

**A HEPATITIS C VÍRUS SZEREPE AZ ONCOGENESISBEN,
KÜLÖNÖS TEKINTETTEL A B-SEJTES LYMPHOMÁRA**

Ph.D. értekezés

DR. GASZTONYI BEÁTA

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

I. sz. Belgyógyászati Klinika

Programvezető: Prof. Dr. Mózsik Gyula egyetemi tanár

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Pécs

2002.

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	6
2. HÁTTÉR ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
2.1. A hepatitis C vírusról	7
2.1.1. A hepatitis C vírus felépítése	7
2.1.2. A hepatitis C vírus okozta májfolyamatok pathogenesise	12
2.1.3. A hepatitis C vírus epidemiológiája, pathomechanizmusa	16
2.1.4. A hepatitis C vírus infekció diagnosztikája	17
2.1.4.1. A hepatitis C vírus infekció diagnosztikája: az anti-HCV kimutatása	17
2.1.4.2. A hepatitis C vírus infekció diagnosztikája: a HCV-RNS kimutatása	17
2.1.5. A hepatitis C vírus infekció kezelése	18
2.2. A HCV és a lymphomagenesis	20
2.3. A HCV és a cryoglobulinaemia	24
2.4. A HCV és a nukleáris faktor kappa B	27
3. CÉLKITŰZÉSEK	34
4. VIZSGÁLATAINK	35
4.1. A HCV infekció prevalenciájának vizsgálata NHL-s betegekben	36
4.2. Immunglobulin nehézlánc génátrendeződés vizsgálata krónikus C hepatitisés és cryoglobulinaemiás betegekben	41
4.3. Az NF- κ B transzkripció faktor aktivitásának vizsgálata NHL-s betegekben és krónikus C hepatitisésekben	47
4.4. Az NF- κ B transzkripció faktor kimutatása krónikus C hepatitisés és HCC-s betegek májbiopsziás valamint NHL-s betegek nyirokcsomó biopsziás mintáiban immunhisztokémiai módszerrel	52
4.5. CD 19+ B-sejtek apoptosis vizsgálata krónikus C hepatitisésekben	58
4.6. A HCV szerepe a hepatocellularis carcinomában és a lymphomában két esetünk kapcsán	63

5. MEGBESZÉLÉS ÉS ÖSSZEFOGLALÁS	73
6. AZ ÉRTEKEZÉSBŐL LEVONHATÓ MEGÁLLAPÍTÁSOK ÉS AZOK GYAKORLATI JELENTŐSÉGE	77
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	79
8. IRODALOM	80
9. SAJÁT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK	96

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AFP	alfa-foetoprotein
anti-HCV	hepatitis C vírus elleni antitest
CLL	krónikus lymphoid leukaemia
CMV	Cytomegalovírus
D	„diversity” géncsalád
DIP	„defektív interferáló partikulumok”
DLCL	„diffuse large cell lymphoma”, diffúz nagy sejtés lymphoma
DNS	deoxiribonukleinsav
DTT	dithiothreitol
EBV	Epstein-Barr vírus
EDTA	etilén diamin tetraecetsav
ELISA	„enzyme-linked immunosorbent assay”
EMSA	„electrophoretic mobility shift assay”
GMN	glomerulonephritis
GOT	glutamát-oxálecetsav-transaminase
GPT	glutamát-piroszölösav-transaminase
HBsAg	hepatitis B surface antigén
HBV	hepatitis B vírus
HCC	hepatocellularis carcinoma
HCV	hepatitis C vírus
HCV-RNS	hepatitis C vírus ribonukleinsav
IκB	inhibitor kappá B gátló fehérje
IFN	interferon, α -IFN: alfa interferon
IgA	immunglobulin A

IgG	immunglobulin G
IgH	immunglobulin nehézlánc
IgM	immunglobulin M
IKK	szerin-specifikus IκB kináz enzim
J	„joining” géncsalád
MALT	„mucosa associated-lymphoid tissue”, nyálkahártyához társult nyirokszövet
MBCLS	„mediastinal large B-cell lymphomas with sclerosis”, mediastinalis B-szjtes lymphomák sclerosissal
MC	„mixed cryoglobulinaemia”, kevert cryoglobulinaemia
MCL	„mantle-cell lymphoma”, köpenysejtes lymphoma
MM	myeloma multiplex
NF-κB	nukleáris faktor kappa B
NHL	non-Hodgkin lymphoma
ORF	„open reading frame”, nyitott leolvasású váz
PCR	„polymerase chain reaction”, polimeráz láncreakció
PI	propidium jodid
PM / DM:	polymyositis / dermatomyositis
PS	„phosphatidyl serine”
RA	rheumatoid arthritis
RF	rheuma faktor
RH	Rel Homológia
SLE	systemas lupus erythematosus
TNF	tumor nekrosis faktor
V	„variabilis” géncsalád

1. BEVEZETÉS

A hepatocarcinogenesis kutatásának hazánkban különös jelentőségét az a tény adja, hogy mind az alkoholos eredetű cirrhosis, mind a hepatitis vírusok okozta májbetegség gyakori előfordulásával a hepatocellularis rák magas prevalenciája is társul. A hepatocellularis carcinoma (HCC) világszerte a rákos halálozás egyik fő oka.

Jelenleg 170 millióra becsülik a világon a hepatitis C vírus (HCV) fertőzöttek számát (Lohmann és mtsai., 1999), és a terjedő intravénás kábítószer-élvezet miatt egyre több megbetegedéssel kell számolni. Ugyanakkor HCV infekció ellen vakcinával nem rendelkezünk.

A HCV fertőzés extrahepatikus manifesztációjának részletesebb megismerésével ma a HCV infekciót egyre inkább szisztémás megbetegedésnek tartjuk. A vírus közvetlen hatásának tanulmányozása az utóbbi időszakban különösen az érdeklődés előterébe került: egyrészt a HCV carcinogenesisben játszott szerepe, másrészt B-sejt proliferációt és lymphomát okozó sajátossága jelent izgalmas kérdést.

Tudományos kihívás annak vizsgálata, hogy a HCC és a B-sejtes lymphoma kialakulásában milyen közös etiológiai tényezők illetve milyen közös és milyen eltérő mechanizmusok szerepelnek?

Értekezésem az előbbiekben felvetett kérdések egyes részleteire kíván választ adni.

2. HÁTTÉR ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A máj vírus okozta gyulladása a vírushepatitis az emberiség egyik legrégebben ismert megbetegedései közé tartozik, amint erről Hippokratész munkájában és a régi kínai irodalomban is történtek már feljegyzések (Zuckerman, 1983).

A hasonló klinikai tüneteket és hasonló morfológiai elváltozásokat okozó különböző hepatitis vírusok (A, B, C, D, E, F, G) diagnosztikája rendkívül gyors fejlődésen ment keresztül az elmúlt évtizedben (Eble és mtsai., 1991), amely elsősorban a molekuláris biológiai módszerek alkalmazásának köszönhető. Ismereteink jelentős bővülése sem jelenti azt, hogy minden kérdés tisztázott napjainkban.

2.1. A hepatitis C vírusról

2.1.1. A hepatitis C vírus felépítés

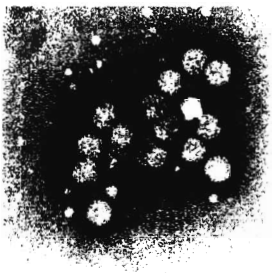
1989-ben fedezték fel a korábban poszt-transzfúziós vagy sporadikus non-A non-B hepatitis egyik fő kórokozójaként megismert hepatitis C vírust (HCV) (Choo és mtsai., 1989).

A HCV a flavivírusok közé tartozik, s leginkább a pestivírusokhoz hasonló (Bazan és Fletterrick, 1989). Nagysága 30-60 nm közötti, amelynek genomja 9379-9481 nukleotidból álló egyszálú RNS-t tartalmaz és lipidburok veszi körül (1-2. ábra). A genom egyetlen nyitott leolvasású vázat, „open reading frame”-et (ORF) tartalmaz, amelyet ún. nem kódoló régiók zárnak le. Az ORF által kódolt, 3010-3030 aminosavból álló prekursor-polipeptidből proteázok hasítják le az egyes vírusfehérjéket, amelyekből strukturális (core, envelope) és nem strukturális proteinek szabadulnak fel (Lau és Wright, 1993). A nem strukturális, és

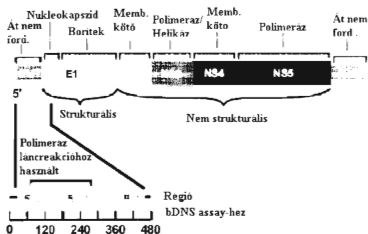
újabbban a strukturális gének nukleotid szekvenciája is ismertté vált (Bartenschlager és mtsai., 1993) (3. ábra).



1. ábra A HCV felépítésének sematikus ábrázolása



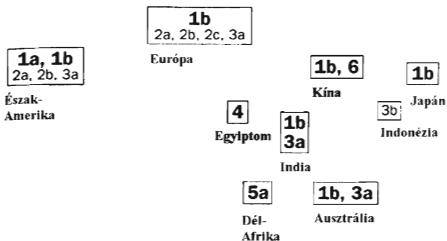
2. ábra HCV elektronmikroszkópos képe



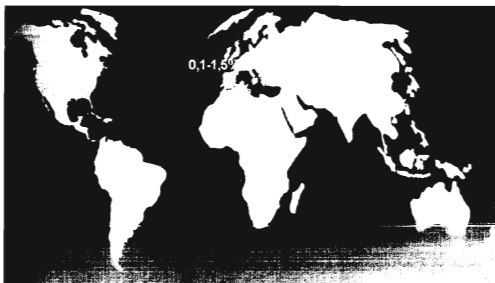
3. ábra HCV génszerkezete

A HCV strukturális proteinjeit (glikolizált fehérjék) a core, valamint az E1, E2/NS1 régiók kódolják. A nem strukturális proteinek közül az NS2 proteáz, az NS3 szerin-proteáz, helikáz és nukleotid trifoszfátáz, az NS5 pedig RNS-polimeráz aktivitású. Az NS4 állandó sajátosságú („konzervált”) az egyes izolátumokban, így ez a HCV szerotípus meghatározásában hasznosítható. Az NS5 bizonyos régiójának (NS5A) egy szakasza az interferon érzékenységet determinálja. Az 5' nem átírt régió (UT) is nagy fokban állandó, ennek a szakasznak az RNS-átírásban lehet jelentősége, míg a 3' UT heterogén, és a patogenitásban játszhat szerepet.

A nukleotid szekvencia alapján magának a vírusnak legalább hat fő genotípusa és számos altípusa különböztethető meg. Ezen genotípusok változó gyakorisággal fordulnak elő világszerte (4. ábra), feltehetően cytopathogenitásukban is különbségek vannak (5. ábra).



4. ábra HCV genotípus változása világrészenként



5. ábra A HCV prevalenciájának változása világrészenként

A HCV 1b genotípus magas virulenciájú, gyakran a standard dózisu interferon (IFN) terápiára alig reagáló hepatitiszt okoz (Camps és mtsai., 1993; Martin, 1995; McOmish és mtsai., 1994), gyakran észlelték cirrhosisban, HCC-ben, és 1977. előtti időből származó transzfúzióval szerzett hepatitisben. A magyarországi populáció 90 %-a szintén az 1b szubtipusú vírussal fertőzött (Gervain és mtsai., 2001). A HCV 2 genotípus inkább intravénás kábítószerhasználókban, 1985. utáni fertőzöttekben és autoimmun hepatitisssel társult infekciókban volt kimutatható (Lau és Wright, 1993). Ez nem azt jelenti, hogy egy személy csak egyfajta genotípusú HCV-vel fertőződhet, hiszen eltérő genotípusokkal koinfekció is létrejöhet, így ismételt HCV fertőzések is előfordulhatnak egyazon betegben (Lai és mtsai., 1994).

Feltehetően ez a genetikai heterogenitás valamint a HCV mutációra való kifejezett hajlamossága (Tsukiyama-Kohara és mtsai., 1991) az oka annak, hogy fertőzést követően nem jelenik meg hatékony protektív immunválasz és a vakcináció kérdését sem sikerült eddig megoldani.

A HCV genom nem-kódoló 5' vége és a core génszakasz stabil, míg az E2/NS1 szakasz hipervariábilis. A mutációk következtében számos vírus variáns, ún. „quasi-speciesek” jöhetnek létre, cytopathogenitásuk az eredeti („vad”) vírushoz képest enyhébb vagy kifejezettebb is lehet. A „quasi-speciesek” inkább gyengítik a vad típus hatását, mintegy „downregulálják” a vírusreplikációt, másrészt azonban a fertőzés tartóssá válását segítik elő. Az ún. „defektív interferáló particulumok” (DIP) a vad vírus jelenléte nélkül képtelenek a szaporodásra, mivel hiányzik azon génszakaszuk, amely a replikációhoz szükséges, s így a segítő, helper vírus rovására szaporodnak, csökkentve azok cytopathogenitását.

A mutánsok jelenlétének és növekvő számának éppen a fertőzés elhúzódásában van nagy jelentősége (a rövid lefolyású kórformákban a vad típus dominanciájának stabilitását igazolták), a képződő „quasi-speciesek”, mint friss antigén stimulusok, aktiválják az immunrendszert. Az említett mechanizmusok a májsejtek ellen ismétlődő immunreakciót

váltak ki, a károsodott májsejtekből kiszabaduló fibrogenetikus peptidek, immunsejtekből származó citokinek felszabadulása segíti a fibrosisba és a cirrhosisba való progressziót. A mutáns törzseket sem a szenzibilizálódott CD4+ és CD8+ T⁺ sejtek nem ismerik fel, sem az anti-HCV ellenanyag nem képes a vírus variánsnal komplexet képezni. Így ezen folyamatok kiesése a HCV infekció perzisztálásához fog vezetni (Camps és mtsai., 1993; Carman, 1992; Taniguchi és mtsai., 1993; Weiner és mtsai., 1992).

A HCV-RNS és a vírus antigének a májsejtek citoplazmáján kívül a perifériás mononukleáris sejtekben, nyálmirigysejtekben és a lymphocytákban is megtalálhatók. A HCV-RNS ml-enként 10^5 - 10^6 virion koncentrációban van jelen a szérumban, ekkor a polimeráz láncreakcióval (PCR) kimutatható.

2.1.2. A hepatitis C vírus okozta májfolyamatok pathogenesisise

A HCV direkt cytopathogenitása nem zárható ki, de főként immunológiai mechanizmusok révén okozhatja a májsejtkárosodást. A gazdaszervezet immunválasza döntő a HCV-vel kapcsolatos betegségek létrejöttében.

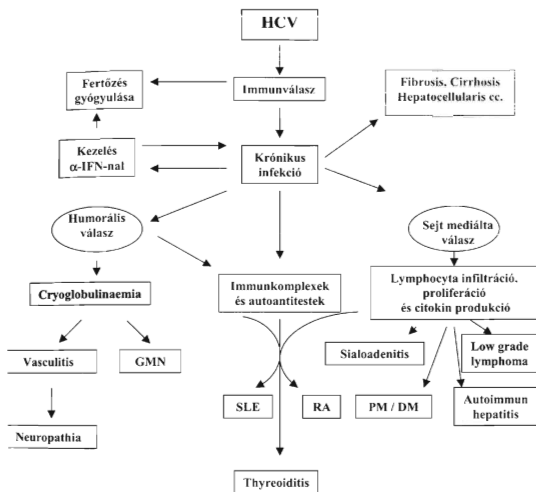
A HCV hatását nemcsak a hepatocytákra, hanem a nyálmirigyekre, a perifériás vérben lévő monocytákra és a lymphoid sejtekre is kifejti, ez utóbbiak a vírus extrahepatikus rezervoárját képezik (Camps és mtsai., 1993). Mindennek szerepe van a cryoglobulinaemia és a B-sejtes lymphoma kialakulásában, valamint az antivirális kezelést követő relapszusokban és a májtranszplantáció utáni reinfekcióban. A HCV aktiválja a B és T sejteket, módosítja ezáltal az immunválaszt. A virális és gazdai eredetű antigének közötti keresztreakció, molekuláris mimikri, szintén fontos lehet a krónikus infekció alatt képződő immunkomplexek, autoantitestek, extrahepatikus manifesztációk keletkezésében. Az autoimmun reakcióra hajlamosító genetikai predispozíciónak is meghatározó szerepet tulajdonítanak.

A számos extrahepatikus manifesztáció közül egyeseknél az összefüggés jól ismert, pl. kevert cryoglobulinaemia (MC) esetén, másoknál (pl. sialoadenitis, lichen planus) a kapcsolat csak valószínű, de nem teljesen dokumentált, míg a maradéknál a klinikai összefüggések alig bizonyítottak.

Az extrahepatikus manifesztációk vagy immunológiai mechanizmusúak, vagy a vírusinvázió és -replikáció következményei lehetnek az érintett szövetekben. Hashimoto thyreoiditis és izolált antithyroidea antitest emelkedés gyakoribb krónikus HCV fertőzésben. MC-t gyakran (36-45 %) találunk idült HCV fertőzött egyénekben, azonban csak a betegek kisebb részében jön létre klinikailag nyilvánvaló szisztémás vasculitis purpurával, neuropathiával vagy Raynaud szindrómával. Egyéb nem hepatikus szövödményeket is leírtak HCV fertőzésben, például diabetest, cornea fekélyeket, uveitist, sialoadenitist, valamint az autoimmunitás szerológiai markerei is gyakran megjelenhetnek (Hadziyannis, 1996). Egyes kutatók szerint porphyria cutanea tardaiban, illetve az I-es típusú autoimmun hepatitisben a HCV fertőzöttek aránya magas (77 %) (Ferri és mtsai., 1995).

Felvetődött a kérdés, hogy a HCV fertőzöttekben észlelt –hepatikus és nem hepatikus– malignus transzformációk és az autoimmun betegségek megjelenése oki összefüggésben van-e a HCV-vel, vagy csak véletlen társulásokat észlelünk?

Mivel a HCV gyulladáshoz vezető reakciót provokálhat valamint rheuma faktor (RF) képződést válthat ki, feltételezték, hogy a HCV fertőzés képes elindítani néhány kötőszöveti betegség kifejlődését vagy fellobbantani klinikai megjelenésüket. A kutatók úgy vélték, hogy a Sjögren szindróma, rheumatoid arthritis és a polyarthritis pathogenesisé, valamint a HCV infekció közötti kapcsolat köztes útja az essentialis kevert cryoglobulinaemia (MC) (Caligaris-Cappio és mtsai., 1997). A HCV infekcióval kapcsolatos hepatikus és extrahepatikus manifesztációkat a 6. ábra foglalja össze (McMurray és Elbourne, 1997).



6. ábra A HCV infektioval kapcsolatos hepaticus és extrahepaticus manifesztációk

McMurray és Elbourne, 1997 nyomán (Izd. referencia)

Rövidítések: GMN: glomerulonephritis, SLE: systemas lupus erythematosus, RA: rheumatoid arthritis, PM / DM: polymyositis / dermatomyositis, α-IFN: alfa interferon

A HCV infekció kezelésének legnagyobb problémája a vírus perzisztálása. Ez különböző mechanizmusokra vezethető vissza, melyek közül kettő ismert:

1. a genetikai variációk magas foka mutansokat hoz létre a vírus replikációja során, amelyek képesek az immuntámadás elől elmenekülni;

2. a vírus megfertőzi az immunrendszer sejtjeit, ezek pedig olyan privilegizált és kitüntetett helyek, amelyeket a vírus specifikus T sejtvesztés nem ér el (Dammacco és mtsai., 1998).

A HCV infekció korai szakaszában a lymphoid sejtek fertőződése jelentheti az extrahepatikus disszemináció pathobiológiai útját. A HCV fertőzött lymphoid sejtek a szervezetben mobilis és kiterjedt vírus rezervoárt tartanak fenn, amelyek folyamatos reinfekcióra adnak lehetőséget a hepatocyták felé. Az intrahepatikus B lymphocyták HCV-vel fertőzöttek, klonálisan expandáltak és rheuma faktor aktivitású immunglobulin M (IgM) molekulákat szekretálnak. Ez a megfigyelés alátámasztja azt, hogy a HCV képes közvetlenül stimulálni a B-sejt expanzióját, amely a lymphoproliferatio egy indolens stádiumát (pl. MC) vagy definitív B-sejtes non-Hodgkin lymphoma (NHL) kialakulását eredményezi. Mivel azonban az NHL gyakorisága sokkal alacsonyabb, mint a HCV infekcióé, ez azt sugallja, hogy a HCV önmagában nem képes tumort indukálni és sejtszintű történések is szükségesek a vírus jelenlétében a malignus B-sejt fenotípus kialakulásához (Dammacco és mtsai., 1998).

A fentiek alapján látható, hogy a HCV infekció nemcsak a gasztroenterológia-hepatológia tárgykörébe, hanem más szakmák (immunológia, nefrológia, reumatológia, hematológia, endokrinológia, bőrgyógyászat) problémakörébe is tartozik.

2.1.3. A hepatitis C vírus epidemiológiája és pathomechanizmusa

A vírus infekciót követően az átlag inkubációs idő 7-8 hét a tünetek megjelenéséig, amelyek enyhe akut hepatitis klinikai képében jelentkeznek. Az akut szak az esetek 70-80 %-ában teljesen tünetmentes lehet. Az is bizonyítottá vált, hogy a HCV fertőzés gyakran vezet idült vírushordozó állapothoz, tartós vírus replikációhoz (60-80 %-ban), amely különböző súlyosságú májkárosodást okozhat, a tünetmentes állapottól a cirrhosison (20 %-ban) át a hepatocellularis carcinomáig (5 %-ban) (Chiramonte és mtsai., 1990; Colombo és mtsai., 1990). Ez utóbbival 25-30 éves fennállás után kell számolni.

A HCV infekció korábban vérrel vagy vérkészítménnyel (transzfúzió, műtét, intravénás gyógyszer), jelenleg az intravénás kábítószer-élvezők között parenteralisan, kis százalékban (5-7 %) szexuális kontaktus révén vagy vertikális módon (anyáról gyermekre) terjed. Az esetek mintegy 30-40 %-ában a HCV fertőzés sporadikusan is előfordulhat. Ilyenkor általában nem ismert a fertőzés átvitelének útja, a korábbi védőoltások szerepe vetődik fel, de az akupunktúra, a tetoválás és a füllyukasztás is rizikótényezőként jöhet szóba. A „közösségben szerzett” HCV infekció kifejezés egyéb kategóriákba nem sorolható, valószínűleg szoros együttélés során akvirált fertőzést jelenti.

1993-1998 között munkacsoportunk a Pécsi Orvostudományi Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinika Hepatológiai szakrendelésének gondozásában álló 100 krónikus C hepatitisben szenvedő beteg kórtörténetét dolgozta fel: 38 betegnél transzfúzió, 41 esetben pedig műtét előzte meg a betegség megjelenését. Egy beteg sem számolt be intravénás gyógyszer vagy kábítószer használatáról és vertikális fertőzést sem lehetett bizonyítani, de 21 személy esetén feltételeztük a szexuális úton vagy „közösségben” szerzett fertőzést. A legtöbb betegnél a transzfúzió és / vagy műtėti beavatkozás után 5 éven belül jelentkezett a krónikus C hepatitis, és csak kevés esetben telt el több évtized a kór megjelenéséig.

2.1.4. A hepatitis C vírus infekció diagnosztikája

A krónikus C hepatitis diagnosztikájához a kockázati tényezők feltérképezésén, a klinikai tünetek vizsgálatán kívül a rutin biokémiai laboratórumi diagnosztika (glutaminszörölősav-transzaminase (GPT) szint, de Ritis hányados) mellett a HCV elleni ellenanyag (anti-HCV) és a hepatitis C vírus ribonukleinsav (HCV-RNS) meghatározás tartozik. A korrekt végső diagnózis a májbiopsziás minta szövettani vizsgálatát is igényli, különösen az antivirális kezelés indikációja esetén.

A következőkben csak a Ph.D. munka során alkalmazott antitest és RNS vizsgálatot tárgyaljuk.

