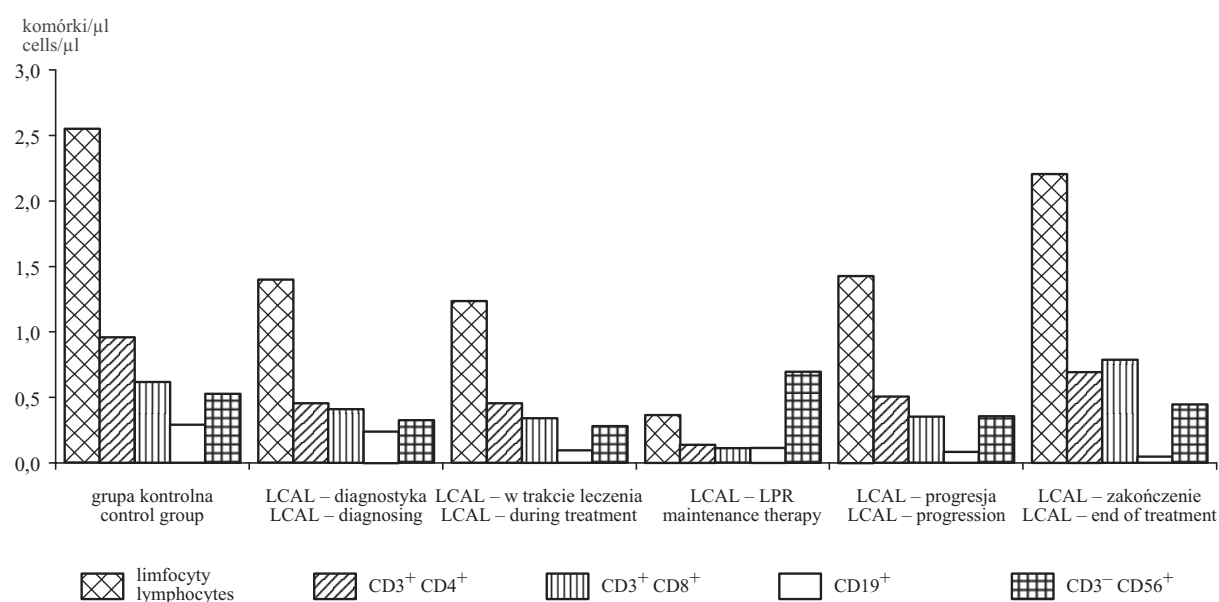
W analizowanym materiale u chorych na HD, LCAL, NHL-B wartości limfocytów $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$ przy rozpoznaniu choroby nowotworowej były niższe w porównaniu z grupą kontrolną (HD –

$0,43 \times 10^3/\mu\text{l}$, LCAL – $0,45 \times 10^3/\mu\text{l}$, NHL-B – $0,52 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,96 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$) i wykazywały dalszy spadek w czasie leczenia. W grupie dzieci, które ukończyły terapię, w dotychczasowym okresie obserwacji (1–2 miesiące od zakończenia leczenia), limfocyty Th nadal utrzymywały się poniżej wartości występujących u dzieci zdrowych (HD – $0,32 \times 10^3/\mu\text{l}$, LCAL – $0,69 \times 10^3/\mu\text{l}$, NHL-B – $0,44 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,96 \times 10^3/\mu\text{l}$). U pacjenta z progresją LCAL w schyłkowym okresie choroby również obserwowano małą liczbę komórek subpopulacji Th ($0,5 \times 10^3/\mu\text{l}$) (ryc. 4–6).



