

MTA Doktori Értekezés

Celluláris stressz hatása a szervkárosodásra

Szervtranszplantációs és pulmonológiai vonatkozások

Dr. Müller Veronika Judit

2015

Budapest

Tartalomjegyzék:

MTA Doktori Értekezés.....	1
Összefoglalás	4
Summary	5
1. Bevezetés	6
2. Celluláris stresszállapotot befolyásoló faktorok	7
2.1. Iszkémia és reperfüzió (I/R) okozta sejtkárosodás.....	7
2.2. Szervtranszplantációt követő akut és krónikus graftkárosodás.....	8
2.2.1. Akut rejekció, hisztokompatibilitás, szenzitizáció.....	9
2.2.2. Krónikus rejekció és graftkárosodás.....	11
2.2.2.1. A krónikus allograft károsodást kísérő graft diszfunkció klinikai megjelenése	13
2.2.2.2. A krónikus allograft károsodás hátterében álló szövettani elváltozások	13
2.3. Nem és nemi hormonok.....	14
2.4. Öregedés.....	16
2.5. Endotelin.....	17
2.6. Nitrogén monoxid (NO).....	18
2.7. Na ⁺ K ⁺ ATP-áz (NKA) és szérumban és glukokortikoid regulálta kináz (SGK-1).....	19
2.8. Hő sok fehérje (Hsp).....	20
2.9. Immunsuppresszió, csontvelődepresszió, erythropoietin(EPO) kezelés	24
2.10. Infekció	25
2.11. Metabolikus tényezők	26
2.12. Dohányzás.....	27
2.12.1. Dohányfüst hatására létrejövő légúti gyulladás.....	28
2.12.2. Dohányfüst szisztémás immunrendszert érintő hatásai	31
2.12.3. Dohányzás és szteroidrezisztencia.....	32
2.13. Nem megfelelő vagy nem megfelelően alkalmazott gyógyszeres kezelés	33
3. Célkitűzések	35
4. Anyagok és módszerek.....	36
4.1. Állatkísérletes modellek: az I/R, akut és krónikus graftkárosodás, gyógyszerhatások kapcsán észlelt nemi különbségek vizsgálatára.....	36
4.1.1. Kísérleti állatok	36
4.1.2. Műteti beavatkozások	36
4.1.2.1. I/R létrehozása.....	36
4.1.2.2. Ortotop vesetranszplantáció.....	37
4.1.2.3. Krónikus vesekárosodás kiváltása egérmodellel	37
4.1.3. Funkcionális mérések	37
4.1.4. Hemodinamikai vizsgálatok.....	38
4.1.5. Szövettani vizsgálatok.....	38
4.1.6. Teljes RNS izoláció, reverz transzkripció, PCR reakció és elektroforézis.....	39
4.1.7. Western Blot	39
4.1.8. NKA és NOS enzimaktivitás mérése	40
4.2. Dohányfüst károsító hatásának vizsgálata alveoláris epitélisejtekben.....	40
4.2.1. Sejtkultúra	40
4.2.2. Dohányfüst extraktum (CSE) előállítása	41
4.2.3. Áramlási citometria (FACS) analízis.....	41
4.2.4. Hsp72 csendesítés (silencing (si)RNS transzfekció)	41
4.3. Klinikai vizsgálatok a celluláris stressz klinikai kísérletes témaköréhez kapcsolódóan.....	41
4.3.1. Transzplantációt követően a krónikus graftműködést befolyásoló faktorok	41
4.3.2. Dohányzási szokások felmérése speciális populációkon	42
4.3.3. Sejtkárosodás és hatásai tüdőrákos betegekben.....	42
4.3.3.1. Kemoterápiás kezelés klinikai tolerálhatósága	42
4.3.3.2. Kemoterápia indukálta anémia (CIA) és nefrotoxitás tüdőrákban.....	43
4.3.3.2. Hsp72 szerepe kisgyermek tüdőrákban (SCLC).....	43
4.3.4. Légúti gyulladás vizsgálata obstruktív tüdőbetegségekben.....	44
4.3.4.1. Inhalációs eszközválasztás obstruktív tüdőbetegségeknél.....	44
4.3.4.2. D vitamin szint és obstruktív tüdőbetegségek kapcsolata	44
4.3.4.3. Pulmonális manifestációk megjelenése és a perifériás immunválasz változása autoimmun tüdőbetegségekben.....	45
4.4. Statisztikai analízis	49
5. Eredmények	50
5.1. Állatkísérletes modellek celluláris stressz vizsgálatára.....	50

5.1.1. I/R állatmodell	50
5.1.1.1. Nemi különbségek és hormonális milieu vizsgálata I/R okozta akut szervkárosodásra.....	50
5.1.1.2. Renális I/R során észlelt nemi különbség hátterében álló mechanizmusok vizsgálata (NKA, Hsp72, SGK-1 és EPO kezelés hatása).....	53
5.1.2. Transzplantációs állatmodell	58
5.1.2.1. Graftműködést meghatározó tényezők: nem és nemi hormonok	58
5.1.2.2. Nemi különbségek az immunszuppresszív kezelésre adott válaszban és a renális NOS rendszerben	59
5.1.3. A működő szövetmennyiség csökkentésének hatása a szerv hosszú távú működésére	67
5.1.3.1 Endotélprotekcio.....	67
5.1.3.2. Működő nefronszám hatása a szerv működésére: patkánytörzsek összehasonlítása	68
5.1.3.3. Egérmodell	70
5.2.1. Dohányfüst és szteroid (dexamethasone) hatása tüdő alveoláris epitélisejtek Hsp72 rendszerére .	73
5.3. Klinikai vizsgálatok a celluláris stressz klinikai kísérletes témaköréhez kapcsolódóan.....	78
5.3.1. Transzplantációt követően a krónikus graftműködést befolyásoló faktorok	78
5.3.2. Dohányzás speciális populációkban.....	79
5.3.2.1. Dohányzás magyarországi vesetranszplantáltak körében	79
5.3.2.2. Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján dolgozók dohányzási szokásainak felmérése	81
5.3.3. Sejtkárosodás és hatásai tüdőrákos betegekben	81
5.3.3.1. Kemoterápiás kezelés klinikai tolerálhatósága	81
5.3.3.2. Kemoterápia indukálta anémia (CIA) és nefrotoxitás tüdőrákban	82
5.3.3.2. Hsp72 szerepe SCLC-ban	84
5.3.4. Légúti gyulladás vizsgálata obstruktív tüdőbetegségekben	87
5.3.4.1. Inhalációs eszközválasztás obstruktív tüdőbetegeknél.....	87
5.3.4.2. D vitamin szint és obstruktív tüdőbetegségek kapcsolata	91
5.3.4.3. Pulmonális manifesztációk megjelenése és a perifériás immunválasz változása autoimmun tüdőbetegségekben	94
6. Megbeszélés.....	97
6.1. Állatkísérletes modellek celluláris stressz vizsgálatára.....	97
6.1.1. I/R modell	97
6.1.2. Transzplantációs állatmodell	100
6.1.3. A működő szövetmennyiség csökkentésének hatása a szerv hosszú távú működésére	104
6.2. Dohányfüst okozta sejtkárosodás	106
6.3. Klinikai vizsgálatok a celluláris stressz klinikai kísérletes témaköréhez kapcsolódóan.....	108
6.3.1. Transzplantációt követően a krónikus graftműködést befolyásoló faktorok	108
6.3.2. Dohányzás speciális populációkban.....	109
6.3.3. Sejtkárosodás és hatásai tüdőrákos betegekben.....	111
6.3.4. Légúti gyulladás vizsgálata obstruktív tüdőbetegségekben.....	114
7. Eredmények összefoglalása.....	122
8. Köszönetnyilvánítás.....	125
9. Megjelent saját közlemények bibliográfiai adatai	126
9.1. A disszertáció témájában a PhD értekezést követően megjelent első- vagy utolsószerzős közlemények.....	126
9.2. A disszertáció témájában a PhD értekezést követően megjelent társszerzős nemzetközi közlemények.....	128
9.3. A disszertáció témájában a PhD értekezést követően megjelent magyar nyelvű közlemények.....	132
9.4. Nem a disszertáció témájában a PhD értekezést követően megjelent első- vagy utolsószerzős nemzetközi közlemények	134
9.5. Nem a disszertáció témájában a PhD értekezést követően megjelent társszerzős nemzetközi közlemények.....	135
9.6. A PhD értekezéshez felhasznált közlemények	137
9.7. Impakt faktor összesítés és százalékos arány a küszöbértékhez viszonyítva	139
10. Irodalomjegyzék	140

Összefoglalás: A szervkárosodást előidéző stresszhatások végeredménye végállapotú szervelégtelenség kialakulása, melynek sok esetben végső kezelési módja a szervtranszplantáció. A műtéti technika fejlődése és az immunológiai folyamatok mind jobb megismerése és új immunszuppresszív szerek megjelenése megváltoztatta a transzplantátumok elvesztésében szerepet játszó tényezők megoszlását. A krónikus graftelégtelenség kialakulásában alloantigéntől függő és alloantigéntől független faktorok játszanak szerepet. Kísérletes munkáinkban a transzplantáció elkerülhetelen velejáróját, az iszkémiás/reperfúziós károsodást befolyásoló tényezőket, illetve a transzplantátum akut és krónikus kilökődésében szerepet játszó folyamatokat vizsgáltuk.

Dohányzás során nagyon nagy mennyiségű káros anyag kerül a szervezetbe. Nem csak a tüdőben, de valamennyi szervben számos élettani folyamatot és a gyógyszerek hatását változtatva. A dohányzás során, vagy a tüdőbetegségek velejárójaként megváltozó ventiláció kapcsán a nem megfelelő oxigénellátás (pl. obstruktív tüdőbetegségek, tüdőrák) gyulladásos folyamatokat, strukturális eltéréseket és ezáltal a betegek általános állapotának romlását idézi elő. Hasonlóan celluláris stresszhatást okoznak és bizonyítottan befolyásolják a szervfunkciót a működő funkcionális egységek számának csökkenése (acinusok, nephronok), az életkor és a nem. A kísérőbetegségek, mint hipertónia, metabolikus faktorok és fertőzések fellépése szintén hozzájárulnak a szerv funkciójának progresszív romlásához. Az alkalmazott immunszuppresszív és kemoterápiás szerek számos mellékhatással járnak, melyek nagyrészt sejtkárosító hatásúak. A non-compliance pedig az egyik legfontosabb rizikófaktor a krónikus szervdiszfunkció kialakulásában.

Függetlenül a kiváltó októl, a krónikus szervdiszfunkció pathomechanizmusa sok esetben hasonló. A felsorolt faktorok az endotélium és/vagy epithelium károsodását okozzák, amely citokinek és növekedési faktorok kiválasztásán keresztül gyulladást vált ki, proliferatív folyamatokat indít és a szerv fibrózisához vezet.

Jelen munka összefoglalja a jelenleg ismert rizikófaktorokat és azok hatását a hosszú távú szervkárosodásra transzplantációs kísérletes modell és klinikai kutatási adatok eredményeit felhasználva.

Kulcsszavak: celluláris stressz, iszkémia/reperfúzió, szervtranszplantáció, dohányzás, obstruktív tüdőbetegségek, tüdőrák, gyógyszer mellékhatás, életminőség

Effects of cellular stress on organ damage

Summary: Cellular stress induced organ damage might result in organ failure where transplantation of the solid organ is an established treatment possibility. The causes of allograft loss have changed with new operation methods, better understanding of immune mechanisms and the introduction of new immunosuppressive agents. The causes of chronic allograft dysfunction can be divided into alloantigen-dependent and alloantigen-independent factors. In our experimental studies the role of the inevitable ischemia/reperfusion injury and factors influencing acute and chronic rejection were analyzed.

Smoking introduces huge amount of harmful substances into the body. Not only lungs are severely damaged, but smoking is altering several physiological processes and the effectiveness of drugs. Smoking and/or the lung disease (e.g. chronic obstructive lung disorders, lung cancer) might result in hypoventilation and reduced oxygen supply, inducing inflammation, structural changes and the overall deterioration of the health status of the patient. Cellular stress is provoked by the decreased number of functional units of the organ (eg-. acinar structures, nephrons), age and gender. Comorbidities, such as hypertension, metabolic factors and infections contribute to accelerated deterioration of the organ function. Immunosuppressive therapeutic agents have diverse side effects, most of them causing cellular damage. Moreover, non-compliance is one of the most important risk factors for the development of chronic organ dysfunction.

Regardless of the cause of the initial injury the pathophysiology of chronic organ dysfunction seems to be the same. All these factors mentioned above induce endothelial/epithelial injury, which leads to increased expression of cytokines and growth factors resulting in inflammatory and proliferative processes and scarring of the organ.

This work reviews current knowledge about risk factors and their effect on longterm organ damage using experimental transplantation model and clinical research results.

Key words: cellular stress, ischemia/reperfusion, solid organ transplantation, smoking, obstructive lung disease, lung cancer, drug side effect, quality of life

1. Bevezetés

A környezeti ártalmak, a sejtek nem megfelelő oxigénellátottsága, a betegségek kezelésében alkalmazott gyógyszerek mellékhatásai valamennyien károsítják a szervezetet és annak sejtjeit. A szervezetet érő káros, a sejtekre kifejtett, végső soron stresszállapotot okozó behatások vezetnek el a különböző kórállapotok kialakulásához. A stresszállapotokra adott választ azonban a sejtek aktuális állapota, közvetlen környezete (pl. hormonális milieu) befolyásolhatja.

Végállapotú szervelégtelenség kialakulását követően csak szervpótló kezeléssel vagy transzplantációval biztosítható a beteg élete és/vagy megfelelő életminősége. A transzplantációra kerülő szervek sejtjei valamennyi esetben valamilyen mértékű iszkémiás és reperfüziós (I/R) károsodást szenvednek. Ennek a károsodásnak a mérséklése javítja a beültetett szerv hosszú távú működését és ezáltal a beteg életkilátásait és életminőségét.

A transzplantáció során az I/R károsodás csak az egyik folyamat, mely a szerv károsodását meghatározza. Az idegen szöveti szerkezet immunfolyamatok sorát indítja be, mely akut és/vagy krónikus kilökődéshez vezet. A kilökődési folyamatot immunszuppresszív szerekkel csökkenthetjük, melyek azonban számos mellékhatással rendelkeznek.

A környezeti ártalmak (stresszállapotok) közül kiemelendő a dohányfüst okozta sejtkárosítás. Dohányzás esetén az egyén döntése, hogy választja-e az egyébként elkerülhető egészségkárosítást. A dohányfüst okozta szervkárosodások megértése nagyon fontos a népbetegségnek számító dohányzással összefüggésbe hozható kórképek (tüdőrák, szívinfarktus, krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD), stroke stb.) jobb megismerésében.

A doktori értekezés az I/R, a transzplantáció és a dohányfüst okozta celluláris károsító állapotok, az ezek hatására módosuló celluláris immunválaszt, illetve ennek lehetséges módosításának vizsgálata során elért eredményeinket összegzi.

2. Celluláris stresszállapotot befolyásoló faktorok

2.1. Iszkémia és reperfúzió (I/R) okozta sejtkárosodás

Valamennyi szerv transzplantációja során elkerülhetetlen, nagy hasi és mellkasi műtéteknél sok esetben szintén szükséges egyes szervek átmeneti iszkémiája, majd a szerv reperfúziója. A transzplantált szerv leggyakrabban agyhalott donortól származik, de bizonyos esetekben lehetőség van élő donorból is szerv (leggyakrabban vese, májlebeny, tüdőlebeny) átültetésére. Az élő donorból származó szerv esetén a graft várható túlélése jelentősen jobb, mint cadaver donortól származó szerv esetén (1). A donorok esetén az egyik legfontosabb különbség az iszkémia idejében áll.

Oxigénhiányos állapotban a sejtek ATP raktárai kimerülnek, ez az energiaigényes folyamatok csökkenéséhez illetve leállásához (membrántranszport folyamatok, protein szintézis, lipogenezis) vezet. Az ATP szint csökkenéssel párhuzamosan nő az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció. A transzportfolyamatok gátlása a sejtekben Na^{+} retenciót és következményes vízbeáramlást okoz, ami a sejtek duzzadását eredményezi. Az intracelluláris tér megnövekedett víztartalma és az endotélsejtek duzzadása helyi hemokoncentrációhoz, fokozott viszkozitáshoz és a hemodinamikai viszonyok megváltozásához vezet. A kapilláriskeringést tovább rontja a vér sejtsejtes elemeinek acidózis okozta csökkent rugalmassága. Ezek a változások együttesen akár a kapillárisáramlás megszűnését is okozhatják (2).