2.1.4.1. A hepatitis C vírus infekció diagnosztikája: az anti-HCV kimutatása

A HCV-vel történő fertőzés után elsőként a szérumban az anti-C22 majd az anti-C33, és végül az anti-C100 antitest jelenik meg. Az első generációs anti-HCV antitest tesztek (a C100 ellen) sok álnegatív értéket mutattak, mivel ezen próba eredményei a fertőzést követően hat hónapig negatívak maradhatnak. C22 és C33 rekombináns HCV proteineket felhasználó második generációs tesztek lerövidítették a fertőződés időpontja és a szerokonverzió detektálása közötti időintervallumot. A jelenleg is használt harmadik generációs próbák a core-ból, az NS3, NS4, NS5 régiókból származó proteineket tartalmaznak, és közel 100 százalékos a szenzitivitásuk, de fals pozitív eredmények is előfordulhatnak (Pár és mtsai., 1998 a; Pár, 2000).

2.1.4.2. A hepatitis C vírus infekció diagnosztikája: a HCV-RNS kimutatása

A HCV fertőzés bizonyíthatóvá válhat azokban a betegekben is, akik anti-HCV negatívak, tehát szerokonverzió előtti vagy immunszupprimált állapotban vannak. Ilyenkor az infekció bizonyítása a HCV-RNS kimutatásáival érhető el. A kvantitatív HCV-RNS

meghatározás információt nyújt a virémia szintjéről. A HCV-RNS kimutatásának standard módszerén, a polimeráz láncreakción (PCR) kívül használható még a jelamplifikáción alapuló bDNS molekulákat felhasználó hibridizációs próba illetve a ligáz láncreakció is (Kanecko és mtsai., 1990).

2.1.5. A hepatitis C vírus infekció kezelése

Az interferon (IFN) kezelés célja vírushepatitisben eliminálni a kórokozó vírus, tünetmentessé tenni a beteget, meggátolni a vírus-indukálta szervi károsodást, a nekroinflammáció és fibrogenézis progresszióját, megelőzni a késői komplikációkat, a cirrhosist és a hepatocellularis carcinomát. Kezdetben krónikus C vírus hepatitisben 6-12 hónapon át, hetente háromszor 3 millió egység (ME) alfa-IFN volt a javasolt terápia. Kiderült azonban, hogy ez a terápia elégtelen, mert csak 15-20 % közötti remissziót hoz létre (Sherlock, 1996).

Fordulópontot jelentett a kezelésben, hogy az IFN-t kombinálva a széles antivirális spektrummal rendelkező szintetikus guanosin analóg Ribavirinnel, jelentősen megjavítja a remissziók arányát. Multicentrikus vizsgálatok azt jelzik, hogy az eddigi IFN monoterápia hatékonyságával szemben (15 %) a kombinált kezelés 40-50 %-ban tartós remissziót eredményez. Az első hazai multicentrikus tanulmányban 12 hónapos heti 3x5 ME dózisu alfa-IFN 42 %-ban eredményezett a terápia végére remissziót, és 22 % volt a fél év után is tartós remisszióban maradó aránya, ugyanez a Ribavirin + IFN-alfa 2b kombinációval 49 % illetve 36 % volt (Pár és mtsai., 1999). Fehér és mtsai. (1999) 100 beteg egy évig tartó kezelés során szerzett tapasztalatai szerint a kombinált kezelés végére a betegek 56 %-a vált HCV-RNS negatívvá. Nem kétséges tehát, hogy a krónikus C hepatitis korszerű, hatékony terápiájában az IFN mellett a Ribavirinnek kulcsszerepe van.

Néhány tanulmányban az ursodecoxycholsav + IFN illetve az indometacin vagy egyéb nem-szteroid gyulladáscsökkentő készítmények IFN kombinációval kedvező hatásúnak bizonyultak. Erre vonatkozó kontrollált klinikai tanulmányok azonban mindelőidőig hiányoznak.

Új terápiás lehetőség a pegylált IFN (PEG-Intron) heti egyszeri adása, ez Ribavirinnel kombinálva 50-60 %-os komplett remissziót eredményez. A jövő ígéretes lehetősége a proteáz- és polimeráz inhibitorokkal vagy a citokinekkal történő kezelés (Lauer és Walker, 2001).

2.2. A HCV és a lymphomagenesis

Mint az egyéb hepatotrop vírusok, a HCV is rendelkezik azzal a tulajdonsággal, hogy hepatocellularis károsodást tud indukálni olyan immunmechanizmus beindításán keresztül, amely hepatocellularis nekrozishoz vezet. A hepatocyták, és feltehetően más sejtek infekciója is, olyan humorális és celluláris válaszokat vált ki, amelyek a vírus disszemináció megelőzésében és a fertőzött sejtek eliminációjában segítkeznek (Dammacco és mtsai., 2000).

A monoklonális RF molekulák folyamatos termelődése olyan mechanizmust eredményez, amely képes korlátozni a reaktivitást és olyan sejt populáció élethosszigan tartó szelekcióját okozhatja, amely folyamatosan antigén presszióknak van kitéve. A HCV fertőzött betegek májában poliklonális vagy monoklonális B-sejt expanziót lehet kimutatni. A B-sejt klonális expanziójának jelenléte szigoruan kapcsolódik a RF molekulák intrahepatikus képződéséhez (Dammacco és mtsai., 2000). Egy klónnak a kifejezett expanziója monoklonális vonal kialakulásához vezethet, amely segítheti az oncogeneticus eseményeket. Feltételezhető, hogy a HCV nemcsak a jóindulatú lymphoproliferációért, hanem a betegek egyes alcsoportjaiban a lymphoid malignitások progressziójáért is felelős. Jelenlegi adatok magasabb B-sejtes NHL prevalenciát mutatnak HCV fertőzött egyéneknél, főként bizonyos földrajzi övezetekben (Dammacco és mtsai., 2000).

Heimann már 1971-ben megfigyelte a gyakori társulást a májcirrhosis és a lymphoproliferatív betegségek között (Heimann, 1971), azonban a hepatitis vírusok lymphotrop szerepe csak az utóbbi években lett aktuális kérdés.

A HCV nemcsak hepatotrop, hanem lymphotrop sajátosságáról is ismert (Ferri és mtsai., 1993; Gabrielli és mtsai., 1994; Sansonno és mtsai., 1996). A vírus

lymphoproliferációt és B-sejt lymphomát okozó hatása nehezen meghatározható, e téren a következő lehetőségek vetődnek fel:

1. A HCV, pozitív egyes szállú RNS vírus, replikációs ciklusában nincs DNS intermedier képződés, ennek következményeképpen a HCV szekvenciák a gazdai genomba közvetlenül nem épülhetnek be. Az azonban nem zárható ki, hogy a HCV egy másik vírus (pl. Epstein-Barr vírus (EBV) vagy human herpes vírus 6) látens infekcióját reaktiválja és így fejti ki oncogeticus hatását (Ferri és mtsai., 1997). Rasul és mtsai. (1999) tanulmányában azonban a NHL-s betegek közül mindenki EBV negatív volt;

2. A HCV magas mutációs frekvenciát mutató vírusként lehetőséget teremt arra, hogy a vírus az immunsurveillance elől rejtve maradjon. A HCV fertőzés krónikus antigén stimulusként is okozhat lympho(cyta)proliferációt, amely a malignus klón kialakulásához vezethet (Ferri és mtsai., 1997);

3. A HCV infekció autoimmun mechanizmust is beindíthat például a gazdaszervezet és a vírus epitópjai közötti ún. „molekuláris mimikri” révén. A HCV-pozitív egyénekben felfedezett anti-GOR antitest kereszt reakcióba lép a HCV core antigénnel és a gazdaszervezet nukleáris antigénjével (Lohr és mtsai., 1994). Mivel a GOR nukleáris antigén (amely a rákos sejtekben expresszálódik), elképzelhető, hogy a GOR gén egymagában is oncogen. A HCV szerepe a GOR gén expressziójában még további vizsgálatra szorul (Ferri és mtsai., 1997);

4. A HCV receptora a CD 81 protein, amely számos sejt felszínén megtalálható, így a lymphoid sejteken is. A vírus direkt B-sejt aktiváló hatása ezen receptorális mechanizmuson keresztül is kialakulhat (Zignego és Brechet, 1999). A klinikai manifestációk

(lymphoproliferatív betegség vagy autoimmun körképek, pl.: cryoglobulinaemia, Sjögren syndroma, thyreoiditis) egyénenként változhatnak mind a környezeti, mind a genetikai adottságok függvényében (Zignego és Brechot, 1999) akárcsak az, hogy a HCV fertőzés az adott egyénben májcarcinoma kialakulásához vagy B-sejtes NHL hoz vezet (Ferri és mtsai., 1997).

Az utóbbi években több közlemény jelent meg NHL-s betegek HCV infekciójáról. Bár egyes szerzők nem találtak kapcsolatot a HCV fertőzés és a B-sejtes lymphoma között (Ellenrieder és mtsai., 1998; King és mtsai., 1998; Collier és mtsai., 1999), vagy úgy gondolták, hogy a HCV fertőzés nem növeli a NHL kialakulásának valószínűségét (Hanley és mtsai., 1996), mások szignifikánsan nagyobb HCV prevalenciát észleltek B-sejtes NHL-ban (Ferri és mtsai., 1994; Pozzato és mtsai., 1996; Silvestri és mtsai., 1996; Montella és mtsai., 2001; Kuniyoshi és mtsai., 2001). Olasz szerzők (Mazzaro és mtsai., 1996 b) a HCV fertőzöttséget szintén szignifikánsan magasabbnak találták NHL-ban (28 %), mint az ugyanazon földrajzi területen élő átlag populációban (2,9 %) vagy összehasonlítva más hematológiai betegségben szenvedőkkel (3,1 %). Skóciában, ahol a 110 lymphoproliferatív - 72 NHL és 38 krónikus lymphoid leukaemiás (CLL) - beteg között egyetlen egy HCV hordozót sem észleltek, úgy vélik, hogy a HCV pozitív NHL megjelenése regionális, és az adott terület alap fertőzöttségétől függő (McColl és mtsai., 1997).

Nagy földrajzi különbségekre utalhat az a tény is, hogy míg Nagy-Britanniában ritkán észleltek hepatitis fertőzöttséget B-sejtes NHL-ban (Hanley és mtsai., 1996; McColl és Tait, 1996), addig az Egyesült Államokban magas (22 %) prevalenciát találtak (Zuckerman és mtsai., 1997). Olaszországi felmérések alapján a HCV fertőzöttség mértéke széles tartományon belül mozgott (9 % -tól 32 %-ig) (Ferri és mtsai., 1994; Silvestri és mtsai., 1996; Zignego és mtsai., 1995; Pioletti és mtsai., 1996). Olasz szerzők újonnan felfedezett B-sejtes

Lymphomásokat szűrtek HCV infekcióra, 22,3 %-ban találtak HCV pozitívítást (Luppi és mtsai., 1998). Mások Németországban (Ellenrieder és mtsai., 1998) 4,3 %-ban. Franciaországban (Hausfater, 2000) csak 2,4 %-ban találtak PCR technikával HCV fertőzést NHL-ban. A különbség feltehetően abból is adódhat, hogy az Egyesült Államok, Japán, Belgium és Olaszország populációiban szignifikánsan nagyobb a HCV prevalencia (Ferri és mtsai., 1997), mint Németországban (Ellenrieder és mtsai., 1998). A legnagyobb (38 %-os) HCV pozitívításról low grade NHL-s betegekben Olaszországból számoltak be (Ferri és mtsai., 1997). Cucuianu és mtsai. (1999) Romániából közöltek adatokat hepatitis B és C vírus infekciók előfordulásáról NHL-ban: 51,4 %-ban fordult elő vagy HCV (29,5 %), vagy HBV (30,8 %) infekció eseteikben. Magunk 23,8 %-ban igazoltunk HCV fertőzést NHL-s betegek között (Gasztonyi és mtsai., 2000 a; 2000 b). A két vizsgált populáció közötti különbséget a Pár és mtsai. által korábban közölt (1992), a magyar és erdélyi populációban előforduló hepatitis infekció prevalenciája közötti szignifikáns eltérés magyarázhatja. Egyes szerzők (Luppi és mtsai., 1998) bizonyos szövettani típusban (follicularis, marginalis zóna és diffúz nagy sejtes lymphoma) gyakrabban észleltek HCV pozitívítást, és úgy találták, hogy a HCV okozta májbetegség nem befolyásolja lényegesen a lymphomás betegek túlélését. Mások HCV pozitívítást leggyakrabban a lymphoplasmocytoid lymphoma / immunocytoma subtípusban észleltek, de szintén úgy vélték, hogy a HCV fertőzés az átlag túlélésre nincs hatással, bár az életminőség lényegesen rosszabb, mint a HCV negatív lymphomások esetén (Silvestri és mtsai., 1998). Silvestri és mtsai. (1997 b) nem a szövettani típusban vagy a klinikai megjelenésben láttak különbséget, hanem azt tapasztalták, hogy elsősorban a genotípus a meghatározó: a 2a, 2c genotípusok azok, amelyek a lymphoproliferatív és az autoimmun betegségek pathogenesisében szerepet játszhatnak. Mások szintén a 2-es genotípus magas prevalenciáját tapasztalták (Pozzato és mtsai., 1994) HCV pozitív low-grade malignus lymphomás betegek között.

2.3. A HCV és a cryoglobulinaemia

A legjobban dokumentált extrahepatikus HCV manifesztáció a kevert típusú cryoglobulinaemia (MC).

Az MC olyan szisztémás vasculitis, amely keringő immunkomplexek (főként a cryoglobulinok és komplementek) kis és közepes méretű erekben történő lerakódásának következménye. Az MC-t egy tipikus klinikai triász (purpura, gyengeség, arthralgia) és egy vagy több szerv érintettsége (krónikus hepatitis, glomerulonephritis, peripherias neuropathia, bőrfekélyek és diffúz vasculitis) jellemzi. MC-s betegek egy részében valamilyen malignitás is megjelenhet, B-NHL vagy HCC is kialakulhat. A legtöbb MC-s betegnél HCV fertőzést találtak, ennek gyakorisága (91 %) szignifikánsan magasabb volt, mint egyéb reumatoid betegségek (6,4 %), például SLE, Sjögren syndroma, rheumatoid arthritis, systema sclerosis esetében és magasabb, mint az egészséges kontrollokban (1,2 %). Hasonló módon a HCV szerepet játszhat egyéb autoimmun (glomerulonephritis, thyreoiditis, tüdőfibrosis, autoimmun hepatitis, porphyria cutanea tarda) és lymphoproliferatív betegségek (monoklonális gammopathiák, B-sejtes NHL) pathogenezisében is (Ferri és mtsai., 1998).

A II-es típusú kevert cryoglobulinaemiában a cryoglobulinokat monoklonális rheuma faktor képezi, amely általában IgM kappa. Az IFN és / vagy Ribavirin terápia eredményei MC betegekben indirekt bizonyítékként szolgálnak a MC és HCV fertőzés közötti pathogenetikai kapcsolatra (Ramos-Casals és mtsai., 2000).

A HCV fertőzött betegekben a cryoglobulinaemia gyakoribb megjelenése már több éve ismert (Mazzaro és mtsai., 1996 b), előfordulását Zignego és mtsai. 15 % (1995), míg Cacoub és mtsai. 54 % (1993) között adták meg. Mások anti-HCV pozitív betegekben 77 %-nak észlelték a cryoglobulinaemiát, amely szignifikánsan magasabb volt, mint az anti-HCV negatívokban talált 29 % (Canavese és mtsai., 2000; Misiani és mtsai., 1992).

Pawlotsky és mtsai. (1995) vizsgálatai szerint a kevert cryoglobulinaemiás betegek 98 %-ában volt kimutatható anti-HCV vagy HCV-RNS pozitívitás, valamint a krónikus HCV fertőzött betegek 36 %-ának volt kevert cryoglobulinaemiája. Más szerzők az általuk vizsgált 82 MC-ben szenvedő betegekben 83 %-osnak találták a C vírus fertőzöttséget, 54 %-ukban 2-es HCV genotípus volt megfigyelhető. Csontvelő biopszia 13 %-ban (11 eset) low-grade NHL-t mutatott (Mazzaro és mtsai., 1995). Ferri és mtsai. (1998) szintén magas arányban (91 %-ban) találtak HCV infekciót kevert cryoglobulinaemiás betegekben, míg mások (Zignego és mtsai., 1997) anti-HCV pozitívítást (88 %) és HCV-RNS jelenlétét (73 %) szintén szignifikánsan magasabb százalékban észlelték ezen populációban, egészséges kontrollhoz vagy autoimmun betegségben szenvedőkhöz viszonyítva. Hazai beteganyagban Pár és mtsai. (1998) 33 %-ban észleltek cryoglobulinaemiát krónikus HCV fertőzöttek között.

Felvetődött az a kérdés, hogy a cryoglobulinaemia a NHL előfázisának fogható-e fel (Amiel és mtsai., 2000; Galli és mtsai., 1996; Santini és mtsai., 1998)? Krónikus HCV pozitív cryoglobulinaemiás betegek csontvelő vizsgálata során 56 %-ban abnormális csontvelő morfológiát találtak, 44 %-a volt lymphomára gyanút keltő és 13 %-ban definitív lymphomát igazoltak (Rasul és mtsai., 1999). Olasz szerzők 470 B-NHL-s beteg közül 42-ben igazolták a HCV infekció jelenlétét (8,9 %), de cryoglobulinaemiások esetén a C vírus jelenléte 95,4 %-ban, míg a nem-cryoglobulinaemiások esetén mindössze 4,6 %-ban volt kimutatható. HCV pozitív, cryoglobulinaemiások között az immunocytoma (76 %), a nem-cryoglobulinaemiás csoportban a marginalis zóna és a follicularis lymphoma volt a leggyakoribb szövettani altípus (Silvestri és mtsai., 1997 a).

A HCV-cryoglobulinaemia-B-sejt proliferatio és lymphoma közötti ok-okozati kapcsolatot a terápia szempontjából a következő megfontolások teszik fontossá:

1. Mazzaro és mtsai.-nak vizsgálata (1996 a) az α -IFN-t hatékonynak igazolta kevert típusú cryoglobulinaemiás betegek terápiájában. Az IFN hatásosságának mechanizmusa a körképben nem teljesen tisztázott, csak feltételezések állnak rendelkezésre. Az α -IFN jó antiproliferatív effektusú, amelynek következtében számos myelo- és lymphoproliferatív betegségben használatos (Chebat és mtsai., 1986). Perl és mtsai. (1989) szerint a monoklonális lymphocita-proliferatio következménye a kevert cryoglobulinaemia, az α -IFN pedig a monoklonális immunglobulint termelő lymphoid sejtklónokat szupprimálja.

2. Másik mechanizmus szerint az IFN az immunglobulin szintézisét gátolja (Harfast és mtsai., 1991), vagy a B-sejt differenciációra van hatással (Exley és mtsai., 1987). Az a lehetőség, hogy a kevert cryoglobulinaemiával társult B-sejtes monoklonális proliferatiót α -IFN terápiával mérsékelni tudjuk, csökkentheti a hematológiai malignitások kialakulásának veszélyét (Mazzaro és mtsai., 1996 a). A cryoglobulinaemia hatásos terápiás lehetőségének tartják az α -IFN-t azáltal is, hogy képes regressziót okozni a lymphoproliferatív betegségekben. A terápiára adott válasz hiányát összefüggésbe hozták az Ib genotípussal, a májcirrhosisal és a magas cryoglobulin szinttel, tehát a HCV genotípus és a cryoglobulin szint a terápiára adott válasz legfontosabb prediktív faktorai (Mazzaro és mtsai., 1997).

2.4. A HCV és a nukleáris faktor kappa B

A nukleáris faktor kappa B (NF- κ B, kappa láncot expresszáló B sejtekben azonosított nukleáris faktor) transzkripciós faktort először olyan fehérjeként detektálták a B lymphocytákban, amely szekvencia-specifikusan kötődik az immunglobulin kappa könnyűláncgén szabályozó, enhancer részéhez. Később az NF- κ B-t és a kapcsolódó faktorokat gyakorlatilag minden sejtben megtalálták (Bours és mtsai., 1990; Ghosh és mtsai., 1990 a; Kieran és mtsai., 1990; Meyer és mtsai., 1991; Ruben és mtsai., 1991; Schmid és mtsai., 1991; Sen és Baltimore, 1986) a Drosophilától az emberig.

A gyulladás és az immunválasz intracelluláris jelátviteli folyamatában szerepet játszó fehérjének (Bacuerle és Baltimore, 1996; Baldwin, 1996; Verma és mtsai., 1995) van egy konzervatív DNS kötő és egy dimerizációs doménje, a **Rel Homológia** (RH). Az NF- κ B proteinek az RH doméntól C-terminális felé eső szekvenciák alapján két osztályba sorolhatók (Gilmore, 1999):

I. tagjai:	p50 / p105	p52 / p100	Relish			
II. tagjai:	RelA (p65)	RelB	c-Rel	v-Rel	Dorsal	Dif

Az I. csoport tagjai általában nem aktivátorai a transzkripciónak, kivéve amikor dimert alkotnak a II. csoport tagjaival.

Emlősökben NF- κ B1-t (RelA(p65), c-Rel, RelB, p50) és NF- κ B2-t (p52) különböztetnek meg, amelyek hasonló szekvenciákat tartalmaznak kb. 300 aminosavon keresztül a fehérje N-terminálisán (Guttridge és mtsai., 1999). Az NF- κ B egy 10 bázispárból

álló DNS szakaszhoz kapcsolódik a sejtmagban, számos celluláris és virális promoterhez és aktiválja ezen promoterekhez és enhancerekhez kapcsolódó gének transzkripcióját.

Ezen genek listája hosszú és egyre növekvő, számos, az immunválaszban résztvevő gent tartalmaz. Klónozták azokat a géneket, amelyek az NF- κ B-t kódolják, így a protein termékek jól ismertek. Az összes Rel fehérje homo és / vagy heterodimereket képez. A p50 / p65 heterodimer a leggyakoribb dimer komplex, ezt nevezik a „klasszikus NF- κ B”-nek, és ezt is értik általában az NF- κ B elnevezés alatt. Az NF- κ B a hepatocyták citoplazmájában is heterodimer formában van jelen.

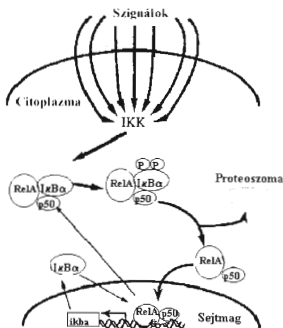
A Rel család három másik tagja, amelyekről tudjuk még, hogy emlősökben expresszálódnak: a p52, a RelB és a c-Rel.

Az NF- κ B aktivációt egy I kappa B gátló (I κ B inhibitor) fehérje szabályozza, amely szövetspecifikus. A legjobban tanulmányozott az I κ B α és az NF- κ B szabályozó rendszere. Nyugalmi állapotban a citoplazmában az I κ B α kötődik az NF- κ B p65 subunit részéhez (Beg és mtsai., 1992), s ezáltal a faktor látens inaktív állapotú. Extracelluláris szignálra (pl. gyulladási citokinek, forból-észterek, bakteriális toxinok –lipopolisacharidok-, vírusok, UV sugárzás, mitogének (Baeuerle és Henkel, 1994; Baldwin, 1996) egy szignál kaszkád indul be (7. ábra), amelynek eredményeként a I κ B α foszforilálódik és protosozomális enzimek által degradálódik. A folyamatok által felszabaduló NF- κ B a sejtmagban transzlokálódik, aktiv állapotba jut, és a DNS NF- κ B kötőhelyéhez kapcsolódik. Így szabályozni tudja a rezponzív gének transzkripcióját (Baeuerle és Baltimore, 1988; Ghosh és Baltimore, 1990 a; Zabel és mtsai., 1993), és többek között az I κ B szintézisét is beindítja. Az I κ B α is a sejtmagba tud transzlokálódni és képes újrakapcsolódni a nukleáris NF- κ B proteinnel, ami ezen fehérjék felszabadulását eredményezi az NF- κ B-kötő helyekről, és végeredményként „downregulálja” a transzkripció faktor által aktivált géneket (Cressman és Taub, 1993; Morin és Gilmore, 1992; Zabel és mtsai., 1990 és 1993). Az I κ B α a transzkripció faktorral öszekapcsolódva,

annak citoplazmába történő visszakerülését, és a transzkripciós faktor újra inaktív formába való jutását eredményezi.

Inaktív stádiumban az I κ B α az NF- κ B sejtmagba jutását és a DNS-hez való kötődését úgy akadályozza, hogy lefedi az NF- κ B DNS-hez kapcsolódását biztosító részét, vagyis a gátló faktor interferál a DNS kóti szekvenciakkal.

A fenti faktoraktivációt legegyszerűbben, legmegbízhatóbban és legerzekényebben demonstráló módszer az electrophoreticus mobility shift (EMSA) vizsgálat (Müller és mtsai., 1997).