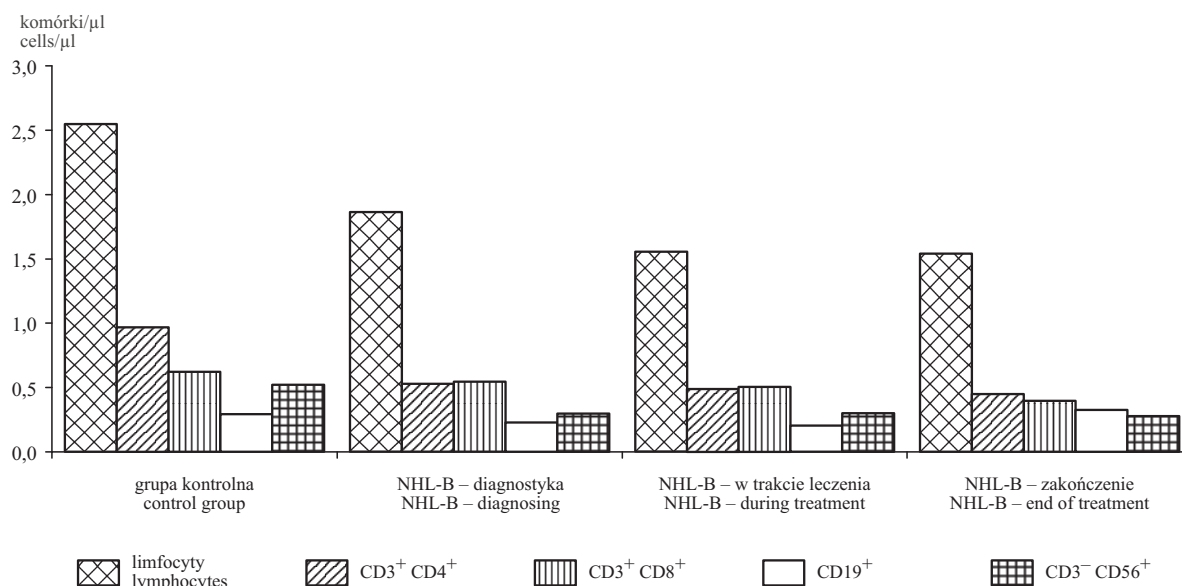
Ryc. 4. Mediany limfocytów $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$, $\text{CD}3^+\text{CD}8^+$, $\text{CD}19^+$ i $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$ u dzieci z HD

Fig. 4. Medians of lymphocytes $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$, $\text{CD}3^+\text{CD}8^+$, $\text{CD}19^+$ and $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$ in children with HD



Ryc. 5. Mediany limfocytów $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$, $\text{CD}3^+\text{CD}8^+$, $\text{CD}19^+$ i $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$ u dzieci z LCAL

Fig. 5. Medians of lymphocytes $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$, $\text{CD}3^+\text{CD}8^+$, $\text{CD}19^+$ and $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$ in children with LCAL



Ryc. 6. Mediany limfocytów CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD19⁺ i CD3⁻CD56⁺ u dzieci z NHL-B

Fig. 6. Medians of lymphocytes CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD19⁺ and CD3⁻CD56⁺ in children with NHL-B

Limfocyty Tc/s (CD3⁺CD8⁺)

Wartości bezwzględne limfocytów CD3⁺CD8⁺ wykazywały znaczne zróżnicowanie we wszystkich grupach chorych na etapach obserwacji objętych analizą.

Mediana liczby limfocytów CD3⁺CD8⁺ na początku leczenia u dzieci chorych na ALL była wyższa, u chorych na AML natomiast – porównywalna z grupą kontrolną (ALL – $0,78 \times 10^3/\mu\text{l}$, AML – $0,66 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,62 \times 10^3/\mu\text{l}$). W obu omawianych grupach pacjentów w czasie leczenia: na etapie osiągnięcia remisji hematologicznej, przed rozpoczęciem LPR oraz u chorych z progresją, obserwowano niższe wartości limfocytów Tc/s w porównaniu do stanu wyjściowego i do wyników stwierdzanych u dzieci zdrowych (ALL (remisja) – $0,44 \times 10^3/\mu\text{l}$, ALL (LPR) – $0,18 \times 10^3/\mu\text{l}$, ALL (progresja) – $0,33 \times 10^3/\mu\text{l}$; AML (remisja) – $0,27 \times 10^3/\mu\text{l}$, AML (LPR) – $0,45 \times 10^3/\mu\text{l}$, AML (progresja) – $0,32 \times 10^3/\mu\text{l}$). Chorzy z nawrotem ALL i AML mieli niższe wartości komórek CD3⁺CD8⁺ przed rozpoczęciem leczenia wznowy w odniesieniu do stwierdzanych w grupach pacjentów chorych na ALL i AML rozpoczynających leczenie oraz u dzieci zdrowych (ALL – $0,39 \times 10^3/\mu\text{l}$, AML – $0,24 \times 10^3/\mu\text{l}$). W omawianym materiale u wszystkich chorych ze wznowieniem ALL lub AML drugi rzut białaczki został rozpoznany przed ukończeniem chemioterapii pierwszej linii (ryc. 2 i 3).