Az iszkémia okozta szöveti károsodás mértéke függ az iszkémiás periódus hosszától és az azt követő reperfúziótól. A reperfúzió súlyosbítja a szöveti károsodást, ugyanis a véráramlás visszaállása során keletkező reaktív oxigéngyökök lipidperoxidációt, DNS-degradációt illetve a poliszacharid-depolimerizáció növekedését okozzák (3, 4). Az endotél sérülése miatt felszabaduló lokális vazokonstriktor ágensek (pl. endotelin), illetve a leukociták aktivációja és a posztkapilláris venulák endotéljéhez való kitapadása az endotél integritásának megszűnéséhez és a plazma makromolekuláinak extravazációjához vezet (5). A reaktív oxigéngyökök aktiválják a neutrofil granulocitákat és a trombocitákat. Az oxigéngyökök keletkezéséért elsősorban a xantin-oxidáz enzim tehető felelőssé. Az enzim a hipoxantint oxigén segítségével xantinná alakítja, miközben reaktív oxigéngyökök keletkeznek. Az iszkémia hatására az enzim indukálódik, emellett szubsztrátja, az ADP-degradáció végterméke, a hipoxantin is felszaporodik. A reperfúzió során fellépő „oxigéndömping” hatására az enzim működése megindul, a molekuláris oxigénből reaktív oxigéngyökök képződnek. Olyan enzimről van tehát szó, melynek egyik szubsztrátját (hipoxantin) az iszkémia, a másikat (O_2) pedig a reperfúzió szolgáltatja (6,7). Az aktivált leukociták további oxidánsokat és mediátorokat szabadítanak fel (platelet activating factor, citokinek, hisztamin). Az I/R

károsodás által aktivált oxigéngyökök, leukociták, trombociták és a felszabaduló mediátorok circulus vitiosus-t alkotnak, tovább csökkentve az endotél integritását és fokozva az intersticiális ödémát és gyulladást. Tekintve, hogy az I/R károsodás szükségszerű velejárója a transzplantációnak, ezt a rizikófaktort kiküszöbölni nem lehet. A károsodás csökkentésére különböző összetételű perfúziós folyadékokat használnak, amellyel a donor szervet áramoltatják át a beültetés előtt. Napjaink transzplantációs kutatásainak egyik központi témája azon szerek felkutatása, amelyekkel az I/R károsodás csökkenthető. Ezen szerek közül külön kiemelendők a különböző antioxidánsok.

A donor általában súlyos traumát vagy kórállapotot követően kerül az agyhalál állapotába. Felmerül, hogy már a donorszervek kivétele előtt a donorszervezetbe bejuttatott, gyors hatású anyagokkal csökkentjük az I/R károsodást (8,9). Kísérleteinkben egy részben az I/R károsodás patomechanizmusát, részben csökkentésének lehetőségeit vizsgáltuk.

2.2. Szervtranszplantációt követő akut és krónikus graftkárosodás

Végállapotú szervéltelenség esetén sok esetben az utolsó terápiás lehetőség a szerv transzplantációja. Az idegen szerv kivétele, konzerválása és beültetése a technikai kihívások mellett jelentős immunológiai következményekkel és ennek megfelelő terápiás konzekvenciákkal bír (10). A szervátültetés során a beültetett szervet számos stresszhatás éri, mely miatt működésének várható időtartama sajnos limitált.

Az egyes szervek esetében a várható graft túlélésben jelentős különbségek vannak (11). A máj és a vese esetén van idő megfelelő immunológiai vizsgálatokra, hogy a donor és a recipiens immunológiai státusa közeli legyen. A táblázatból kitűnik, hogy bár van emelkedés a túlélésben ez nem áll arányban az időközben jelentősen javult műtéti technikával és a gyógyszeres terápia fejlődésével. Ennek háttérében részben az áll, hogy egyre több, korábban transzplantációra alkalmatlannak tartott, súlyosabb kórképben szenvedő beteg esetében is terápiás lehetőséggé vált a szervátültetés. A másik ok pedig az, hogy a jelentősen megnövekedett transzplantációs igény miatt korábban donációra alkalmatlannak ítélt szerv (marginális donorból) kerül beültetésre.

Tüdő esetében csak 6 óra áll a sebészek rendelkezésére a szerv kivétele és a beültetés között. A tüdőtranszplantáció műtéteknikai kihívást is jelent (pl. altatás, hörgő anasztomózisok), így az eredmények a nagy betegszámot felmutató centrumokban a legjobbak (12,13,14). A tüdő graftok esetén még további stresszállapotot jelent, hogy transzplantációt követően a tüdő

folyamatosan érintkezik a környezettel, állandó belépési kapuként szolgálva különböző kórokozóknak, légszennyezésnek.

A graft folyamatos immunológiai szignált jelent a recipiens immunrendszerének, mely a beültetett idegen szerv sejtjeinek eltávolítását célozza. Ezért valamennyi páciens immunszuppresszív kezelésben részesül a kilökődési folyamatok megakadályozására. Az immunszuppresszív szerek azonban számos mellékhatással rendelkeznek, megfelelő kiválasztásuk és a szükséges terápiás tartomány kijelölése komoly klinikai kihívást jelent.

Immunszuppresszív állapot jelentősen emeli az infekciók kockázatát (15) és a patogének spektrumát (16). Hosszú távú alkalmazás során a daganatok rizikója is emelkedik (17,18). Nagyon nehéz a megfelelő, egyénre szabott kezelés kialakítása, melyben a kilökődést megakadályozó szintű immunszuppresszió megvalósul, de nem alakulnak ki fertőzések.

A graft megfelelő működését számos alloantigéntől függő és attól független faktor befolyásolja (1. táblázat). Az alloantigéntől függő tényezők elsősorban az akut kilökődés, az alloantigéntől független tényezők dominánsan a krónikus kilökődés és graft diszfunkció kialakulásában fontosak.

Kísérleteinkben a transzplantált szerv akut és krónikus diszfunkciójának hátterében álló okokat és lehetséges kezelési stratégiáit vizsgáltuk.

1. táblázat. A graft hosszú távú működését befolyásoló faktorok

I. Alloantigéntől függő faktorok	Hisztokompatibilitás, szenzitizáció, akut rejekciók száma, akut rejekciók intenzitása
II. Alloantigéntől független faktorok	I/R károsodás, immunszuppresszív terápia, gyógyszer toxicitás, infekciók, működő graft funkcionális egységek számának csökkenése, nem, életkor, metabolikus faktorok (hipertónia, hiperlipidémia, diabetes mellitus), agyhalál hatása a donor szervre, rossz együttműködés (non-compliance), dohányzás.

2.2.1. Akut rejekció, hisztokompatibilitás, szenzitizáció

Az akut kilökődés hátterében immunológiai folyamatok sora áll, melynek során a recipiens szervezete az idegenként felismert graft sejteket igyekszik eltávolítani. Ezt igazolja a tény, hogy egyetétjű ikrek esetében (isograft) nincs akut kilökődés és ebben az esetben a legjobb a graft túlélése (19,20).

A szervtranszplantáció széles körű terjedése az immunszuppresszív terápia fejlődésével vált valóssá. Az immunszuppresszió ad rá módot, hogy genetikailag eltérő egyének között alkalmazzunk szervátültetést. Nem egyetűjű ikrek esetén a humán leukocita antigén (HLA)-identikus donoroktól származó transzplantátumok működnek a legjobban (21), és minél nagyobb a donor és recipiens HLA különbsége, annál rövidebb a graft várható élettartama (22). A terhesség, a transzfúziók és a már korábban transzplantációban részesült páciensekben kialakuló HLA ellenes antitestek vizsgálata segíthet az immunválasz erősségének kiszámításában. Valamennyi szervátültetésre várónál a panel-reaktív antitestek (PRA) előfordulását is meg kell határozni (23). A PRA jelentőségét mutatja, hogy azonos HLA különbség ellenére, szenzitizált betegekben a graft hosszú távú túlélése jelentősen csökken (24,25,26). Különösen nagy az immunológiai rizikó abban az esetben, amikor HLA I és HLA II osztály ellen is kimutathatók ellenanyagok (27,28). További fontos tényező, hogy a transzplantációt követően „de-novo” is kialakulhatnak HLA ellenes antitestek, amelyek tovább rontják a graft túlélését (29,30).

A perioperatív infekciók mellett az akut kilökődés a legfontosabb tényezője a graft első éves túlélésének, és egyben jelentős meghatározó faktora a graftok hosszú távú működésének is. Akut rejekció esetén a beültetett szerv várható féleletideje valamennyi szerv esetén jelentősen csökken (31). Az akut kilökődési reakcióban a beültetett szerv további károsodást szenved, mely a működő szövetmennyiség további csökkenését vonja maga után. Ismétlődő rejekciók esetén a graftok túlélésnek aránya szignifikánsan alacsonyabb (32).

Az akut kilökődések száma mellett annak intenzitása is fontos szerepet játszik a graftműködés hosszú távú alakulásában (33). Azokban a recipiensekben, akikben az akut rejekció enyhe, megfelelő kezelés mellett a túlélés nem különbözik szignifikánsan az akut kilökődést nem mutató betegektől (34). Az intenzitás mellett az akut kilökődés első éven belüli jelentkezése is befolyásolja a hosszú távú graftműködést. Vesetranszplantáció után az első 3 hónapban észlelt akut rejekció nem, míg a 3-6. hónap között kialakult viszont jelentősen emelte a graftvesztés esélyét. Joosten és munkatársai vizsgálatában a 10 éves grafttúlélés az akut rejekció nélküli betegek esetén 94%, a korai akut rejekcióban 86%, míg a késői akut rejekciót átélték mindössze 46% volt (35). Szívtranszplantáció esetén az akut kilökődés megjelenése szintén jelentősen fokozza a szív allograft vaszkulopátiát, mely ezen szervnél a krónikus graft diszfunkció megnevezése (36). Gyermekszívtranszplantációban a szervátültetést követően 6 hét és 1 év között észlelt rekuráló akut rejekciók jelentősen rontották a hosszú távú graftműködést és a túlélést (37).

Az idegen szerv kilökődésének megakadályozását célozzák a transzplantációt követően alkalmazott immunszuppresszív terápia. Az immunszuppresszív kezelés fejlődésének legjobb bizonyítéka, hogy a graftok első éves túlélése az utóbbi évtizedekben jelentősen nőtt. A hosszú

távú graftműködés azonban az akut rejekciók kezelésének javulása és általában az immunszuppresszív kezelés fejlődésének ellenére arányaiban jelentősen nem változott (38). Azáltal, hogy az immunszuppresszív szerek segítségével beavatkozunk az akut kilökődés folyamatába még nem biztos, hogy sikerül befolyásolni a krónikus kilökődéshez vezető, de részben eltérő immunológiai választ. Az immunszuppresszív szerek biológiai folyamatokban betöltött szerepét más kórképek (pl. autoimmun kórállapotok) tanulmányozása és az ott észlelt immunfolyamatok jobb megértése tovább javíthatja.

2.2.2. Krónikus rejekció és graftkárosodás

A graftok hosszú távú funkcióvesztésében is fontos szerepet játszanak az immunológiai folyamatok, ezt nevezzük krónikus rejekciónak. A szövettani elváltozásokkal kísért folyamatot funkcióvesztés is kíséri, mely szervenként különböző diszfunkció formájában jelentkezik. Az egyes szervekre jellemző krónikus graftvesztést mutató vizsgálómódszereket és a háttérben álló jellegzetes szövettani eltéréseket a 2. Táblázat összegzi.

2. Táblázat. Szervtranszplantátumok krónikus diszfunkcióját mutató klinikai vizsgálómódszerek és szövettani jellemzői

	Jellemző klinikai vizsgálati eltérések	Szövettani eltérések
Tüdő	Légzésfunkció: kislégúti obstrukció (FEF50)	Bronchiolitis obliterans (39)
Vese	Vesefunkció: szérum kreatinin, kreatinin clearance, proteinuria	Krónikus allograft károsodás (korábban krónikus allograft nefropátia) (40,41)
Máj	Májfunkció: GGT, ALP, bilirubin, GOT	Epevezeték atrófia és vesztés, obliteratív arteriopátia (42)
Szív	Stresszechokardiográfia, koronarográfia	Szív allograft vaszkulopátia (43)
Hasnyálmirigy/ hasnyálmirigy vese	Vércukor	Krónikus rejekció/szklerózis (44,45)

A krónikus rejekció egy immunológiai folyamatot jelent, amely a graft állományának pusztulásához vezet. A krónikus rejekció tehát az alloantigéntől-függő immunválasz neve,

amely hosszútávon krónikus funkcióvesztést okoz. Az immunológiai folyamatok során a beültetett szerv funkciója is károsodik, melynek klinikai megjelenése szervenként különböző.

A transzplantáció során kialakuló celluláris és funkcionális elváltozásokat kísérleteinkben a legkönnyebben elvégezhető veseátültetéssel modelleztük, ezért az alábbiakban a vesetranszplantátum krónikus diszfunkciója részletesebben kerül kifejtésre.

A vese esetében a krónikus allograft diszfunkció szövettani képe a krónikus allograft károsodás, klinikai megjelenése pedig a vesefunkció beszűkülése. A funkcionális paraméterek romlásának (szérum kreatinin emelkedés, proteinuria növekedés) hátterében mindig szövettani elváltozás áll. Sok esetben stabil funkcionális paraméterek mellett észlelhetők szövettani elváltozások, vagyis a krónikus allograft károsodás nem mindig jár krónikus allograft diszfunkcióval (46). A krónikus allograft károsodás (korábban krónikus allograft nefropátia) az általunk vizsgált folyamatra specifikus szövettani eltéréseket jelöli, amelyek a későbbiekben funkcionális elváltozáshoz is vezetnek, míg a krónikus allograft diszfunkció hátterében egyéb, pl. az alapbetegség kiújulása, gyógyszer okozta nefrotoxicitás következtében létrejövő morfológiai eltérés is állhat.

Vese esetében a donor és a recipiens testsúlyának és a beültetésre kerülő vesének az aránytalanságai miatt felmerült, hogy esetleg a beültetésre kerülő szerv nem tartalmaz elegendő funkcionális egységet (vese esetében nefron) a szervezet igényeinek biztosításához. (47). A nefronszám csökkenése számos okból bekövetkezhet. Önmagában az, hogy csak egy vese kerül beültetésre kevesebb funkcionális egységet jelent, illetve a transzplantáció során jelentkező további noxák (műtét, I/R, gyógyszer toxicitás stb) tovább csökkenthetik a nefronszámot (48). Humán vizsgálatok igazolták, hogy a testsúly, testfelszín és vesetömeg összefüggést mutat a nefronok számával, így a nem és az etnikum szerepe is felvetődött (49). Egyes vizsgálatok szerint a nőknek kisebb a veséjük és kevesebb a nefronjaik száma, csakúgy, mint az afroamerikaiaknak (50). Más eredmények azonban cáfolták ezt a megállapítást (51).

A hiperfiltrációs teória alapján a kevesebb glomerulusra háruló azonos mennyiségű feladat miatt glomeruláris hipertenzió és hiperfiltráció alakul ki, mely fokális glomeruloszklerózishoz vezet (52). A nagyobb nyomás és a turbulens áramlás az endotélsejtek aktivációját okozza, amely az adhézións molekulákon, citokineken és növekedési faktorokon keresztül fokozza a leukocita adhézións, migrációt és proliferációt, és ezeken a hatásokon keresztül progresszív szklerózist eredményez (53). A folyamat legvégül a funkcionális tartalékok kimerülésével veseelégtelenségbe torkollik (54). A többi transzplantált szervnek nincsenek nefronjai, ugyanakkor a krónikus graft diszfunkció ezekben az esetekben is megjelenik, vagyis itt is számolni kell a funkcionális egységek (pl. acináris struktúrák) mennyiségének csökkenésével (55).

A közös patológiai eltérés a szolid szervek esetében az endotélsejtek aktivációja lehet. Az endotélsejtek számos noxa által aktiválódnak. Az így indukált folyamatok a graft károsodásához, diszfunkciójához, kilökődéséhez vezetnek. A különböző okokból aktiválódott endotélium és az így aktivált immunológiai folyamatok okoznak szöveti pusztulást, melynek egyik legfontosabb kiváltója az I/R (56).

2.2.2.1. A krónikus allograft károsodást kísérő graft diszfunkció klinikai megjelenése

Klinikailag a krónikus allograft károsodást a vesetranszplantátum működésének progresszív beszűkülése jellemzi. Jellemző a glomeruláris filtrációs ráta (GFR) folyamatos csökkenése (creatinin clearance) (57), a folyamathoz általában proteinuria és hipertónia társul. A fehérjeürítés, mely általában napi 1-2 g között mozog, megjelenése a háttérben zajló krónikus allograft károsodásra hívja fel a figyelmet (58, 59). Ritkán észlelhető ennél nagyobb mértékű proteinurái, ekkor a transzplantátumot már súlyosan érintő glomerulopátia eredménye (60). A magasvérnyomás súlyossága és a graft funkcionális, valamint szövettani elváltozásai között is szoros összefüggést mutatható ki (61, 62).

2.2.2.2. A krónikus allograft károsodás háttérében álló szövettani elváltozások

A szövettani eltérések nem specifikusak. Jellemző az arterioszklerózis, a glomeruláris károsodás és hegesedés, a peritubuláris kapillárisok falának megvastagodása, intersticiális fibrózis, valamint tubuláris atrófia (63, 64). A graftot érintő arterioszklerózis koncentrikus intima megvastagodással jár, az artériákat és arteriolákat kiterjedten érinti. Mindezt gyakran az érfal makrofágokkal, limfocitákkal és kis mértékben habos sejtekkel történő infiltrációja kíséri. Az intima megvastagodását a miofibroblastok mediából történő migrációja és lokális proliferációja, illetve extracelluláris mátrixfehérjék lerakódása okozza (65).

A glomeruláris elváltozások a glomeruláris erek kollapszusával, glomeruláris hipertrófiával, a mezangiális mátrix kiszélesedésével és fokális glomeruloszklerózissal jellemezhetőek (66, 67). A transzplantátumban észlelhető glomerulopátia morfológiai sajátosságai alapján a háttérben immunmechanizmus áll, mely krónikus endoteliális károsodás eredménye (68,69).