7. ábra Az NF- κ B aktivációt szabályozó kaszkád rendszer sematikus ábrázolása

Gilmore, 1999 nyomán (lsd. referencia)

Az ábrán feltüntetett IKK egy szerin-specifikus I κ B-kináz, amely az I κ B szerin aminosavait foszforilálja, ezáltal lehetővé teszi az I κ B lebomlását a proteozómában (az IKK is csak dimer formában - IKK α és IKK β - aktív).

Több mint 150-re tehető (Heike, 1999) azon stimuláns anyagok (faktorok) száma, amelyek az NF- κ B sejtmagba történő transzlokációját iniciálják. Gyulladásos mediátorok (pl. tumor nekrozis faktor (TNF)- α és β , interleukin-1 α és β , leukotriének, reaktív oxigén gyökök), immunstimulusok (fitohemagglutinin és lipopoliszacharid), citokinek, kemokinek, forbol-észter és egyéb mitogének, számos vírus és baktérium indíthatja be a folyamatot. Eddigi ismereteink szerint ezek a stimulusok több, mint 150 cél-génre hatnak, olyanokra, amelyek a gyulladásos válaszban, stresszben, regenerációban, apoptózisban valamint a sejtsztruktúra és mikrokörnyezet regulációjában játszanak szerepet. Az NF- κ B egyaránt válaszol a gyulladásos szignálokra és aktiválja a gyulladásos mediátorok expresszióját. Alapvető az a tény is, hogy az NF- κ B fontos szerepet játszik a szervezet fertőzésre adott válaszreakciójában, s így a „humán immunválasz központi mediátorának” is nevezik (Heike, 1999).

Felvetődött a kérdés, hogyha az NF- κ B ilyen sok folyamatra hat, akkor hogyan őrizheti meg a szelektivitását és a specificitását?

1. Nem minden sejt válaszol ugyanúgy a különböző stimulusokra (például az NF- κ B a B lymphocytákban jelentősen aktív, ellentétben egyéb sejtípusokkal) (Doerre és Corley, 1999). A sejtek válaszkészségbeli különbségének az az oka, hogy vagy nem megfelelő a receptor a sejtfelszínen, vagy nem megfelelő a jelátvivő molekula, ezért nem minden stimulus fogja az NF- κ B-t minden sejtben aktiválni (Karin, 1999).

2. Az NF- κ B önmagában nem elégséges a teljes transzkripciósi folyamathoz, szükséges más transzkripciósi faktorok jelenléte is. Adott stimulus aktiválhatja az NF- κ B-t, de ha eközben az egyéb transzkripciósi faktorokat nem aktiválja, akkor a cél-gén átírása nem lesz teljes mértékű, tehát a teljes transzkripciósi folyamata nem következik be.

3. Ezen túlmenően, a Rel család tagjai különböznek az általuk preferált specifikus DNS kötő helyekben is (Heike, 1999).

A legutóbbi vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy az NF- κ B szerepet játszik az apoptózisban és a proliferációban. A májsejtet károsító hatások a sejthalál két formáját eredményezhetik, amelyből az egyik az apoptózis, a másik a nekrozis. Az apoptózis vagy más néven „programozott sejthalál” funkciója a szervezet számára szükségtelen vagy károsodott sejtektől való megszabadulás. Az apoptotikus sejteket lényeges gyulladási reakció nélkül a fagociták távolítják el (Fausto, 2000). Az apoptózis azért hasznos a szervezetnek, hogy szerepet kap a vírusfertőzött vagy DNS-károsodott illetve a daganat-sejtek eliminálásában.

Korábban úgy tűnt, hogy az NF- κ B apoptózist okoz, a legújabb adatok azt mutatják, hogy néhány sejttípusban bizonyos körülmények között antiapoptotikus hatással is bír (Sonenshein, 1997).

Az NF- κ B képes védeni a sejtet a citosztatikumok és a TNF mediálta apoptózis ellen (Beg és Baltimore, 1996; Van Antwerp és mtsai., 1996; Wang és mtsai., 1996; Wu és mtsai., 1996) és ez a tény is azt sugallja, hogy az NF- κ B által regulált növekedési mechanizmus a sejtek túlélő mechanizmusában is szerepet játszik. A védőhatás mechanizmusai nem teljesen ismertek, de valószínűleg antiapoptotikus faktorok (pl.: Bcl-x és apoptózis-inhibitor protein 1 és 2) transzkripciójának az aktiválása is szerepel ebben. Az szintén nem ismert, hogy hogyan lehet az NF- κ B proapoptotikus és antiapoptotikus hatású egyszerre? Az egyik magyarázat az lehet, hogy a sejt típusa és a környezet determinálja az NF- κ B aktivációját, de magyarázat lehet az is, hogy az NF- κ B hatása különböző lehet a különböző működési fázisban lévő (de azonos típusú) sejtekre. Érdekes megfigyelés az is, hogy a p65 deléciója letális az embrionális korban, mert masszív hepatocytá apoptózist okoz. Úgy tűnik továbbá, hogy az NF- κ B

aktiváció serkenti a „felnőtt” hepatocyták proliferációját partialis hepatectomia illetve egyéb májsérülések kapcsán, segíti a túlélési gének transzkripcióját, és ezáltal rezisztenssé teszi a hepatocytát a TNF-indukálta apoptosissal szemben (Cressman és mtsai., 1994). Így az NF- κ B-nek növekedést serkentő hatása van a hepatocytákra. Ha például a TNF hatására az NF- κ B aktiváció nem tud bekövetkezni (vagy mert hiányzik a p65 vagy gátolt marad a heterodimer), a regeneráció helyett apoptosis, programozott sejthalál következik be (Fausto, 2000).

A korábbiakban utaltunk arra, hogy az NF- κ B transzkripciós faktor különböző gének expresszióját szabályozza, például az immunválaszban, a védekezésben szereplő fehérjékét (Luque és Gelinas, 1997) és a növekedési faktorokét (Neri és mtsai., 1996), de fontos szerepet tölt be a humán daganatok etiológiájában is (pl. primer emlő tumorban (Dejardin és mtsai., 1995; Neri és mtsai., 1991; Sovak és mtsai., 1997). Az NF- κ B-nek kulcsszerepet tulajdonítanak a vírusok (pl. az EBV vagy a human T-sejt leukaemia virus-1) által indukált lymphomákban is, de vannak irodalmi adatok az akut lymphoid leukaemiára és a krónikus myeloid leukaemiára (Reuther és mtsai., 1997) illetve a Hodgkin lymphomára (Bargou és mtsai., 1997) vonatkozóan is.

A faktor géncsaládján belül mutációk (deléció, kromoszomális transzlokáció) figyelhetők meg különböző lymphomákban (Neri és mtsai., 1996). Különösen a 10q24 kromoszómán lokalizálódó protooncogen, az NF- κ B2 az, amely különböző szövettani típusú lymphomákban, leginkább a cutan lymphomákban fordul elő. Ez azt mutatja, hogy az NF- κ B2 fehérjék azáltal vesznek részt a lymphomagenesisben, hogy az NF- κ B rendszert mind kvantitativ, mind kvalitativ megváltoztatják, ami az NF- κ B által kontrollált gének egy bizonyos csoportjának aktivációjához vezethet (Neri és mtsai., 1996).

Mit jelenthetnek a fentiek a krónikus HCV fertőzés pathogenezise szempontjából? Az apoptosist az elsődleges mechanizmus, amivel a HCV fertőzött hepatocyták eliminálódnak a szervezetből. A core proteinek antiapoptotikus hatásuk révén késleltetik az apoptosist, s ezáltal segítik a vírus továbbélését és terjedését (Tai és mtsai., 2000), más szóval egy időt, meg nem gyógyuló infekció perzisztálását. Továbbá, mivel az NF- κ B szükséges a hepatocytá replikációjának elindításához, a core proteinek szerepe lehet a HCV oncogenesisben is.

Ismert, hogy más vírus proteinek, amelyeknek szerepük van az oncogenesisben az NF- κ B-t aktiválják (pl. a HBV X proteinje (Mosialos, 1997)). A HCV core proteinek azáltal lehet szerepe a vírusfertőzés perzisztálásában és az oncogenesisben, hogy aktiválja az NF- κ B-t és gátolja az apoptosist, s ezáltal a vírus képes „elszökni” a gazdaszervezet immunsurveillance elől (Tai és mtsai., 2000; Yen, 2000).

Amennyiben a core protein valóban aktiválja az NF- κ B-t és meggátolja az apoptosist, úgy az említett hatások új támadáspontjai lehetnek az anti-HCV szereknek (Yen, 2000).

3. CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálataink célja a HCV lymphoproliferatív hatásának tanulmányozása volt.

A következő kérdésekre kerestünk választ:

- van-e etiológiai szerepe a hepatitis vírusoknak (C és B vírusnak) a B-sejtes lymphoma kialakulásában?
- a cryoglobulinaemia közbülső lépésként szerepel-e a HCV lymphoproliferatív okozó folyamataiban?
- van-e szerepe a nukleáris faktor kappa B-nek a HCV infekcióban és a B-sejtes NHL-ben ?
- a HCV pro- vagy antiapoptotikus hatással bír-e?

4. VIZSGÁLATAINK

BETEGANYAG ÉS MÓDSZEREK

Vizsgálatainkat 121 krónikus C hepatitises, 63 NHL-s, és 4 hepatocellularis carcinomában szenvedő (összesen 188) betegben végeztük (a beteganyag részletezése az alábbi fejezetekben történik):

- 4.1. A HCV infekció prevalenciájának vizsgálata NHL-s betegekben
- 4.2. Immunglobulin nehézlánc génátrendeződés vizsgálata krónikus C hepatitises és cryoglobulinaemiás betegekben
- 4.3. Az NF- κ B transzkripciós faktor aktivitásának vizsgálata NHL-s betegekben és krónikus C hepatitisesekben
- 4.4. Az NF- κ B transzkripciós faktor kimutatása krónikus C hepatitises és HCC-s betegek májbiopsziás valamint NHL-s betegek nyirokcsomó biopsziás mintáiban immunhisztokémiai módszerrel
- 4.5. CD 19+ B-sejtek apoptózis vizsgálata krónikus C hepatitisesekben
- 4.6. A HCV szerepe a hepatocellularis carcinomában és a lymphomában két esetünk kapcsán

A módszereket az egyes részfejezetek tartalmazzák.

A kapott eredmények statisztikai elemzése χ^2 próba szerint történt.

4.1. A HCV infekció prevalenciájának vizsgálata NHL-s betegekben

Cél:

A HCV infekció prevalenciájának vizsgálata B-sejtes NHL-ben szenvedő betegekben, egyidejűleg a HBV, CMV, és EBV vírusmarkerek, valamint a humorális immunválasz mutatóinak (kvantitatív immunglobulinok, cryoglobulinok, rheuma faktor) meghatározásával.

Betegek:

42 szövettanilag igazolt B-sejtes NHL-s beteget vizsgáltunk: 24 férfit és 18 nőt. A vizsgált betegek átlag életkora 54,14 (22-80 év között) volt. Hiddemann és mtsai. (1996) által leírt. a biológiai és klinikai tulajdonságokat is figyelembe vevő módosított REAL klasszifikáció szerint a betegeket 3 csoportba soroltuk: 16 az indolens (low risk), 25 az agresszív (intermediate risk) és 1 beteg a nagyon agresszív (high risk, Burkitt lymphoma) kórfelmában szenvedett. Az 1. táblázatban az egyes csoportokba tartozó alcsoportokat tüntettük fel a pontos szövettani osztályok alapján, illetve a későbbiekben használatos elfogadott rövidítésekkel.

1. táblázat **Betegcsoportok szövettani kategóriák alapján**

(módosított REAL klasszifikációnak megfelelően)

INDOLENS: krónikus lymphoid leukaemia (CLL), follicularis lymphoma, MALT lymphoma
AGRESSZÍV: diffúz nagy sejtes lymphoma (diffuse large B-cell lymphomas, DLCL) köpenysejtes lymphoma (mantle-cell, MCL), myeloma multiplex (MM), mediastinalis B-sejtes lymphoma (mediastinal large B-cell lymphomas with sclerosis, MBCLs)
NAGYON AGRESSZÍV: Burkitt lymphoma

Módszer:

A virológiai vizsgálatok részben "enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) módszerrel (anti-HCV, HBsAg, EBV, CMV), részben HCV-RNS polimeráz lanreakcioval (PCR) történtek. Az anti-HCV meghatározása INNOTEST™ HCV-Ab IV (INNOGENETICS N.V., Belgium) elnevezésű, negyedik generációs „enzyme immunoassay” teszttel történt, mely magába foglalja a HCV 1a, 1b, 2 és 3a genotípusok antigénjeit. A HCV genom antigénjei közül a szerokonverzióban fontos szerepet játszó core, NS3, NS4 és NS5 antigéntek alkalmazza. A teszt specifitása (európai donorokon) 99,8 %, szenzitivitása 94,7-100 %.

A rheuma faktort, a cryoglobulint és az immunglobulinokat standard szerológiai módszerrel határoztuk meg. A vizsgálatok az Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat Baranya Megyei Intézetének Virologiai osztályán, illetve a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Központi Klinikai Kémiai Intézetében történtek. HCV-RNS PCR meghatározását az Országos Haematológiai és Immunológiai Intézet Virusnukleinsav Laboratóriumában végezték.

Eredmények:

A 42 NHL-s beteg közül egy sem volt HBsAg pozitív. 6 beteg (14,3 %) volt anti-HCV pozitív és 10 betegnél (23,8 %) sikerült ELISA-val és / vagy PCR-rel HCV infekció jelét kimutatni. Összehasonlításként: a Baranya Megyei Véraló Állomástól kapott adatok szerint 1998-ban a dél-dunántúli régióban véradásra jelentkező egészséges önkéntesek között a HBsAg pozitivitás 0,7 %-ban, az anti-HCV pozitivitás 0,4 %-ban. a kétes eseteket is figyelembe véve 1,3 %-ban fordult elő. Az eredmények pontos megoszlását a 2. táblázat mutatja.

2. táblázat HCV-pozitivitás alakulása kórformánként

NHL Fő típusok	NHL Alcsoportok	anti-HCV (ELISA)	HCV-RNS (PCR)
		Pozitív betegek száma / összes	
	CLL	2/10	4/6
INDOLENS	Follicularis ly.	0/5	2/3
	MALT ly.	0/1	0/0
	Összes	2/16 (12,5 %)	6/9 (66,7 %)
	DLCL	4/12	2/5
AGRESSZÍV	MCL	0/5	1/3
	MM	0/7	1/1
	MBCLS	0/1	0/0
	Összes	4/25 (16 %)	4/9 (44,4 %)
NAGYON AGRESSZÍV	Burkitt ly.	0/1	-

Rövidítések: krónikus lymphoid leukaemia (CLL); diffúz nagy sejtés lymphoma (diffuse large B-cell lymphoma, DLCL); köpenysejtés lymphoma (mantle-cell, MCL); myeloma multiplex (MM); mediastinalis B-sejtés lymphoma (mediastinal large B-cell lymphoma with sclerosis, MBCLS).

Vizsgálataink során a CLL-s betegeknél észleltük a legnagyobb C vírus előfordulást (40%), ezt követte a follicularis és a DLCL (20-20%) szövettani kategória (3. táblázat).

3. táblázat HCV pozitívítás megoszlása szövettani kategóriánként

n=10	CLL	Follicularis	DLCL	MCL	MM
HCV pozitívítás	4/10 40 %	2/10 20 %	2/10 20 %	1/10 10 %	1/10 10 %

A HCV infekción kívül 26 betegnél egyéb vírusfertőzés lehetőségét is vizsgáltuk. Az aktuális Epstein-Barr vírus infekció (EBV-VCA IgM) 2/26 (7,7 %) esetben volt igazolható. Az EBV-EBNA IgG antitest pozitívítás alapján valamennyi vizsgált beteg EBV infekción esett át.

A lezajlott CMV fertőzésre utaló magas IgG titer 24/26 (92,3 %) esetben volt kimutatható. A kvantitatív immunglobulin vizsgálatok (32 beteg) eredményét a 4. táblázatban foglaltuk össze. Rheuma faktor pozitívítást 5/18 (27,7 %) betegben észleltünk. Cryoglobulinszint meghatározás 15 esetben történt, 3 esetben (20 %) kaptunk pozitív reakciót, közülük két betegnél HCV pozitívítás is fennállott.

4. táblázat Serum immunglobulin szintek alakulása NHL-s betegekben

	IgA	IgG	IgM
	Betegek száma / (%)		
Normál tartomány*	15 (46,8 %)	19 (59,3 %)	16 (50 %)
Csökkent	15 (46,8 %)	10 (31,2 %)	8 (25 %)
Emelkedett	2 (6,2 %)	3 (9,3 %)	8 (25 %)

*Normál tartomány: IgA: 1,4-4,2 g/l, IgG: 7-17,8 g/l, IgM 0,5-1,9 g/l.

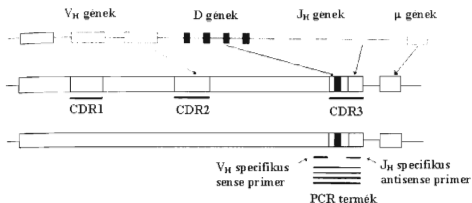
Eredményeink alátámasztották azt a feltételezést, hogy a HCV infekciónak etiológiai szerepe lehet a következményes lymphoproliferációban, amely végül B-sejtes NHL kialakulásához vezethet.

4.2. Immunglobulin nehézlánc génátrendeződés vizsgálata krónikus C hepatitis és cryoglobulinaemiás betegekben

Háttér:

A B-sejtek fejlődése során az immunglobulin nehéz- és könnyűlánc gének véletlenszerű átrendeződésén esnek át, fehérjetermékük pedig sejtfelszíni immunglobulinként expresszálódik. Az immunglobulin nehézlánc (IgH) génátrendeződésének vizsgálata alkalmas a B-sejtek klonalitásának bizonyítására B-sejtes malignus lymphomában. A nehézlánc gén három szakasz fúziója során alakul ki: a 14. kromoszóma q32-es szegmensén elhelyezkedő V_H variabilis régió 60-70 darab, a D diversity régió 20-30 darab és a J_H joining régió 6 darab génszakaszból egynek-egynek a véletlenszerű kombinációjából. A B-sejt differenciálódás korai fázisában jön létre a fúzió révén az IgH gén. Reaktív folyamat esetén az egyes B-sejtekben különböző módokon, míg lymphománál - mely egy sejtől származó klonális tumorsejtek összessége - minden sejtél ugyanúgy, a klonra specifikus V_H -D- J_H génszekvenciával rendelkező IgH génátrendeződés történik meg (Arnold és mtsai., 1983; László és mtsai., 1996; Matolcsy és mtsai., 2000) (8. ábra). A különböző szakaszok kombinációja általában eltérő hosszúságú IgH géneket eredményez. Amennyiben PCR reakció során kétféle (ún. „sense” és „antisense”) primerrel az IgH génszakaszt amplifikáljuk, a gélelektroforetikus képen klonális (lymphomás) folyamat esetén éles vonalat tapasztalunk (azonos hosszúságú DNS szakaszok – monoklonális folyamat), míg reaktív esetben elmosott rajzolatot, ún. „smear” kapunk (különböző hosszúságú szakaszok – poliklonális folyamat) (9. ábra). Mivel a PCR vizsgálat rendkívül érzékeny, igen korai stádiumban jelezheti a lymphoproliferatív betegséget (Fishleder és mtsai., 1987). Nemcsak szerológiai módszerekkel igazolt HCV pozitív betegeknek szérumának vizsgálata történt meg IgH génátrendeződésre, hanem cryoglobulinaemiás betegeinké is, feltételezve, hogy a cryoglobulinaemia közbülső

lépésként szerepelhet a HCV B-sejt proliferációt és lymphomát okozó folyamatában, így korai stádiumban jelezheti a klonális átrendeződést.



8. ábra Az immunglobulin nehézlánc génátrendeződés folyamatának sematikus ábrázolása (Matolesy és mtsai., 2000 nyomán – lsd. referencia)

A génátrendeződés során a "variábilis" (V_H), a "diversity" (D) és a "joining" (J_H) géncsalád egy-egy tagjának kapcsolódása révén jön létre az expresszált IgH gén. Az a génszakasz, amely a három gén kapcsolódása során alakult ki (CD3), minden egyes elkötelezett B-sejt klónra specifikus. A CD3 génszakasz felerősítése PCR technikával a V_H szakaszra specifikus „sense” és a J_H -ra specifikus „antisense” primerek segítségével történik.

Cél:

A cryoglobulinaemia előfordulásának meghatározása, és a lymphoproliferatio korai stádiumát jelző immunglobulin nehézlánc génátrendeződés tanulmányozása 65 gondozott HCV fertőzött betegünkben.

Betegek:

Összesen 65 krónikus C hepatitiszes beteget vizsgáltunk IgH génátrendeződésre (33 férfi- és 32 nőbeteg, átlageletkor: $48,55 \pm 12,42$ év), közülük 12 cryoglobulinaemiában is szenvedett.

Módszer:

I. DNS izolálás

4,5 ml EDTA-s vénás vért leülepedni hagytuk, majd az így elvált plazmát EDTA-t, NH_3Cl -t és KHCO_3 -t 1:1 arányban tartalmazó lizáló oldattal lizáltuk. 5 perc után fiziológias sóoldatot adtunk hozzá, majd 12 000 rpm-mel 5 percig centrifugáltuk. A felülúszót leöntöttük, majd a sejtüledéket 70 %-os alkohollal fixáltuk. Az alkohol eltávolítását követően és fiziológias sóval történő mosás után az alábbi emésztő puffert adtuk hozzá. Az így kapott elegyet egy éjszakán át 56°C -on 200 μl emésztő pufferben emésztettük, mely az alábbi anyagokat tartalmazta: 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH: 8,3), 2,5 mM MgCl_2 , 0,01 % zselatin, 0,45 % Nonidet P40, 0,45 % Tween 20, 0,01 % proteináz K. Az elegyet 10 perc 95°C -os inkubálás után DNS oldatként használtuk.

II. Polimeráz-láncreakció

A reakciót 25 μl térfogatban hajtottuk végre. A reakció elegy összetétele: 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH: 8,3), 1,5 mM MgCl_2 , 0,2 mM dNTP volt, valamint tartalmazott (külön-külön) 20 pmol primert, 1,5 μl DNS oldatot és 1,25 U Taq polimerázt. A primerek szekvenciája a következő volt:

5'- CTG TCG ACA CGG CCG TGT ATT ACT G - 3'

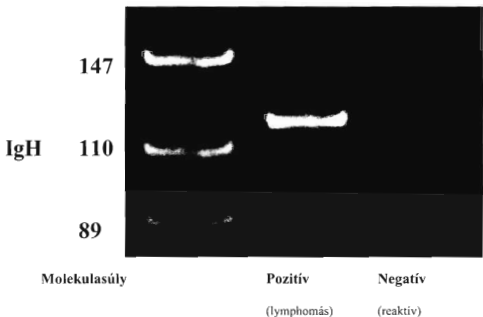
5'- AAC TGC AGA GGA GAC GGT GAC C - 3'

A reakció paraméterei: 94 °C, 1', 5x (94 °C, 30", 60 °C, 1' (ciklusonként -1 °C) 72 °C, 1'), 35x (94 °C, 30", 55 °C, 1', 72 °C, 1'), 72 °C, 5' voltak.

A reakció termékét 2 %-os agaróz és 10 %-os akrilamidgél elektroforetizáltuk. etidium bromiddal tettük láthatóvá. A reakciót pozitívnak tekintettük, ha éles sáv (band) volt a 100-150 bázispár tartományban, amelynek vastagsága kisebb 1 mm-nél, negatívnak, ha ugyanebben a tartományban kenetet észleltünk, nem értékelhetőnek, ha semmi jelet nem tapasztaltunk (9. ábra).

A statisztikai értékelést χ^2 próbával végeztük.

A HCV infekciót ELISA (anti-HCV) és / vagy PCR (HCV-RNS) módszerrel igazoltuk.



9. ábra Az amplifikálódott DNS akrilamidgél elektroforetikus képe lymphomás sejtproliferáció esetén („Monoklonális”: minden B-sejt azonos hosszúságú V_H-D-J_H szakasza miatt a DNS izolált, éles csíkként mutatkozik) és reaktív betegségben („Poliklonális”: az elektroforetikus kép egyenletes, a különböző hosszúságú V_H-D-J_H szakaszok miatt domináló sáv nincs).