U dzieci chorych na HD, LCAL, NHL-B podczas wyjściowej diagnostyki obserwowano niższe wartości limfocytów CD3⁺CD8⁺ w porównaniu do grupy kontrolnej (HD – $0,28 \times 10^3/\mu\text{l}$, LCAL – $0,4 \times 10^3/\mu\text{l}$, NHL – $0,54 \times 10^3/\mu\text{l}$, vs. $0,62 \times 10^3/\mu\text{l}$;

$p \leq 0,05$). Liczebność omawianej populacji komórkowej wykazywała dalszy spadek w czasie terapii. U pacjentów z HD i NHL-B, którzy zakończyli leczenie, 1–2 miesiące po jego odstawieniu nadal utrzymywało się istotnie statystycznie obniżenie liczby limfocytów Tc/s w odniesieniu do dzieci zdrowych (ryc. 4–6).

Stosunek limfocytów CD3⁺CD4⁺ do CD3⁺CD8⁺ (CD4/CD8)

W grupie kontrolnej stosunek limfocytów CD4/CD8 wynosił 1,18–1,86 z medianą 1,55. U dzieci z chorobą nowotworową przed rozpoczęciem leczenia wskaźnik ten mieścił się w dużo szerszym zakresie, przy czym wartości niższe, w porównaniu z dziećmi zdrowymi, stwierdzano u pacjentów z chłoniakami i u części chorych na białaczki. W analizowanym materiale we wszystkich grupach pacjentów w czasie leczenia obserwowano tendencję spadkową CD4/CD8, co świadczy o silniejszej deplecji limfocytów T CD4⁺, chociaż u pojedynczych chorych odnotowywano wartości > 2 , a nawet > 3 . W grupie dzieci, które ukończyły terapię (część chorych na NHL-B, LCAL, HD), w okresie 1–2 miesięcy od ostatniego cyklu chemioterapii, stosunek CD4/CD8 pozostawał około 1 (HD – 1,07; LCAL – 0,88; NHL-B – 1,13).

Limfocyty B (CD19⁺)

Chorzy na AML, HD, LCAL, NHL-B mieli niższe wartości limfocytów B przed rozpoczęciem

leczenia w porównaniu do grupy kontrolnej (AML – $0,24 \times 10^3/\mu\text{l}$, HD – $0,22 \times 10^3/\mu\text{l}$, LCAL – $0,23 \times 10^3/\mu\text{l}$, NHL – $0,22 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,29 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$). Mediana liczby tych komórek u pacjentów z ALL była zbliżona do wartości dzieci zdrowych, ale poszczególne wyniki mieściły się w znacznie szerszym zakresie: $(0,01\text{--}1,86) \times 10^3/\mu\text{l}$; mediana $0,28 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $(0,22\text{--}1,00) \times 10^3/\mu\text{l}$; mediana $0,29 \times 10^3/\mu\text{l}$.

We wszystkich grupach chorych w okresie leczenia przeciwnowotworowego wartości limfocytów B były niższe w porównaniu do wyników wyjściowych. Silną deplecję tych komórek stwierdzano u chorych na białaczkę po zakończeniu indukcji remisji (ALL (remisja) – $0,06 \times 10^3/\mu\text{l}$, w czasie rozpoznania – $0,28 \times 10^3/\mu\text{l}$; AML (remisja) – $0,01 \times 10^3/\mu\text{l}$, przy rozpoznaniu – $0,24 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$). Bardzo małe wartości limfocytów B obserwowano również u chorych w okresie nawrotu ALL i AML (odpowiednio: $0,14 \times 10^3/\mu\text{l}$ i $0,15 \times 10^3/\mu\text{l}$) oraz u dzieci niewykazujących odpowiedzi na leczenie w okresie progresji białaczki (ALL – $0,13 \times 10^3/\mu\text{l}$, AML – $0,01 \times 10^3/\mu\text{l}$).