Elektronmikroszkóppal a bazálmembránban és a mezangiumban elektrodenz depozitumok lerakódása figyelhető meg. Immunhisztokémiai módszerekkel tenascin, fibronectin és IV. típusú kollagén mutatható ki (70,71,72).

Az aktuális ajánlás szerint antitest mediálta rejekciót, T-sejt mediálta rejekciót, intersticiális fibrózis és tubuláris atrofiát, határeseti eseteket és egyéb elváltozásokat kell vizsgálni a biopsziás mintából (40).

A transzplantátumok kilökődésekor észlelt szövettani elváltozások standardizálásához nemzetközi klasszifikációt vezettek be, mely számos alkalommal módosult az elmúlt 2 évtizedben. A Banff séma (73,40,74) az intersticiális fibrózis, a tubulus atrófia, a mezangiális mátrix proliferáció, a glomerulopátia és az intima proliferáció megjelenése és súlyossága alapján állapítja meg a krónikus kilökődés mértékét. Fontos kiemelni, hogy a folyamatosan bővülő ismeretanyag, a biológiai rendszerek vizsgálatának új módszerei miatt folyamatos megújulást igényelnek a klasszifikációk, így a Banff séma is (75). Egy másik alkalmazott pontrendszer a CADI (chronic allograft damage index) (76,77). Az értékelési rendszerek objektivitása és összehasonlíthatósága sokat vitatott, de tény az, hogy a krónikus kilökődés pontos diagnózisának felállításához a szövettani vizsgálat elengedhetetlen.

A vese esetében további problémát jelent, hogy a leggyakrabban alkalmazott immunszuppresszívumok (calcineurin gátlók) nefrotoxikus mellékhatással rendelkeznek, így a krónikus allograft károsodás és a gyógyszertoxicitás elkülönítése kihívás a patológusnak (78). A másik probléma a vesekárosodást kísérő, illetve a sokszor már korábban is észlelt hipertónia okozta szövettani eltérések értékelése.

2.3. Nem és nemi hormonok

Egyre több tanulmány igazolja a különféle kórállapotokban a nem és a nemi hormonális milieu központi szerepét (pl. autoimmunitás, allergiás megbetegedések). A betegségek incidenciájában, progressziójában és a terápiás válaszkészségben is jelentős különbségek figyelhetők meg a nemek között.

A legtöbb élettani és kórélettani folyamat a két nemben különbséget mutat. A nemi különbségek vizsgálata során nem csak a genetikai különbségek, hanem a nemi hormonális hatások szerepe is fontos. Az ösztrogének védő szerepe a miokardiális iszkémia és arterioszklerózis esetén a menopauza előtt már régen ismert, de menopauza után eltérő hatásai észlelhetők (79). Az ösztradiol részben a krónikus szkerotikus folyamatokat gátolja a növekedési faktorok expressziójának csökkentésével és az endotél védelmével, részben az iszkémiás károsodást csökkenti. Ismert, hogy a női nem számos, hipoxiás károsodásnak kitett szerv esetében protektív hatású. A védő hatásért elsősorban az ösztradiol felelős, bár a különbség hátterében az androgének, illetve a két hormon aránya is fontos. Miokardiális I/R esetén β -ösztradiol adása a miokardiális hemodinamikai paraméterek javulását és az aritmiák előfordulásának csökkenését eredményezi (80). Ösztradiol adása splanchnikus (81) és cerebrális (82) iszkémia esetében is csökkenti a mortalitást és az iszkémiás károsodást.

A nem és a nemi hormonok hatását a szervkárosodásra vesemodellen vizsgáltuk, ezért az erre vonatkozó ismeretek kerülnek részletesebb kifejtésre. Akut veseelégtelenség kialakulásával és progressziójával kapcsolatos kísérleteket korábban csak hím állatokon végeztek, a nem és a nemi hormonok szerepét a vese I/R károsodásában mindeddig alig vizsgálták. Szintén nem történtek korábban kísérletek a nem és nemi hormonok hatásának kimutatására a krónikus allograft diszfunkció pathomechanizmusában.

A végállapotú vesebetegség prevalenciája férfiaknál magasabb, mint nők esetében (83, 84, 85,86) (3. táblázat). Állatkísérletes eredmények szerint hím patkányokban a kor előrehaladtával proteinuria és glomeruloszklerózis alakul ki, míg nőstény állatoknál, ösztrogénnel kezelt és kasztrált hímeknél ezek az eltérések nem jelentkeznek (87).

A vesetranszplantátumok hosszú távú túlélését a donor és a recipiens neme befolyásolja. A legjobb funkciót férfi donorok esetén, a legrosszabbat női donoroknál észlelték. Fontos még a recipiens neme is: jobbak az eredmények női recipienseknél, rosszabbak férfi recipienseknél (89). Idős korban a vese mérete és a nefrons szám is csökken, ez adta azt a kézenfekvő elképzelést, hogy a kisebb méretű női vese esetleg kevesebb nefront tartalmaz (88). Az alacsonyabb nefrons szám hiperfiltrációhoz, ezáltal fokozott celluláris stresszhez vezet. Ezzel a mechanizmussal magyarázták, hogy a női vesét kapó férfiakban volt a legjobb a hosszú távú graftműködés.

Egy 2001-ben elvégzett klinikai vizsgálat kimutatta, hogy a férfi és női transzplantált betegekben a hosszú távú graftműködés azonos. Szubanalízis azonban igazolta, hogy míg az akut kilökődések száma és így az egy éves grafttúlélés alacsonyabb, addig a krónikus graft károsodás kevésbé alakul ki nőkben, mint a férfiakban (89).

A hiperfiltrációs teória önmagában nem ad magyarázatot a nemi különbségekre, továbbá az anatómiai vizsgálatok is igazolták, hogy férfiak és nők veséjében nem különbözik a nefrons szám (90). További magyarázat a nemek közti eltérésre az immunszuppresszív szerek, elsősorban a cyclosporin A (CsA) esetében megfigyelt különbség. Ösztradiol elősegíti a CsA metabolizmusát és kiürülését (91). Mindehhez társul, hogy az általában nagyobb testsúlyú férfiak nagyobb dózisú CsA-t kapnak. Elképzelhető, hogy nőknek elégtelen mennyiségű immunszuppresszívumot adunk transzplantáció kezdeti szakaszában, amikor az egyébként is agresszívabb immunrendszerük miatt más dózis alkalmazására lenne szükség. Ezen felül a gyógyszerek toxicitásában is lehetnek nemi különbségek (92).

3. táblázat. Nemi különbségek a vesebetegségek prevalenciájában (84)

	Férfi : Nő arány
Végállapotú vesebetegség (ESRD)	1,4 : 1
ESRD-be progrediáló glomerulonefritis	1,6 : 1
ESRD-be progrediáló hipertónia	1,4-1,6 : 1
Minimal change glomerulonefritis gyerekeknél	2 : 1
Minimal change glomerulonefritis felnőtteknél	1 : 1
Fokális szegmentális glomeruloszklerózis	Enyhe férfi dominancia
Membranozus nefropátia	2-3 : 1
Szisztémás lupusz eritematosus (SLE)	1:1,5-2
IgA nefropátia	2,2 : 1
Goodpasture-szindróma	2-3 : 1
Membranoproliferatív glomerulonefritis	1 : 1

2.4. Öregedés

Telomer rövidülés, vagy egyéb stimulus által kiváltott sejttöregedés során a sejtek a sejtciklus G1 fázisán rögzülnek. Ebben az állapotban elvesztik érzékenységüket az apoptózis és egyéb külső stimulusok iránt. A sejtek metabolikus aktivitásukat megőrzik, de replikációt nem mutatnak (93,94).

Ezek az öregedést mutató sejtek más jellemzőket mutatnak, mint az öregedést nem mutató sejtek (pl. nő specifikus tumorsuppresszor gének expressziója). Öreg tüdőkből kisebb beavatkozás is jelentős funkcionális eltéréseket okoz, fogékonyabbak a károsodásra (95). Az öregedő vesékben észlelt elváltozások sok hasonlóságot mutatnak a krónikus allograft diszfunkció során észlelt szövettani eltérésekkel (96). A klinikai és kísérletes vizsgálatok alapján az idős és a krónikus allograft károsodást mutató vesékben egyaránt kimutathatók a sejttöregedés jelei, mely főleg a tubulointersticiális elváltozásokat érinti. Ezen eredmények alátámasztják azt a felvetést, hogy a krónikus graft diszfunkció egy felgyorsult öregedési folyamatnak felel meg (97,35,98).

A donor életkora, és így a donor szervben már zajló öregedési folyamatok szintén befolyásolják a transzplantáció kimenetelét (99). A nagyon fiatal donoroktól származó szervek esetén pedig a szervek méretéből adódó technikai nehézségek jelentenek problémát (100).

A kor előrehaladtával a vese esetében csökken a glomeruláris filtrációs ráta (GFR), fokozatosan súlyosbodik a glomeruloszklerózis, atheroszklerózis és intersticiális fibrózis

előfordulása (101). Idős korban csökken a funkcionális szövetmennyiség is. Vese esetében a korral csökkenő glomerulusszám hiperfiltrációhoz és következményes glomeruloszklerózishoz vezet (102,103).

Az öregedési folyamatok során jelentősen nő a rosszindulatú daganatok kialakulásának kockázata, és egyben az idős szervezet regenerációs képessége is sokkal rosszabb. Előrehaladott stádiumú tüdőrákos folyamatok kezelésének alapja a platina alapú kemoterápiák alkalmazása általában 3. generációs citosztatikus készítménnyel kiegészítve (104,105). A nagy dózisú ciszplatín kezelés nefrotoxikus, idős betegek esetén az öregedési folyamatok miatt a vesekárosító hatás még kifejezettebb (106). Idős korban a hipertónia, diabetes, krónikus tüdőbetegségek mellett az immunrendszer működése is sokkal rosszabb, növelve az infekciókra a hajlamot. A nem megfelelő folyadék és táplálékbevitel, mozgásszegény életmód sok esetben jelentős vitaminhiánnyal is társul, melyek a tüdő öregedésére, dohányzás okozta káros hatásokra is hatással vannak (107).

2.5. Endotelin

Az endotelin a ma ismert egyik legerősebb vazokonstriktor. Izoformái közül a legismertebb és leginkább kutatott az ET1. Termelődése egy 212 aminosavat tartalmazó prepro-endotelinből indul, amelyből enzimatis úton egy 38 aminosavat tartalmazó ún. big-endotelin keletkezik, majd az endotelin convertáló enzim hatására alakul ki a végleges 21 aminosavat tartalmazó ET1. A szervezet számos helyén termelődik, melyek közül a legfontosabb a kardiovaszkuláris rendszer (108). Aktív vazomoduláló hatása miatt a keringést mind szisztémásan, mind az egyes szervek szintjén jelentősen befolyásolja. A vesében az endotél sejtek mellett a mezangiális matrix termeli nagyobb mennyiségben (109). Szintézisét számos anyag befolyásolja (110). Legismertebb hatása a vesében a renális hemodinamikában, illetve pulmonális artériás rendszerben betöltött vazokonstriktív szerepe (111,112).

Az endotelin vazoaktív hatását akut veseelégtelenség modelljében I/R károsodást követően vizsgáltuk. Az akut iszkémiás veseelégtelenség első fázisában mint aktív vazokonstriktor a renális hemodinamikát befolyásolja kedvezőtlen módon, a későbbiekben pedig a fibrotikus folyamatok kialakításában és progressziójában játszik szerepet (113). Ezeknek a hatásoknak a hátterében az áll, hogy nemcsak az ET1, hanem receptorai (ETR-A és ETR-B) is nagy mennyiségben expresszálódnak a vesében (114). Az ET1 szerepét a I/R okozta akut veseelégtelenségben alátámasztja az a tény is, hogy szelektív ETR-A antagonistá és ETR-A/ETR-B nem szelektív antagonistá is csökkentette a I/R okozta vesekárosodást (115). Az exogén ET1 infúziója ezzel ellentétben csökkentette a vese vérátáramlását és a GFR-t (116).

Számos in-vitro és in-vivo vizsgálat igazolta, hogy az ET1 és receptorainak expresszióját (elsősorban a kardiovaszkuláris rendszerben) nemi hormonok jelentősen befolyásolják (117). Mind férfiakban, mind menopauzában lévő nők esetén tesztoszteron adása után az ET1 expressziója jelentősen emelkedett. Más vizsgálatok során ösztadiol kezelés hatására csökkent az ET1 termelődése (118,119).

2.6. Nitrogén monoxid (NO)

Az 1989-ben felfedezett nitrogén monoxid (NO) termeléséért 3 enzim felel. A két konstitutív forma az első leírásuk alapján a neuronális NO szintáz (nNOS) és endotéliális (e)NOS. A harmadik az indukálható (i)NOS forma. Az egyes izoformák szinte valamennyi szervben és szövetben kimutathatók (120).

Az enzim kofaktorok segítségével L-argininből a mikrokörnyezettől függően L-citrullint és NO-t vagy nitroxyl (NO-) iont és peroxynitritet (ONOO-) állít elő (121). Amennyiben az antioxidáns kapacitás csökken, vagy az oxidatív stressz felerősödik, NO helyett potens vazokonstriktor végtermék (ONOO- és az eikozanoidok közül izoprosztán) keletkezik (122). NOS enzimek vizsgálatát vesét érő szervkárosodásban vizsgáltuk. A vesében mindhárom NOS kimutatható.

Az endotélsejtekben jelenlévő eNOS enzim hatására expresszáldó NO aktív vazodilatatív hatással rendelkezik és számos más faktorral pl. ET1 együtt a vazomodulációban játszik központi szerepet.

Az iNOS-t számos stresszfaktor indukálja. Fontos szerepet játszik az I/R károsodásban (123). A reperfüzió során nagy mennyiségben termelődő NO az oxidatív stressz hatására peroxynitritté és izoprosztánná alakul, amelyek az iszkémiás károsodás súlyosbodását okozzák. Ezt igazolja, hogy iNOS szelektív gátlásával csökkenthető a szervet érő I/R károsodás (124). Az I/R során aktiválódó immunsejtek által termelt iNOS is hozzájárul a szervkárosodáshoz. A konstitutív NOS enzimek termelődése ezzel párhuzamosan csökken, szerepük inkább krónikus elváltozásokban jelentős (125).

A harmadik NOS, az nNOS legnagyobb mennyiségben a központi idegrendszerben mutatható ki, de e mellett más szervekben is megtalálható (126). A vesében legnagyobb mennyiségben a macula denzában található, ahol az általa termelt NO a tubulo-glomeruláris feedback szabályozásában központi jelentőségű (127). A macula denza mellett a tubulus sejtek is nagy mennyiségben expresszálják. Itt a tubuláris Na⁺-transzport szabályozásában van szerepe. A NO és különösen a renális nNOS fontosságára számos kísérletes és klinikai adat utal. Krónikus vesebetegség állatmodelljében NO hiányt lehetett kimutatni és a NO donor L-arginin hatására

a betegség progresszióját lassítani (128,129), míg gátlásával hipertonia és krónikus vesebetegség kialakulását előidézni (130). Baylis és munkatársai klinikai vizsgálatokban is igazolták, hogy dializált betegek NO termelése alacsonyabb (131). Alacsonyabb NO termeléssel rendelkező betegekben a vesebetegség progressziója gyorsabb a magasabb NO-termelő kapacitással rendelkező társaikhoz képest (132). Állatkísérletekkel sikerült azt is bizonyítani, hogy a renális NO és elsősorban nNOS rendszerben meglévő eltérések befolyásolják a vesét ért károsító hatásra adott választ, így alacsonyabb nNOS szinttel rendelkező állatokban a progresszió gyorsabb (128).

A nem és a nemi hormonok is befolyásolják a különböző NOS enzimek termelődését. A bakteriális eredetű lipopolysaccharid alkalmazását követően a medulláris részben nagyobb iNOS fehérje és mRNS expresszió figyelhető meg nőstény állatokban, mint hímekben (133). Több vizsgálat eredményét összegezve nőstény állatokban a NO termelés a kor előrehaladtával jobban megmarad, ez is hozzájárulhat a jobb kardiovaszkuláris és renális működéshez a női nemben (130).

2.7. *Na⁺K⁺ATP-áz (NKA) és szérum és glukokortikoid regulálta kináz (SGK)-1*

I/R károsodás során az ATP szint csökkenése az energiaigényes enzimek működését is nagymértékben befolyásolja. A NKA fiziológias körülmények között szinte minden humán sejtben jelen van, központi szerepet játszik a szervezet víz és elektrolit homeosztázisának fenntartásában (134,135). Az enzim aktivitása és mennyisége szövetenként eltérő, legnagyobb mennyiségben az agyban és a vesében van jelen. A vesében a NKA aktív transzportja a sejtek energia-felhasználásának 50-70%-át teszi ki (136). Működése során egy molekula ATP felhasználásával két K⁺-ot transzportál az extracelluláris térből az intracelluláris térbe, miközben három Na⁺-ot juttat ki a sejtéből. Az így kialakuló elektrokémiai grádiens biztosítja a másodlagosan aktív transzportfolyamatok számára az energiát (pl. Na⁺/Ca²⁺ antiport, Na⁺/glükóz ko-transzport stb.) (137,138).

A vesét érő I/R stresszhatásra elsőként a proximális tubulussejtek veszítik el polaritásukat. Ennek következtében a bazálmembránhoz kötött NKA a citoszolba, vagy az apikális membránra kerül, elvesztve alapvető funkcióját (139). A reperfúzió során folyamatosan visszaáll a NKA fiziológias eloszlása (140). A nem és a nemi hormonok is befolyásolják a NKA működését (141,142,143,144), de stresszhatásra bekövetkező változását a két nemben nem vizsgálták.