Eredmények:

A 65 vizsgált beteg anamnesisében alkoholfogyasztás 36,92 %-ban szerepelt, 17 beteg (26,15 %) véradó volt, transzfúzióban 46,15 %-uk részesült. Összesen 8 beteg (12,30 %) esetén volt kimutatható az IgH génátrendeződés, ebből 5 (62,50 %) szenvedett cryoglobulinaemiában, 54 esetben (83,07 %) negatív volt a vizsgálat. 2 esetben technikailag nem volt értékelhető (5. táblázat). Az IgH-ra pozitív esetek között nem volt különbség a nemek között (4 férfi-, 4 nőbeteg).

Cryoglobulin meghatározás 12/65 (18,46 %) esetben adott pozitív eredményt, 5 esetben (41,66 %) volt igazolható IgH génátrendeződés is.

40 éves életkor alatt lényegesen kevesebb betegben észleltünk nehézlánc génátrendeződést (2 esetben), mint 40 év felett (6 esetben). Hasonló különbséget figyelhettünk meg a cryoglobulinemia előfordulásában is, 40 év alatt mindössze 2 esetben, 40 év felett 10 esetben észleltünk cryoglobulinémiát.

χ^2 próbával elvégzett statisztikai értékelés során eredményeink azt mutatták, hogy cryoglobulinaemiás betegeinkben nagy valószínűséggel ($p < 0,01$) az IgH génátrendeződés vizsgálat is pozitív volt.

HCV infekcióban szenvedő betegeink 83,07 %-ában kórosan emelkedett GPT-t, 81,53 %-ában kórosan emelkedett GOT értéket kaptunk. HCV fertőzés talaján a májbiopsziás minta szövettani feldolgozása 56,92 %-ban aktív, 6,16 %-ban inaktív hepatitiszt igazolt, cirrhosis 7,69 %-ban észleltünk. Egy betegben cirrhosis talaján HCC alakult ki, és egy esetben észleltünk HCC-t cirrhosis szövettani jelei nélkül.

Cryoglobulinaemia klinikai manifesztációját mindössze három esetben észleltünk, egyik esetben Henoch-Schönlein purpura (cryoglobulin érték: 600 $\mu\text{g/ml}$), másikkban

cerebralis vasculitis (cryoglobulin érték: 250 µg/ml), illetve harmadik esetünkben alsó végtagi vasculitis (cryoglobulin érték: 98 µg/ml) képében jelentkezett.

Eredményeinket az 5. táblázatban foglaltuk össze.

5. táblázat **IgH génátrendeződés alakulása és a cryoglobulinaemia**

	Cryoglobulin pozitív (n=12)	Cryoglobulin negatív (n=53)
IgH pozitív (n=8)	5 (62,50 %)	3 (37,50 %)
IgH negatív (n=54)	6 (11,11 %)	48 (88,88 %)

Eredményeink alapján úgy véljük, hogy a HCV fertőzött betegekben az IgH génátrendeződés vizsgálata korai stádiumban jelezheti a lymphoproliferatív betegséget, másrészt a cryoglobulinaemia közbülső lépésként szerepelhet a HCV B-sejt proliferatíot és lymphomát okozó folyamatában.

4.3. Az NF- κ B transzkripciós faktor aktivitásának vizsgálata NHL-s betegekben és krónikus C hepatitisekben

Cél:

Az NF- κ B transzkripciós faktor aktivitásának vizsgálata krónikus C hepatitisekben és B-sejtes NHL-s betegekben.

Betegek:

A betegeket négy fő csoportra osztottuk: az első csoportot a krónikus C hepatitises (10 fő), a másodikat a B-sejtes NHL-s (9 fő), a harmadikat a HCV pozitív B-sejtes NHL-s betegek (4 fő), a negyedik csoportot (kontroll csoport) egészséges, HCV negatív önkéntesek (10 fő) alkották.

Módszer:

1. Lymphocytá izolálás

A módszer első lépéseként a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Patológiai Intézetével kollaborálva sejtzisolálást végeztünk az alábbiak szerint: 4,5 ml EDTA-s vénás vért leülepedni hagytunk, az így elvált plazmát (maximum 4 ml mennyiségben) Ficoll Paque Research Grade (Amersham Pharmacia Biotec AB SE 751 84 Uppsala, Svédország) odat 2 ml-ére rétegeztük és 15 percig 1700 rpm fordulaton centrifugáltuk. Így lymphocytá gyűrű keletkezett a Ficoll és a maradék fehérvérsejtek között (a vörösvértestek a Ficoll alján maradtak, a lymphocyták a Ficoll tetején gyűrűben). A lymphocytá gyűrűt leszivtuk és PBS foszfát pufferrel mostuk (PBS: 87,5 g nátrium kloridot, 2 molekulásúly vizet tartalmazó 15,33 g dinátrium hidrogén foszfátot 1000 ml desztillált vízben feloldottunk, majd 10-szeresére hígítottuk), majd 5-6 percen át 1000-1200 rpm fordulaton

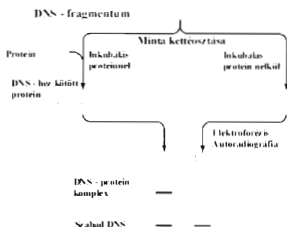
centrifugáltuk. A folyamat ismétlését követően a lymphocyta állomány a centrifugácó alján maradt, amelyet felfogtunk további vizsgálat céljából.

II. Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) módszer

Xu és Cooper leírása (1995) alapján sejtmag kivonatot készítettünk. Valamennyi ezt követő lépést 0-4 °C-on jégén végeztük. A sejtüledéket 2 alkalommal jéghideg foszfáttal pufferelt sóoldattal mostuk és reszuszpendáltuk 10-szeres térfogatú pufferben, amely 10 mM-os HEPES-t (pH: 7,9), 1,5 mM MgCl₂-t, 10 mM KCl-t és 0,5 mM dithiothreitol (DTT) valamint proteáz inhibitorokat (Boehringer Mannheim) tartalmazott. A fenti oldatot 10 percig jégén állni hagytuk. Erőteljes keverés (vortex) után 10 másodpercig centrifugáltuk összegyűjtve így módon a sejtmagokat. A sejtmagokat reszuszpendáltuk 2 térfogatnyi pufferben, amely 20 mM HEPES-t (pH: 7,9), 25 %-os glicerolt, 420 mmol NaCl-t, 1,5 mM MgCl₂-t, 0,2 mM EDTA-t, 0,5 mM DTT-t és proteáz inhibitor tartalmazott, majd 20 percig jégén állni hagytuk. 10 másodpercnyi centrifugálás után a magfémjékben gazdag felülúszót elkülönítettük és -80 °C-on tároltuk. A fehérje koncentrációt Bio-Rad Protein Assay-vel határoztuk meg. Az NF-κB enhancer 5' végének jelölésére γ-³²P ATP-t és T4 polinukleotid kinázt (Amersham Pharmacia Biotech. Inc.) használtunk 10 μg sejtmagfémjét kevertünk össze 1 μg poly(dI-dC) szintetikus oligonukleotiddal, 100 ng nem specifikus egyes láncú oligonukleotiddal és 4 μl 5x Ziff pufferrel, amely 10 mM HEPES-t (pH: 7,5), 10 % glicerolt, 1 mM EDTA-t és 100 mM NaCl-t tartalmazott. Megfelelő mennyiségű desztillált vizet adagoltunk hozzá, hogy a reakció elegy térfogatát 18 μl-re növeljük. Szobahémrsékleten történő 15 perces inkubáció után a keveréket 2 μl, kb. 100 000 cpm γ-³²P-vel jelölt NF-κB specifikus oligonukleotiddal elegyítettük és újabb 30 percig szobahémrsékleten inkubáltuk. A DNS fehérje komplexeket elektroforetizáltuk 5 %-os nem denaturáló poliakrilamid gélen 1x TBE (Tris Base, borát, EDTA) puffer rendszert (pH: 8,3) használva 2,5 óráig 200 V

fehérjével. A gélt megszáritottuk és Cyclone Phosphor Imager rendszer segítségével analizáltuk.

Az EMSA módszer sematikus magyarázatát a 10. ábrán tüntettük fel.



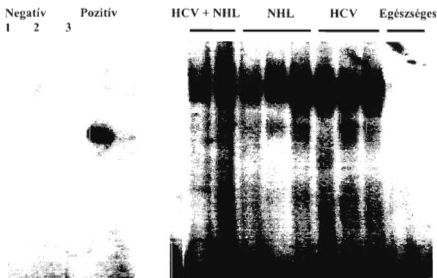
10. ábra EMSA módszer sematikus magyarázata

A radioaktívan jelölt DNS-fragmentumokat tartalmazó mintát két részre osztottuk, egyik felét olyan fehérjével inkubáltuk, amelyik egy specifikus DNS szekvenciához kötődött. A mintákat ezt követően nem denaturáló poliakrilamid gélen elektroforezizáltuk, így a protein a DNS-hez kötve maradt. Mivel a DNS-hez kötött fehérje komplex lassabb „mozgású”, mint a szabad DNS, a protein kötődés kimutathatóvá vált. A DNS-nek csak egy része volt fehérjéhez kötött, így az inkubációt követően mind a DNS-fehérje komplex, mind a szabad DNS detektálható volt.

Eredmények:

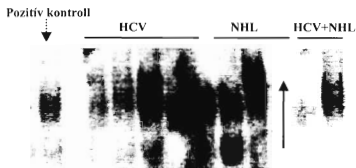
EMSA vizsgálat során valamennyi krónikus HCV infekcióban szenvedő, valamint 13 NHL-s közül 10 beteg (76,92 %) lymphocytájában az aktivált NF- κ B kimutatható volt. Az utóbbiak közül egy esetben negatív, 2 esetben technikailag értékelhetetlen eredményt kaptunk. A kontroll csoportban aktivált transzkripció faktor egyetlen egy esetben sem volt detektálható (11-13. ábra). A fentiek alapján feltételezhető, hogy az aktivált transzkripció faktorok szerepe lehet a két betegség társulásában.

Kontroll



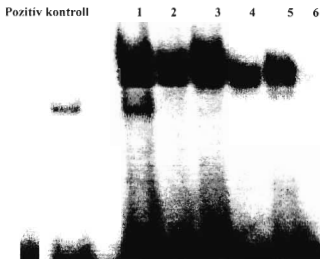
11. ábra EMSA vizsgálat eredménye I.

Az ábra bal oldalán tüntettünk fel 3 egészséges egyén negatív eredményét és a pozitív kontrollt. Egészséges egyénekben egyáltalán nem volt kimutatható éles sáv (band), míg az ábra jobb oldalán feltüntetett három csoportba (HCV pozitív NHL, NHL, HCV pozitív) tartozó betegek mobility shift eredménye alapján elkülöníthető, hogy az egészségesekben nem, míg a többi csoportban kimutatható volt az aktiválódott NF- κ B.



12. ábra EMSA vizsgálat eredménye II.

A 12. ábrán HCV-s, NHL-s és HCV pozitív NHL-s betegek esetén az éles csík jelzi a pozitív reakciót. Egyetlen NHL-s beteg eredménye tér el a fentiekben elmondottaktól (halvány reakció, folyamatos nyíl jelzi), amit technikai okok is magyarázhatnak.



13. ábra EMSA vizsgálat eredménye III.

Az 1. számmal jelölt sáv egy NHL-s (CLL-s), a 2. egy HCV pozitív NHL-s, a 3. egy NHL-s beteg shiftjét mutatja. Négyes és 5. sorszámossal két HCV pozitív beteg shiftje látható, míg a 6. egy egészséges kontroll, aki HCV negatívnak bizonyult. Ez utóbbinál látható, hogy nincs shift, tehát NF- κ B aktiváció nem volt kimutatható, míg a másik öt beteg esetén több csík is észlelhető, amely arra utalhat, hogy többféle NF- κ B dimer is aktiválódott.

4.4. Az NF- κ B transzkripciós faktor kimutatása krónikus C hepatitisés és HCC-s betegek májbiopsziás valamint NHL-s betegek nyirokcsomó biopsziás mintáiban immunhisztokémiai módszerrel

Cél:

Az NF- κ B transzkripciós faktor kimutatása krónikus C hepatitisés és HCC-ben szenvedő betegek májbiopsziás és B-sejtes NHL-ás betegek nyirokcsomó biopsziás mintáiban.

Betegek:

Nyolc krónikus C hepatitisés, 2 HCC-s (egy HCV pozitív és egy HCV negatív) illetve 2 NHL-s (egy HCV pozitív és egy negatív) beteget vizsgáltunk.

Módszer:

Az NF- κ B transzkripciós faktor kimutatása immunhisztokémiai módszerrel történt, melynek lépései a következők voltak:

1. Deparaffinálás: 3x5' xylollal és 3x5' alkohollal,
2. Mosás desztillált vízben 2 alkalommal,
3. Mikrózás (antigén feltárás) 3x5' pH: 6-os citrát pufferben 600 W teljesítményen (Citrát puffer: pH: 6, 0,01 M, A oldat: 8 ml 0,1 M citromsav, B oldat: 42 ml 0,1 M Na-citrát, A+B= 50 ml + 450 ml desztillált víz.
4. 10 ' pH: 7,6-os Tris pufferben állni hagytuk (Tris törzsoldat: 0,05 M, 10-szeres töménységű, 60,55 g Tris, 85,2 g NaCl, 500 ml desztillált víz + 35 ml koncentrált HCl, pH: 7,6, 1000 ml-re desztillált vízzel hígítva),

5. Endogén gátlás: 3 %-os H₂O₂-ben 10'.
6. Mosás 2x Tris pufferben,
7. Háttérgátlás: normál serummal 10', VECTOR PK 7200 KIT,
8. Primer antitest egy éjszakán át megfelelő hígításban, jelen esetben „Transcription Factor / NF-κB p50 (NF-κB1) nyelv antitest”, Biogenesis Poole England 1:100 hígításban,
9. 3x mosás Tris pufferben,
10. Biotinilált antiegér 40' VECTOR PK 7200 KIT,
11. 3x mosás Tris pufferben,
12. Avidin-biotin complex VECTOR PK 7200 KIT,
13. 3x mosás Tris pufferben, 1x pH: 5,2-es acetát pufferben (A oldat: 29 ml ecetsav, 500 ml desztillált víz, 10-szeres töménységre hígítva, B oldat: 13,61 g Na-acetát + H₂O, 1000 ml desztillált víz, 10-szeres töménységűre hígítva, 21 ml A oldat + 79 ml B oldat + 900 ml desztillált víz),
14. Előhívás: AEC SUBSTRATE KIT HORSE RADISH PEROXIDASE (Vector Laboratories Inc., 30 Ingold Road, Burlingame, CA 94010 USA.),
15. Mosás pH: 5,2-es acetát pufferben, desztillált vízben,
16. 3' magfestés hematoxilinnal,
17. Csapvizet mosás 3',
18. Glicerines-zselatinos fedés.

Eredmények:

Az immunhisztokémiai vizsgálattal jól elkülöníthető volt a citoplazmában lévő inaktív NF-κB (14. ábra) illetve a sejtmagban lévő aktív forma (15. ábra).



14. ábra Immunhisztokémiai vizsgálat (400-szoros nagyítás): a nyíllal jelzett sötétbarna reakció a citoplazmában lévő NF- κ B-re utal

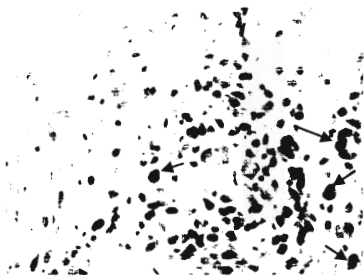


15. ábra Immunhisztokémiai vizsgálat (400-szoros nagyítás): a nyíl a sejtmagban lévő aktív NF- κ B-re utal

A 8 HCV pozitív beteg májbiopsziás mintáján elvégzett NF- κ B immunhisztokémiai vizsgálat során 6 esetben közepesen erős intenzitással észleltünk citoplazmatikus pozitivitást, egy esetben sejtmagfestődést, amelyet enyhe citoplazmatikus reakció is kísért, egy esetben pedig intranukleáris reakciót, mely csak a gyulladásozó sejtekben volt látható (főként lymphocytákban) anélkül, hogy a hepatocyták citoplazmája vagy sejtmagja festődött volna. Egy esetben NF- κ B-re negatív volt a vizsgálat.

A HCV pozitív HCC-s beteg májbiopsziás mintájában a sejtmagban is számos NF- κ B volt kimutatható, míg a HCV negatív HCC-s beteg mintájában csak kisszámú magpozitívást észleltünk a nagyszámú citoplazma pozitívás mellett (16. ábra).

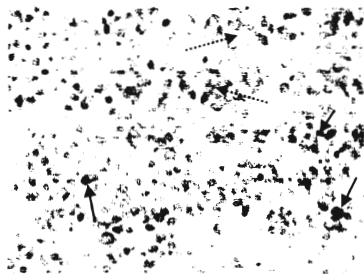
Hasonlóképpen a HCV negatív malignus lymphomás beteg nyirokcsomó biopsziás mintájában mindössze kisszámú citoplazma pozitívást detektáltunk magpozitívás nélkül (17. ábra). A lágyrész plazmocytomás HCV pozitív beteg nyirokcsomó mintájában azonban erőteljes mag- és citoplazma pozitívás is kimutatható volt (18. ábra).



16. ábra Immunhisztokémiai vizsgálat (200-szoros nagyítás): HCC HCV negatív betegben (májbiopszia). Nyíl jelzi a kisszámú magpozitivitást a nagyszámú citoplazma pozitívitás mellett



17. ábra Immunhisztokémiai vizsgálat (100-szoros nagyítás): Malignus lymphoma HCV negatív betegben. Nyíl jelzi a kisszámú citoplazma pozitívitást (az ábra jobb és bal alsó sarkában a kék szín a normál magfestődést jelenti)



18. ábra Immunhisztokémiai vizsgálat (200-szoros nagyítás): Malignus lymphoma, lágyrész plazmocytooma HCV pozitív betegben. Erőteljes mag- (folyamatos nyíl) és citoplazma pozitivitás (szaggatott nyíl) látható.

4.5. CD 19+ B-sejtek apoptózis vizsgálata krónikus C hepatitisekben

Cél:

A HCV apoptózisra kifejtett hatásának tanulmányozása.

Betegek:

Harmincegy krónikus C hepatitises (23 férfi, 15 nő) és 6 NHL-s (2 férfi, 4 nő) beteget vizsgáltunk. A kontroll csoportot 22 egészséges egyen alkotta.

Módszer:

Perifériás vénás vérből származó, CD 19+ B-sejtek apoptózis vizsgálatához fluoresceinnel jelölt Annexin-V flow cytometriai módszert alkalmaztunk (Vermes és mtsai., 1995).

Az apoptózis korai szakaszát a sejt felszínen lejátszódó változások jellemzik. Ezek közé tartozik a foszfatidilserin (phosphatidylserine - PS) molekulának a plazmamembrán belső oldaláról a külső oldalára történő transzlokációja és ezáltal megjelenése a sejt felszínen. Az Annexin-V egy Ca^{2+} -dependens foszfolipidkötő fehérje, mely nagy affinitással kapcsolódik a PS-hez, így az Annexin-V alkalmazása a PS sejt felszíni detektálására egy igen szenzitív módszer. A PS sejt felszínre történő transzlokációja nemcsak apoptózis során zajlik le, hanem a sejtekben végbemenő nekrotikus folyamatokban is megfigyelhető. A kétfajta sejthalál között a különbség abban mutatkozik, hogy az apoptózis kezdeti szakaszában a sejtmembrán intakt, míg nekrosis során már korán elveszti integritását. Így az apoptózis (Annexin-V) detektálásakor sejtmembrán festéket kell alkalmaznunk (propidium jodid - PI) a membránintegritás kimutatására, lehetővé téve a nekrotikus sejtek apoptotikus sejtektől való elkülönítését.

A heparinizált vér szobahőmérsékleten történő ülepitése után a felülúszót Ficoll Paque grádiensre (Pharmacia, Uppsala, Svédország) rétegeztük. 15 percig 1660 rpm-mel centrifugáltuk. A ficoll réteg felszínén kialakult, lymphocytákat tartalmazó gyűrűt pipettával óvatosan leszivtuk és Parker 199 (Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest) tápfolyadékkal 10 percig 2000 rpm-mel centrifugálva mostuk. Ezután a sejteket 2 ml tápfolyadékban szuszpendáltuk, majd a sejt számot 1×10^6 /ml-re állítottuk be. 10^6 sejtet 2 ml PBS-sel 10 percig 2000 rpm-mel centrifugálva mostuk. Ezután 50 μ l PBS-ben reszuszpendáltuk a sejteket, majd FITC jelölt anti-CD 19 (Becton Dickinson) antitesttel 6 μ l/ 10^6 sejt koncentrációban 30 percig szobahőmérsékleten sötétben inkubáltuk azokat.

Az inkubáció után a lymphocytákat mostuk, majd 1 ml Annexin-V jelölő pufferben (10 mM HEPES / NaOH, pH: 7,4, 140 nM NaCl, 2,5 mM CaCl_2) reszuszpendáltuk, és ezt követően 100 μ l-t (100 000 sejt) új csőbe tettük át. A sejteket 15 percig szobahőmérsékleten, sötétben inkubáltuk 10 μ l biotinilált Annexin-V-vel. A sejteket mostuk, majd ismét 100 μ l térfogatban jelöltük őket 10 μ l Streptavidin-APC-vel és 10 μ l propidium jodiddal (PI) szobahőmérsékleten, sötétben 15 percig. A sejtekhez 300 μ l Annexin-V jelölő puffert adtunk és a mintákat flow cytométerrel analizáltuk. Az apoptotikus sejtek Annexin-V pozitívak, a nekrotikus sejtek Annexin-V és PI kettős pozitívak.

A statisztikai értékelést χ^2 próbával végeztük.

Eredmények:

A krónikus C hepatitises betegek közül 31/38 esetben (81,57 %) észleltünk csökkent B-sejt apoptosist, az apoptotikus B-sejtek átlag százaléka HCV-s betegekben $3,87 \pm 0,43$ %, a kontroll csoportban $6,06 \pm 0,59$ %-nak bizonyult ($p < 0,01$).

Csökkent apoptosist figyelhetünk meg valamennyi (6/6) NHL-s betegben is, mely szignifikáns ($p < 0,01$) különbségnek bizonyult az egészségesekhez viszonyítva, ez utóbbi csoportban mindössze 10/22 esetben (45,45 %) észleltünk kórosan alacsony mértékű apoptosist.

Eredményeink azt sugallják, hogy a HCV antiapoptotikus hatása és a csökkent B-sejt apoptosist fontos mechanizmus lehet a HCV lymphoproliferációt okozó folyamataiban.

Eredményeinket a 6. táblázatban és a 19-20. ábrán foglaltuk össze.

6. táblázat Az apoptosist mértékének alakulása HCV infekcióban és NHL-ban szenvedő betegeinkben

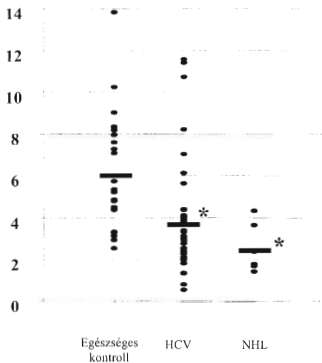
	Egészségesek	HCV	NHL
Esetszám	22	38	6
Csökkent apoptosist	10	31	6
Apoptosist átlag %	$6,06 \pm 0,59$	$3,87 \pm 0,43$	$2,53 \pm 0,47$

$p < 0,01$

N.S.

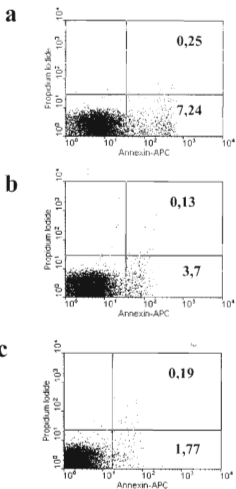
$p < 0,01$

CD19+ B-sejtek Annexin-V pozitivitása



19. ábra Egészséges egyének, hepatitis C vírussal fertőzött betegek és NHL-ben szenvedő betegek CD19+ sejtjeinek Annexin-V pozitivitása

A horizontális vonal reprezentálja az $n = 22$, 38 és 6 meghatározás átlagértékeit. (* $p < 0,01$ egészséges egyénekhez viszonyítva)



20. ábra A flow cytometriás analízis eredményei

Egészséges egyén (a), HCV pozitív (b) és NHL-s beteg (c) CD19⁺ sejtjeinek Annexin-V (x tengely) és propidium jodid (y tengely) pozitívítása

Az ábrákon 3 sejtpopuláció különíthető el:

- élő sejtek: Annexin-V negatív és propidium jodid negatív
- elpusztult sejtek: Annexin-V pozitív és propidium jodid pozitív
- apoptotikus sejtek: Annexin-V pozitív és propidium jodid negatív

4.6. A HCV szerepe a hepatocellularis carcinómában és a lymphómában két esetünk kapcsán

A korábban feldolgozott 42 betegünk közül érdemesnek tartjuk ismertetni annak a kettőnek az esetét, akiknél a B-sejtes NHL és a HCC ritka, szinkron etofordulását észleltük. Közös etiológiai faktorként a HCV infekcióra utalt a májszövet in situ PCR vizsgálatának pozitív eredménye.