U pacjenta z progresją LCAL liczba limfocytów B wynosiła $0,08 \times 10^3/\mu\text{l}$ i była znacznie mniejsza od wartości stwierdzanych w grupie kontrolnej.

Wśród pacjentów, którzy ukończyli leczenie (1–2 miesiące po zakończeniu terapii), u dzieci leczonych z powodu HD i LCAL nadal odnotowywano obniżenie liczby limfocytów B w porównaniu do grupy kontrolnej (HD – $0,24 \times 10^3/\mu\text{l}$, LCAL – $0,04 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,29 \times 10^3/\mu\text{l}$), natomiast większość chorych na NHL-B wykazywała wartości porównywalne do obserwowanych u dzieci zdrowych ($0,32 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,29 \times 10^3/\mu\text{l}$) (ryc. 2–6).

Komórki NK (CD3-CD56⁺)

W analizowanym materiale u dzieci z chorobą nowotworową obserwowano znaczne indywidualne różnice w wartościach komórek NK.

U dzieci chorych na ALL i AML na początku leczenia mediana liczby komórek NK była wyższa niż w grupie kontrolnej (ALL – $0,68 \times 10^3/\mu\text{l}$, AML – $0,71 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,52 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$). Po osiągnięciu remisji oraz przed rozpoczęciem LPR w obu omawianych grupach chorych obserwowano spadek liczby komórek NK w porównaniu do stanu wyjściowego (ALL – $0,29 \times 10^3/\mu\text{l}$ i $0,19 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,68 \times 10^3/\mu\text{l}$; AML – $0,20 \times 10^3/\mu\text{l}$ i $0,23 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,71 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$). U większości dzieci z progresją ALL i AML stwierdzano istotne statystycznie obniżenie liczby komórek NK w stosunku do grupy kontrolnej (ALL – $0,21 \times 10^3/\mu\text{l}$, AML – $0,17 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs.

$0,52 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$), chociaż u jednego dziecka z progresją AML liczba bezwzględna tych komórek wynosiła $1,05 \times 10^3/\mu\text{l}$. Również większość pacjentów ze wznową ALL i AML wykazywała mniejszą liczebność populacji NK w porównaniu do dzieci zdrowych (ALL – $0,42 \times 10^3/\mu\text{l}$, AML – $0,21 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,52 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$) (ryc. 2 i 3).

U chorych na HD, LCAL oraz NHL-B na początku leczenia mediana liczby komórek NK była niższa w odniesieniu do grupy kontrolnej (HD – $0,21 \times 10^3/\mu\text{l}$, LCAL – $0,32 \times 10^3/\mu\text{l}$, NHL-B – $0,29 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs. $0,52 \times 10^3/\mu\text{l}$; $p \leq 0,05$). Niższe wartości, w porównaniu do dzieci zdrowych, obserwowano także u tych chorych w czasie trwania terapii oraz 1–2 miesiące po zakończeniu leczenia (ryc. 4–6).

Omówienie

W przeprowadzonych badaniach poddano analizie profil immunologiczny dzieci z nowotworami hematologicznymi w zakresie populacji limfocytów na różnych etapach leczenia choroby nowotworowej.

U chorych na HD, NHL-B, LCAL oraz u części chorych na białaczkę stwierdzono obniżenie całkowitej liczby limfocytów oraz ich poszczególnych populacji przed rozpoczęciem leczenia w porównaniu z grupą kontrolną (wyższe wartości mediany liczby limfocytów oraz ich subpopulacji, u chorych na ALL w chwili rozpoznania, w odniesieniu do wartości median liczby tych komórek w grupie kontrolnej mogą częściowo wynikać, w analizowanym materiale, z młodszego wieku tej grupy chorych). Większość pacjentów w okresie poprzedzającym rozpoznanie choroby nowotworowej miała objawy będące wynikiem upośledzenia odporności w postaci nawracających zakażeń. W przypadku dzieci z białaczkami defekt mechanizmów obronnych jest spowodowany głównie zajęciem szpiku przez chorobę nowotworową i wyparciem prawidłowych form rozwojowych hematopoezy, co powoduje różnie nasilone objawy pancytopenii obwodowej [10, 11].