A phosphatidylinositol-3 kináz (PI-3 kináz) fontos szerepet játszik az iszkémia indukálta programozott sejthalál folyamatában (145). Az IP-3 kináz az Akt és az SGK-1

foszforilációjával, tehát aktivációjával éri el sejtvédő hatását (146). Az SGK-1-et számos celluláris stresszt okozó stimulus aktiválja: hiperozmotikus környezet, ultraibolya sugárzás, hőhatás, oxidatív stressz, továbbá különböző növekedési faktorok és hormonok (147,148,149). Az erythropoietin (EPO) termelése vesebetegségekben jelentősen csökken. Vörösvérsejt stimuláló hatásán felül az EPO anti-apoptotikus hatását is igazolták, melyet elsődlegesen az a PI-3 kinázon keresztül fejt ki (150). Nem ismert azonban, hogy az SGK-1 milyen szerepet játszik a vesét érő iszkémiás stresszhatásokban, illetve lehet-e szerepe EPO kezelés sejtvédő hatásában.

2.8. Hősokk fehérje (Hsp)

A Hsp-k molekuláris chaperonok (dajkafehérjék) (151, 152). A dajkafehérjék evolucionálisan rendkívül konzervatív struktúrát mutatnak (153,154). Részt vesznek a fehérjék szintézisében, transzportjában, valamint szerepük van a lebontott proteinek eliminációjában, a sejtek apoptózisában, valamint extracellulárisan az immunválasz regulálásában (155,(156). A Hsp-k csoportosítása és elnevezése molekulatömegük alapján történik.

Vizsgálatainkban a Hsp70-es család indukálható fehérjéjének, a Hsp72-nek működését tanulmányoztuk, ezért a Hsp72 eddig ismert funkciói kerülnek áttekintésre (157).

A legalább tizenkét tagból álló Hsp70 családot alkotó fehérjék különböző polipeptidek hozzáférhető hidrofób aminosavaival lépnek kapcsolatba, melynek révén stabilizálják a fehérje szerkezetét és megakadályozzák annak károsodását (158,159). A Hsp72 a szervezetet ért károsító ágens hatására rendkívül gyorsan expresszálódik és szintézise fokozódik. Ezáltal a sejt képessé válik működésének helyreállítására, vagy - akár az ismétlődő stresszhatás ellenére – működésének fenntartására (160,161,162). A fehérje kimutatható a szérumból is, szintje megemelkedik magas testhőmérséklet (163), infekció (164), kardiovaszkuláris betegség (165), intenzív fizikai terhelés (166) és pszichés stressz (167) hatására. Daganatos sejtekben konstitutív Hsp72 expresszió figyelhető meg (168). A különböző szövetek nyugalmi Hsp72 expresszióját az életkor, a nem és számos, a napi betegellátásban alkalmazott gyógyszer (pl. szteroidok, albuterol) is befolyásolja (169,170,171,172,173).

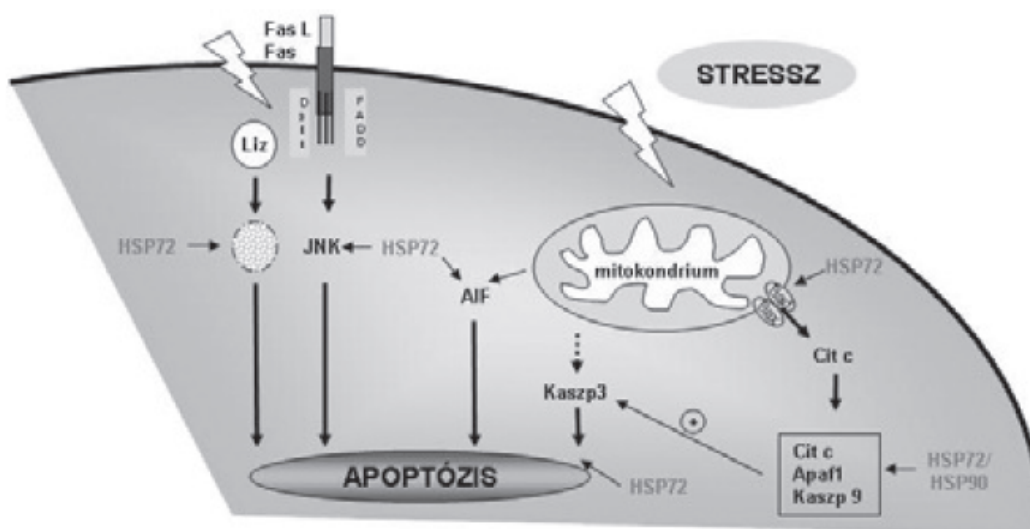
A Hsp72 hatása attól függően változik, hogy a fehérje intra- vagy extracellulárisan működik. Az intracelluláris Hsp72 citoprotektív és antiapoptotikus hatású, míg az extracelluláris Hsp72 a veleszületett és az antigénspecifikus immunválasz szabályozásában játszik szerepet.

Intracellulárisan a Hsp72 elősegíti a fehérjék szerkezetének kialakulását és a kész fehérje sejten belüli transzportját. Számos denaturált fehérje megkötésére képes, így megakadályozza a toxikus fehérje-aggregátumok kialakulását. A sejtet érő stressz okozta károsodást

ellensúlyozza a fehérjeszerkezetet stabilizáló, illetve helyreállító hatása. A sejtek túlélését szolgálja a Hsp72 apoptózisellenes tulajdonsága, mely több mechanizmuson keresztül működik (1. ábra) (174,175,176,177,178). A Hsp72 a programozott sejthalál késői szakaszában is meg tudja menteni a sejtet, mely egyedülálló bármely más ismert, sejt túlélést segítő fehérjével vagy szintetikus szerrel szemben (179).

A Hsp-k klinikai fontosságát támasztja alá, hogy több daganatos kórállapot esetén igazolták a fehérje prognosztikai szerepét. A beteg túlélése szempontjából előnyös, ha a nem kissejtes tüdőrák (NSCLC) erősen festődik Hsp72-vel (180). A Hsp-k expresszióját a környezeti faktorokon kívül genetikai polimorfizmusok is befolyásolják. Konzervatív szerkezetüknek köszönhetően relatív alacsony fokú a polimorfizmus a Hsp72 génekben. A legtöbbet tanulmányozott a Hsp72 gén kódoló régiójának HSPA1B A(1267)G helye, mely igazoltan csökkent mRNS képződéssel jár együtt (181).

1. ábra. Az apoptotikus utak Hsp72 általi módosítása.



Jelmagyarázat: Fas-L= Fas ligand, JNK= Jun N-terminális kináz, AIF= apoptózis indukáló faktor, Kasp3= kaszpáz 3, HSP= hőshock fehérje.

Extracelluláris Hsp72 a nekrotikus sejtek szétesése során, apoptotikus testeken keresztül, illetve citokin indukálta aktív ürítés során keletkezik (182,183,184). Az extracelluláris Hsp72 az immunrendszer működését segíti, kóros esetekben viszont a gyulladásos betegségek exacerbációjához járulhat hozzá (pl. Alzheimer-kór, ateroszklerózis, gyulladásos bélbetegségek) (185,186). Indukálja a dendritikus sejtek (DC) érését és migrációját, valamint a természetes ölő (NK)-sejtek migrációját (187).

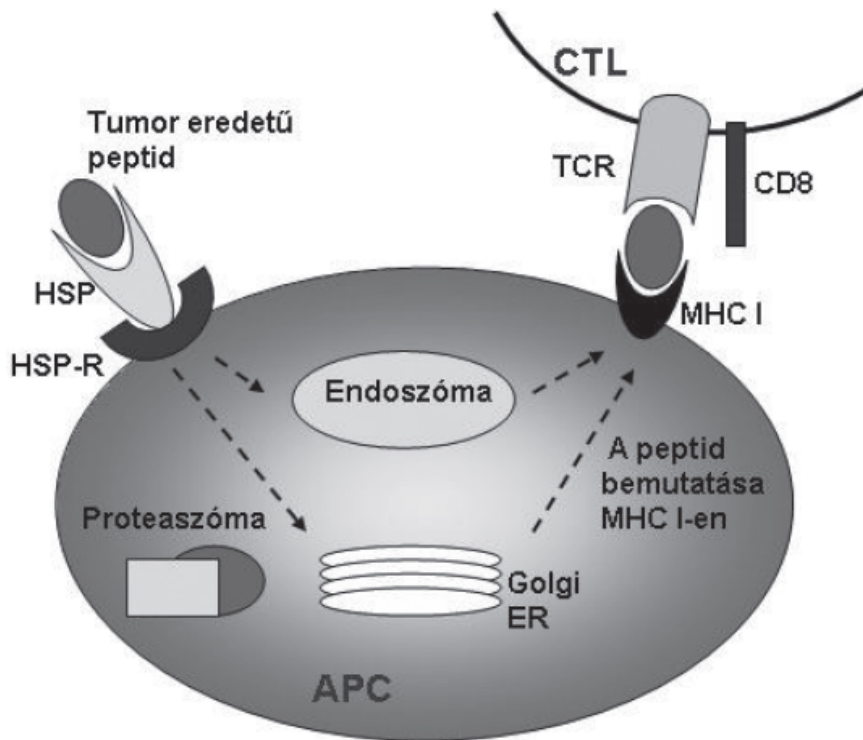
A Hsp72 képes CD14-en és toll-like receptorokon (TLR4, TLR2) keresztül, az antigén prezentáló sejtek citokintermelésének fokozásával (NO, tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β és IL-6) aktiválni a veleszületett immunválaszt (188,189). A MHC I molekulák keresztprezentációjára, azaz exogén antigén – tumor vagy fertőző ágens - eredetű peptidek bemutatására is képesek. A Hsp72 több, CD40+ antigén prezentáló sejten történő keresztprezentációt is elősegít, beleértve a dendritikus sejteket és a B-sejteket (190). A Hsp-k által kötött peptidek MHC-I-es molekulákon való reprezentációján keresztül a CD8-specifikus citotoxikus T sejt válasz indukálódik (191) (2. és 3. ábra).

Az I/R károsodás során a felszabaduló reaktív oxigéngyökök hatására a citoszkeletont alkotó fehérjék, illetve számos membrán- és transzportfehérje denaturálódik. A stresszhatás alatt a sejt túlélésében, illetve az azt követő helyreállító folyamatokban a Hsp-k központi szerepet töltenek be (192). I/R károsodásban a legtöbb fehérje szintézise gátlódik, ezzel szemben a Hsp-k mRNS és fehérje expressziója gyorsan és jelentős mértékben (15-25%-kal) megnő (193). Miokardiális infarktust követően elsődlegesen az endotélben emelkedik a Hsp72 expresszió, ezzel párhuzamosan csökkentve az infarktusos terület kiterjedését (194). Agyi hipoxiás károsodásban az emelkedett Hsp jótékony hatású a károsodott szövetek regenerációjában (195). Az idegsejtekénél sokkal ellenállóbb gliasejtek jóval több Hsp72-t szintetizálnak, ami még inkább alátámasztja a stresszfehérjék protektív szerepét az I/R károsodás folyamatában (196). A vesét érő I/R inzultus során is jelentősen megnövekvő Hsp72 expresszió segíti a citoszkeleton struktúrájának reintegrációját és a tubuláris epitél polaritásának megőrzését, és szerepe lehet a NKA működésének fenntartásában (197,198).

A Hsp72 a hormonmediálta folyamatokban is szerepet játszik. A glukokortikoidok hatásukat a glukokortikoid receptoron (GR) keresztül fejtik ki. A GR megfelelő működéséhez is szükség van a Hsp apparátusra. A Hsp90/Hsp72-heterokomplex megnyitja az inaktivált receptor ligandkötő hasadékat, előkészítve így a receptort a szteroid molekula fogadására. Ezt követően történhet meg a dimerizáció, és a komplexum intracellulárisan a DNS molekula megfelelő helyére kötődik, így irányítva a gének átíródását (199;200). A nemi hormonok közül az ösztrogén hatásra a Hsp72 expresszió növekedése észlelhető szívizomban és az endotélben (201,202,203).

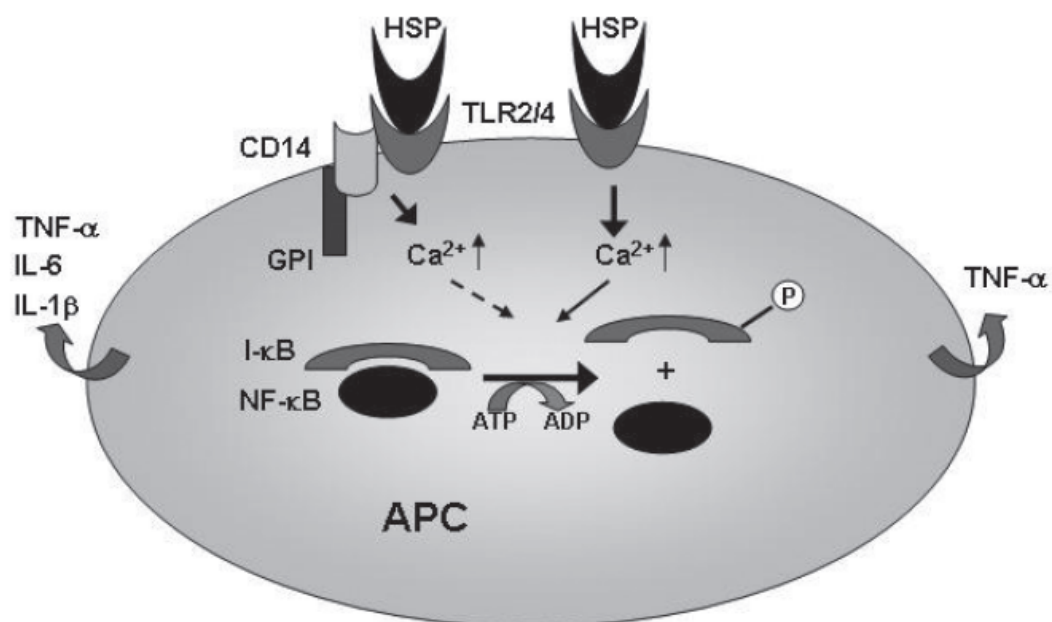
A Hsp72 tehát meghatározó szerepet játszik a sejtek, szövetek homeosztázisának fenntartásában „extrém” körülmények között is. Sejten belül fékezi, keretek között tartja a kívülről érkező károsító hatásra adott válaszokat, valamint gátolja a programozott sejthalált, sérült és daganatosan átalakult sejtekben is. Az inzultust elszenvedő vagy daganatos sejtből kikerülve stimulálja a szervezet védekező mechanizmusait: a humorális és a celluláris immunválaszt egyaránt. Apoptózis ellenes hatásának gátlása lassítja a daganatok növekedését, segíti a malignus sejtek citotoxikus terápiák általi elpusztítását.

2. ábra. Hsp72 szerepe az antigénprezentációban és a citotoxikus immunválasz serkentésében.



Jelmagyarázat: APC= antigén prezentáló sejt, CTL= citotoxikus T limfocita, TCR= T sejt receptor, MHC= major hisztokompatibilitási komplex, ER= endoplazmás retikulum, HSP= hősokk fehérje, HSP-R= HSP receptor.

3. ábra. Hsp72 szerepe a citokintermelés szabályozásában.



Jelmagyarázat: APC= antigén prezentáló sejt, TNF- α = tumor nekrozis faktor- α , TLR= toll like receptro, IL-6= interleukin-6, IL-1 β = interleukin-1 β , HSP= hősokk fehérje.

2.9. Immunszuppresszió, csontvelődepresszió, erythropoietin(EPO) kezelés

Autoimmun folyamatoknál, illetve a szervtranszplantációt követően az idegen szerv kilökődésének megakadályozására a pácienseknek tartósan immunszuppresszív kezelésben kell részesülniük. Az immunszuppresszió mértéke és módja betegségenként és transzplantáció esetén szervenként különböző. A graftok elvesztésének és a kilökődési folyamatoknak gyakori és nehezen befolyásolható oka a páciensek nem megfelelő együttműködése. Egyes tanulmányok szerint a non-compliance a graftok elvesztésének 8-40%-ában lehet felelős (204,205). A háttérben részben a beteg személyiségéből adódó okok, részben a betegség és annak kezelése során észlelt mellékhatások, negatív tapasztalatok állnak. A transzplantáció feltétele a beteg megfelelő együttműködése, ennek egyik fontos eleme a dohányzás elhagyása (206). Mégis sok esetben észlelhető, hogy transzplantációt (még tüdőtranszplantációt) követően is több beteg visszatér ehhez a káros szenvedélyhez (207,208).

Az immunszuppresszív terápiák mellékhatásai is befolyásolják a szervek működését. A calcineurin inhibitorok közül leggyakrabban alkalmazott CsA és a vele rokon vegyület tacrolimus (Tac), a citokinek, eikozanoidok és endotelin felszabadításán keresztül vazokonstriktort okoznak. Ennek hatására a hipertónia fokozódik, csökken a GFR, ami a vese kiválasztó funkciójának károsodásához vezet. Emellett mindkét szer közvetlen endotél és simaizom sejt károsító hatással is rendelkezik, részben az oxidánsok hatását növelve (209,210). Mind a calcineurin inhibitorok, mind a szintén immunszuppresszívumként alkalmazott szteroidok rontják a szénhidrát anyagcserét, ezáltal sok betegnél de novo diabetes alakul ki (211,212). Ez különösen az egyébként is beszűkült pankréászfunkcióval rendelkező cisztás fibrózis (CF) miatt tüdőtranszplantált páciensekben nagyon gyakori (213), illetve külön figyelmet igényel hasnyálmirigy/szigetsejt transzplantáltakban és más diabetes mellitus miatt kezelt betegekben (214).

