

with PE labeled CD95 antibody. The cells were then washed and stained with Annexin V FITC. The cells were then measured using a three color flow cytometer. The correlation between the CD4+ Annexin V+ and CD4+ Fas+ Annexin V+ for patients was $r=0.84$ and for controls was $r=0.81$. For CD8+ a similar result was obtained with CD8+ Annexin V+ and CD4+ Annexin V+ Fas+ was $r=0.82$ for patients and $r=0.78$ for controls. The Fas/FasL pathway may not be the only mechanism responsible for the increased apoptosis of CD4+ and CD8+ cells but the contribution is significant.

234.

TREATMENT OF MELANOMA PATIENTS WITH GENETICALLY MODIFIED TUMOR VACCINES (GMTV) DOES NOT DECREASE THE SPONTANEOUS APOPTOSIS OF CD4+ AND CD8+ T CELLS

Osawa T., Kaczmarek A., Kowalczyk D., Bogusz-Osawa M., Mackiewicz A.

Department of Cancer Immunology,
Poznan School of Medical Sciences,
Wielkopolski Cancer Center, ul. Garbary 15,
61-866 Poznan, Poland

In this study, the spontaneous apoptosis of CD4+ and CD8+ T-cells in patients with melanoma were examined. Fifty-seven patients enrolled in the study were participating in an experimental immunotherapy study and were administered vaccines consisting of irradiated, gene modified allogenic melanoma cells: MICH I H6/GMCSF + MICH II H6/GMCSF. The control group consisted of 20 healthy volunteers. Venous blood was obtained on the day of the administration of the first vaccine, and then approximately once a month. Blood was obtained in EDTA tubes, after which the lymphocytes were isolated by Ficoll-Hypaque gradient centrifugation. The lymphocytes were then incubated for 24hrs in medium containing fetal calf serum at 37°C in 5% CO₂ to allow for spontaneous apoptosis to take place. The lymphocytes were then stained with PE-labeled CD4 or CD8 and next, stained for apoptosis using the FITC-

labeled Annexin V binding method. A two color flow cytometry was used to measure the proportion of CD4+ and CD8+ lymphocytes that underwent apoptosis. SD) of CD4+ T cells were Annexin±6.3% (mean ±In patients with melanoma 21 6.3% in healthy controls ($P \pm V+$ compared with 15 < 0.0001). For CD8+ T cells, 4.5%±8.1% of T cells were Annexin V+ and in healthy controls 19±in patients 31 of T cells were Annexin V+($P < 0.0001$). There were no significant changes with time in the proportion of CD4+ and CD8+ lymphocytes undergoing spontaneous apoptosis after the start of the gene modified tumor vaccine therapy.

235.

ANALIZA CYTOGENETYCZNA W DIAGNOSTYCE NIEZIARNICZYCH CHŁONIAKÓW B-KOMÓRKOWYCH (B-NHL)

Pienkowska-Grela B.

Centrum Onkologii - Instytut, Warszawa

Poznanie molekularnych mechanizmów patogenezы i rozwoju chłoniaków nieziarnicznych przyniosło intensywny postęp w metodach diagnozowania B-NHL. Obecnie stosowana klasyfikacja chorób rozrostowych układu chłonnego REAL/WHO oparta jest na analizie danych morfologicznych, immunofenotypowania oraz badań cytogenetycznych i molekularnych, pozwalających na określenie genetycznych nieprawidłowości występujących w komórkach nowotworu. Istotą badania cytogenetycznego jest określenie odstępstw od prawidłowego kariotypu w komórkach nowotworu. Obok klasycznych metod prążkowych, stosowane są techniki FISH (fluorescent in situ hybridization) umożliwiające, przy użyciu specyficznych sond DNA, precyzyjne określenie zmian obejmujących poszczególne chromosomy, ich części bądź określone geny. Aberracje występujące w komórkach chłoniaków, to przede wszystkim translokacje, których efektem jest deregulacja ekspresji określonych białek. W wyniku pęknięcia chromosomu i przeniesienia jego fragmentu następuje zaburzenie funkcjonowania genów znajdującego się w uszko-