Obniżenie liczby limfocytów, a także zaburzenia ich funkcji, u chorych na HD i NHL przed rozpoczęciem leczenia były również stwierdzane przez innych autorów. Watanabe et al. wykazali u chorych na HD przed wdrożeniem terapii istotne statystycznie obniżenie limfocytów T CD4⁺, subpopulacji dziewiczych limfocytów T CD4⁺, dziewiczych limfocytów T CD8⁺, limfocytów B i komórek NK w porównaniu z osobami zdrowymi [11]. Podobne wyniki u chorych na NHL uzyskali Mackall et al. [5]. Magrath et al. obserwowali u chorych na NHL-B obniżenie wyjściowej liczby

limfocytów T, a stwierdzany stopień deplecji wykazywał związek ze stadiem zaawansowania choroby [12]. Donoszono również o upośledzonej odpowiedzi proliferacyjnej limfocytów pod wpływem stymulacji różnymi antygenami u chorych na HD przed rozpoczęciem leczenia [4]. Dane te wskazują na upośledzenie odporności, zwłaszcza typu komórkowego, u chorych z nowotworami hematologicznymi.

Istotne znaczenie w hamowaniu odpowiedzi immunologicznej u pacjentów ze schorzeniami onkologicznymi może mieć wydzielanie niektórych cytokin przez komórki nowotworowe, np. IL-10. Cytokina ta wywiera supresyjny wpływ na reakcje immunologiczne przez hamowanie wytwarzania cytokin przez limfocyty Th1 (głównie IFN- γ i IL-2), monocyty i makrofagi (TNF- α , IL-6, IL-1, IL-8, G-CSF, MG-CSF) oraz przez hamujący wpływ na dojrzewanie i funkcję KD. Hamuje również ekspresję cząsteczek MHC na makrofagach i działa supresyjnie na wytwarzanie H₂O₂ i NO przez makrofagi aktywowane IFN- γ [1, 13].

Wykazano, że zdolność do wydzielania IL-10 mają komórki czerniaka, nowotwory mózgu oraz chłoniaki B-komórkowe [13–15]. Oznaczanie stężenia IL-10 u chorych na NHL może mieć znaczenie prognostyczne. Blay et al. wykazali, że cytokina ta była wykrywalna w surowicy około 50% chorych z aktywną postacią choroby i jedynie u 6% pacjentów w okresie pierwszej remisji, podczas gdy jej stężenie było nieoznaczalne u osób zdrowych [13].

U chorych na ALL, AML, HD, LCAL i NHL-B, poddanych analizie w tej pracy, obserwowano istotne statystycznie obniżenie liczebności subpopulacji limfocytów T, limfocytów B, komórek NK pod wpływem leczenia przeciwnowotworowego. Szczególnie silna deplecja dotyczyła subpopulacji limfocytów T CD4⁺, o czym świadczy obniżanie się stosunku CD4/CD8 w miarę trwania terapii. W analizowanym materiale badania populacji limfocytów były wykonywane przed rozpoczęciem leczenia konsolidującego remisję, czyli w dużej mierze po częściowej rekonstytucji hematologicznej, zwłaszcza w zakresie liczby granulocytów i płytek krwi. W czasie leczenia indukującego remisję odnotowywane wartości całkowitej liczby limfocytów, a zatem i poszczególnych subpopulacji tych komórek, u większości chorych na białaczki były znacznie niższe w odniesieniu do stwierdzanych przed rozpoczęciem konsolidacji remisji. Silną deplecję limfocytów obserwowano we wszystkich grupach pacjentów bezpośrednio po zakończeniu każdego cyklu chemioterapii.

Komada et al. analizując immunosupresyjny wpływ konsolidującej chemioterapii (VCR, cyklofosfamid, 6-merkaptopuryna, prednizon – według *Tokai Pediatric Oncology Study Treatment Proto-*

col 8511) na liczbę i funkcję różnych populacji limfocytów u dzieci chorych na ALL, stwierdzili obniżenie liczebności subpopulacji limfocytów T, limfocytów B, komórek NK przed rozpoczęciem leczenia konsolidującego w porównaniu z grupą dzieci zdrowych oraz znaczący spadek tych wskaźników, zwłaszcza limfocytów T CD4⁺, bezpośrednio po zakończeniu cyklu chemioterapii. Powrót całkowitej liczby limfocytów do wartości porównywalnych z obserwowanymi przed rozpoczęciem leczenia konsolidującego następował w tej grupie chorych po około 2 tygodniach, ale z zachowaniem obniżonego udziału limfocytów T CD4⁺ [3].