I. eset

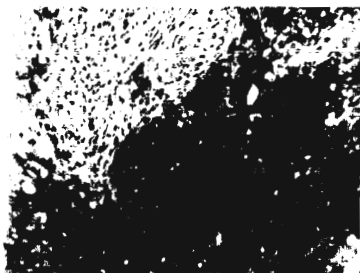
Kórtörténet:

B. L. (29. 07. 05) férfi anamnesisében gyermekkori pleuritis exsudativa, 15 éve ismert hypertonia szerepelt. 1992-ben a bal fülkagylóból kiinduló malignus folyamat (szövettan: Carcinoma spinobasocellulare lob. auric. l.s.) miatt műtét történt a bal oldali parotis eltávolításával. Ellenőrzése alkalmával tumormentesnek találták, 6 havonként tervezték ismételt vizsgálatát. 1996. januárjában gyengeség, szédülés miatt vizsgálták. Laboratóriumi paramétereiből mérsékelten emelkedett vércukor értékre derült fény, s emiatt diétára szorult, de gyógyszert nem szedett.

A beteget 1996. áprilisában vették fel a Pécsi Honvéd Kórház belosztályára 5 hónapja fennálló gyengeség, étvágytalanság, hányinger, hányás és 15 kg-os fogyás panaszával.

Fizikális statusában anaemiás nyálkahártyákat, részarányos mellkast, kiterő rekeszeket, érdes sejtes légzést, plastica meatus acust. ext. l.s.-t, cardiomegaliát, szapora szivhangokat, puha és betapintható hasat, a jobb bordaívét 3 cm-rel meghaladó, tömött, egyenetlen felszínű májat, valamint elérhető lépet írtak le. Alszároedema nem volt tapintható.

Laboratóriumi paramétereit közül GGT: 96 U/L, ALP: 606 U/L, albumin: 33,6 g/l, összfehérje: 57,1 g/l, fvs: 11,9 G/l, Hgb: 4,5 mmol/l, Htc: 22,3 %, TCT: 731, serum Fe: 3 µmol/l, TVK: 30 µmol/l emelendő ki. Hasi ultrahang lelete szerint: a máj bal lebenyében a visceralis felszín közelében egy 90 mm átmérőjű csaknem kerek metastasisnak tűnő vegyes echoszerkezetű terület volt látható. A máj egyébként egyenletesen hiperreflektív, az epehólyag átlagos nagyságú, septált, echomentes, epeúttágulat nem volt látható. A vesék UH képe szabályos, a lép mérsékelten szélesebb, homogén. A mellkas röntgenfelvételen a rekeszek magasan álltak, de a tüdőmezők tiszták. Az oesophago-gastro-bulboscopia ép nyelőcsövet és kis hiatus herniat mutatott. Subcardialisan a mucosa kb. 8 cm hosszan ép, ettől distalisan azonban gyakorlatilag körkörösén infiltrált, zömmel a hátsó falon és a kisgörbületen exulcerált volt és finoman spontán is sanguinált. A folyamat a pylorus szélét is érintette és deformálta, a bulbusban kis polypoid képletek voltak észlelhetők. A fentiek alapján a gyomor distalis kétharmadát infiltráló malignus folyamatot lehetett megállapítani. A gyomor biopsziás minta szövettani vizsgálata kiterjedten infiltráló, atypusos sejtekből felépülő tumor proliferációt igazolt. A tumorsejtek meglehetősen nagymagvúnak tűntek, kifejezett nukleolusszal, immunhisztokémiai reakció segítségével L-26 (CD 20) pozitívak, azaz B-sejtes eredetűnek bizonyultak. A proliferációs (MIB-1) antitesttel történt vizsgálatok során a sejtek mintegy 40-50 %-a pozitív volt, így a tumort magas proliferációs aktivitással járó nagy malignitású csoportba sorolták. Az elváltozás malignus lymphoma, B-sejtes, nagy malignitású típusának felelt meg (leletszám: 6838/96) (21. ábra).



21. ábra CD 20 immunhisztokémiai reakció (200-szoros nagyítás): gyomor lymphoma

A beteg a gasztrointesztinális lymphoma diagnózisának felállítását követően került a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar I. sz. Belgyógyászati Klinikájára.

Fizikális vizsgálatából anaemiás küllem, mindkét alsó végtagi súlyos anasarca illetve ascites emelendő ki, perifériás nyirokcsomó nem volt tapintható. Crista biopszia lymphomára negatív (megtartott haemopoeticus aktivitás, kiérő csontvelőparenchyma, leletszám: 8407/96).

A megismételt hasi ultrahang vizsgálaton a megnagyobbodott máj szerkezete diffúzan, fokozottan reflektált, a bal lebenyben ventralisan, kb. 10x9x9 cm-es, kevert echogenitású, zömében echoszegény, solid képlet valamint néhány apró, 1-1,5 cm-es echoszegény, solid képlet mutatkozott. Epehólyagnak, epeutaknak, lépnek, veséknek megfelelően kóros eltérés nem volt. A gyomorfal kifejezetten megvastagodott (2-3 cm). A nagyerek környezete érdemben nem volt vizsgálható. A máj és lép körül, a belek között, valamint a kismedencében szabad hasúri folyadék látszott. A fentiek alapján multiplex tőrfoglaló folyamatot állapítottak

meg a máj bal lebenyében, amelynek pontos eredetét (metastasis, alapbetegség manifesztációja illetve primer májtumor) a vizsgálat nem tisztázta.

A hasi és kismedencei CT vizsgálat a máj bal lebenyében a 8. és az 5-6. szegmentumra is ráterjedő kb. 10x10x14 cm-es lágyrészenzitivitású, a kontrasztanyagot minimálisan halmozó területet, a máj és a lép körül, valamint a kismedencében a belek között nagy mennyiségű folyadékot jelzett. A gyomor fala körkörösen, de az alsó harmad területén még kifejezettebben megvastagodott. A vizsgált síkokban megnagyobbodott nyirokcsomó nem látszott (22. ábra).



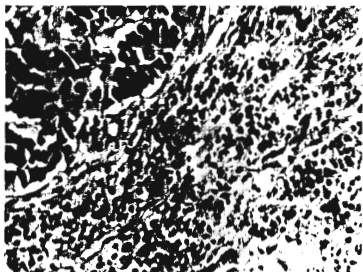
22. ábra Hasi CT felvétel: Solid tumor a máj 8. szegmentumában (szaggatott nyíl) valamint körkörös gyomorfallal megvastagodás (folyamatos nyíl jelzi)

Súlyos cholestaticus enzim eltéréseket észleltünk icterus nélkül (GGT: 1431 IU, ALP: 3470 IU, bilirubin: 15,7 $\mu\text{mol/l}$, LDH: 684 IU). A karbamid nitrogén, kreatinin, összfehérje és albumin értékek fokozatosan romlottak (CN: 15,3-18,1 mmol/l, kreatinin: 164-248 $\mu\text{mol/l}$, összfehérje: 44,1-39,5 g/l, albumin: 28,74 g/l). A béta-2 microglobulin érték a normális tartomány több, mint háromszorosa volt (10,3 mg/l).

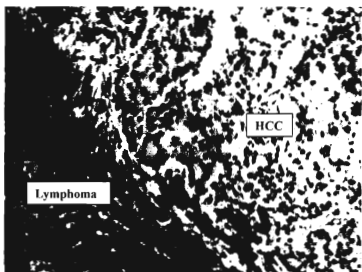
A tisztázatlan eredetű májtérfoglaló folyamat miatt UH kontroll mellett a Radiológiai Klinikán célzott májbiopszia történt a máj bal lebenyének 8. szegmentumában elhelyezkedő tumorból. A szövettani vizsgálat éretlen sejtjes, erősen anaplasticus morfológiájú, kifejezetten proliferáló sejtpopulációt mutatott. A mintán elvégzett alfa-foetoprotein immunhisztokémiai reakció, a sejtek PAS festése túlnyomórészt pozitívnak bizonyult. A fentiek alapján a hisztológiai kép nem felelt meg malignus lymphoma manifesztációjának, hanem hepatocellularis carcinomát igazolt. (Dg.: Hepatocellularis carcinoma. Mintaszám: 8944/96.)

A tumor multiplex lokalizációja és a beteg rossz általános állapota miatt műtéti megoldás nem jött szóba. A súlyos hypoproteinaemia háttérében a májlaesio és a vese – később az autopsia során igazolt - lymphomás érintettsége következtében kialakuló proteinuria állt. A beteg transfúzióra, diuretikus kezelésre szorult. Terminálisan légzési elégtelenség lépett fel, és a tervezett kemoterápia megkezdése előtt akut balszívfél elégtelenség klinikai tüneteiben a beteg exitált. Az autopsiás vizsgálat során derült fény a máj szimultán lymphomás és hepatocellularis carcinomás infiltrációjára.

A kórboncolás során nyert májminta immunhisztokémiai vizsgálata során készült metszeteket mutatják be az alábbi ábrák (23-24. ábra).



23. ábra Hematoxilin eosin festés (200-szoros nagyítás): egymás mellett láthatók a májcarcinomás és a lymphomás sejtek



24. ábra CD 20 immunhisztokémiai reakció (200-szoros nagyítás): negatív zóna a HCC-s, mellette a lymphomás sejtek pozitív reakciója

Kérésünkre - a beteg halálát követően 3 évvel később - a Semmelweis Egyetem I. sz. Pathológiai Intézetében a májbiopsziás mintákon elvégezték a HCV-RNS kimutatására szolgáló in situ HCV reverz transzkriptáz (RT) PCR vizsgálatot, mely a lymphomás (25. ábra) és a HCC sejtekben (26. ábra) is pozitív eredményt adott.



25-26. ábra In situ HCV RT-PCR vizsgálat: a HCV pozitív reakciója lymphomás sejtekben (fent, 150-szeres nagyítás) illetve HCC-s sejtekben (lent, 250-szeres nagyítás)

A 27. ábra a HCV-re negatív kontroll májbiopsziás minta in situ RT-PCR vizsgálat eredményét mutatja.

27. ábra **In situ HCV RT-PCR vizsgálat (250-szeres nagyítás): negatív kontroll (májbiopsziás minta)**

II. eset

Kórtörténet:

L.I. (30.10.05.) nőbeteg kórelőzményében tonsillectomia (1960), magas vérnyomás betegség (1974), cholecystectomia (1976) szerepelt. 1975-ben izületi panaszok miatt járt a Pécsi Orvostudományi Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinika Immunológiai szakrendelésén, ahol rheuma faktor pozitívítást találtak. 1988-ban diagnosztizálták krónikus hepatitisét, cirrhosis hepatis, ascitist. Krónikus aktív hepatitisének háttérében hepatitis C vírus fertőzés állt. 1993-ban köldök sérv miatti preoperatív vizsgálat derítette ki anaemiáját, melynek háttérében lymphoma lehetősége is felmerült, ezt azonban az ismételt csontvelő biopsziával sem sikerült alátámasztani (kiérő csontvelői haemopoiesis, microcyter erythroid vonal). 1994-ben elvégzett májbiopszia multiplex máj térfoglalás háttérében hepatocellularis carcinomát igazolt.

1995. január 5-én került felvételre Klinikánk Haematológiai osztályára haematemesis, melaena miatt. Súlyos anaemiája (vvt: 1,82 T/l, Hgb: 55 g/l, Htc: 15,9 %) háttérében a gastroscopia Paquet III-IV. stádiumú oesophagus varicositast igazolt, mely a vérzés forrásaként szerepelhetett, sclerotherápia egy alkalommal történt. Átmeneti állapotstabilizálás után 4 nappal később újravérzés jelentkezett, Sengstaken-Blakemore szonda lehelyezése, transzfúzió, friss fagyasztott plazma adása ellenére állapota romlott, bőrvérzés lépett fel és a beteg akut bal kamra elégtelenség, cardiorespiratoricus összeomlás tünetei között exitált.

A kórboncolás során a klinikailag ismert alapbetegség (Hepatitis C vírus fertőzés talaján kialakult cirrhosis hepatis, hepatocellularis carcinoma, oesophagus varicositas Paquet III-IV.) mellett a máj mérsékelt malignitású kislymphocytás lymphomáját találták. Autopsia során a makroszkóposan hepatomának imponáló területből történt kimetszésben hepatoma

szöveti képe volt látható, a portalis terekben lévő tömeges kislymphocytás beszűrődés immunhisztokémiailag B-lymphocytának bizonyult (CD3, L26). A lép illetve esontvelő kimetszésben valamint a nyirokesomókban kislymphocytás lymphomás beszűrődés volt észlelhető, csakúgy, mint a tüdőparenchymában a capillárisok körül illetve az interstitiumban.

Betegeink esetében készült szövettani metszetek jól demonstrálják a máj egyidejű lymphomás és hepatocellularis infiltrációját, a két betegség ritka társulását. A közös etiológiai faktorként felmerülő HCV infekció jelenlétét az in situ HCV RT-PCR vizsgálat megerősítette (Gasztonyi és mtsai., 2000 c).

1996-ban Angliában 2 HCV okozta HCC-ben szenvedő betegben közöltek NHL-t (Brind és mtsai., 1996). 1996-ban Japánban egy HCC-s betegben malignus lymphoma derült ki (Toyoda és mtsai., 1996).

Más szerzők szintén Japánban krónikus HBV fertőzést követő HCC-s betegben az autopsia során B-sejtes lymphomát igazoltak a májban és a csontvelőben. Felvetették a HBV infekció szerepét mindkét malignitásban (Shikuwa és mtsai., 1996).

Japán szerzők egy 75 éves férfi beteg esetét ismertették, aki HCV infekciót követően akut májelégtelenségben hunyt el. Autopsia során derült fény B-sejtes NHL májérintettségére (Yoshikawa és mtsai., 1998).

Spányol beteganyagban 2 NHL-s beteget találtak, akiknek egyidejűleg HCV fertőzésük is volt, és felvetették a HCV etiológiai szerepét ezen malignus betegségek kialakulásában (Perez és mtsai., 1998).

MEGBESZÉLÉS ÉS ÖSSZEFOGLALÁS

Az oncogenesis multifaktoriális folyamat, amelyben környezeti, genetikai és infekciós tényezők egyaránt jelentőséget kaphatnak. A humán daganatok kb. 15 %-ában feltételezik specifikus vírusok kóroki szerepét (Ferri és mtsai., 1997), amelyek közül az EBV jelenléte a Burkitt lymphomában, a Human papilloma vírus az anogenitalis carcinomában, vagy a HBV és HCV a HCC-ben jól ismertek.

A HCV egyaránt hepatotrop és lymphotrop ágens. A vírus hepatotrop sajátosságára utal, hogy HCV infekciót követően krónikus hepatitis, cirrhosis és HCC alakulhat ki. Újabban a lymphotrop sajátossága, B-sejt proliferációt indukáló hatása is az érdeklődés előterébe került, a B-sejtes NHL mellett gyakrabban előforduló HCV pozitivitás alapján.

Hazai beteganyagban erre vonatkozó adatok azonban nem voltak korábban ismertek.

I.

Magunk 42 non-Hodgkin lymphomában szenvedő betegben állapítottuk meg a HCV infekció prevalenciáját, egyidejűleg a HBV, CMV és EBV vírusmarkerek meghatározásával, valamint a humorális immunválasz mutatóinak vizsgálatával. Eredményeink a HCV gyakoribb előfordulását jelezték B-sejtes lymphomában. 23,8 %-ban észleltünk NHL-s betegeink között HCV infekciót, HBsAg pozitívítást azonban egyetlen esetben sem (Gasztonyi és mtsai., 2000 a).

Nem zárható ki, hogy a HCV egy másik vírus (pl. EBV) látens infekcióját reaktiválja, és így fejti ki carcinogenetikai hatását. E feltételezést saját eredményeink is támogatják, bár aktuális EBV infekció csak a vizsgáltak 7,7 %-ban volt igazolható, valamennyi betegünk korábban átesett EBV infekción. A lezajlott CMV fertőzésre utaló magas IgG titer a betegek 92,3 %-ában volt kimutatható.

Rheuma faktor pozitivitást 27,7 %-ban, cryoglobulinaemiát 20 %-ban találtunk.

CLL-s betegeknel észleltük a legnagyobb HCV prevalenciát (40 %), ezt követte a follicularis és a DLCL (20-20 %) szövettani kategória.

Eredményeink azt bizonyítják, hogy a HCV infekcionak etiologiai szerepe lehet a következményes lymphoproliferatoban, amely B-sejtes NHL kialakulásához vezethet.

A HCV cytopathogen hatása nemcsak a hepatocytákon érvényesül, mivel pathogén hatás igazolható a nyálmirigyeken, a perifériás vérben lévő monocytákon és a lymphoid sejteken is. A HCV policelluláris hatása magyarázatul szolgálhat arra, hogy a HCV infekció szisztémás manifesztáció kialakulásához is vezet. A HCV aktiválja a B és T sejteket. módosítja az immunválaszt. lymphoproliferatiót okozhat, és ezzel alapját képezi a B-sejtes NHL kialakulásának. A B-sejtes NHL többségében az immunglobulin nehézlánc (IgH) gének az ontogenezis korai stádiumában átrendeződnek, majd a sejt felszínen tovább expresszálódnak. Az IgH génátrendeződésének vizsgálatával a lymphoproliferatív betegségek klonalitása bizonyítható, ami a sejtproliferatio B-sejtes eredetének tisztázásában diagnosztikus segítséget jelent.

II.

Hatvanöt idült HCV hepatitiszes betegben elemeztük az IgH génátrendeződést. Igazoltuk azt a feltételezést, miszerint a cryoglobulinaemia közbülső lépésként szerepelhet a HCV B-sejt proliferatiót és lymphomát előidéző folyamataiban.

A 65 beteg 12,30 %-ában volt kimutatható az IgH génátrendeződés, ebből 5 (62,50 %) szenvedett cryoglobulinaemiában. 54 esetben (83,07 %) negatív volt a vizsgálat. Az IgH-ra pozitív esetek között nem volt különbség a nemek között (4 férfi-, 4 nőbeteg).

Cryoglobulin meghatározás 12/65 (18,46 %) esetben adott pozitív eredményt. közülük 5 esetben (41,66 %) IgH1 génátrendeződés is igazolható.

40 éves életkor alatt lényegesen kevesebb betegben észleltünk nehézlánc génátrendeződést (2 esetben), mint 40 év felett (6 esetben). Hasonló különbséget figyelhetünk meg a cryoglobulinemia előfordulásában is: 40 év alatt mindössze 2 esetben, míg 40 év felett 10 esetben észleltünk cryoglobulinémiát.

Cryoglobulinaemia klinikai megnyilvánulását mindössze három esetben észleltük. Henoch-Schönlein purpura, cerebialis vasculitis illetve alsó végtagi vasculitis képében.

Eredményeink alapján úgy véljük, hogy a HCV fertőzött betegekben az IgH1 génátrendeződés vizsgálata korai stádiumban jelezheti a lymphoproliferatív betegséget, másrészt a cryoglobulinaemia közbülső lépésként szerepelhet a HCV B-sejt proliferációt és lymphomát okozó folyamatában (Gasztonyi és mtsai., 2002).

III.

Feltételezve, hogy a HCV core proteinnek azáltal van szerepe a vírusfertőzés perzisztálásában és az oncogenesisben, hogy aktiválja az NF- κ B-t és gátolja az apoptosist, harmadik vizsgálat sorozatunkban az NF- κ B transzkripciós faktor aktivitását mértük idült C hepatitisekben és B-sejtes NHL-ban.

EMSA vizsgálattal kapott eredményeink azt mutatták, hogy valamennyi krónikus HCV infekcióban szenvedő, valamint 13 NHL-s közül 10 beteg (76,92 %) lymphocytájában az aktivált NF- κ B kimutatható volt, míg az egészséges, HCV negatív egyénekből álló kontroll csoportban egyetlen egy esetben sem fordult elő. A fentiek alapján feltételezhető, hogy az aktivált transzkripciós faktornak szerepe lehet a két betegség társulásában.

Az NF- κ B transzkripciós faktor kimutatását idült C hepatitis és HCC-s betegek májbiopsziás valamint NHL-s betegek nyirokcsomó biopsziás mintáin immunhisztokémiai

módszerrel is elvégeztük. A 8 HCV pozitív beteg májbiopsziás mintájából 7 esetben észleltünk citoplazma pozitivitást, egy esetben sejtmagfestődést is.

A HCV pozitív HCC-s beteg májbiopsziás mintájában a sejtmagban is nagyszámú NF- κ B volt kimutatható, míg a HCV negatív HCC-s beteg mintájában csak kisszámú magpozitívítást észleltünk a nagyszámú citoplazma pozitivitás mellett. Hasonlóan a HCV negatív malignus lymphomás beteg nyirokcsomó biopsziás mintájában mindössze kisszámú citoplazma pozitívítást detektáltunk magpozitívítás nélkül. A lágyrész plazmocytomás HCV pozitív beteg nyirokcsomó mintájában azonban erőteljes mag- és citoplazma pozitívítás is kimutatható volt.

IV.

Tanulmányoztuk HCV pozitív betegek vérében a CD 19+ B-sejtek apoptosísának mértékét. Vizsgálatainkkal azt találtuk, hogy a 38 C hepatitises beteg közül 31 esetében (81,57 %) észleltünk csökkent B-sejt apoptosist, az apoptotikus B-sejtek átlag százaléka HCV-s betegekben $3,87 \pm 0,43$ %, a kontroll csoportban $6,06 \pm 0,59$ %-nak bizonyult ($p < 0,01$).

Eredményeink azt a feltevést támasztják alá, hogy a HCV antiapoptotikus hatása, és az NF- κ B aktiváció, valamint a csökkent B-sejt apoptosist fontos mechanizmus lehet a HCV lymphoproliferációt okozó folyamataiban.

V.

Fontosnak tartottuk két olyan betegünk esetét ismertetni, akiknél a B-sejtes NHL és a HCC ritka szinkron előfordulását észleltük. Közös etiológiai faktorként a HCV infekcióra utalt a májszövet in situ PCR vizsgálat pozitív eredménye.

AZ ÉRTEKEZÉSBŐL LEVONHATÓ MEGÁLLAPÍTÁSOK ÉS AZOK GYAKORLATI JELENTŐSÉGEI

1. Eredményeink arra utalnak, hogy a hepatitis C vírusnak etiológiai szerepe van a lymphoproliferatióban, amely később alapját képezheti a B-sejtes non-Hodgkin lymphoma kialakulásának;

2. Az irodalmi adatokkal egyezően, a cryoglobulinaemia közbülső lépésként szerepelhet a HCV B-sejt proliferációt és lymphomát okozó folyamatában;

3. Lymphoma kialakulására fokozottan veszélyeztetettek azok a HCV pozitív betegek, akiknél cryoglobulinaemia igazolható;

4. HCV pozitív betegekben az IgH génátrendeződés vizsgálata korai stádiumban jelezheti a lymphoproliferatív betegséget;

5. Indokoltak tartjuk a B-sejtes non-Hodgkin lymphomás betegek szűrését HCV infekcióra illetve a HCV pozitív betegek szűrését cryoglobulinaemiára;

6. HCV pozitív B-sejtes non-Hodgkin lymphomában megfontolandó előtérbe helyezni olyan jelenleg is elfogadott kezelésmódokat, amelyek része az IFN is (pl: CHVP + IFN-alfa 2b vagy ProMACE / MOPP és fenntartó terápiaként IFN-alfa 2b vagy Chl / IFN-alfa 2b).