Valamennyi immunszuppresszív szer esetében az infekciók rizikója nő. Az újabb immunszuppresszív szerek közül a mycophenolát mofetil (MMF) a gastrointestinalis mellékhatások növekedésével, a rapamycin (RAPA) pedig a metabolikus funkciók rontásával fokozhatják a graftvesztés rizikóját.

A daganatos megbetegedések kemoterápiás kezelése szintén immunszuppresszív hatású a kezelések csontvelőszuppressziót okozó mellékhatása miatt, így szintén hajlamosít infekciókra. Megfelelő szupportációs kezeléssel a mellékhatások kivédhetők, vagy kezelhetők (215,216). Mind a veseelégtelenség, mind a daganatok kezelése során jelentkező anaemia kezelésében az erythropoesist stimuláló szerek (ESA) a napi terápia részét képezik. Tüdőrák kezelésében használt nagy dózisú platina készítmények direkt csontvelő károsító hatásuk mellett nefrotoxikus hatásukkal is csökkentik a vörösvértest képződést (217). Az EPO nem csak a

csontvelői vörösvérsejt képződést fokozza, hanem közvetlen celluláris mechanizmusokon keresztül a celluláris stressz elleni védekezésben játszik fontos szerepet (218,219). Akut celluláris stresszhatásban anti-apoptitikus, antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatása van (220). A sejtprotektív hatás jótékony lehet benignus kórképekben, azonban a daganatos sejtek túlélését is fokozva a malignus folyamat progresszióját, a progresszió mentes túlélés csökkenését okozhatja (221).

2.10. Infekció

Az immunszuppresszív terápia elkerülhetetlen következménye, hogy megnő az infekciók, ezen belül is az opportunisták okozta fertőzések kialakulásának veszélye.

A transzplantátum diszfunkciójához, súlyos esetben akár elvesztéséhez számos infekció közül leginkább a *cytomegalovírus* (CMV) fertőzés vezethet (222,223). A CMV egészségesekben enyhe, felső légúti infekció tüneteit mutató kórlefolyásával szemben immunszupprimáltakban súlyos, akut, életet veszélyeztető fertőzés formájában, vagy krónikus lefolyással jelentkezik. Ez utóbbi esetben bizonyítottan hozzájárul a krónikus grafitdiszfunkció kialakulásához (224). A transzplantált betegekben a fertőzés iatrogén útja, mikor CMV negatív recipiens CMV pozitív szervet kap. A másik, gyakoribb lehetőség az immunszuppresszió kapcsán reaktiválódó, addig látens vírusinfekció manifestációja (225,226). A vírusok, különösen a légutakat érintők direkt epitélsejt károsító hatásúak a tüdőben. Többségük a celluláris károsítás mellett aktiválja a szervezet immunreakcióját, fokozva a káros immunfolyamatokat, szervtranszplantáció esetén növelve mind az akut, mind a krónikus kilökődés kockázatát (227).

Minden szervtranszplantáció során jelentősen megnő az opportunisták rizikója. A *Pneumocystis jirovecii* (PCP) mellett az invazív gombafertőzések jelentenek infektológiai problémát (228,229). Az infekció valamennyi szerv esetén a tüdőt érinti elsődlegesen, így különösen tüdőtranszplantációt követően nehezen kezelhető komplikáció (230). Tüdőtranszplantáció esetén további tényező, hogy sok esetben CF miatt kell új tüdőt beültetni a páciensbe, és ezeknél a betegeknél gyakran észlelhető gomba (*Candida* és/vagy *Aspergillus*) kolonizáció a légutakban. CF-ben az *Aspergillus fumigatus* infekció jelentős epitéliális stresszt, ezáltal a gyulladásos folyamatok felerősödését váltja ki (231).

Szintén súlyos megbetegedést okozhatnak egyéb vírusok (*Herpes*, *Varicella zoster*, *Polyoma*, *Epstein-Barr*, *BK*) (232,233). Gyakorlati szempontból, főként májtranszplantációt követően jelentenek problémát a hepatitis fertőzések (234,235). A vese esetében különös fontossággal bírnak a húgyúti infekciók, amelyek nemcsak gyakrabban fordulhatnak elő vesetranszplantált betegeknél, de saját megfigyeléseink szerint is gyorsítják a krónikus allograft nefropátia

kialakulását (236). Az infekciók gyors diagnosztizálása és adekvát kezelése segíthet a graftok funkciójának hosszabb megőrzésében.

2.11. Metabolikus tényezők

A kardiovaszkuláris rizikófaktorok hatása a transzplantált betegeknél fokozottabban jelentkezik. A metabolikus faktorok és a hipertónia nemcsak a graft elvesztését okozhatják, de a működő grafttal történő elhalálozás jelentős részéért is ezek a kórállapotok felelősek.

A metabolikus zavarok hátterében részben az immunszuppresszív szerek mellékhatása, részben a kialakuló szervkárosodások állnak.

A transzplantáltaknál észlelhető kóros lipidszintek és diszlipidémiák alapján felvetődött, hogy a zsíryanycsere elváltozásai szerepet játszhatnak a graftban észlelt arterioszklerózis kialakulásában (237,238,239). Alacsony lipidszintek a transzplantációt megelőzően, illetve azt követően szignifikánsan hosszabb grafttúlélést tettek lehetővé (240), ezért a hiperlipidémia erélyes kezelése fontos klinikai feladat (241). A terápiában leginkább sztatinok alkalmazandók, hiszen lipidszintet csökkentő hatásuk mellett kifejezett antiproliferatív és antioxidáns hatással is rendelkeznek (242,243).

A hiperglikémia és diabetes mellitus a felnőttkori krónikus veseelégtelenség egyik leggyakoribb oka. A hiperglikémia mint kóroki tényező a szervtranszplantáltak esetén a vese károsításában is fontos szerepet játszik, és nem elhanyagolható tényező fertőzésekre és a hipertóniára való nagyobb hajlam sem (244).

A hipertónia transzplantációt követően gyakran kialakul, vagy már a transzplantáció előtt is fennáll, hozzájárulva az arterioszklerózis és a miokardiális infarktus halmozott előfordulásához (245). A transzplantációt követően fellépő vesekárosodás a már kialakult hipertóniát súlyosbítja, illetve normotenzív betegekben növeli a magasvérnyomás kialakulásának veszélyét (246,247,248). A hipertónia graftkárosításban betöltött fontos szerepét bizonyítja, hogy a megfelelő antihipertenzív kezelés lassítja a krónikus allograft diszfunkciót (249).

A metabolikus faktoroknak szinte minden kórállapotban van progressziót befolyásoló hatásuk. Az utóbbi években a 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) szerepe a különböző tüdőt érintő kórállapotokban egyre nyilvánvalóbb. Mind COPD-ben mind asztmában igazolható, hogy a D-vitamin hiánya légzésfunkció és a tünetek romlásával, exacerbációk gyakoribb megjelenésével párosul. Megfelelő 25(OH)D szint mellett jobb a légzésfunkció, csökken a légúti hiperreaktivitás, és jobb az inhalációs kortikoszteroidokra (ICS) adott terápiás válasz (250,251).

2.12. Dohányzás

A dohányzás világméretű probléma, melyet az is mutat, hogy a világon összesen mintegy 1,25 milliárdan hódolnak ennek a szenvedélynek. Magyarországon a felnőtt lakosságnak átlagosan 30-34%-a dohányos, a rendszeresen dohányzók arányát tekintve ötödik helyen, az átlagosan elszívott cigaretták mennyiségét tekintve harmadik helyen állunk világviszonylatban (252,253,254). A dohányzás bizonyítottan számos megbetegedés rizikófaktor. A tüdőgyógyászati kórképek közül a népbetegségnek számító krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) (255) és a tüdőrák patogenezisében játszik centrális szerepet, de az asztma bronchiale, a légúti hyperreaktivitás, az allergiás megbetegedések kialakulásában is jelentőséggel bír (256).

COPDs betegek közel 90%-a dohányzik, azonban az összes dohányzóknak csak egy részében manifesztálódik a kórkép. A dohányfüst krónikus belégzését követően csak a betegek mintegy 15-20%-ban alakul ki COPD, míg mások „rezisztensek” a kórkép kialakulására. Ennek hátterében részben genetikai különbségek, részben a dohányfüst hatására kialakuló, egyénileg eltérő gyulladásos válasz és immunfolyamatok állnak (257).

A cigarettafüst nagy mennyiségben tartalmaz szabadgyököket és oxidánsokat, karcinogéneket és más közvetlen szövetkárosító hatású anyagokat (258). A hörgőrendszer és az alveolusok epitelsejtjei közvetlenül érintkeznek a belélegzett toxikus gázzal, így itt jelentkeznek elsődlegesen a dohányfüst okozta károsodások. A bronchiális hám károsodásával számos mediátor szabadul fel. A hámkárosodás kapcsán a szabadabbá váló idegvégződések a neurogén inflammáció közvetítői. Dohányfüst hatására nő a nyálkahártya permeabilitás, ezzel párhuzamosan krónikus fokozott nyákszekréció alakul ki, melyek hozzájárulhatnak a krónikus légúti szűkület létrejöttéhez (259). Dohányosokban már évtizedek óta ismert szövettani eltérés a valamennyi légút falát érintő gyulladásos sejtes infiltráció (255,260). A gyulladásos ödéma már önmagában is hozzájárulhat a légúti obstrukció kialakulásához, ezen felül a felszabaduló gyulladásos mediátorokon keresztül fokozhatja a simaizomsejtek kontrakcióját. A krónikus gyulladás a légutak fibrotikus átalakulásához, obstrukcióhoz vezet. A gyulladás másik hatása az alveoláris struktúrák destrukciója, mely a tüdő elaszticitásának megváltozásával hörgőfali deformitást és szűkületet okoz. A légutakban dohányfüst hatására létrejövő gyulladásos válasz jellegzetes immunológiai eltéréseket hoz létre, melyek szerepet játszanak a dohányfüst okozta celluláris stressz fokozásában (261).

2.12.1. Dohányfüst hatására létrejövő légúti gyulladás

1. Neutrofil granulociták

Dohányzók hörgőrendszerében jellegzetesen neutrofil sejtes gyulladás igazolható. Krónikus dohányfüst expozíció hatására a submucosában kimutatható neutrofilek száma jól korrelál a dohányzás mértékével (262). Azon dohányosoknál, akiknél COPD is kialakul szignifikánsan több neutrofil granulocitát találunk, mint a „rezisztens” dohányosoknál (263). A neutrofil sejtszám COPD-ben jól korrelál a légúti obstrukció, a forszírozott expirációs volumen első másodpercére eső térfogatának (FEV1) mértékével (264).

Dohányfüst hatására a toxikus gázzal érintkező bronchiális epitelsejtek aktiválódnak, és számos szelektint, adhézis molekulákat, TNF- α -t, növekedési faktorokat és citokineket expresszálnak (265). A neutrofilek a keringésből migrálnak a lumen felé, az epitelsejtekből és makrofágokból felszabaduló nagy mennyiségű gyulladásos mediátor, E-selektin, intercelluláris adhézis molekula (ICAM)-1 valamint IL-8 hatására (266).

A neutrofil sejtek granulumainak legfontosabb elemei a proteázok: neutrofil elasztáz, catepszin és kollagenáz. Az elasztáz a szervezet számára az egyik legnehezebben bontható fehérje, vagyis eliminációja és hatástalanítása korlátozott. A neutrofilekből felszabaduló elasztáz így hosszú ideig képes kifejteni hatását, ami hozzájárul rendkívüli destruktív erejéhez. Fő támadáspontja a sejt-mátrix kapcsolat, melyet megszüntetve leválasztja a sejteket a működési környezetükről. COPD-s betegekben nagyobb mennyiségben mutathatók ki az elasztáz degradációs produktumok, mint a betegségben nem szenvedő dohányosokban. A folyamatot a dohányfüstben nagy mennyiségben jelen lévő oxidánsok és oxigén szabadgyökök tovább fokozzák (267).

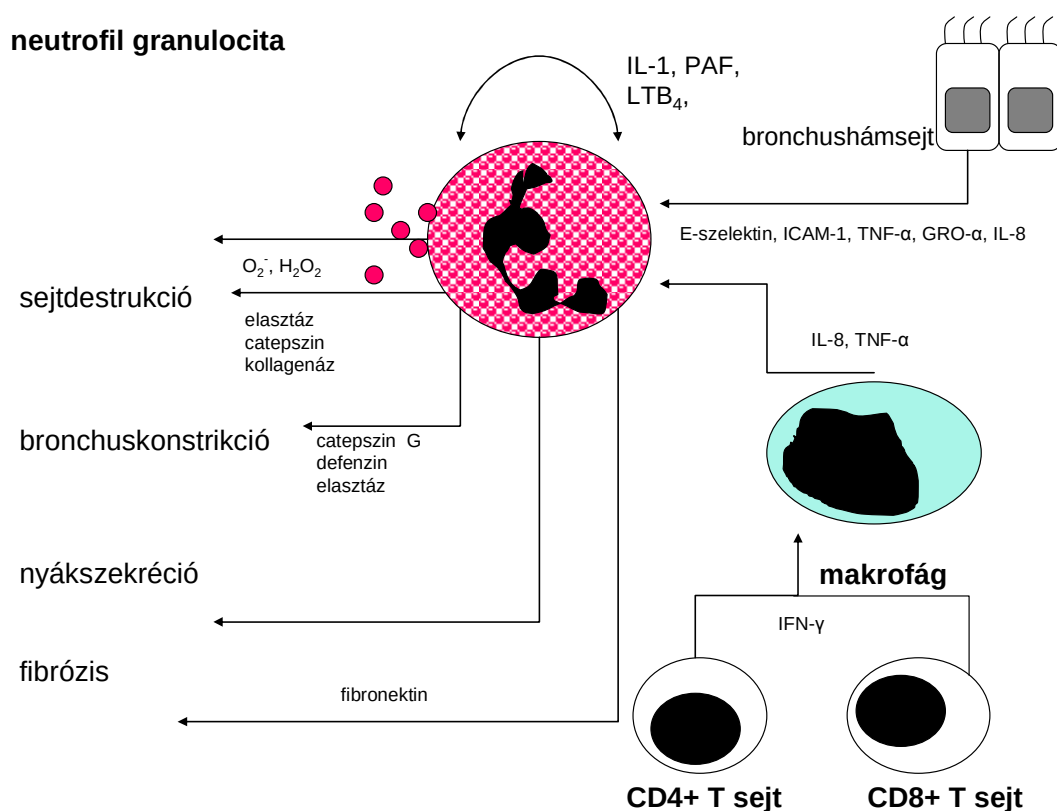
A neutrofil sejtes gyulladás hatására kialakuló szövetkárosodás feltétele a proteáz-antiproteáz egyensúly megbomlása, melynek legszembetűnőbb formája az egyik legfontosabb antiproteáz, az α 1-antitripszin veleszületett hiánya. Dohányfüst krónikus belégzése funkcionális α 1-antitripszin hiányt alakít ki, a szövetdestrukció irányába billentve a folyamatot (268).

A neutrofil peroxidáz hatására nagy mennyiségű citotoxikus szabadgyök szabadul fel: a neutrofilek a superoxid anion és hidrogénperoxid, valamint hipoklórsav elsődleges előállításai. A szabadgyökök direkt sejtkárosító hatásukon kívül a proteázok hatását potenciózzák, és a gyulladást fokozzák (269).

A neutrofilek aktivációját követően felszabaduló kationos fehérjék (defenzin, cathepsin G, elasztáz) és leukotrién B₄ (LTB₄) bronchuskonstriktor hatásúak. További jellegzetesség, hogy a gyulladásos sejtek mediátorai befolyásolják az idegvégződések neurotransmitter felszabadulását, melyek viszont a gyulladásos választ modulálják (270).

A neutrofil sejtgyulladás leginkább egy aspecifikus folyamatnak felel meg, mely a légutak védekező reakciója irritánsokkal szemben (4. ábra). A krónikus expozíció hatására ma még nem ismert folyamatok eredményeként a dohányosok egy részében azonban kialakulnak a COPD jellegzetességei. Nem tisztázott, hogy a gyulladásos folyamat mennyiségileg, vagy minőségileg különbözik-e az obstrukciót nem mutató és a beteg dohányosok között?

4. ábra. Neutrofil granulocita aktivációja dohányfüst hatására.



Jelmagyarázat: TNF-α= tumor nekrosis faktor- α, IL= interleukin, LTB₄= leukotrién B₄, PAF= trombocita aktiváló faktor, ICAM= intercelluláris adhéziois molekula, IFN= interferon, GRO=növekedés regulálta onkogén.

2. Makrofágok és limfociták

A hörgőrendszer makrofág sejtjei és az alveolaris makrofágok is aktiválódnak dohányfüst hatására, és környezetükbe nagy mennyiségű TNF- α -t, IL-8-at, chemokineket, granulocytamonocita kolónia stimuláló faktort (GM-CSF) és LTB₄-t bocsátanak ki. A dohányosok légútjaiban nagy számban jelen lévő aktivált makrofágokból nagy mennyiségben szabadulnak fel oxigén szabadgyökök, eikosanoidok. A sejtaktivációval párhuzamosan a makrofágok antigén prezentációs képessége is jelentősen megnő (5. ábra).