Mackall et al., badając profil limfocytów u chorych na NHL, leczonych za pomocą chemioterapii (bez przeszczepienia komórek macierzystych układu krwiotwórczego), stwierdzali znaczne obniżenie całkowitej liczby limfocytów oraz poszczególnych ich populacji pod wpływem stosowanego leczenia w porównaniu do grupy kontrolnej i stanu wyjściowego, najsilniej wyrażone w zakresie subpopulacji limfocytów Th i limfocytów B. U tych chorych wartości limfocytów T CD4⁺ utrzymywały się na poziomie $< 0,2 \times 10^3/\mu\text{l}$ przez 4 miesiące od zakończenia ostatniego cyklu chemioterapii [5]. Spadek liczby limfocytów T CD4⁺ pociąga za sobą wzrost ryzyka wystąpienia oportunistycznych zakażeń u dzieci z chorobą nowotworową [4, 5]. Związek między stopniem nasilenia limfopenii CD4⁺ a ryzykiem rozwoju zakażeń oportunistycznych został dobrze udokumentowany w przypadku chorych zakażonych wirusem HIV, u których odnotowuje się bardzo duży wzrost częstości tych zakażeń przy spadku liczby limfocytów T CD4⁺ poniżej $0,2 \times 10^3/\mu\text{l}$ [17]. Wykazano, że obniżenie wartości limfocytów T CD4⁺ pod wpływem chemioterapii dotyczy przede wszystkim subpopulacji dziewiczych limfocytów T CD4⁺CD45RA⁺ [4–6, 11].

W przypadku dzieci chorych na HD dodatkowym czynnikiem istotnie rzutującym na wielkość populacji limfocytów T jest radioterapia. Watanaabe et al. obserwowali u osób poddanych naświetlaniom śródpiersia w przebiegu leczenia HD wieloletnią limfopenię CD4⁺ [11].

Ilościowy niedobór limfocytów B, występujący u chorych leczonych chemioterapią, niewątpliwie upośledza jakość odpowiedzi humoralnej. Mackall et al. obserwowali u pacjentów z głęboką deplecją limfocytów B obniżenie całkowitego stężenia immunoglobulin w surowicy krwi, najsilniej wyrażone w zakresie klas IgA i IgM [4]. Należy ponadto pamiętać, że do prawidłowego rozwoju odpowiedzi humoralnej jest niezbędna ścisła kooperacja między limfocytami Th i limfocytami B.

Komórki NK odgrywają istotną rolę w rozwoju odpowiedzi przeciwnowotworowej i przeciwi-

rusowej. U dzieci z chorobą nowotworową, poddanych analizie w tej pracy, obserwowano znaczne obniżanie się liczby komórek NK pod wpływem chemioterapii, chociaż poszczególni pacjenci wykazywali bardziej stabilne zachowanie wartości omawianej populacji komórek podczas leczenia, w porównaniu do limfocytów T i B. W badaniach Mackalla et al. u chorych na NHL liczba komórek NK zmniejszyła się mniej niż w przypadku limfocytów T i B, a indywidualni badani mieli podwyższone wartości tych komórek po chemioterapii w stosunku do stanu wyjściowego [5]. Komada et al. obserwowali u chorych na ALL po chemioterapii konsolidującej remisję znaczne obniżenie aktywności komórek NK, które wykazywało dodatnią korelację ze spadkiem liczby tych komórek. U pacjentów tych przed rozpoczęciem analizowanego etapu leczenia nie odnotowywano różnic ilościowych w populacji komórek NK w porównaniu z grupą kontrolną, lecz aktywność komórek NK była niższa niż u dzieci zdrowych. Fakt ten, zdaniem autorów, sugeruje, że upośledzenie aktywności komórek NK u chorych na nowotwory jest wynikiem nie tylko zmniejszenia liczby komórek NK, ale także wiąże się z upośledzeniem ich funkcji [3]. Silnym inhibitorem aktywności komórek NK są glikokortykosteryoidy [1]. Hormony te wchodziły w skład protokołów terapeutycznych chorych na ALL, AML, HD, LCAL, NHL, stąd upośledzenie funkcji tych komórek w przypadku chorych na nowotwory układu krwiotwórczego może również wynikać z prowadzonego leczenia. Glikokortykosteryoidy hamują wydzielanie IL-2, silnie aktywującej komórki NK [1]. Cytokina ta jest wytwarzana przez pobudzone limfocyty T, głównie Th [1, 14], których liczba gwałtownie spada pod wpływem chemioterapii.