7. Krónikus C hepatitiseselek, különösen a cryoglobulinaemiás betegek utánkövetését javasoljuk nemcsak HCC, hanem lymphoma irányában is;

8. Magas cryoglobulin szinttel járó vasculitis esetén mérlegelendő az IFN terápia alkalmazása, amely nemcsak a cryoglobulin szaporulat visszaszorítására, hanem a következményes hematológiai malignitás kivédésére is alkalmas lehet;

9. Az EMSA egyszerű, a mindennapi használatban alkalmas vizsgálat az aktivált NF- κ B kimutatására. Ezzel a módszerrel mind a B-sejtes NHL-s, mind a krónikus HCV infekcióban szenvedő betegek lymphocytájában kimutatható volt az aktivált NF- κ B.

Feltételezzük, hogy az aktivált transzkripciós faktornak szerepe lehet a két betegség társulásában;

10. Krónikus C hepatitises betegekben a perifériás vér CD 19+ B-sejtek apoptózisának csökkenését igazoltuk, felvetve azt a lehetőséget, hogy a HCV antiapoptotikus hatása.

Az NF- κ B aktiváció és a csökkent B-sejt apoptózis fontos mechanizmus lehet a HCV lymphoproliferációt okozó folyamataiban.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton mondok köszönetet elsokent **Prof. Dr. Mózsik Gyula** egyetemi tanárnak, aki kezdetben belgyógyász csoportvezetőként, majd tudományos diákkör vezetőként, később munkahelyi főnökömként - mind a klinikai munkában, mind a tudományos tevékenységben - példát mutatót és segített, aki mind szakmailag, mind emberileg mindig mellettem állt, és akinek ösztönzése nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre.

Hálásan köszönöm **Prof. Dr. Pár Alajos** egyetemi tanárnak, a hepatológiai munkacsoport vezetőjének kiemelkedő szakmai támogatását és hasznos útmutatásait.

Köszönettel tartozom **Prof. Dr. Schaff Zsuzsának, Dr. Kiss Katalinnak, Dr. Kereskai Lászlónak és Dr. Szereday Lászlónak**, akik kísérleti tervem megvalósításához jelentős segítséget nyújtottak, ötletekkel, hasznos tanácsokkal láttak el.

Gedeon Mercedesz, Hantosí Márta, Garainé Keresztúri Mária, Rozsnyai Blanka asszisztensek és **Vass János** tudományos munkatárs Ph.D. munka kísérleti részében szereztek elévülhetetlen érdemeket.

Köszönöm **Dr. Szomor Árpád** hematológus kollégámnak a lymphomás betegek vizsgálatában nyújtott értékes együttműködését, továbbá **Prof. Dr. Figler Mária, Prof. Dr. Tóth Kálmán, Dr. Rumi György, Dr. Márton Zsolt, Dr. Juricskay István, Dr. Pakodi Ferenc, Dr. Fábián Zsolt, Prof. Dr. Szeberényi József, Dr. Battyány István és Dr. Bán Ildikó** önzetlen segítségét is.

Mindenekelőtt azonban Családomnak, elsősorban Férjemnek, **Dr. Papp Elődnek** tartozom hálával, aki ösztönzött, segített, támogatott a Ph.D. munkám megírásában, biztosította hozzá az ideális feltételeket, magára vállalva ennek minden terhét, és aki a legnehezebb időszakokban is türelemmel elviselt.

A munka ETT 34/2000 és OTKA 034343 támogatásával készült.

IRODALOM

1. Amiel A., Kitay-Cohen Y., Feigin M.D., Lishner M.: Replication status as a marker for predisposition for lymphoma in patients with chronic hepatitis C with and without cryoglobulinemia. *Exp. Hematol.* (2000) 28: 156-160.
2. Arnold A., Cossman J., Bakhshi A., Jaffe E.S., Waldmann T.A., Korsmeyer S.J.: Immunoglobulin-gene rearrangements as unique clonal markers in human lymphoid neoplasms. *N. Engl. J. Med.* (1983) 309: 1593-1599.
3. Baeuerle P.A., Baltimore D.: Activation of DNA-binding activity in an apparently cytoplasmic precursor of the NF-kappa B transcription factor. *Cell* (1988) 53: 211-217.
4. Baeuerle P.A., Baltimore D.: NF-kappa B: ten years after. *Cell* (1996) 87: 13-20.
5. Baeuerle P.A., Henkel T.: Function and activation of NF-kappa B in the immun system. *Ann. Rev. Immunol.* (1994) 12: 141-179.
6. Baldwin A.S. Jr.: The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Ann. Rev. Immunol.* (1996) 14: 649-683.
7. Bargou R.C., Emmerich F., Krappmann D., Bommert K., Mapara M.Y., Arnold W., Royer H.D., Grinstein E., Greiner A., Scheidereit C., Dorken B.: Constitutive nuclear factor-kappaB-RelA activation is required for proliferation and survival of Hodgkin's disease tumor cells. *J. Clin. Invest.* (1997) 100: 2961-2969.
8. Bartenschlager R., Ahlborn-Laake L., Mous J., Jacobsen H.: Nonstructural protein 3 of the hepatitis C virus encodes a serine-type proteinase required for cleavage at the NS3/4 and NS4/5 junction. *J. Virol.* (1993) 67: 3835-3844.
9. Bazan J.F., Fletterrick J.: Detection of a trypsin-like serine protease domain in flavivirus and pestiviruses. *Virology* (1989) 172: 637-639.

10. Beg A., Baltimore D.: An essential role for NF- κ B in preventing TNF- α -induced cell death. *Science* (1996) 274: 782-784.
11. Beg A.A., Ruben S.M., Scheinman R.I., Haskill S., Rosen C.A., Baldwin A.S. Jr.: κ B interacts with the nuclear localization sequences of the subunits of NF- κ B: a mechanism for cytoplasmic retention. *Genes Dev.* (1992) 6: 1899-1913.
12. Bours V., Villalobos J., Burd P.R., Kelly K., Siebenlist U.: Cloning of a mitogen-inducible gene encoding a κ B DNA-binding protein with homology to the rel oncogene and to cell-cycle motifs. *Nature* (1990) 348: 76-80.
13. Brind A.M., Watson J.P., Burt A., Kestevan P., Wallis J., Proctor S.J., Bassendine M.F.: Non-Hodgkin's lymphoma and hepatitis C virus infection. *Leuk-Lymphoma*. (1996) 21: 127-130.
14. Cacoub P., Lunel F., Musset L., Opolon P., Piette J.C.: Hepatitis C virus and cryoglobulinemia. *N. Engl. J. Med.* (1993) 328: 1121-1122.
15. Caligaris Cappio F., De Leo A.M., Bertero M.T.: Autoimmune phenomena and hepatitis C virus in lymphoproliferative and connective tissue disorders. *Leuk-Lymphoma*. (1997) 28: 57-63.
16. Camps J., Cordoba J., Esteban J.I.: Pathophysiology of chronic hepatitis C. In: *Progress in Hepatology*, Miguet J.P., Dhumeaux D., Libbey J. (eds.) Eurotex, Paris (1993) 63-68.
17. Canavese C., Hollo Z., Ciccone G., Ghisetti V., Barbui A., Fop F., Martina G., Forgnone F., Novo P., Thea A., Grill A., Marchiaro G.: Extrahepatic immunological manifestations of hepatitis C virus in dialysis patients. *J. Nephrol.* (2000) 13: 352-359
18. Carman W.F., Thomas H.C.: Genetic variation in hepatitis B. *Gastroenterology* (1992) 102: 538-543.
19. Chebat J., Bessech P., Mory Y.: IFN and 2'5' oligo A synthetase in cell growth and in differentiation of hematopoietic cells. In: *Friedman R.M., Merigan T., Sreevalsan T.*

- (eds.) Interferons as cell growth inhibitors and antitumor factors. Alan Liss, New York (1986) 351-389.
20. Chiramonte M., Farinati F., Faginolli S.: Antibody to hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma. *Lancet* (1990) 335: 300-302.
 21. Choo Q.L., Kuo G., Weiner A.J., Overby L.R., Bradley D.W., Houghton M.: Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* (1989) 244: 359-362.
 22. Collier J.D., Zanke B., Moore M., Kessler G., Krajden M., Shepherd F., Heathcote J.: No association between hepatitis C and B-cell lymphoma. *Hepatology* (1999) 29: 1259-1261.
 23. Colombo M., Kuo G., Choo Q.P., Donato M.F., Del Ninno E., Tommasini M.A., Dioguardi N., Houghton M.: Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. *Lancet* (1990) 2: 1006-1008.
 24. Cressman D.E., Greenbaum L.E., Haber B.A., Taub R.: Rapid activation of post-hepatectomy factor / nuclear factor kB in hepatocytes, a primary response in the regenerating liver. *J. Biol. Chem.* (1994) 48: 30429-30435.
 25. Cressman D.E., Taub R.: I kappa B alpha can localize in the nucleus but shows no direct transactivation potential. *Oncogene* (1993) 8: 2567-2573.
 26. Cucuianu A., Patiu M., Duma M., Basarab C., Soritau O., Bojan A., Vasilache A., Mates M., Petrov L.: Hepatitis B and C virus infection in Romanian non-Hodgkin's lymphoma patients. *Br. J. Haematol.* (1999) 107: 353-356.
 27. Dammacco F., Gatti P., Sansonno D.: Hepatitis C virus infection, mixed cryoglobulinemia and non-Hodgkin's lymphoma: an emerging picture. *Leuk-Lymphoma*. (1998) 31: 463-476.

28. Dammacco F., Sansonno D., Piccoli C., Racanelli V., D'Amore F.P., Lauletta G.: The lymphoid system in hepatitis C virus infection: autoimmunity, mixed cryoglobulinemia and Overt B-cell malignancy. *Semin. Liver Dis.* (2000) 20: 143-157.
29. DeJardin E., Bonizzi G., Bellahcene A., Castronovo V., Merville M.P., Bours V.: Highly-expressed p100/p52 (NFkB2) sequesters other NF-kappa B-related proteins in the cytoplasm of human breast cancer cells. *Oncogene* (1995) 11: 1835-1841.
30. Doerre S., Corley RB.: Constitutive nuclear translocation of NF-kappa B in B cells in the absence of I kappa B. *J. Immunol.* (1999) 163: 269-277.
31. Eble K., Clemens J., Krenc C., Rynning M., Stojak J., Stuckmann J., Hutten P., Nelson L., DuCharme L., Hojvat S.: Differential diagnosis of acute viral hepatitis using rapid, fully automated immunoassay. *J. Med. Virol.* (1991) 33: 138-150.
32. Ellenrieder V., Weidenbach H., Frickhofen N., Michel D., Prummer O., Klatt S., Bernas O., Mertens T., Adler G., Beckh K.: HCV and HGV in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J. Hepatol.* (1998) 28: 34-39.
33. Exley R., Gordon J., Nathan P., Walker L., Clemens M.J.: Antiproliferative effects of interferons on Daudi Burkitt-lymphoma cells; induction of cell differentiation and loss of response to autocrine growth factors. *Int. J. Cancer* (1987) 40: 53-59.
34. Fausto N.: Liver regeneration. *J. Hepatol.* (2000) 32 (Suppl.1.): 19-31.
35. Fehér J., Lengyel G., Bálint T.: Interferon alpha-2b és ribavirin kombinált kezelés krónikus C hepatitisben. 100 beteg egy évig tartó kezelése során szerzett tapasztalatok. *Orv. Hetil.* (1999) 140: 1235-1238.
36. Ferri C., Caracciolo F., Zignego A.L., La Civita L., Monti M., Longombardo G., Lombardini F., Greco F., Capochiani E., Mazzoni A.: Hepatitis C virus infection in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Br. J. Haematol.* (1994) 88: 392-394.

37. Ferri C., La Civita L., Longombardo G., Zignego A.L., Pasero G.: Mixed cryoglobulinaemia: a cross-road between autoimmune and lymphoproliferative disorders. *Lupus* (1998) 7: 775-779.
38. Ferri C., La Civita L., Zignego A.L., Pasero G.: Viruses and cancers: possible role of hepatitis C virus. *Eur. J. Clin. Invest.* (1997) 27: 711-718.
39. Ferri C., Monti M., La Civita L., Longombardo G., Greco F., Pasero G., Gentilini P., Bombardieri S., Zignego A.L.: Infection of peripheral blood mononuclear cells by hepatitis C virus in mixed cryoglobulinaemia. *Blood* (1993) 82: 3701-3704.
40. Ferri C., Zignego A.L., Bombardieri S., La Civita L., Longombardo G., Monti M., Lombardini F., Greco F., Pasero G.: Etiopathogenetic role of hepatitis C virus in mixed cryoglobulinemia, chronic liver diseases. *Clin. Exp. Rheumatol.* (1995) 13: (Suppl.13.) 35-40.
41. Fishleder A., Tubbs R., Hesse B., Levine H.: Uniform detection of immunoglobulin-gene rearrangement in benign lymphoepithelial lesion. *N. Engl. J. Med.* (1987) 316: 1118-1121.
42. Gabrielli A., Manzin A., Candela M., Caniglia M.L., Paolucci S., Danieli M.G., Clementi M.: Active hepatitis C virus infection in bone marrow and peripheral blood mononuclear cells from patients with mixed cryoglobulinaemia. *Clin. Exp. Immunol.* (1994) 97: 87-93.
43. Galli M., Pioltelli P., Zehender G., Monti G., Monteverde A.: HCV and lymphomagenesis. *Lancet* (1996) 348: 275.
44. Gasztonyi B., Pár A., Szomor Á., Nagy Á., Kereskai L., Losonczy I., Pajor L., Horányi M., Mózsik Gy.: A hepatitis C virus infekció és B-sejtes non-Hodgkin lymphoma. *Orv. Hetil.* (2000) 141: 2649-2651.

45. Gasztonyi B., Pár A., Szomor Á., Battyány I., Nagy Á., Kereskai L., Losonczy H., Mózsik Gy.: Hepatitis C virus (HCV) infection associated with B-cell non-Hodgkin's lymphoma in Hungarian patients. *Brit J Haematol* (2000) 110: 497-498.
46. Gasztonyi B., Pár A., Szomor Á., Battyány I., Nagy Á., Kereskai L., Losonczy H., Schaff Zs., Boriszlova P., Pakodi F., Pajor L., Mózsik Gy.: B sejtes non Hodgkin lymphoma és hepatocellularis carcinoma együttes előfordulása. Esetismertetés. *Magyar Belorvosi Archivum* (2000) 53: 343-346.
47. Gasztonyi B., Pár A., Kereskai L., Pajor L., Kiss K., Szeberényi J., Mózsik Gy.: Hepatitis C vírus infekció és immunglobulin nehézlánc génátrendeződés. *Orv. Hetil.* 2002 (közlésre elfogadva)
48. Gervain J., Simon G., Papp I., Szabó B.K.: A magyarországi krónikus C vírushepatitis betegek vírus típus- és szub típus meghatározása. *Orv. Hetil.* (2001) 25: 1315-1319.
49. Ghosh S., Baltimore D.: Activation in vitro of NF-kappa B by phosphorylation of its inhibitor I kappa B. *Nature* (1990) 344: 678-682.
50. Ghosh S., Gifford A.M., Riviere L.R., Tempst P., Nolan G.P., Baltimore D.: Cloning of the p50 DNA binding subunit of NF-kappa B: homology to rel and dorsal. *Cell* (1990) 62: 1019-1029.
51. Gilmore T.D.: The Rel/NF-kB signal transduction pathway: introduction. *Oncogene* (1999) 18: 6842-6844.
52. Guttridge D. C., Albanese C., Reuther J. Y., Pestell R. G., Baldwin A. S. Jr.: NF-kB controls cell growth and differentiation through transcriptional regulation of cyclin D1. *Mol. Cell. Biol.* (1999) 8: 5785-5799.
53. Hadziyannis S.J.: Nonhepatic manifestations and combined diseases in HCV infection. *Dig. Dis. Sci.* (1996) 41: 63-74.

54. Hanley J., Jarvis L., Simmonds P., Parker A., Ludlam C.: HCV and non-Hodgkin lymphoma. *Lancet* (1996) 347: 1339.
55. Harfast B., Huddlestone J.R., Casali P., Merigan T.C., Oldstone M.B.: Interferon acts directly on human B lymphocytes to modulate immunoglobulins synthesis. *J. Immunol.* (1991) 127: 2146-2150.
56. Hausfater P., Cacoub P., Rosenthal E., Bernard N., Loustaud-Ratti V., Le Lostec Z., Laurichesse H., Turpin F., Ouzan D., Grasset D., Perrone C., Cabrol M.P., Piette J.C.: Hepatitis C virus infection and lymphoproliferative diseases in France: a national study. The GERMIVIC Group. *Am. J. Hematol.* (2000) 64: 107-111.
57. Heike L.P.: Activators and target genes Rel/NF-kB transcription factors. *Oncogene* (1999) 18: 6853-6866.
58. Heimann R.: Cirrhosis and lymphoproliferative disorders. *Lancet* (1971) II: 101.
59. Hiddemann W., Longo D.L., Coiffier B., Fisher R.I., Cabanillas F., Cavalli F., Nadler L.M., De Vita V.T., Lister T.A., Armitage J.O.: Lymphoma classification - the gap between biology and clinical management is closing. *Blood* (1996) 88: 4085-4089.
60. Kaneko S., Unoura M., Kobayashi K., Kuno K., Murakami S., Hattori N.: Detection of serum hepatitis C virus RNA. *Lancet* (1990) I: 976.
61. Karin M.: How NF-kappaB is activated: the role of the I-kappaB kinase (IKK) complex. *Oncogene* (1999) 18: 6867-6874.
62. Kieran M., Blank V., Logeat F., Vandekerckhove J., Lottspeich F., Le Bail O., Urban M.B., Kourilsky P., Baeuerle P.A., Israel A.: The DNA binding subunit of NF-kappa B is identical to factor KBF1 and homologous to the rel oncogene product. *Cell* (1990) 62: 1007-1018.
63. King P.D., Wilkes J.D., Diaz-Arias A.A.: Hepatitis C virus infection in non-Hodgkin's lymphoma. *Clin. Lab. Haematol.* (1998) 20: 107-110.

64. Kuniyoshi M., Nakamura M., Sakai H., Enjoji M., Kinukawa N., Kotoh K., Fukutomi M., Yokota M., Nishi H., Iwamoto H., Uike N., Nishimura J., Inaba S., Maeda Y., Nawata H., Muta K.: Prevalence of hepatitis B or C virus infections in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J. Gastroenterol. Hepatol.* (2001) 2: 215-219.
65. Lai M.E., Mazzoleni A.P., Argioli F., De Virgili S., Balestrieri A., Purcell R.H., Cao A., Farci P.: Hepatitis C virus in multiple episodes in polytransfused thalassemic children. *Lancet* (1994) 343: 388-390.
66. Lauer G.M., Walker B.D.: Hepatitis C virus infection. *New Engl. J. Med.* (2001) 345: 41-52.
67. László T., Kelényi G., Matolesy A.: B-sejtes lymphoproliferatív kórképek klonalitásának elemzése immunglobulin nehézlánc polimeráz láncreakció segítségével. *Orv. Hetil.* (1996) 137: 1963-1967.
68. Lau J.Y., Wright T.L.: Molecular virology and pathogenesis of Hepatitis B. *Lancet* (1993) 342: 1335-1340.
69. Lohmann V., Korner F., Koch J., Herian U., Theilmann L., Bartenschlager R.: Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* (1999) 285: 110-113.
70. Lohr H.F., Gerken G., Michel G., Braun H.B., Meyer zum Buschenfelde K.H.: In vitro secretion of anti-GOR protein and anti-HCV antibodies in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterol.* (1994) 107: 1443-1448.
71. Luppi M., Longo G., Ferrari M.G., Barozzi P., Marasca R., Morselli M., Valenti C., Mascia T., Vandelli L., Vallisa D., Cavanna L., Torelli G. Clinico-pathological characterization of hepatitis C virus-related B-cell non-Hodgkin's lymphomas without symptomatic cryoglobulinemia. *Ann. Oncol.* (1998) 9: 495-498.
72. Luque I., Gelinas C.: Rel/NF-kappa B and I kappa B in oncogenesis *Semin Cancer Biol.* (1997) 8: 103-111.

73. Martin P.: Hepatitis C genotypes. The key to pathogenesis. *Ann. Intern. Med.* (1995) 122: 227-228.
74. Matolcsy A., Borbényi Z., Demeter J., Egyed M., Fekete S., Földi J., Gergely L., Kajtar P., Kelényi G., Kiss A., László I., Lehoczky D., Losonczy H., Nagy M., Pál K., Pálóczy K., Radványi G., Semszi I., Varga G., Udvardy M.: A minimális reziduális betegség kimutatása B-sejtes tumorok esetében az immunglobulin nehézlánc géneire specifikus polimeráz láncreakció segítségével. *Orv. Hetil.* (2000) 141: 1403-1406.
75. Mazzaro C., Carniello G.S., Colle R., Doretto P., Mazzi G., Crovatto M., Santini G.F., Tulissi P., Gregoretto M., Mazzoran L., Russo A., Silvestri F., Pozzato G.: Interferon therapy in HCV-positive mixed cryoglobulinaemia: viral and host factors contributing to efficacy of the therapy. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.* (1997) 4: 343-350.
76. Mazzaro C., Tulissi P., Moretti M., Mazzoran L., Pussini E., Crovatto M., Santini G.F., Pozzato G.: Clinical and virological findings in mixed cryoglobulinaemia. *J. Int. Med.* (1995) 2: 153-160.
77. Mazzaro C., Franzin F., Tulissi P.: Regression of monoclonal B-cell expansion in patients affected by mixed cryoglobulinemia responsive to α -Interferon therapy. *Cancer* (1996) 77: 2604-2613.
78. Mazzaro C., Zagonel V., Monfardini S., Tulissi P., Pussini E., Fanni M., Sorio R., Bortolus R., Crovatto M., Santini G., Tiribelli C., Sasso F., Masutti R., Pozzato G.: Hepatitis C virus and non-Hodgkin's lymphomas. *Br. J. Haematol.* (1996) 94: 544-550.
79. McColl M.D., Singer I.O., Tait R.C., McNeil I.R., Cumming R.L., Hogg R.B.: The role of hepatitis C virus in the aetiology of non-Hodgkin's lymphoma-a regional association? *Leuk-Lymphoma.* (1997) 26: 127-130.
80. McColl M.D., Tait R.C.: Hepatitis C virus infection in patients with lymphoproliferative disorders. *Br. J. Haematol.* (1996) 92: 771-773.

81. McMurray R.W., Elbourne K.: Hepatitis C virus Infection and Autoimmunity, *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. (1997) 4: 689-701.
82. McOmish F., Yap P.L., Dow B.C., Follett E.A., Seed C., Keller A.J., Coban T.J., Krusius T., Kolho E., Naukkarinen R.: Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey. *J. Clin. Microbiol.* (1994) 32: 884-892.
83. Meyer R., Hatada E.N., Hohmann H.P., Haiker M., Bartsch C., Rothlisberger U., Lahm H.W., Schlaeger E.J., van Loon A.P., Scheiderei C.: Cloning of the DNA-binding subunit of human nuclear factor kappa B: the level of its mRNA is strongly regulated by phorbol ester or tumor necrosis factor alpha. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. (1991) 88: 966-970.
84. Misiani R., Bellavita P., Fenili D., Borelli G., Marchesi D., Massazza M., Vendramin G., Comotti B., Tanzi E., Scudeller G.: Hepatitis C infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann. Intern. Med.* (1992) 117: 573-577.
85. Montella M., Crispo A., Frigeri F., Ronga D., Tridente V., De Marco M., Fabbrocini G., Spada O., Mettivier V., Tamburini M.: HCV and tumors correlated with immune system: a case-control study in an area of hyperendemicity. *Leuk. Res.* (2001) 9: 775-781.
86. Morin P.J., Gilmore T.D.: The C terminus of the NF-kappa B p50 precursor and an I kappa B isoform contain transcription activation domains. *Nucleic Acids. Res.* (1992) 20: 2453-2458.
87. Mosialos G.: The role of Rel/NF-kappa B proteins in viral oncogenesis and the regulation of viral transcription. *Semin. Cancer Biol.* (1997) 8: 121-129.
88. Müller J.M., Rupec R.A., Baeuerle P.A.: Study of gene regulation by NF-kappa B and AP-1 in response to reactive oxygen intermediates. *Methods* (1997) 11: 301-312.