A másik jellegzetes sejtípust, mely dohányzás hatására jelentősen felszaporodik a légutak falában a limfociták, ezen belül is a T-sejtek alkotják (271). Egyre több ismeret szól amellett, hogy a T-limfociták, melyek az adaptív immunrendszer részei, játsszák a központi szerepet abban a folyamatban, mely a dohányfüst hatására kialakuló légúti gyulladást COPD irányába modifikálja. Az aktivált T-sejtek felszíni markereik alapján CD4⁺ (T-helper=Th) és CD8⁺ (T-citotoxikus=Tc) sejtek lehetnek. Az aktivált T-sejtek által termelt fő citokinek alapján különíthetők el az elsődlegesen interferon (IFN)- γ és IL-2 termelő Th1 és Tc1 sejtek, illetve az IL-4, IL-5 és IL-10 termelő Th2 és Tc2 sejtek. Dohányfüst hatására felszaporodó Th1 és Tc1 sejtek citokin termelésük mellett a CXCR3 chemokin receptort és a receptort aktiváló ligandokat is expresszálják. A CXCR3-t aktiváló chemokinek hatására nő a Th1 és Tc1 sejtek szöveti beáramlása (272).

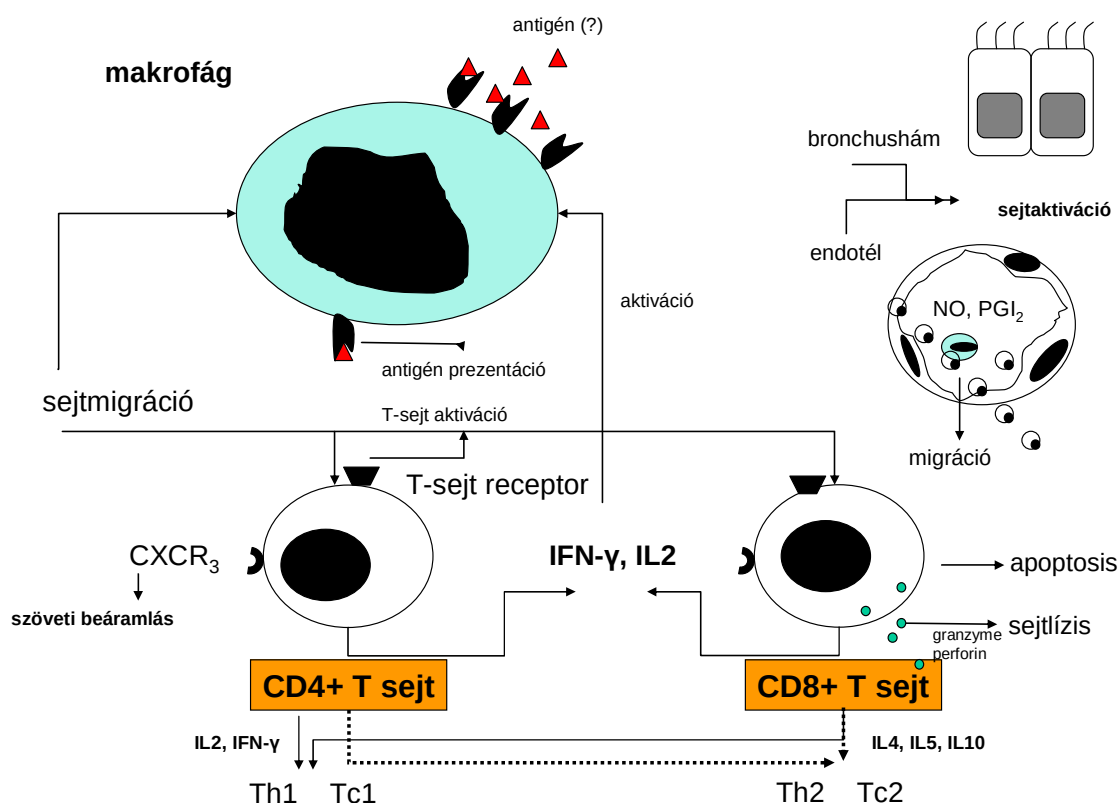
A Th1 és Tc1 sejtekből felszabaduló IFN- γ a legpotensebb aktivátora a makrofágoknak, melyeknek ezáltal tovább nő az antigén prezentációs képessége és IL-12-t szabadítanak fel (273,274). A T-sejtek befolyásolják a mikrovaskuláris környezetet is: az endotél aktivációja kapcsán felszabaduló NO és prosztaciklin (PGI₂) hatására vazodilatáció jön létre, mely más szervekhez hasonlóan a gyulladásos sejtes beáramlás központi tényezője (275).

A dohányfüst hatására létrejövő krónikus gyulladás hosszú távon strukturális változásokat eredményez. Mintegy 30 évi dohányzást követően a hörgőfalban jelentősen megnő a CD4⁺ és CD8⁺ T-sejtek száma. A CD4⁺ T-sejtek központi szerepet játszanak a CD8⁺ cytotoxikus válasz kialakításában, fenntartva a memóriát és biztosítva a túlélést. A CD8⁺ cytotoxikus T-sejtek a target lízisét két mechanizmussal hozzák létre: 1. membranolízist okozó pórusokat létrehozó molekulák (perforin, granzyme) kibocsátásával, 2. a target sejt apoptózisának indukciójával (276). A CD8⁺ limfociták által termelt transzformáló növekedési faktor (TGF)- β fokozza a miofibroblastok extracelluláris mátrix termelését, hozzájárulva a remodeling létrejöttéhez. A TGF- β további hatása, hogy csökkenti a sejteken a β 2 adrenerg receptorok (β 2AR) számát (277).

COPD-ben CD8⁺ limfociták infiltrálják a nagy- és kislégutakat, számuk pedig jól korrelál a légúti obstrukció mértékével. Hasonlóan nagy mennyiségben igazolhatók CXCR3 receptort expresszáló sejtek COPD-ben szenvedő dohányosoknál (5. ábra) (278,279,280). Fontos kérdés,

hogy a légúti gyulladásos sejtszététel mennyiben figyelhető meg a perifériás vérben, és hogy a légút/parenchimás tüdőbetegségek esetén mennyiben láthatunk a dohányzás okozta celluláris stresszhez hasonló változásokat.

5. Ábra. Makrofágok és T sejtek aktivációja dohányfüst hatására.



Jelmagyarázat: Th= T helper, Tc= T citotoxikus, IL= interleukin, IFN= interferon.

2.12.2. Dohányfüst szisztémás immunrendszert érintő hatásai

A dohányfüst nem csak a tüdőt károsítja, hanem számos kardiovaszkuláris megbetegedés fontos rizikófaktora. A dohányfüst hatására létrejövő szisztémás elváltozások között a keringő immunsejteken létrejövő elváltozások egyre inkább a vizsgálatok középpontjába kerülnek, azonban kevés konkrét adat állt eddig a rendelkezésre. COPD esetében ismertek a betegséget kísérő szisztémás eltérések, melyeknek a kialakulásában is szerepet játszhatnak (281).

Dohányosok esetében a légutakban tapasztalhatóval ellentétben csökkent a keringő CD8+ T-sejtek száma. COPD-s betegeknél a CD4+/CD8+ arány jelentősen megemelkedett COPD-t nem mutató dohányosokhoz viszonyítva, mely arány szignifikáns összefüggést mutatott a légúti obstrukció mértékével. A dohányfüst hatására csökken a CD8+ T-sejtek migrációja,

viszont jelentősen emelkedik az aktiváltságuk és a citotoxicitásuk. Ez felveti, hogy a pulmonalis infiltrációban elsődlegesen memória sejtek vesznek részt, hogy biztosítsák a tüdőben lévő effektor CD8⁺ T-sejtek elnyújtott sejtkárosító hatását (282).

A tüdőszövet és perifériás limfociták T-sejt receptor (TCR) klonalitását vizsgálva a tüdőben mind a CD4⁺, mind a CD8⁺ sejtek esetében a TCR jelentős oligoklonalitását igazolták. Ezen tanulmány szerint a tüdőben lokális stimulusok hatására differenciálódnak a T-sejtek, mely leginkább a CD8⁺ citotoxikus sejteket érinti (283).

A dohányfüst szisztémás stresszhatásait mutatja, hogy számos más szervet is károsít a dohányzás (284,285). Szervtranszplatációt követően is sok esetben visszatér a páciens káros szenvedélyéhez, mely a graft funkcióját is befolyásolja (286,287,207,208). Mindezek alapján fontos a dohányfüst okozta celluláris folyamatok mind jobb megismerése.

A klinikai gyakorlatban a dohányzás okozta károsodások megelőzése fontos (primer prevenció (288). Segítenünk kell továbbá pácienseinket dohány dependenciájuk megfelelő kezelésével (289,290,253).

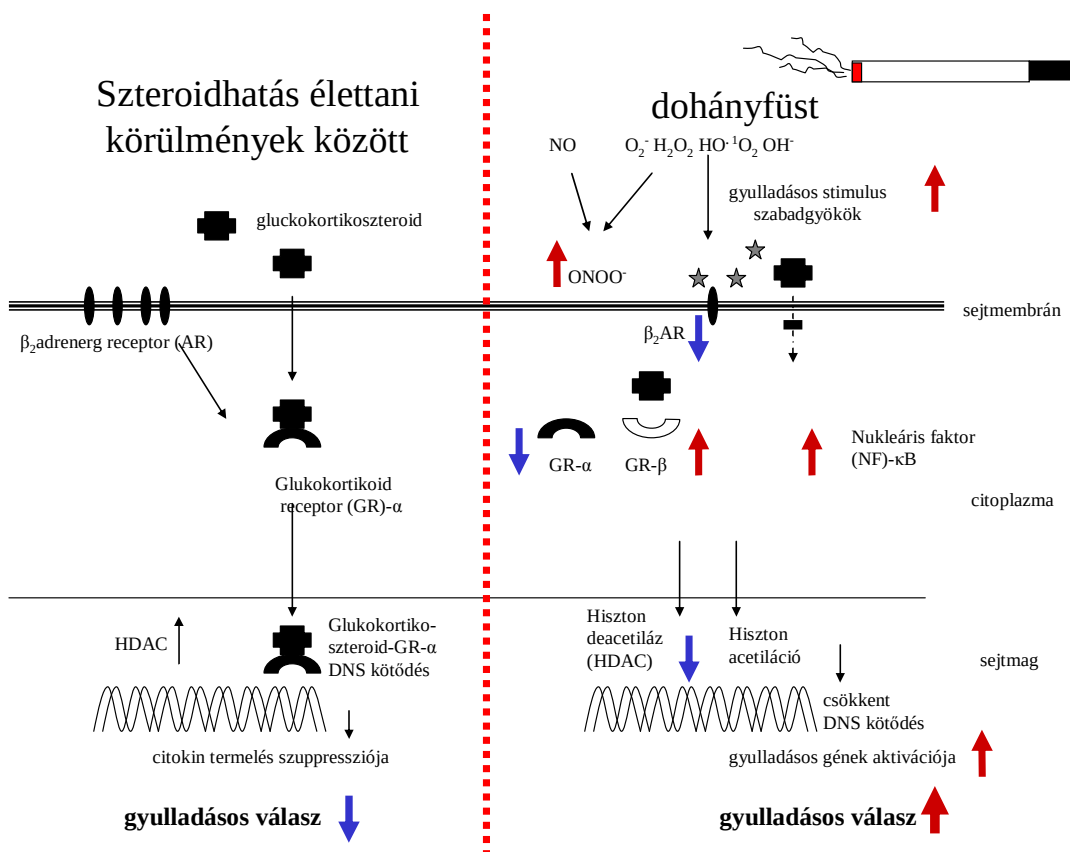
2.1.2.3. Dohányzás és szteroidrezisztencia

A dohányzás okozta szteroid rezisztencia asztmás betegek esetében a terápiás hatékonyság jelentős csökkenését eredményezheti, COPD-ben pedig feltehetően a dohányzás lehet a betegség ismert, jellegzetes kortikoszteroid rezisztenciájának hátterében (291,292,256). Cigarettafüst hatására nő a légutakban a nyálkahártya permeabilitása, ezzel párhuzamosan a fokozott nyákszekréció miatt csökken az ICS-ek megfelelő légúti penetrációja. Egészséges állapotban $\beta 2$ agonista hatására a $\beta 2AR$ -on keresztül nő a glukokortikoid receptor (GR) nukleáris transzlokációja és a GR foszforilációja. Ezáltal fokozódik a glukokortikoid-GR komplex sejtmagba történő transzlokációja és transzkripció gátló hatása (293,294). A dohányfüst csökkenti a $\beta 2AR$ denzitását a limfocitákon, ezáltal itt is csökken a szteroidhatás. A cigarettafüst nagy mennyiségben tartalmaz NO-t és számos szabadgyököt, melyek szintén csökkentik a GR ligand kötő képességét (295).

A szteroidok a citoplazmatikus GR-t aktiválják, mely transzlokálódik a nukleuszba, közvetlenül kötődik a DNS-hez, és transzaktivációval vagy transzrepresszióval befolyásolja a sejt működését. Dohányzás hatására nő a funkcionálisan inaktív, dominánsan nem ligand kötő, géntranszaktivációra nem képes GR β , míg csökken az aktív GR α expressziója. Ezen felül csökken a receptor ligand iránti affinitása is (296). A hiszton deacetiláz (HDAC) felel azért, hogy a szteroid-GR komplex megfelelően csatlakozhasson az adott DNS szakaszhoz. A glukokortikoidok csak megfelelő HDAC aktivitás mellett képesek a citokinindukció maximális

szuppressziójára. Dohányosokban a makrofágok egy részében a HDAC2 aktivitása jelentősen csökkent - valószínűleg az oxidatív stressz miatt -, és ez nagy részben hozzájárulhat az észlelt szteroidrezisztenciához (6. ábra) (297,298). Dohányzás esetében a fokozott GR foszforiláció csökkenti a GR működését, mely szintén steroid rezisztenciát eredményez.

6. ábra. Dohányfüst szerepe a szteroidrezisztencia kialakulásában.



2.13. Nem megfelelő vagy nem megfelelően alkalmazott gyógyszeres kezelés

A légúti betegségek terápiájának alapja az inhalációs kezelés. Így a betegség helyére célzottan juttathatók a gyógyszerek, csökkentve a káros mellékhatások kialakulásának kockázatát (299). Amennyiben a beteg nem, vagy nem megfelelően használja a javasolt készítményt úgy a légúti gyulladás és sejteket érő káros hatások perzisztálnak.

A légúti epitél- és kehelysejtek központi szerepet játszanak a légutak védelmében. Káros hatásokra a légúti sejtekben meginduló fokozott gyulladásos mediátor termelődés és sok esetben fokozott nyákszekréció hatására a hörgőfal duzzanata és szűkület alakul ki, melyet a

légúti nyák fokozott termelődése és/vagy csökkent clearance-e tovább súlyosbít. A gyulladás, mediátor felszabadulás, valamint a nyákszekréció csökkentésében a légutakba juttatott ICS, β_2 - receptor agonista és antikolinerg gyógyszerek jelentős hatással bírnak. A légúti hám felszínén, illetve a szövetekbe jutva fejtik ki hatásukat, ezáltal jelentősen hozzájárulnak a légúti obstruktív betegségekben észlelt kedvező terápiás kimenetelhez (300).

Az ICS-ok a leghatékonyabb szereink az asztma bronchiale kontrolljában (291). Asztmás betegeknél rendszeres alkalmazásuk csökkenti a légúti hiperreaktivitást és a légúti gyulladást. Mérsékelik a légutak gyulladásos sejtes - beleértve az eozinofileket, a T limfocitákat, hízósejteket és a dendritikus sejteket - infiltrációját azáltal, hogy csökkentik a kemotaktikus és adhéziós molekulák szintézisét, így megakadályozva a sejtek légutakban történő akkumulációját, illetve rontják ezen sejtek túlélését. Fontos tényező a gyulladásos eseményekben szerepet játszó légúti struktúrális sejtekre gyakorolt komplex hatásuk, amely során visszafordíthatják a krónikus asztmát kísérő struktúrális változásokat (légúti remodeling). Nem tekinthető egyértelműen tisztázottnak azonban, hogy a légúti gyulladásos és struktúrális sejtekre gyakorolt összetett hatásaik közül elsődlegesen melyek is felelősek terápiás hatásaik kialakulásában (301).

COPD esetén a kortikoszteroidok hatása kevésbé jótékony (292). A szteroid iránti érzékenység csökkenésének hátterében részben a dohányzás áll (261). A kortikoszteroidok által kiváltott hatások erősségét mind az alkalmazott szerek szöveti koncentrációja, mind a szöveti receptordenzitás befolyásolhatja (302,303). Ismert, hogy glukokortikoid receptor mRNS és fehérje megtalálható a tüdő és a légutak minden sejtípusában, amely a kortikoszteroidok homeosztázisban betöltött nélkülözhetetlen szerepére utal (304).

A légúti betegek aktuálisan is magas, és folyamatosan növekvő száma miatt nagyon fontos, hogy megfelelő inhalációs gyógyszerek álljanak a rendelkezésünkre. Nagyon fontos lenne olyan modellek kidolgozása, amelyek egyénre szabottan, akár a ma már rendelkezésre álló készülékek esetén is meg tudnák mondani, hogy az adott betegnél melyik formulációval érhető el a legnagyobb tüdődepozíció. Tekintve, hogy az aktuálisan a tüdőbeli eloszlást in-vivo mutató szcintigráfias módszerek nem képesek az egyes bronchiális szegmensekbe jutott gyógyszerfrakciók arányáról nyilatkozni, nagyon fontos az in-vitro, leginkább számítógépes modellezésen alapuló új módszerek bevezetése a személyre szabott medicina megvalósításáért, hogy a gyógyszerek célzottan fejthessék ki sejtprotektív hatásukat.