Działanie przeciwnowotworowe leków cytostatycznych polega na hamowaniu proliferacji oraz indukcji apoptozy w komórkach nowotworowych [17]. Podobne mechanizmy odpowiadają za efekt limfotoksyczny tych leków. Obniżenie liczby limfocytów pod wpływem leków cytostatycznych jest nie tylko wynikiem ich mielosupresyjnego wpływu na szpik, ale wiąże się również z bezpośrednią indukcją apoptozy w dojrzałych limfocytach [4, 7]. Stahnke et al. obserwowali u dzieci leczonych z powodu guzów litych gwałtowny spadek liczby

limfocytów w 72. godzinie od rozpoczęcia pierwszego cyklu chemioterapii. Limfocyty izolowane od tych chorych po rozpoczęciu leczenia wykazywały, bezpośrednio po izolacji, wybitnie zwiększoną skłonność do apoptozy, co wskazywało na rozpoczęcie tego procesu *in vivo* pod wpływem chemioterapii [7]. Silne działanie limfotoksyczne mają czynniki alkilujące, antymetabolity, kortykosteryoidy, antracykliny, inhibitory topoizomerazy [7]. W przeprowadzonych ostatnio badaniach wykazano, że indukcja apoptozy w limfocytach przez poszczególne leki przeciwnowotworowe jest związana ze stanem czynnościowym tych komórek oraz różnymi mechanizmami inicjacji procesu programowanej śmierci. Antracykliny mogą indukować apoptozę w limfocytach znajdujących się zarówno w fazie G0, jak i G1 cyklu komórkowego, podczas gdy inhibitory topoizomerazy i antymetabolity wykazują większą „efektywność” w stosunku do aktywowanych komórek [18].

Podstawowymi wskaźnikami hematologicznymi określającymi możliwość podania cyklu chemioterapii są wartości granulocytów i płytek krwi. Transfuzje mas erytrocytarnych i płytkowych, stosowanie G-CSF lub GM-CSF w celu przyspieszenia odnowy układu granulocytarnego zmniejszają ryzyko wystąpienia ostrych powikłań wynikających z hamującego wpływu stosowanego leczenia na czynność szpiku [12, 19]. Działania te pozwalają również na tworzenie programów terapeutycznych opartych na wysokodawkowanej chemioterapii, co zważywszy na wielokierunkowe limfotoksyczne działanie leków przeciwnowotworowych, przyczynia się do pogłębienia immunosupresji. Odnowa limfocytarna po zakończeniu leczenia przeciwnowotworowego, ważna z punktu sprawności mechanizmów odpowiedzialnych za kontrolę choroby resztkowej, przebiega z różną szybkością w zakresie populacji limfocytów T, B, komórek NK. Uwzględniając, że dojrzewanie limfocytów T zachodzi w grasicy oraz że populacja ta obejmuje komórki o różnym okresie życia (limfocyty dziewicze, limfocyty pamięci, komórki efektorowe), rekonstytucja w obrębie populacji limfocytów T jest procesem złożonym i jej szybkość, mechanizm oraz w dużej mierze jakość, wykazują zależność od wieku, co wiąże się ze stopniem zachowania funkcji grasicy [4, 6].

Piśmiennictwo

- [1] Gołąb J, Jakóbsiak M, Lasek W (red.): Immunologia. PWN, Warszawa 2002.
- [2] Hakim FT, Cepeda R, Kaimei S, Mackall CL, McAtee N, Zujewski J, Cowan K, Gress RE: Constraints on CD4 Recovery Postchemotherapy in Adults: Thymic Insufficiency and Apoptotic Decline of Expanded Peripheral CD4 Cells. *Blood* 1997, 90, 9, 3789–3798.
- [3] Komada Y, Zhang SL, Zhou Y W, Hanada M, Shibata T, Azuma E, Sakurai M: Cellular immunosuppression in children with acute lymphoblastic leukemia: effect of consolidation chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 1992, 35, 271–276.