89. Neri A., Chang C.C., Lombardi L., Salina M., Corradini P., Maiolo A.T., Chaganti R.S., Dalla-Favera R.: B-cell lymphoma associated chromosomal translocation involves candidate oncogene *lyt-10*, homologous to NF-kappa B p50. *Cell* (1991) 67: 1075-1087.
90. Neri A., Fracchiolla N.S., Migliazza A., Trecca D., Lombardi L.: The involvement of the candidate proto-oncogene *NFKB2/lyt-10* in lymphoid malignancies. *Leuk-Lymphoma*. (1996) 23: 43-48.
91. Pár A., Luminita S., Erdősy I., Doru D., Kádas I., Paál M., Brasch G., Berő T., Jávör T.: Hepatitis virus (HBV, HCV, HDV) markerek idült májbetegekben. Összehasonlító vizsgálatok két közép-kelet-európai országban. *Orv. Hetil.* (1992) 133 (Suppl.1.): 48-50.
92. Pár A., Gervain J., Gögl Á.: Hepatitis C virus infection: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Scand. J. Gastroenterol.* (1998) 228: (Suppl.) 107-114.
93. Pár A., Paál M., Horányi M., Pár G., Szekeres-Barthó J., Hegedüs G., Gasztonyi B., Mózsik Gy.: Role of viral and host factors in the pathogenesis of Hepatitis C virus infection and in the response to interferon treatment. *Period. Biol.* (1998) 100: 515-519.
94. Pár A., Telegdy L., Gögl Á., Müller É., és a Hepatológiai Centrumok Munkacsoportjai: Abonyi M., Fehér J., Lengyel G., Schaff Zs., Szalay F., Dalmi L., Weisz Gy., Csepregi A., Nemesánszky E., Pusztai M., Ibrányi E., Mihály I., Szabó Zs., Dán K., Rókusz L., Horváth G., Dávid K., Tolvaj Gy., Gervain J., Jármay K., Lonovics J., Nagy I., Ozsvár Zs., Velőssy B., Schneider F., Ribiczey P., Sipos J., Rác I., Pete I., Varga L., Csák L., Váczy Zs., Bényei M., Tusnádi A., Várkonyi T., Horányi M., Gasztonyi B., Hegedüs G., Pakodi F., Paár M.: Krónikus vírus hepatitiszek interferon kezelése Magyarországon: 5 éves tapasztalatok. Multicentrikus tanulmány. *Orv. Hetil.* (1999) 140: 1227-1233.
95. Pár A.: Diagnosis and management of chronic hepatitis C. *Can. J. Gastroenterol* (2000) 14: (Suppl. B.) 83B-88B.
96. Pawlotsky J.M., Roudot-Thoraval F., Simmonds P., Mellor J., Ben Yahia M.B., Andre C., Voisin M.C., Inrator L., Zafrani E.S., Duval J.: Extrahepatic immunologic

- manifestation in chronic hepatitis C and hepatitis C virus serotypes. *Ann. Intern. Med.* (1995) 122: 169-173.
97. Perez Alvarez J.C., Saez Royuela F., Martin Lorente J.L., Yuguero del Moral L., Ojeda Gimenez C., Lopez Morante A.: Malignant lymphoproliferative neoplasms and chronic hepatitis C virus infection. *Gastroenterol. Hepatol.* (1998) 21: 90-91.
 98. Perl A., Gorevic P.D., Ryan D.H., Condemi J.J., Ruszkowski R.J., Abraham G.N.: Clonal B cell expansion in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Clin. Exp. Immunol.* (1989) 76: 54-59.
 99. Pioltelli P., Zehender G., Monti G., Monteverde A., Galli M.: HCV and non-Hodgkin lymphoma. *Lancet* (1996) 347: 624-625.
 100. Pozzato G., Mazzaro C., Crovatto M., Modolo M.L., Ceselli S., Mazzi G., Sulfaro S., Franzin F., Tulissi P., Moretti M.: Low-grade malignant lymphoma, hepatitis C virus infection and mixed cryoglobulinemia. *Blood* (1994) 9: 3047-3053.
 101. Pozzato G., Mazzaro C., Santini G.F., Burrone O.: Hepatitis C virus and non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk-Lymphoma.* (1996) 22: 53.
 102. Ramos Casals M., Trejo O., Garcia-Carrasco M., Cervera R., Font J.: Mixed cryoglobulinemia: new concepts. *Lupus* (2000) 9: 83-91.
 103. Rasul L., Shepherd F.A., Kamel-Reid S., Krajden M., Pantalony D., Heathcote E.J.: Detection of occult low-grade b-cell non-Hodgkin's lymphoma in patients with chronic hepatitis C infection and mixed cryoglobulinemia. *Hepatology* (1999) 29: 543-547.
 104. Reuther J.Y., Reuther G.W., Cortez D., Pendergast A.M., Baldwin A.S. Jr.: A requirement for NF- κ B activation in Bcr-Abl-mediated transformation. *Genes Dev.* (1997) 12: 968-981.

105. Ruben S.M., Dillon P.J., Schreck R., Henkel T., Chen C.H., Maher M., Bacuerle P.A., Rosen C.A.: Isolation of a rel-related human cDNA that potentially encodes the 65-kD subunit of NF-kappa B. *Science* (1991) 251: 1490-1493.
106. Sansonno D., De Vita S., Cornacchiulo V., Carbone A., Boiocchi M., Dammacco F.: Detection and distribution of hepatitis C virus-related proteins in lymph nodes of patients with type II mixed cryoglobulinemia and neoplastic or non-neoplastic lymphoproliferation. *Blood* (1996) 88: 4638-4645.
107. Santini G.F., Crovatto M., Giannini F., Bortolin M.T., Mazzaro C., Invernizzi F.: Hepatitis C virus and immunoglobulin gene rearrangements: an early step in lymphomagenesis? *Acta Haematol.* (1998) 100: 117-122.
108. Schmid R.M., Perkins N.D., Duckett C.S., Andrews P.C., Nabel G.J.: Cloning of an NF-kappa B subunit which stimulates HIV transcription in synergy with p65. *Nature* (1991) 352: 733-736.
109. Sen R., Baltimore D.: Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell* (1986) 46: 705-716.
110. Sherlock S.: The management of chronic hepatitis. *Curr. Opin. Gastroenterol.* (1996) 12: 217-223.
111. Shikuwa S., Ito M., Nakashima M., Hamasaki K., Naito S., Sekine I., Fujii H.: Autopsy case of colocalized tumors of hepatocellular carcinoma and malignant lymphoma. *J. Gastroenterol.* (1996) 31: 129-132.
112. Silvestri F., Barillari G., Fanin R., Pipan C., Falasca E., Salmaso F., Zaja F., Infanti L., Patriarca F., Botta G.A., Baccarani M.: Hepatitis C virus infection among cryoglobulinemic and non-cryoglobulinemic B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Haematologica* (1997) 82: 314-317.

113. Silvestri F., Barillari G., Fanin R., Pipan C., Falasca E., Salmasso F., Zaja F., Infanti L., Patriarca F., Botta G.A., Baccharani M.: The genotype of the hepatitis C virus in patients with HCV-related B cell non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* (1997) 11: 2157-2161.
114. Silvestri F., Barillari G., Fanin R., Salmasso F., Pipan C., Falasca E., Puglisi F., Maruzzi L., Zaja F., Infanti L., Patriarca F., Candoni A., Rogato A., Di Loreto C., Botta G.A., Baccharani M.: Impact of hepatitis C virus infection on clinical features, quality of life and survival of patients with lymphoplasmacytoid lymphoma/immunocytoma. *Ann. Oncol.* (1998) 9: 499-504.
115. Silvestri F., Pipan C., Barillari G., Zaja F., Fanin R., Infanti L., Russo D., Falasca E., Botta G.A., Baccharani M.: Prevalence of hepatitis C virus infection in patients with lymphoproliferative disorders. *Blood* (1996) 87: 4296-4301.
116. Sonenshein G.E.: Rel/NF-kappa B transcription factors and the control of apoptosis. *Semin. Cancer. Biol.* (1997) 8: 113-119.
117. Sovak M.A., Bellas R.E., Kim D.W., Zanieski G.J., Rogers A.E., Traish A.M., Sonenshein G.E.: Aberrant nuclear factor-kappa B/Rel expression and the pathogenesis of breast cancer. *J. Clin. Invest.* (1997) 100: 2952-2960.
118. Tai D.I., Tsai S.L., Chen Y.M., Chuang Y.L., Peng C.Y., Sheen I.S., Yeh C.T., Chang K.S., Huang S.N., Kuo G.C., Liaw Y.F.: Activation of nuclear factor kappaB in hepatitis C virus infection: implications for pathogenesis and hepatocarcinogenesis. *Hepatology* (2000) 31: 656-664.
119. Taniguchi S., Okamoto H., Sakamoto M., Kojima M., Tsuda F., Tanaka T., Munekata E., Muchmore E.E., Peterson D.A., Mishiro S.: A structurally flexible and antigenically variable N-terminal domain of the hepatitis C virus E2/NS1 protein: implication for an escape from antibody. *Virology* (1993) 195: 297-301.
120. Toyoda H., Fukuda Y., Koyama Y., Nishimura D., Hoshino H., Katada N., Kato K., Hayakawa T.: Case report: multiple systemic lymph node metastases from a small hepatocellular carcinoma. *J. Gastroenterol. Hepatol.* (1996) 11: 959-962.

121. Tsukiyama-Kohara K., Kohara M., Yamaguchi K., Maki N., Toyoshima A., Miki K., Tanaka S., Hattori N., Nomoto A.: A second group of hepatitis C viruses. *Virus Genes*. (1991) 5: 243-254.
122. Van Antwerp D.J., Martin S.J., Tal K., Green D.R., Verma I.M.: Suppression of TNF- α -induced apoptosis by NF- κ B. *Science* (1996) 274: 787-789.
123. Verma I.M., Stevenson J.K., Schwartz E.M., Van Antwerp D., Miyamoto S.: Rel/NF- κ B /I κ B family: intimate tales of association and dissociation. *Genes Dev.* (1995) 9: 2723-2735.
124. Vermes I., Haanen C., Steffens-Nakken H., Reutelingsperger C.: A novel assay for apoptosis. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V. *J. Immunol. Methods*. (1995) 184: 39-51.
125. Wang C.Y., Mayo M.W., Baldwin A.S. J.: TNF- and cancer therapy-induced apoptosis: potentiation by inhibition of NF- κ B. *Science* (1996) 274: 784-787.
126. Weiner A.J., Geysen H.M., Christopherson C., Hall J.E., Mason T.J., Saracco G., Bonino F., Crawford K., Marion C.D., Crawford K.A.: Evidence for immune selection of hepatitis C virus (HCV) putative envelope glycoprotein variants: potential role in chronic HCV infections. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. (1992) 89: 3468-3472.
127. Wu M., Lee H., Bellas R.E., Schauer S.L., Arsura M., Katz D., Fitzgerald M.J., Rothstein T.L., Sherr D.H., Sonenshein G.E.: Inhibition of NF-kappaB/Rel induces apoptosis of murine B cells. *EMBO J.* (1996) 15: 4682-4690.
128. Xu W., Cooper G.M.: Identification of a candidate c-mos repressor that restricts transcription of germ cell-specific genes. *Mol. Cell. Biol.* (1995) 15: 5369-5375.
129. Yen T.S.: Nuclear factor κ B and hepatitis C-Is there a connection? *Hepatology* (2000) 31: 785-787.

130. Yoshikawa M., Yamane Y., Yoneda S., Iwasawa S., Nishimura K., Kawamoto H., Nakano H., Fukui H., Nakamine H: Acute hepatic failure due to hepatosplenic B-cell non-Hodgkin's lymphoma in a patient infected with hepatitis C virus. *J. Gastroenterol* (1998) 33: 880-885.
131. Zabel U., Baeuerle P.A.: Purified human I kappa B can rapidly dissociate the complex of the NF-kappa B transcription factor with its cognate DNA. *Cell* (1990) 61: 255-265.
132. Zabel U., Henkel T., Silva M.S., Baeuerle P.A.: Nuclear uptake control of NF-kappa B by MAD-3, an I kappa B protein present in the nucleus. *EMBO J.* (1993) 12: 201-211.
133. Zignego A.L., Brechot C.: Extrahepatic manifestations of HCV infection: facts and controversies. *J. Hepatol.* (1999) 31: 369-376.
134. Zignego A.L., Ferri C., Giannini C.: Analysis of HCV infection in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma (Abstract) *Hepatol.* (1995) 22: 514 A.
135. Zignego A.L., Ferri C., Giannini C., La Civita L., Careccia G., Longombardo G., Bellesi G., Caracciolo F., Thiers V., Gentilini P.: Hepatitis C virus infection in mixed cryoglobulinemia and B-cell non-Hodgkin's lymphoma: evidence for a pathogenetic role. *Arch. Virol.* (1997) 142: 545-555.
136. Zuckerman A.J.: The history of viral hepatitis from antiquity to the present. (1983) 3-32.
137. Zuckerman E., Zuckerman T., Levine A.M., Douer D., Gutekunst K., Mizokami M., Qian D.G., Velankar M., Nathwani B.N., Fong T.L.: Hepatitis C virus infection in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Ann. Intern. Med.* (1997) 127: 423-428.

SAJÁT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Publikációk:

1. **Gasztonyi B.**, Király Á., Sütő G., Vincze Á., Karádi O., Mózsik Gy.: A comparative study on the adenine nucleotide metabolism of acid-dependent and non-acid-dependent acute gastric mucosal injury in the rat. *Inflammopharmacology* (1996) **4**: 351-360.
2. **Gasztonyi B.**, Pár A., Molnár F. T., Cseke L., Horváth Ö. P., Battyány I., Hegedüs G., Horváth L., Mózsik Gy.: Hepatocellularis carcinoma és recidívainak ismételt resectiója tüdőmetasztasisok eltávolításával. *Orv. Hetil.* (1998) **139**: 2025-2027.
3. **Gasztonyi B.**, Pár A., Molnár F. T., Cseke L., Horváth Ö. P., Battyány I., Hegedüs G., Horváth L., Mózsik Gy.: A case report of patient with recurrent hepatocellular carcinoma (HCC): succesful multimodality treatment. *Eur. J. Int. Med.* (1998) **9**: 127-129.
4. Pár A., Paál M., Horányi M., Pár G., Szekeres-Barthó J., Hegedüs G., **Gasztonyi B.**, Mózsik Gy.: Role of viral and host factors in the pathogenesis of Hepatitis C virus infection and in the response to interferon treatment. *Period. Biol.* (1998) **100**: 515-519.
5. Pár A., Telegdy L., Gógl Á., Müller É., és a Hepatológiai Centrumok Munkacsoportjai: Abonyi M., Fehér J., Lengyel G., Schaff Zs., Szalay F., Dalmi L., Weisz Gy., Csepregi A., Nemesánszky E., Pusztai M., Ibrányi E., Mihály I., Szabó Zs., Dán K., Rókus L., Horváth G., Dávid K., Tolvaj Gy., Gervain J., Jármay K., Lonovics J., Nagy I., Ozsvár Zs., Velőssy B., Schneider F., Ribiczey P., Sipos J., Rácz I., Pete I., Varga L., Csák L., Váczy Zs., Bényei M., Tusnádi A., Várkonyi T., Horányi M., **Gasztonyi B.**, Hegedüs G., Pakodi F., Paár M.: Krónikus vírus hepatitisek interferon kezelése Magyarországon: 5 éves tapasztalatok. Multicentrikus tanulmány. *Orv. Hetil.* (1999) **140**: 1227-1233.
6. Battyány I., Imre M., **Gasztonyi B.**, Szekeres Gy., Horváth L., Pár A., Kálmán E.: Epehólyag adenomyomatosis. *Orv. Hetil.* (1999) **140**: 1309-1311.

7. Pár A., Paál M., Horányi M., Szekeres-Bartho J., Kádas I., Hegedüs G., **Gasztonyi B.**, Pár G., Mózsik Gy.: A hepatitis C vírus (HCV) infekció patogenezisét és az interferon terápiaira való válaszkézséget befolyásoló virális és gazdai tényezők vizsgálata. Magyar Belorvosi Archivum, (1999) 52: 9-14.
8. Battyány I., **Gasztonyi B.**, Hegedüs K., Erményi Á., Horváth L., Pár A., Szekeres Gy.: Polycystás májbetegben véletlenszerűen felismert máj echinococcus cysták percutan drainage kezelése. Orv. Hetil. (1999) 140: 2047-2050.
9. Battyány I., Horváth L., Rostás T., Harmat Z., Erményi Á., **Gasztonyi B.**, Sárosi I.: A pulmonális angiográfia, mint a tüdőembólia diagnosztikájának „gold standard”-ja. Medicina Thoracalis (1999) 52: 166-170.
10. Battyány I., Harmat Z., Rostás T., Horváth L., Mahtab N., Erményi Á., **Gasztonyi B.**, Schubert J.: Az alsó végtagi duplex szonográfia értéke a mélyvénás trombózis diagnosztikájában és a tüdőembólia kockázatának megítélésében. Medicina Thoracalis (1999) 52: 161-165.
11. Battyány I., Horváth L., Harmat Z., Rostás T., Hadijev J., Sárosi I., **Gasztonyi B.**, Schubert J.: A klinikai ismeretek és a képalkotó diagnosztikában szerzett gyakorlati jelentősége a súlyos tüdőembóliák intervenciós radiológiai kezelésében. Magyar Radiológia (1999) 73: 159-163.
12. Battyány I., Rostás T., Harmat Z., Schubert J., Röth E., Horváth L., **Gasztonyi B.**, Erményi Á.: Hat modern véna cava filter in vitro tesztelése. Magyar Radiológia (2000) 74: 67-75.
13. Battyány I., Röth E., Harmat Z., Rostás T., Schubert J., Horváth L., **Gasztonyi B.**, Erményi Á.: Vena cava filterek alkalmazása, indikációk és kivitelezés. Medicina Thoracalis (2000) 53: 63-67.
14. Battyány I., Horváth L., Harmat Z., Rostás T., Schubert J., **Gasztonyi B.**, Sárosi I.: A tüdőembólia invazív ellátása. Medicina Thoracalis (2000) 53: 55-62.

15. **Gasztovyi B.**, Pár A., Szomor Á., Battyány I., Nagy Á., Kereskai L., Losonczy H., Mózsik Gy.: Hepatitis C virus (HCV) infection associated with B-cell non-Hodgkin's lymphoma in Hungarian patients. *Brit. J. Haematol.* (2000) 110: 497-498.
16. **Gasztovyi B.**, Pár A., Szomor A., Nagy A., Kereskai L., Losonczy H., Pajor L., Horányi M., Mózsik Gy.: A hepatitis C vírus (HCV) infectio és B-seites non-Hodgkin lymphoma. *Orv. Hetil.* (2000) 141: 2649-2651.
17. **Gasztovyi B.**, Pár A., Szomor Á., Battyány I., Nagy Á., Kereskai L., Losonczy H., Schaff Zs., Boriszlova P., Pakodi F., Pajor L., Mózsik Gy.: B-sejtes non-Hodgkin lymphoma és hepatocellularis carcinoma együttes előfordulása. Esetismertetés. *Magyar Belorvosi Archivum* (2000) 53: 343-346.
18. **Gasztovyi B.**, Pár A., Battyány I., Hegedüs G., Molnár F. T., Horváth L., Mózsik Gy.: Multimodality treatment resulting in long-term survival in hepatocellular carcinoma. *J. Physiology (Paris)* (2001) 95: 413-416.
19. Pár A., Telegdy L., Dalmi L., Müller E., Hungarian Viral Hepatitis Treatment Study Group. Weisz Gy., Abonyi M., Bálint T., Fehér J., Lengyel G., Schaff Zs., Szalay F., Horányi M., Csepregi A., Nemesánszky E., Pusztai M., Ibrányi E., Mihály I., Szabó Zs., Dán K., Rókus L., Horváth G., Dávid K., Tolvaj Gy., Gervain J., Gógl Á., Jármay K., Lonovics J., Nagy I., Ozsvár Zs., Velossi B., Schneider F., Ribiczey P., Sipos J., Ráczi I., Pete I., Varga L., Csák L., Váczi Zs., Béneyi M., Tusnádi A., Várkonyi T., **Gasztovyi B.**, Hegedüs G., Mózsik Gy., Pakodi F., Paál M., Pár G.: Therapy for chronic hepatitis C. *J. Physiology (Paris)* (2001) 95: 399-405.
20. Battyány I., Rostás T., Horváth L., **Gasztovyi B.**, Harmat Z., Tóth K.: Immunhiányos beteg, korszerű képalkotó tüdődiagnosztika. *Medicina Thoracalis* (2001) 54: 42-46
21. **Gasztovyi B.**, Pár A., Kereskai L., Pajor L., Kiss K., Szeberényi J., Mózsik Gy.: Hepatitis C vírus infekció és immunglobulin nehézlánc génátrendeződés. *Orv. Hetil.* (2002) (közlésre elfogadva)

22. Mózsik Gy., Figler M., **Gasztonyi B.**, Karádi O., Losonczy H., Nagy Á., Nagy Zs., Pár A., Rumi Gy., Sütő G., Vincze Á.: A Leiden-mutáció prevalenciája a különböző gastrointestinalis kórképekben. *Orv. Hetil.* (2002) (közlésre elfogadva)

Könyvfejezetek:

1. **Gasztonyi B.**, Király Á., Sütő G., Vincze Á., Karádi O., Mózsik Gy.: A comparative study on the adenine nucleotide metabolism of acid-dependent and non-acid dependent acute gastric mucosal injury in the rat. In: Mózsik Gy., Nagy L., Pár A. and Rainsford K. D. (Eds). *Cell injury and cytoprotection in the gastrointestinal tract*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London (1997) 107-116.
2. **Gasztonyi B.**, Bódis B., Karádi O., Király Á., Sütő G., Vincze Á., Mózsik Gy.: What are the common characteristics and biochemical factors in the development of an acid-dependent and a nonacid-dependent gastric mucosal damage? In: Mózsik Gy., Nagy L. and Király Á. (Eds.). *Twenty five years of peptic ulcer research in Hungary. From basic science to clinical practice (1971-1995)*, Akadémiai Kiadó, Budapest (1997) 171-177.

Idézhető absztraktok:

1. Abdel-Salam O.M.E., Szolcsányi J., **Gasztonyi B.**, Vincze Á., Mózsik Gy.: The effect of surgical, chemical vagotomy and afferent nerve stimulation on the H⁺ ion back diffusion and gastric mucosal damage caused by topical salicylate plus HCl in rats., *Exp. Clin. Gastroenterol.* (1993) 3: 245.
2. **Gasztonyi B.**, Karádi O., Mózsik Gy.: A New Simple Experimental Method for Measuring the Changes of Gastrointestinal Motility in Rats. *Z. Gastroenterol.* (1995) 33: 287.
3. Mózsik Gy., Abdel-Salam O.M.E., **Gasztonyi B.**, Karádi O., Király Á., Sütő G., Vincze Á.: Cellular mechanism involved in gastroduodenal damage and protection: an approach of phosphorylation and/or dephosphorilation. *Gastroprotection* (1996) 1: 4.

4. **Gasztonyi B.**, Király Á., Sütő G., Vincze Á., Karádi O., Mózsik Gy.: Biochemical backgrounds of the acid-dependent and nonacid-dependent acute gastric mucosal damage in the rats. *Dig. Dis. Sci.* (1996) 41: 432.
5. Cseke L., Molnár F. T., Horváth Ö. P., Battyány I., Pár A., Hegedüs G., **Gasztonyi B.**, Mózsik Gy.: Repeated liver resections of recurrent hepatocellular cancer with removal of lung metastases. *Z. Gastroenterol.* (1997) 35: 372.
6. **Gasztonyi B.**, Pár A., Cseke L., Molnár F. T., Horváth Ö. P., Battyány I., Hegedüs G., Mózsik Gy.: Hepatocellular carcinoma sikeres sebészi és kombinált chemoterápiás kezelése: a recidívák ismételt resectioja a tüdőmetasztasisok eltávolításával. *Esetismertetés. Magyar Belorvosi Archivum* (1998) 51: (Suppl. 1.) 31.
7. Pár A., Paál M., Horányi M., Szekeres-Bartho J., Pár G., **Gasztonyi B.**, Mózsik Gy.: A krónikus hepatitis C vírus (HCV) infekciójának pathogenezeise: a virológiai és immunológiai tényezők szerepének vizsgálata. *Magyar Belorvosi Archivum* (1998) 51: (Suppl. 1.) 289.
8. Pár A. és a Vírushepatitis Kezelés Országos Munkacsoportja: Dalmi L., Weisz Gy., Abonyi M., Dán K., Dávid K., Fehér J., Ferencz A., Horváth G., Ibrányi E., Lengyel G., Horányi M., Nemesánszky E., Mihály I., Müller É., Rókus L., Szalay F., Telegdy L., Tolvaj Gy., Gervain J., Gógl Á., Lonovics J., Nagy I., Ozsvár Zs., Schneider F., Ribiczey P., Rácz I., Pete I., Varga L., Vácz Zs., Csák L., Tusnádi A., Várkonyi T., **Gasztonyi B.**, Pakodi F., Pár A.: Hazai tapasztalatok 1029 krónikus vírushepatitises beteg interferonkezelésével. *Magyar Belorvosi Archivum* (1998) 51: (Suppl. 3.) 290.
9. Pár A., Paál M., Horányi M., Szekeres J., Sáfrány B., Hernádi E., **Gasztonyi B.**, Mózsik Gy.: Virológiai, immunológiai és genetikai tényezők szerepe a krónikus hepatitis C vírus (HCV) fertőzés patogenezésében és az interferon-terápiára való válaszban. *Magyar Belorvosi Archivum* (1998) 51: (Suppl. 1.) 34.
10. **Gasztonyi B.**, Pár A., Horváth Ö. P., Cseke L., Molnár F. T., Battyány I., Hegedüs G., Pakodi F., Mózsik Gy.: Multimodality treatment of recurrent hepatocellular carcinoma. A case report. *Digestion* (1998) 59: (Suppl. 3.) 59.