3. Célkitűzések

1. A szervek átültetése során mindig fennálló I/R károsodás mennyiben különbözik a két nemből?
2. Transzplantációt követően a nem és a nemi hormonok mennyiben befolyásolják a szerv akut és krónikus kilökődését, valamint a graftfunkciót?
3. Különböző immunszuppresszív és sejtprotektív kezelések hogyan befolyásolják a transzplantált szerv kilökődését?
4. A szerv funkcionális szövetének csökkenése mennyiben befolyásolja a szerv hosszútávú működést és mely celluláris mechanizmusok állnak a háttérben?
5. Dohányfüst hatására hogyan változik az epitél sejtek sejtprotektív Hsp72 rendszere szteroidkezelés mellett?
6. Citotoxikus kemoterápia mellékhatásai milyen gyakoriak tüdőrákos betegekben?
7. Milyen hatása van a Hsp72 rendszernek kissejtes tüdődaganatok túlélésében?
8. Asztmás betegekben mennyiben különbözik az ICS-LABA kombinációk klinikai hatásossága és milyen lehetséges összefüggést mutat a pulmonális depozícióval?
9. Asztma, COPD és ACOS esetében milyen hatása van a D vitaminnak a légúti obstrukcióra és a betegek tüneteire?
10. Mely pulmonális manifesztációk jellemzőek SLE-ben, és ezt milyen perifériás T sejt változások kísérik?

4. Anyagok és módszerek

4.1. Állatkísérletes modellek: az I/R, akut és krónikus graftkárosodás, gyógyszerhatások kapcsán észlelt nemi különbségek vizsgálatára

4.1.1. Kísérleti állatok

I/R vizsgálatainkat ivarérett, 4-5 hónapos Wistar patkányokon végeztük. Nemi különbséget vizsgáló kísérletekben nőstény (N) ($240 \pm 30\text{g}$), és hím (H) ($300 \pm 35\text{g}$), illetve ivaréretlen (35-40 napos) N és H ($67 \pm 8\text{g}$) állatokat használtunk.

A transzplantációt ivarérett Fisher344 (F344) és Lewis állatokon (200-220g) végeztük. Allograftok esetén F344 vesét Lewis állatba, isograftok esetén F344 vesét F344 állatba ültettünk.

A nőstény állatokat csak diösztus fázisban operáltuk, hogy az ovariális ciklus során variációt mutató nemi hormon szintek esetleges befolyását csökkentsük.

A funkcionális szövet és szervkárosodás vizsgálatára Spague Dawley és Wistar Furth, F344 és Lewis hím patkányokat használtunk.

Egérkísérleteinket C57/BL6 és C57/BL6 alapú eNOS KO egereken végeztük.

A patkányokat és egereket állandó, 21°C hőmérsékleten, 75% páratartalom és 12 óránként váltakozó megvilágítás mellett tartottuk. Az állatok szabadon fogyaszthattak standard rágcsáló tápot és csapvizet.

A kísérleteket minden esetben az állatvédelmi törvények alapján az állatkísérletekkel kapcsolatos irányelveknek megfelelően végeztük.

4.1.2. Műtéti beavatkozások

A műtéti beavatkozásokat intraperitoneális nátrium-pentobarbitál (50 mg/ttkg, Nembutal, Abbott Laboratories, Budapest, Magyarország), vagy pentobarbitál nátrium (32.5 mg/tskg, SIGMA, St. Louis, MO, USA) és methohexital nátrium (Brevital sodium, 25 mg/tskg Eli Lilly and Co, Indianapolis, IN, USA) keverékével végzett anesztézia alatt hajtottuk végre.

4.1.2.1. I/R létrehozása

A műtét alatt az állatok rektális hőmérsékletét $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ -on tartottuk. Előkísérleteink során különböző hosszúságú iszkémiás időket követően vizsgáltuk az állatok túlélését és a vese

állapotát. Azt találtuk, hogy 50 percnél rövidebb iszkémia nem vezet akut veseelégtelenség kialakulásához, míg 55 percnél hosszabb iszkémiás periódust követően az állatok nem élik túl a posztiszkémiás időszakot. Kísérleteink során 50, illetve 55 perces iszkémiás időket alkalmaztunk.

Medián laparatomiát követően a bal artéria és véna renalist kipreparáltuk, majd atraumatikus, mikrovaszkuláris klippel leszorítottuk (Biemeier, Aesculap, Németország). Az iszkémiás periódus alatt a hasfalat ideiglenesen zártuk. Az iszkémiás idő lejárta előtt az ellenoldali jobb vesét eltávolítottuk. A klip felengedése után a hasfalat véglegesen zártuk.

Kontrollként minden kísérletben uninefektomizált, áloperált, nem-iszkémizált nőtény és hím állatokat vizsgáltunk.

A kísérleteink egy részében a szervkárosodás csökkentésére az állatokat az adott vizsgálat szerint kezelésben részesítettük.

4.1.2.2. Ortotop vesetranszplantáció

Altatást követően a recipiens bal véna, és artéria renalisát izoláltuk és lefogtuk, majd a vesét eltávolítottuk. A donor állatban a bal véna és artéria renalis, valamint az ureter kipreparálása után a vesét leggyakrabban 4 °C-os Ringer-Laktát oldattal, egy kísérletben erre a célra összeállított perfúziós oldattal perfundáltuk. A vesét eltávolítottuk és a recipiensbe helyeztük az eltávolított saját vese helyére. Az ereket és az uretert 10-0 prolene fonállal vég-a-véghez egyesítettük. Ezt követően a hasfalat rétegesen zártuk. Az állatokat az akut kilökődés megelőzése érdekében leggyakrabban az első 10 posztoperatív napon immunszuppresszív, és profilaktikus antibiotikus kezelésben részesítettük. A transzplantációt követő 10. napon a jobb oldali saját vese került eltávolításra.

A kísérleteinkben a graftkárosodás csökkentésére a donorokat, a donor veséket, vagy a recipienseket részesítettük az adott vizsgálat szerint kezelésben.

4.1.2.3. Krónikus vesekárosodás kiváltása egérmodellen

Anesztéziát követően az egér bal veséjének kortexét elektrokauterrel körkörösén, a hilusi részt megkímélve hőkárosításnak tettük ki (305), majd a jobb vesét 1 hét múlva eltávolítottuk.

4.1.3. Funkcionális mérések

Transzplantációt követően 2-4 hetente meghatároztuk az állatok testsúlyát, valamint a 24 órás gyűjtött vizeletből a napi proteinuriát, a kísérletek végén kreatinin szintet a kreatinin clearance

meghatározáshoz mértünk. A kísérletek végén az állatokat elaltattuk, egy részüknél az aortába vezetett kanülön keresztül invazív vérnyomásmérést végeztünk, majd minden esetben vérvétel történt. A szérumot izoláltuk és további vizsgálatokig -80°C -on tároltuk. A szérumból a kísérletek szerint változóan kreatinin, karbamid, kálium, összkoleszterin, triglicerid, ösztradiol és tesztoszteron szint meghatározás történt rutin kémiai módszerekkel.

4.1.4. Hemodinamikai vizsgálatok

I/R alatti renális és szisztémás hemodinamikai vizsgálatához inaktinnal (100mg/ttkg) (Abbott Laboratories, Budapest, Magyarország) altatott ivarérett nőtény (261 $\pm$ 12g, n=6) és hím (383 $\pm$ 25g, n=6) Wistar patkányokat használtunk. Az iszkémiás inzultus előtt, alatt és után mértük a patkányok artériás középnyomását (MAP), a verőtérfogatot (CO), a szívfrekvenciát (HR), a teljes érellenállást (TVR), a renális véráramlást (RBF) valamint a renális vaszkuláris rezisztenciát (RVR).

Tracheotomiát követően, az euvolémia fenntartására a bal oldali véna femoralisba vezetett kanülön keresztül 5% albumin oldatot infundáltunk (10 ml/ttkg a preparálás alatt és 1ml/ttkg utána). A vérnyomást és a szívfrekvenciát a bal artéria femoralisra helyezett kanülökhöz illesztett CO-100 cardiac output computer (Experimetria, Budapest, Magyarország) segítségével monitoroztuk. A verőtérfogatot 0,2 ml steril 15°C -os fiziológiás sóoldat véna jugularisba juttatását követően, termodilúciós módszerrel határoztuk meg. A vesevéráramlást a bal artéria renalis hilus közeli részére helyezett ultrahangos áramlásmérő transzducer segítségével mértük (Transonic Flowmeter 101, Transonic Systems, NY, USA). A teljes perifériás ellenállást és a renális vaszkuláris rezisztenciát a mért adatokból számoltuk. Az állatok hematokrit értékeit a mérések előtt és után egyaránt kontrolláltuk.

4.1.5. Szövettani vizsgálatok

A kísérletek végén a noxának kitett és kontroll veséket eltávolítottuk, a szerv egy részét hisztológiai és immunhisztológiai feldolgozásra 4%-os formalinban fixáltuk. A paraffin metszeteket hematoxin-eosin, illetve perjodsav-Schiff reagenssel festettük meg. A glomeruláris és tubuláris elváltozásokat fénymikroszkóppal vizsgáltuk. Graftokban és az I/R károsodáson átesett vesékben a glomeruláris és a tubuláris károsodások, illetve a leukocita infiltráció mértékét 0-4-ig terjedő skálán minősítettük a következők szerint: 0- nincs, 1-enyhe (a sejtek <25 %-ban), 2-közepesen súlyos (a sejtek 25-50%-ban), 3-súlyos (a sejtek 50-75%-ban), 4-nagyon súlyos (a sejtek > 75%-ban).

A szklerotikus glomerulusok arányát (glomeruloszklerózis index) vesemetszetenként minimum 200 glomeruluson határoztuk meg 400x nagyítás mellett (306).

A transzplantátum krónikus kilökődésének egyik legérzékenyebb mutatója a Banff klasszifikáció szerinti szövettani értékelés (307). E beosztás szerint a glomeruláris, interstitialis, tubuláris, valamint vaszkuláris eltérések kiterjedése 0-3+ skálán értékelhetők, a vesekárosodást így egy 0-12+ -ig terjedő szám jellemez. A glomeruláris volument Weibel és munkatársainak módszerével határoztuk meg (308).

A kísérletek egy részében immunhisztokémiai vizsgálatok is történtek: CD5+ T sejtek (OX19), monocita/makrofág (ED-1), ICAM-1 (CD54), fibronectin és laminin, NKA $\alpha 1$ és $\beta 1$ alegység valamint Hsp72 kimutatására az egyes fehérjék elleni antitesteket, majd jelzett másodlagos antitesteket alkalmazva. Az aspecifikus kötődés okozta téves eredmények kizárására minden esetben kontroll méréseket végeztünk az elsődleges antitestek elhagyásával. Mintaként részben formalinban fixált, részben a szerv eltávolítása során -80 °C-on tárolt szövettani minták szolgáltak.

4.1.6. Teljes RNS izoláció, reverz transzkripció, PCR reakció és elektroforézis

A noxának kitett szervek egy részét mRNS kimutatásra a szervkivétel után -80 °C-on tároltuk. Az RNS izolálás az erre a célra kifejlesztett izoláló kitek segítségével történt (Rneasy Total RNA Isolations Kit (Qiagen GmbH, Németország) (309).

A szövetmintából kivont RNS-t reverz transzkripcióval írtuk át komplement DNS (cDNS) molekulává. Az előállított cDNS-t a kísérletek szerint specifikus primerek segítségével amplifikáltuk. A primerek szekvenciáit korábbi publikációk adataiból, illetve a Primer3 (<http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3.cgi>) illetve a DNASTar™ szoftvereket alkalmazva választottuk ki. Belső kontrollként a β -actin, vagy GAPDH génjét használtuk (310). A PCR terméket agaróz gélben futtattuk, eredményeit denzitometriát követően értékeltük. Az időben újabb kísérletekben már valós idejű (real-time) PCR-t végeztünk (311).

4.1.7. Western Blot

A Western blot vizsgálatokhoz 100 mg vese szövetet hűtött (4°C) lizáló pufferben Potter Elvehjem kézi homogenizálóval homogenizáltuk. A teljes szövethomogenizátumból a magfrakciót centrifugáltuk, a felülúszót -80°C-on tároltuk. A minták összfehérje koncentrációját spektrofotometriás módszerrel, Bradford szerint határoztuk meg.

Az egyes vizsgálatok szerinti fehérjék meghatározásához megfelelően kiválasztott elsődleges, majd másodlagos antitesteket használtunk. Az immunoreaktív helyek kemolumineszcens szignálját Amersham Pharmacia protokoll szerint ECLplus reagenssel, Hyperfilm ECL™-en filmen (AP Biotech, BuckinghamshI/Re, UK) detektáltuk, majd Gel-Pro™ szoftverrel történt a denzitometria.

4.1.8. NKA és NOS enzimaktivitás mérése

A NKA enzim aktivitását fehérjehomogenizátumból határoztuk meg Hitachi-712 laboratóriumi spektrofotométeren (312). A NOS aktivitást a vese cortex és medulla állományának szolubilis frakciójában mértük. A mintákat homogenizáltuk, ultracentrifugáltuk és a felülúszót szeparáltuk. Az endogén arginint Dowex gyanta segítségével a mintából eltávolítottuk és a mintákat nem-szelektív NOS gátló (L-NMA 10mmol/l és L-NAME 20mmol/l) jelenlétében futtattuk. A mintákhoz jelzett exogén [3H]-L-arginint adtunk, inkubáltuk, majd a maradék jelzett L-arginint eltávolítottuk Dowex gyanta segítségével. Ezt követően vizsgáltuk a jelzett [3H]-L-citrullin mennyiségét. Az eredményeket (mennyi [3H]-L-arginin konvertálódott [3H]-L-citrulinná) pmol-ban adtuk meg mg proteinre számolva.

4.2. Dohányfüst károsító hatásának vizsgálata alveoláris epítelsejteken

4.2.1. Sejtkultúra

Vizsgálatunkhoz immortalizált alveoláris epítelsejtvonalat (A549, ECACC No: 86012804)) használtunk. A sejteket főtális marha szérummal (FBS) és antibiotikus-antimikotikus oldattal (AB) kiegészített Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) médiumban tenyésztettük. A sejteket 24 órán keresztül kezeltük, 37°C-os, párasított, 5% CO₂-t tartalmazó inkubátorban atmoszférás nyomáson. A sejtek egy részét különböző: 0,1 µM/µl, 1 µM/µl, vagy 10 µM/µl koncentrációjú Dexamethasonnal (DEX) kezeltük (DEX (0; 0.1; 1; 10), a DEX 0 csoport a DEX kezelésben nem részesülő csoportokat jelenti. A dohányfüst hatásának vizsgálatára azonos elrendezésben a sejteket dohányfüst extraktummal (CSE) kiegészített médiumban tenyésztettük.

4.2.2. *Dohányfüst extraktum (CSE) előállítása*

CSE-t Bernhard és munkatársai által leírt módon, kisebb módosítással állítottuk elő (313). A CSE-t minden kísérlethez frissen készítettük. Két db cigarettából (Marlboro; Philip Morris Products, Hungary, EU; nicotine 0.8 mg, tar 10 mg) készítettük az oldatot, a dohányzógéppel az átlagos dohányos cigaretaszívási technikájának megfelelően (35 ml/ 2 s melyet 28 s-os szünet követ). A képződött füstöt 16 ml 37°C-os sejtkultúrák médiumba áramoltattuk. A CSE stabilitását és reprodukálhatóságát HPLC-MS/MS analízissel ellenőriztük. Nikotin iont (m/z 163) és cotinine-t (m/z 177) monitorizálva az egyes kísérletek közötti eltérés 10%-on belüli volt.

4.2.3. *Áramlási citometria (FACS) analízis*

Áramlási citometriás mérésekkel vizsgáltuk a sejtszámot, az apoptózist, valamint a sejtek Hsp72 expresszióját. Az apoptózis és nekrosis meghatározásához annexin V/propidium iodide festést alkalmaztunk (314). A sejteket mosást és permeabilizálást követően inkubáltuk a Hsp72 antitesttel (anti-human nyúl Hsp72 IgG Dr. László, Eötvös Lóránd Tudományegyetem), majd másodlagos antitest felhasználásával citometriás analízisben részesítettük (FACSAria Becton Dickinson, San Jose, CA, USA).

4.2.4. *Hsp72 csendesítés (silencing (si)RNS transzfekció)*

Bizonyítani akartuk, hogy eredményeink a Hsp72 sejtbeli expressziójának mértékével hozhatók összefüggésbe, ezért „Hsp72–csendesítő” transzfekciót (si/RNS) is végeztünk siPORT NeoFx transzfekciós szett segítségével. A transzfekció során „hamis” RNS szakaszt juttattunk a sejtbe, mely megakadályozta a Hsp72 sejtben belüli mRNS-sé történő átíródását, ezáltal a Hsp72 expressziót. Hasonló körülmények között mértük a sejtek apoptózisát is.