- [4] **Mackall CL:** T-Cell Immunodeficiency Following Cytotoxic Antineoplastic Therapy: A Review. *Stem Cells* 2000, 18, 10–18.
- [5] **Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR, Magrath IT, Shad AT, Horowitz ME, Wexler LH, Adde MA, McClure LL, Gress RE:** Lymphocyte Depletion During Treatment With Intensive Chemotherapy for Cancer. *Blood* 1994, 84, 7, 2221–2228.
- [6] **Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR, Andrich MP, Chen CC, Feuerstein IM, Magrath IT, Wexler LH, Dimitrov DS, Gress RE:** Distinctions Between CD8⁺ and CD4⁺ T-Cell Regenerative Pathways Result in Prolonged T-Cell Subset Imbalance After Intensive Chemotherapy. *Blood* 1997, 89, 10, 3700–3707.
- [7] **Stahnke K, Fulda S, Friesen C, Strauß G, Debatin K-M:** Activation of apoptosis pathways in peripheral blood lymphocytes by “in vivo” chemotherapy. *Blood* 2001, 98, 3066–3073.
- [8] **Bow EJ:** Infection risk and cancer chemotherapy: the impact of the chemotherapeutic regimen in patients with lymphoma and solid tissue malignancies. *J Antimicrobial Chemother* 1998, 41, 1–5.
- [9] **Comans-Bitter WM, de Groot R, van den Beemd R, Neijens HJ, Hop WC, Groeneveld K, Hooijkaas H, van Dongen JJ:** Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. *J Pediatr* 1997, 130, 388–393.
- [10] **Radwańska U:** Białaczki u dzieci. Volumed, Wrocław 1998, 97–112.
- [11] **Watanabe N, De Rosa SC, Cmelak A, Hoppe R, Herzenberg LA, Herzenberg LA, Roederer M:** Long-Term Depletion of Naive T Cells in Patients Treated for Hodgkin’s Disease. *Blood* 1997, 90, 9, 3662–3672.
- [12] **Magrath IT, Simon RM:** Immunosuppression in Burkitt’s lymphoma. II. Peripheral blood lymphocyte populations related to clinical status. *Int J Cancer* 1976, 18, 399–408.
- [13] **Robak T:** Biologia i farmakologia cytokin. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa–Łódź 1995.
- [14] **Holland G, Zlotnik A:** Interleukin-10 and cancer. *Cancer Invest* 1993, 11, 751–758.
- [15] **Hus I:** Komórki dendrytyczne – (część II), zastosowanie w immunoterapii nowotworów. *Acta Haematol Pol* 2001, 1, 32, 29–41.
- [16] **Masur H, Ognibene FP, Yarchoan R, Shelhamer JH, Baird BF, Travis W, Suffredini AF, Deyton L, Kovacs JA, Falloon J:** CD4 counts as predictors of opportunistic pneumonias in human immunodeficiency virus infection. *Ann Intern Med* 1989, 111, 223–231.
- [17] **Hannun YA:** Apoptosis and the Dilemma of Cancer Chemotherapy. *Blood* 1997, 89, 6, 1845–1853.
- [18] **Ferraro C, Quemeneur L, Prigent A-F, Taverne C, Revillard J-P, Bonnefoy-Berard N:** Anthracyclines trigger apoptosis of both G0–G1 and cycling peripheral blood lymphocytes and induce massive deletion of mature T and B cells. *Cancer Res* 2000, 60, 1901–1907.
- [19] **Mitchell PL, Morland B, Stevens MC, Dick G, Easlea D, Meyer LC, Pinkerton CR:** Granulocyte Colony-Stimulating Factor in Established Febrile Neutropenia: A Randomized Study of Pediatric Patients. *J Clin Oncol* 1997, 15, 1163–1170.

Adres do korespondencji:

Jadwiga Węclawek-Tompol
Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii
i Hematologii Dziecięcej AM
ul. Bujwida 44
50-345 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 29.04.2004 r.

Po recenzji: 24.08.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 5.10.2004 r.

Received: 29.04.2004

Revised: 24.08.2004

Accepted: 5.10.2004