11. Pár A., Telegdy L., Gögl Á., Müller E., The Hungarian HCV Study Group, Dalmi L., Abonyi M., Dán K., Dávid K., Fehér J., Ibrányi E., Lengyel G., Horányi M., Nemesánszky E., Mihály I., Rókusz L., Szalay F., Telegdy L., Gervain J., Lonovics J., Ozsvár Zs., Schneider F., Ribiczey P., Rácz I., Pete I., Varga L., Váczi Zs., Csák L., Tusnádi A., Várkonyi I., **Gasztonyi B.**, Pakodi F.: Five-year experiences on interferon treatment of 1029 patients with chronic viral hepatitis. *Digestion* (1998) **59**: (Suppl. 3) 312
12. Pár A. and the Hungarian Viral Hepatitis Study Group: Dalmi L., Weisz Gy., Abonyi M., Csepregi A., Dán K., Dávid K., Fehér J., Ibrányi E., Lengyel G., Horányi M., Horváth G., Nemesánszky E., Mihály I., Pusztai M., Rókusz L., Szalay F., Telegdy L., Tolvaj Gy., Gervain J., Gögl Á., Nagy I., Lonovics J., Ozsvár Zs., Schneider F., Ribiczey P., Rácz I., Pete I., Varga L., Váczi Zs., Csák L., Tusnádi A., Várkonyi T., **Gasztonyi B.**, Pakodi F., Pár G.: Experiences on Interferon treatment of patients with chronic viral hepatitis in Hungary during a five year period. *Dig Surg.* (1999) **16**: (Suppl. 1.) 40.
13. Pár A., Telegdy L., Gögl Á., Müller E. (coordinators) and the Hungarian Viral Hepatitis Study Group: Dalmi L., Weisz Gy., Abonyi M., Csepregi A., Dán K., Dávid K., Fehér J., Ibrányi E., Lengyel G., Horányi M., Horváth G., Nemesánszky E., Mihály I., Rókusz L., Schaff Zs., Szalay F., Telegdy L., Tolvaj Gy., Gervain J., Gögl Á., Lonovics J., Nagy I., Ozsvár Zs., Schneider F., Ribiczey P., Sipos J., Rácz I., Pete I., Varga L., Váczi Zs., Csák L., Tusnádi A., Várkonyi T., **Gasztonyi B.**, Hegedüs G.: A Nationwide, multicentre study on chronic viral hepatitis: results of interferon alpha treatment in Hungary (1993-1997). *Eur. J. Int. Med.* (1999) **10**: (Suppl. 1.) 5128.
14. **Gasztonyi B.**, Pár A., Battyányi I., Antal I., Alizadeh H., Horváth L., Mózsik Gy.: Three cases with long-term survival in hepatocellular carcinoma. Case reports. *Z. Gastroenterol.* (1999) **37**: 417.
15. Pakodi F., Al-Farhat Y., **Gasztonyi B.**, Bódis B., Pár A., Mózsik Gy.: Managing of colorectal cancer: 4-year experiences. *Z. Gastroenterol.* (1999) **37**: 437.
16. Hungarian Viral Hepatitis Study Group: Pár A., Telegdy L., Gögl Á., Müller E. (coordinators) Weisz Gy., Abonyi M., Csepregi A., Dán K., Dávid K., Fehér J., Ibrányi E., Lengyel G., Horányi M., Horváth G., Nemesánszky E., Mihály I., Pusztai M., Rókusz L.,

Szalay F., Tolvaj Gy., Gervain J., Nagy I., Lonovics Gy., Osváth Zs., Schneider F., Ribiczey P., Rácz I., Pete I., Varga L., Váczi Zs., Csák L., Bényei M., Tusnádi A., Várkonyi T. **Gasztonyi B.**, Pakodi F.: Five-year experiences on interferon treatment for chronic viral hepatitis B and C in Hungary. *Z. Gastroenterol.* (1999) 37: 439.

17. **Gasztonyi B.**, Szomor Á., Nagy Á., Battyány I., Kereskai L., Méhes G., Losonczy H., Mózsik Gy.: B sejtes nagy malignitású non-Hodgkin lymphoma és hepatocellularis carcinoma együttes előfordulása. Esetismertetés. *Magyar Belorvosi Archivum* (1999) 52: (Suppl. 1.) 65.
18. Horváth L., Battyány I., Rostás T., Hadjiev J., Györe Cs., Pár A., **Gasztonyi B.**: Selective arterial cytostatic infusion combined with chemoembolization in hepatic tumors. *Eur. J. Cancer.* (1999) 35: (Suppl. 1.) 4.
19. **Gasztonyi B.**, Pár A., Szomor Á., Nagy Á., Kereskai L., Horányi M., Pakodi F., Losonczy H., Pajor L., Mózsik Gy.: Hepatitis C virus (HCV) infection associated with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Z. Gastroenterol.* (2000) 38: 405.
20. **Gasztonyi B.**, Pár A., Battyány I., Antal I., Alizadeh H., Pakodi F., Horváth L., Mózsik Gy.: Ritka esetek hosszú túlélése hepatocellularis carcinomában. *Magyar Belorvosi Archivum* (2000) 53: (Suppl. 1.) 67-68.
21. Battyány I., Rostás T., Harmat Z. **Gasztonyi B.**, Horváth L., Schubert J.: In vitro testing of six modern vena cava filters. *Eur. Radiol.* (2001) 11: (Suppl. 1.) 176.
22. **Gasztonyi B.**, Pár A., Battyány I., Hegedüs G., Horváth L., Mózsik Gy.: Multimodality treatment resulting long-term survival in hepatocellular carcinoma. Case report. *Dig. Dis. Sci.* (2001) 46: 683.
23. Mózsik Gy., Nagy Zs., Karádi O., Nagy Á., Pár A., Rumi Gy., **Gasztonyi B.**: Genetic and environmental sequences in the inflammatory diseases and polyposis of human gastrointestinal tract. *Gastroenterology* (2001) 120: (Suppl. 1.) 2285.

24. **Gasztovni B.**, Kiss K., Kereskai L., Pár A., Szomor Á., Szeberényi J., Pajor L., Losonczy H., Mózsik Gy.: NFkB a suggested key cellular factor between the hepatitis C virus and B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Z. Gastroenterol.* (2001) **39**: 390.
25. Kosztolányi Sz., **Gasztovni B.**, Vincze Á., Battyány I., Hegedűs G., Pár A., Pakodi F., Mózsik Gy.: Association of congenital hepatic fibrosis, polycystic liver and polycystic kidneys in a 21-year-old female. A genetic case report. *Z. Gastroenterol.* (2001) **39**: 401.
26. Nagy Á., **Gasztovni B.**, Nagy Zs., Losonczy H., Mózsik Gy.: Genetic risk factors in abdominal vein thrombosis. *Z. Gastroenterol.* (2001) **39**: 409.
27. Papp E., Czopf L., Magyar É., Fehér Cs., Kovács L., Habon T., Késmárky G., **Gasztovni B.**, Tóth K., Mózsik Gy.: A kis molekulásúlyú heparin kezelés biztonságossága akut ischaemiás coronaria szindrómában. *Magyar Belorovosi Archivum* (2001) **54**: (Suppl. 1.) 68.
28. Kosztolányi Sz., **Gasztovni B.**, Vincze Á., Battyány I., Dávid M., Hegedűs G., Pár A., Mózsik Gy.: Congenitalis májfibrosis, polycystás máj és polycystás vese együttes előfordulása egy 21 éves nőbetegünkben. *Magyar Belorovosi Archivum* (2001) **54**: (Suppl. 1.) 80.
29. **Gasztovni B.**, Pár A., Kiss K., Kereskai L., Szomor Á., Szeberényi J., Pajor L., Schaff Zs., Losonczy H., Mózsik Gy.: Hepatitis C virus és lymphomagenesis. *Magyar Belorovosi Archivum* (2001) **54**: (Suppl. 1.) 82.
30. **Gasztovni B.**, Szomor Á., Schaff Zs., Pár A., Kereskai L., Kálmán E., Battyány I., B. Pavlova, Pajor L., Hegedűs G., Losonczy H., Mózsik Gy.: Hepatocellular carcinoma associated with B-cell lymphoma in the liver of patients with chronic hepatitis C. *Cancer Detect. Prev.* (2002) **1**: (Suppl.) 102.
31. **Gasztovni B.**, Pár A., Kiss K., Kereskai L., Szeberényi J., Pajor L., Hegedűs G., Mózsik Gy.: Mixed cryoglobulinaemia, immunoglobulin heavy chain (IgH) rearrangement and activation of nuclear factor kappa B (NF-κB) in chronic hepatitis C virus (HCV) infection. *Cancer Detect. Prev.* (2002) **1**: (Suppl.) 106.

Előadások:

1. Sütő G., **Gasztonyi B.**, Karádi O., Király Á., Vincze Á., Mózsik Gy.: The characteristics of biphasic action of epinephrine in ethanol-treated rats. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 34. Nagygyűlése, Balatonaliga, 1992.
2. Abdel-Salam O.M.E., Szolesányi J., **Gasztonyi B.**, Vincze Á., Mózsik Gy.: The effect of surgical, chemical vagotomy and afferent nerve stimulation on the H⁺ ion back diffusion and gastric mucosal damage caused by topical salicylate plus HCl in rats., Fourth International Symposium on Experimental and Clinical Ulcer Disease, Stress, Basic and Clinical Research, Croatian Days of Selected Topics in Medical Science, Zagreb, Croatia, 1993.
3. **Gasztonyi B.**, Karádi O., Mózsik Gy.: A new simple experimental method for measuring the changes of gastrointestinal motility in rats. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 37. Nagygyűlése, Balatonaliga, 1995.
4. **Gasztonyi B.**, Király Á., Sütő G., Vincze Á., Karádi O., Mózsik Gy.: Biochemical backgrounds of the acid-dependent and nonacid-dependent acute gastric mucosal damage in the rats. 4th International Symposium on Cell Injury and Protection in the Gastrointestinal Tract, Pécs, 1995.
5. Battyányi I., Hadjiev J., **Gasztonyi B.**, Nemessányi Z., Rostás T., Környei J., Horváth L.: Distribution of domestic made 1131 Lipiodol in the liver for transarterial intrahepatic irradiation. Preliminary reports of animal study. Magyar Radiológusok Társasága XIX. Kongresszusa, Pécs, 1998.
6. **Gasztonyi B.**, Pár A., Cseke L., Molnár F. T., Horváth Ö. P., Battyányi I., Hegedűs G., Mózsik Gy.: Hepatocellularis carcinoma sikeres sebészi és kombinált kemoterápiás kezelése: a recidivák ismételt resectioja a tüdőmetasztasisok eltávolításával. Esetismertetés. Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLV. Vándorgyűlése, Bükfürdő, 1998.

7. Horváth L., Battyány I., Rostás T., Hadijev J., Györe Cs., Pár A., **Gasztonvi B.**: Intravascular chemotherapy in hepatic tumors. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 41. Nagygyűlése, Balatonaliga, 1999.

8. Hungarian Viral Hepatitis Study Group: Pár A., Telegdy L., Gögl Á., Müller E. (coordinators) Weisz Gy., Abonyi M., Csepregi A., Dán K., Dávid K., Fehér J., Ibrányi E., Lengyel G., Horányi M., Horváth G., Nemesánszky E., Mihály I., Pusztai M., Rökusz L., Szalay F., Tolvaj Gy., Gervain J., Nagy I., Lonovics J., Osváth Zs., Schneider F., Ribiczey P., Rácz I., Pete I., Varga L., Váczi Zs., Csák L., Bényei M., Tusnádi A., Várkonyi T., **Gasztonvi B.**, Pakodi F.: Five-year experiences on interferon treatment for chronic viral hepatitis B and C in Hungary, Magyar Gasztroenterológiai Társaság 41. Nagygyűlése, Balatonaliga, 1999.

9. **Gasztonvi B.**, Szomor Á., Nagy Á., Battyány I., Kereskai L., Méhes G., Losonczy H., Mózsik Gy.: B sejtes nagy malignitású non-Hodgkin lymphoma és hepatocellularis carcinoma együttes előfordulása. Esetismertetés. Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLVI. Vándorgyűlése, Alsópáhok, 1999. (Fiatalkor Fórumán II. díjas előadás)

10. Battyány I., Rostás T., Harmat Z., Hegedüs K., Horváth L., **Gasztonvi B.**: Infectált óriási hasi echinococcus cysta percutan kezelése. Magyar Cardiovascularis és Intervenciós Radiológiai Társaság I. Kongresszusa, Pécs, 1999.

11. **Gasztonvi B.**, Battyány I., Pár A., Molnár F. T., Horváth L., Horváth Ö. P.: Kombinált thérápia hosszú túléléssel hepatocellularis carcinoma esetén. Magyar Cardiovascularis és Intervenciós Radiológiai Társaság I. Kongresszusa, Pécs, 1999.

12. Horváth L., Battyány I., Rostás T., Hadijev J., **Gasztonvi B.**: Combined selective cytostatic infusion and chemoembolization in liver malignancies. Multidisciplinary Endovascular Therapy 2000 Congress, Rome 2000.

13. **Gasztonvi B.** (esetgazda): B-sejtes non-Hodgkin lymphoma és hepatocellularis carcinoma ritka, szinkron társulása. Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi és Egészségtudományi Szakosztálya, Tanulmányos esetek Fóruma. Pécs, 2000.

14. **Gasztonyi B.**, Pár A., Szomor Á., Nagy Á., Kereskai L., Horányi M., Pakodi F., Losonczy H., Pajor L., Mózsik Gy.: Hepatitis C virus (HCV) infection associated with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 47. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2000.

15. Battyány I., Rostás T., Harnat Z., **Gasztonyi B.**, Horváth L., Schubert J.: Testing of the efficiency of six vena cava filters in an in vitro model. IV. Pécsi Intervenciós Radiológiai Szimpózium és Továbbképző Tanfolyam. Pécs, 2000.

16. **Gasztonyi B.**, Pár A., Szomor Á., Nagy Á., Kereskai L., Horányi M., Pakodi F., Losonczy H., Pajor L., Mózsik Gy.: Hepatitis C virus (HCV) infection associated with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. European Association for Gastroenterology and Endoscopy, East-West Bridging Meeting in Gastroenterology, Gothenburg, 2000.

17. **Gasztonyi B.**, Pár A., Battyány I., Hegedüs G., Horváth L., Mózsik Gy.: Multimodality treatment resulting in long-term survival in hepatocellular carcinoma. Case reports. 10th International Conference on Ulcer Research and 5th International Symposium on Cell Injury and Protection in the Gastrointestinal Tract: from Basic Sciences to Clinical Perspectives. Budapest-Pécs, 2000.

18. **Gasztonyi B.**, Pár A., Kiss K., Kereskai L., Szeberényi J., Pajor L., Szomor Á., Losonczy H., Mózsik Gy.: Krónikus hepatitis C virus infekció és a lymphomagenesis. Fiatal Onkológusok Fóruma, Pécs, 2001.

19. Papp E., Czopf L., Magyar É., Fehér Cs., Kovács L., Habon T., Késmárky G., **Gasztonyi B.**, Tóth K., Mózsik Gy.: Kis molekulásúlyú heparin kezelés biztonságossága akut ischaemiás coronaria szindrómában. Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLVIII. Vándorgyűlése, Kaposvár, 2001.

20. Kosztolányi Sz., **Gasztonyi B.**, Vincze Á., Battyány I., Dávid M., Hegedüs G., Pár A., Mózsik Gy.: Congenitalis májfibrosis, polycystas máj és polycystas vese együttes előfordulása egy 21 éves nőbetegünkben. Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLVIII. Vándorgyűlése, Kaposvár, 2001.

21. **Gasztonvi B.**, Pár A., Kiss K., Kereskai L., Szomor Á., Szeberényi J., Pajor L., Schaff Zs., Losonczy H., Mózsik Gy.: Hepatitis C vírus és lymphomagenesis. Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XI.VIII. Vándorevülése. Kaposvár, 2001. (Fiatalok Fórumán I. díjas előadás)
22. **Gasztonvi B.**, Kiss K., Kereskai L., Pár A., Szomor Á., Szeberényi J., Pajor L., Losonczy H., Mózsik Gy.: NFκB a suggested key cellular factor between the hepatitis C virus and B-cell non-Hodgkin lymphoma in patients. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 43. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2001.
23. **Gasztonvi B.**, Pár A., Kiss K., Kereskai L., Szomor Á., Szeberényi J., Pajor L., Losonczy H., Mózsik Gy.: The role of hepatitis C virus in lymphomagenesis. 7th World Congress on Advances in Oncology and 5th International Symposium on Molecular Medicine, Kréta, 2002.

Posztterek:

1. Cseke L., Molnár F. T., Horváth Ö. P., Battyányi I., Pár A., Hegedüs G., **Gasztonvi B.**, Mózsik Gy.: Repeated liver resections for recurrent hepatocellular cancer with removal of lung metastases, Magyar Gasztroenterológiai Társaság 39. Nagygyűlése, Balatonaliga, 1997.
2. Pár A., **Gasztonvi B.**, Molnár F. T., Cseke L., Horváth Ö. P., Battyányi I., Hegedüs G., Mózsik Gy.: Successful multimodality treatment of recurrent hepatocellular carcinoma, International Falk Workshop: Normal and malignant Liver Cell Growth, Halle, 1998.
3. Pár A., Paál M., Horányi M., Szekeres J., Sáfrány B., Hernádi E., **Gasztonvi B.**, Mózsik Gy.: Virologiai, immunológiai és genetikai tényezők szerepe a krónikus hepatitis C vírus (HCV) fertőzés patogenezisében és az interferon-terápiára való válaszban. Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLV. Vándorgyűlése, Bükfürdő, 1998.

4. **Gasztonyi B.**, Pár A., Horváth Ö. P., Cseke L., Molnár F. T., Battyányi I., Hegedüs G., Pakodi F., Mózsik Gy.: Multimodality treatment of recurrent hepatocellular carcinoma. A case report. World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998.
5. Pár A., Telegdy L., Gógl Á., Müller E., The Hungarian HCV Study Group, Dalmi L., Abonyi M., Dán K., Dávid K., Fehér J., Ibrányi E., Lengyel G., Horányi M., Nemesánszky E., Mihály I., Rókus L., Szalay F., Telegdy L., Gervain J., Lonovics J., Ozsvár Zs., Schneider F., Ribiczey P., Rácz I., Pete I., Varga L., Váczi Zs., Csák I., Tusnádi A., Várkonyi T., **Gasztonyi B.**, Pakodi F.: Five-year experiences on interferon treatment of 1029 patients with chronic viral hepatitis. World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998.
6. Pár A., Paál M., Horányi M., Pár G., **Gasztonyi B.**, Szekeres-Bartho J., Mózsik Gy.: Role of viral and host factors in the pathogenesis of hepatitis C virus (HCV) infection and in the response to interferon treatment. European Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association, Budapest, 1999.
7. **Gasztonyi B.**, Pár A., Battyányi I., Antal I., Alizadeh H., Horváth L., Mózsik Gy.: Three cases with long-term survival in hepatocellular carcinoma. Case reports. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 41. Nagygyűlése, Balatonaliga, 1999.
8. Pakodi F., Al-Farhat Y., **Gasztonyi B.**, Bódis B., Pár A., Mózsik Gy.: Managing of colorectal cancer: 4-year experiences. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 41. Nagygyűlése, Balatonaliga, 1999.
9. Szomor Á., **Gasztonyi B.**, Pár A., Battyányi I., Kereskai L., Schaff Zs., Losonczy H., Pajor L., Mózsik Gy.: Synchronous occurrence of B-cell non-Hodgkin's lymphoma of the liver and hepatocellular carcinoma. Case report. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 42. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2000.
10. Horváth L., Rostás T., Janaki H., Battyányi I., **Gasztonyi B.**: Oncobiological motivated intraarterial combination therapy in hepatic tumors. High Care, Bochum, 2000.

11. **Gasztonyi B.**, Pár A., Battyány I., Antal I., Alizadeh H., Pakodi F., Horváth L., Mózsik Gyula.: Hosszú túlélésű hepatocellularis carcinomás eseteink. Az Emésztőrendszer Részszindrulató Daganatai Első Konszenzus Konferencia. Budapest, 2000.
12. **Gasztonyi B.**, Pár A., Battyány I., Antal I., Alizadeh H., Pakodi F., Horváth L., Mózsik Gyula.: Ritka esetek hosszú túlélése hepatocellularis carcinómában. Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLVII. Vándorgyűlése. Esztergom, 2000.
13. Szomor Á., **Gasztonyi B.**, Pár A., Battyány I., Kereskai L., Schaff Zs., Losonczy H., Pajor L., Mózsik Gy.: Synchronous occurrence of B-cell non-Hodgkin's lymphoma of the liver and hepatocellularis carcinoma. A case report. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 42. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2000.
14. Mózsik Gy., Nagy Zs., Karádi O., Nagy Á., Pár A., Rumi Gy., **Gasztonyi B.**: Genetic and environmental sequences in the inflammatory diseases and polyposis of human gastrointestinal tract. American Gastroenterological Association, Digestive Disease Week, Atlanta, 2001.
15. Kosztolányi Sz., **Gasztonyi B.**, Vincze Á., Battyány I., Hegedüs G., Pár A., Pakodi F., Mózsik Gy.: Association of congenital hepatic fibrosis, multicystic liver and polycystic kidney in a 21-year-old female. Case report. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 43. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2001.
16. Nagy Á., **Gasztonyi B.**, Nagy Zs., Losonczy H., Mózsik Gy.: Genetic risk factors in abdominal vein thrombosis. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 43. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2001.
17. **Gasztonyi B.**, Szomor Á., Schaff Zs., Pár A., Kereskai L., Kálmán E., Battyány I., B. Pavlova, Pajor L., Hegedüs G., Losonczy H., Mózsik Gy.: Hepatocellular carcinoma associated with B-cell lymphoma in the liver of patients with chronic hepatitis C. Predictive oncology & intervention strategies - 6th International Symposium, Paris, 2002.
18. **Gasztonyi B.**, Pár A., Kiss K., Kereskai L., Szeberényi J., Pajor L., Hegedüs G., Mózsik Gy.: Mixed cryoglobulinaemia, immunoglobulin heavy chain (IgH) rearrangement and

activation of nuclear factor kappa B (NF- κ B) in chronic hepatitis C virus (HCV) infection. Predictive oncology & intervention strategies - 6th International Symposium, Paris, 2002.

19. Pár A., Szereday L., **Gasztonyi B.**, Kiss K., Kereskai I., Szomor Á., Pár G., Szeberényi J., Pajor L., Szekeres-Bartho J., Hegedüs G., Mózsik Gy.: Decreased peripheral blood CD 19+ B-cell apoptosis, activation of nuclear factor kappa B (NF- κ B) and immunoglobulin heavy chain (IgH) rearrangement in hepatitis C virus (HCV) infection: mechanisms for lymphomagenesis ? 37th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, Madrid, 2002.
20. **Gasztonyi B.**, Pár A., Kiss K., Kereskai L., Szeberényi J., Pajor L., Mózsik Gy., Hegedüs G.: Immunoglobulin heavy chain rearrangement, activation of nuclear factor kappa B and mixed cryoglobulinemia in chronic hepatitis C virus infection. American Gastroenterological Association. Digestive Disease Week, San Francisco, 2002.

Publikációk impakt faktora: 6,048
--