4.3. *Klinikai vizsgálatok*

4.3.1. *Transzplantációt követően a krónikus graftműködést befolyásoló faktorok*

Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján 2008 decembere óta történik a bécsi Allgemeines Krankenhaus Mellkassebészeti osztályán történő tüdőtranszplantációt megelőzően és követően a páciensek elő- és utógondozása. A transzplantáció utáni első évben

az infekciók jelentik a legnagyobb kihívást. Felmérésünkben a Klinikánkon gondozott tüdőtranszplantált páciensekben a szervbeültetést követő első évben vizsgáltuk az infekciók számát, kórokozó spektrumát és a transzplantációt követő időbeli megjelenését. A vizsgálatba bevont betegek demográfiai adatait és a vizsgálat fő végpontjait a 6. táblázat összegzi.

4.3.2. Dohányzási szokások felmérése speciális populációkon

Sajnos szervtranszplantációt követően is sok páciens folytatja, vagy visszatér a dohányzáshoz. Vizsgálatunkban 402 vesetranszplantációban részesült páciensnél vizsgáltuk a szervbeültetést követően a dohányzási szokásokat. Kilégzett CO mérés és Fagerström Nikotin Dependencia Teszt (FNDDT) történt. A klinikai adatokat dohányos és nem dohányzó betegekben hasonlítottuk össze, valamint vizsgáltuk a dohányzás lehetséges szerepét a graftműködésre. A vizsgálatba bevont betegek demográfiai adatait és a vizsgálat fő végpontjait a 6. táblázat összegzi.

A dohányzás nem csak a betegek, de sok esetben az őket ellátó személyzetet is érintő problémakör. Felmérésünkben a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikájának dolgozói körében készítettünk felmérést a dohányzási szokásokról. A vizsgálatba bevont betegek demográfiai adatait és a vizsgálat fő végpontjait a 6. táblázat összegzi.

4.3.3. Sejtkárosodás és hatásai tüdőrákos betegekben

4.3.3.1. Kemoterápiás kezelés klinikai tolerálhatósága

A tüdőrák kezelésében az egyik legfontosabb kezelési modalitás a citotoxikus kemoterápia. A napi gyakorlatban a platina alapú kezelés mellett adott vinorelbin biztonságosságát vizsgáltuk saját betegeinkben. A retrospektív adatgyűjtésben 24 betegnél (IIIB és IV stádium) mértük fel 4 kemoterápiás ciklust követően a vinorelbin kezelés tolerálhatóságát. A tüdőrák kemoterápiás kezelésének jól ismert számos, és az életminőséget jelentősen rontó mellékhatásai vannak, melyeket több közleményben összegeztünk (315,316,317,318).

A ciszplatin-vinorelbin kezelés (ciszplatin 80 mg/m² az első nap, vinorelbin 30 mg/m² az 1. és 8. napon, 21 napos ciklusokban) mellett vizsgáltuk a betegek életminőségét (QoL). Hematológiai eredményeket és az életminőséget minden ciklus 1. napján vizsgáltuk. A QoL esetében a következő paramétereket vizsgáltuk: terhelhetőség csökkenés, fáradtság, hányás, hányinger, hasmenés és székrekedés, szociális aktivitás változása, láz, étvágytalanság és súlycsökkenés. A QoL pontszám valamennyi vizsgálati paramétere a következők szerint került kialakításra: 0 pont tünetmentesség esetén, 1 pont enyhe, 2 pont kifejezett tünetek esetén. A

pontszámok összesítése adta a QoL összpontszámát. A vizsgálatba bevont betegek demográfiai adatait és a vizsgálat fő végpontjait a 6. táblázat összegzi.

4.3.3.2. *Kemoterápia indukálta anémia (CIA) és nefrotoxitás tüdőrákban*

A tüdőrák kemoterápiás kezelések mellett alkalmazott szupportáció nagyon fontos kérdéskör, ennek keretein belül a Klinikánkon tüdőrákos betegeknél alkalmazott kemoterápiás kezelés mellett kialakult CIA előfordulását és kezelését analizáltuk. 2008-as évben a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján kemoterápiával kezelt tüdőrákos betegeknél (N=482) 83 esetben (17%) alakult ki CIA. Megvizsgáltuk, hogy az akkor érvényben lévő finanszírozási protokoll szerint hányan részesültek erithropoietin (ESA) kezelésben, és hogy ez milyen hatással volt a következő kezelés halasztására és a kezelések végi hemoglobin szint alakulására.

Az anémia mellett jelentősen csökken a szövetek oxigén ellátása, mely jelentős celluláris stresszhatást jelent számos szerv és szövet számára. Megvizsgáltuk továbbá, hogy mely faktorok befolyásolják a ciszplatin nefrotoxicitást és növelik kialakulásának rizikóját. A vizsgálatba bevont betegek demográfiai adatait és a vizsgálat fő végpontjait a 6. táblázat összegzi.

4.3.3.2. *Hsp72 szerepe kissejtes tüdőrákban (SCLC)*

Külön vizsgáltuk, hogy SCLC milyen hatással lehet a túlélésre a Hsp72 genetikai polimorfizmusa. A HSP72 (HSPA1B A(1267)G) genotípusának prevalenciájának vizsgálatához egy random, 97 egészséges, önkéntes véradóból álló független populációt vizsgáltunk (átlag életkor > 40 év, férfi/nő arány: 29/68). A populáció minden tagja a kaukázusi etnikumba tartozott. A Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikájának 2003 márciusa és 2004 szeptembere között megjelent betegek összesen 486 betegnél diagnosztizáltunk tüdőrákot, ebből 72 főnél SCLC-t. Ezek közül csak az előrehaladott állapotúakat (TNM osztályozás szerint IIIA-IV. stádium) és ezen belül azokat választottuk bele a vizsgálatba, akiknek szövettani mintája elérhető volt (N=43). Ez több mint 60 %-a volt az ebben az időszakban diagnosztizált SCLC-s betegeknél.

Az elsődleges diagnózishoz szükséges tumor mintákból Hsp72 immunhisztokémiát készítettünk. A már korábban munkacsoportunk által használt módszer módosított változatát használtuk (329). A megfestett mintákat ezek után vakon elemeztük ki. A tumorsejtek relatív Hsp72 expresszióját mértük, egy 0-4 terjedő skálán, és az azonos mintából származó bronchiális epitelsejteken mért (szintén 0-4 skálán) expresszió arányaként fejeztük ki.

Viszgáltuk a hisztológiai expresszió és a Hsp72 polimorfizmus összefüggését a daganatszövetben, valamint a betegek 5 éves túlélését a Hsp72 polimorfizmus szerint. A vizsgálatba bevont betegek demográfiai adatait és a vizsgálat fő végpontjait a 6. táblázat összegzi.

4.3.4. Légúti gyulladás vizsgálata obstruktív tüdőbetegségekben

4.3.4.1. Inhalációs eszközválasztás obstruktív tüdőbetegeknél

Asztma bronchiale kezelésének alapja a légutakban létrejövő gyulladás csökkentése, melynek legjobb eszköze az inhalációs kortikoszteroid (ICS) kezelés. A napjainkban hozzáférhető készítmények esetén az eszköz, az ICS hatóanyaga, formulációja és a bejuttatható szemcseméret befolyásolhatja a kezelésre adott választ, vagyis az asztma kontrollját. Vizsgálatunkban asztmás betegekben elemeztük az asztma kontrollt (asztma kontroll teszt=ACT) segítségével szárazpor (DPI) belégző eszközzel bejuttatott ICS és oldattechnológiát alkalmazó (Modulite®) adagolószelepes aeroszolnak (pMDI) ICS esetében. A vizsgálatba bevont betegek demográfiai adatait és a vizsgálat fő végpontjait a 6. táblázat összegzi.

In-vitro kísérletes modellben szimuláltuk, hogy az egyes ICS-LABA készítmények esetében hogyan változik a tüdőben a gyógyszer depozíciója. Egészséges önkéntesek placebo tartalmazó eszközön keresztül végezték a belégzési manővereket. Ezt követően az irodalmi adatok alapján az átlagos median aerodinamikai átmérő adatait használva a matematikai modellen szimuláltuk ICS-LABA készítmények pulmonális depozícióját. A kapott eredményeket az irodalomból ismert depozíciós adatokkal vetettük össze.

4.3.4.2. D vitamin szint és obstruktív tüdőbetegségek kapcsolata

A vitaminok hiánya jelentős stresszállapotot jelenthet a szervezetnek. Obstruktív tüdőbetegeknél (asztmás, COPD-s és az asztma-COPD együttes fennálási szindrómában (ACOS) szenvedőknél) vizsgáltuk, hogy a 25(OH)D vitamin milyen mennyiségben mutatható ki a betegek szérumában (6. táblázat). Megvizsgáltuk, hogy a 25(OH)D vitamin szint milyen összefüggést mutat a légzésfunkcióval és betegségspecifikus kérdőívekkel. Asztma esetén az asztma kontroll tesztet (ACT), COPD fennállásakor pedig a COPD állapotfelmérő tesztet (CAT) és a diszpnoe mértékét jelző mMRC (modified Medical Research Council) kérdőívet használtuk. A méréseket 22 egészséges kontroll adataival egészítettük ki. A betegek jellemzőit a 4. táblázat összegzi.

4. táblázat. Beválasztott betegek jellemzői.

	Kontroll	Asztma	COPD	ACOS
Betegek száma (N)	21	44	21	20
Nő/férfi	12/9	36/8	10/11	12/8
Kor Átlag [tartomány]	38 [25-71]	44 [22-85]	66 [43-86]	65 [50-83]
Dohányzás N (%)				
Aktuálisan	0 (0)	1 (2,25)	4 (19)	5 (25)
Korábbi dohányos	1 (4,75)	2 (4,5)	15 (71,25)	14 (70)
Soha nem dohányzó	20 (95)	41 (93,25)	2 (9,5)	1 (5)
GOLD kategória N (%)	-	-	II-IV.	I-IV.
A			0 (0)	3 (15)
B			2 (9,5)	9 (45)
C			0 (0)	0 (0)
D			19 (90,5)	8 (40)
Allergiás rhinitis / atópia N (%)	0 (0)	34 (77)	0 (0)	10 (50)
Társbetegségek száma (N)	0 [0]	0,34 [0-4]*	2,19 [0-4]	0,70 [0-2]
Átlag [tartomány]				

Átlag±SEM ha nincs másképp jelölve. * egy asztmás betegnek 4 társbetegsége volt.

4.3.4.3. Pulmonális manifesztációk megjelenése és a perifériás immunválasz változása autoimmun tüdőbetegségekben

Sok autoimmun kórkép esetében érintett a tüdő, de szisztémás lupus eritematosus (SLE) esetében nagyon kevés adat áll rendelkezésünkre. (319). Vizsgálatunkban 28 SLE-s betegnél vizsgáltuk a pulmonális manifesztációk előfordulását, a klinikai tünetek és a légzésfunkciós eltérések összefüggéseit. Minden esetben rögzítettük a tüneteket, részletes anamnézis felvétel, fizikális vizsgálat, rutin laborvizsgálatok történtek. A betegeknél a pulmonológiai vizsgálat részeként mellkasi röntgen, részletes teljestestpletizmográfias légzésfunkciós vizsgálat, CO diffúzió meghatározás, valamint vérgáz vizsgálat történt. A bevont betegeknél 22 esetében perifériás T-sejt vizsgálatokat is végeztünk (FACS analízis), hogy mennyiben mutatnak az egyes alcsoportok összefüggést a pulmonális manifesztációval. A vizsgálatba bevont betegek demográfiai adatait az 5. táblázat összegzi, a vizsgálat fő végpontjait a 6. táblázat tartalmazza.

5. táblázat. Beválasztott SLE-s betegek jellemzői.

	Összes SLE beteg (N=28)		SLE betegek, akiknél történt T-setj analízis (N=22)	
Parameter	SLE _c N=15	SLE _{pulm} N=13	SLE _c N=13	SLE _{pulm} N=9
Kor (év)	27,2 ±3,7*	44,9 ±3,3	24,8±3,7*	44,0±4,7
Nem (nő: férfi)	12:3	11:2	10:3	7:2
BMI (kg/m ²)	22,0 ±1,3	23,5 ±0,9	21,5±1,3	22,8±1,0
Kor az SLE megjelenésekor (év)	19,3 ±3,1*	36,9 ±2,9	17,9±2,9*	37,2±4,0
Diagnózis óta eltelt idő (év)	7,9 ±1,8	7,0 ±2,4	7,0±1,7	5,9±2,7
Dohányos (N)	2 (13%)*	6 (46%)	2 (15%)*	4 (44%)
SLEDAI (>3) (N)	3(20%)*	11(85%)	2 (15%)*	8 (89%)
Immunszuppresszív kezelés (N)	15(100%)	13(100%)	13 (100%)	9 (100%)
Szisztémás kortikoszteroid (N)	8(53%)*	12(92%)	7(54%)*	8(89%)
Methylprednisolone dózis (mg/nap)	3,6±1,9*	15,4±2,8	2,0±0,7*	15,6±3,3
Methotrexat (N)	2 (13%)	3 (23%)	2 (15%)	3 (33%)
Cyclophosphamid (N)	5 (33%)	8 (61%)	4 (30%)	5 (55%)
Azathioprin (N)	6 (40%)*	2 (15%)	5 (38%)	1 (11%)

Átlag±SEM ha nincs másképp jelölve. BMI= testtömegindex, SLEDAI= SLE aktivitási index. * p<0.01 vs. SLE_{pulm}

6. táblázat. A klinikai vizsgálatokba bevont betegek demográfiai adatai.

Vizsgálatba bevontak	Bevont esetek száma (N)	Nem (férfi:nő arány)	Átlag életkor (év)	Elsődleges végpont	Referencia
4.3.1. Transzplantációt követően a krónikus graftműködést befolyásoló faktorok					
Tüdőtranszplantált betegek	12	8:4	37,0±14,7	Traszplantáció utáni első éves infekciók megoszlása	Kováts Zs. és mtsai. (343)
4.3.2. Dohányzási szokások felmérése speciális populációkon					
Vesetranszplantált betegek	402	221:181	45,3±13,2	Dohányzók és nem dohányzók összehasonlítása	Gombos P. és mtsai. (320)
Pulmonológiai Klinika dolgozói	92	24:68	-	Dohányzók jellemzői és munkahelyi magatartás	Gyulai N. és mtsai. (254)
4.3.3. Sejtkárosodás és hatásai tüdőrákos betegekben					
4.3.3.1 Kemoterápiás kezelés klinikai tolerálhatósága					
NSCLC betegek	25	11:14	-	Ciszplatin vinorelbin kezelés mellett a QoL és a hematológiai eltérések vizsgálata	Tamási L. és mtsai. (345)
Ciszplatin kemoterápiával kezelt tüdőrákos betegek	242	144:98	56±1-62±1	Ciszplatin nephrotoxicitás kialakulása társbetegségek esetén	Máthé Cs. és mtsai. (346)
4.3.3.2 Hsp72 szerepe kissejtes tüdőrákban (SCLC)					
SCLC betegek	43	27:16	61,4±1,4	Hsp72 szöveti expresszió és genotípus hatása a túlélésre	Szondy K. és mtsai. (321)
4.3.4. Légúti gyulladás vizsgálata obstruktív tüdőbetegségekben					

<i>4.3.4.1 Inhalációs eszközválasztás obstruktív tüdőbetegeknél</i>					
ICS-LABA kombinációval kezelt asztmás betegek	111	30:31	-	ACT változása DPI és pMDI használata szerint	Müller V. és mtsai. (322)
Egészséges önkéntesek	17	-	-	ICS-LABA DPI és pMDI depozíció modellezése	Farkas Á. és mtsai. (323)
<i>4.3.4.2. D vitamin szint és obstruktív tüdőbetegségek kapcsolata</i>					
Obstruktív tüdőbetegek (Asztma, ACOS és COPD) és kontrollok	106	36:70	38,1±3,3 - 66,3±2,6	Asztma kontroll és COPD életminőség változása az 25(OH)D vitamin szint függvényében	Odler B és mtsai. (324)
<i>4.3.4.3. Pulmonális manifesztációk megjelenése és a perifériás immunválasz változása autoimmun tüdőbetegségekben</i>					
SLE-s betegek	28	5:23	27,2±3,7-44,9±3,3	Pulmonalis manifesztációk jellemzése és perifériás Th1, Th2, Th17 és Treg sejtekkel összefüggés	Vincze K. és mtsai. (325)
Devic szindróma SLE-ben	2	1:1	-	Esetriport két ritka beteg kapcsán	Polgár A. és mtsai. (326)

4.4. Statisztikai analízis

Az adatokat átlag $\pm$ SEM (átlag szórása) illetve átlagérték $\pm$ SD (standard szórás) értéként adtuk meg. A statisztikai elemzést a STATISTICA 6. majd 7. szoftverrel (StatSoft® Inc., USA), illetve Graph Pad Prism software 4 majd 5 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) végeztük.

A túlélés vizsgálatára Kaplan-Mayer analízist (Log-rank test), hisztológiai eredményeknél Kruskal-Wallis és Dunns féle post-hoc tesztet, a különböző csoportok RT-PCR, Western blot és enzimaktivitás eredményeinek összehasonlításához ANOVA tesztet használtunk Newman-Keul post-hoc tesztel kiegészítve. Két csoport összehasonlítására kétmintás t-próbát alkalmaztunk. Különböző kezelési csoportok esetén Mann-Whitney U-tesztet végeztük, miután Shapiro-Wilk's tesztel meggyőződünk az adatok normalitásáról. Klinikai adatoknál regressziós analízist alkalmaztunk, az összefüggéseket Kruskal-Wallis valamint Pearson teszt segítségével analizáltuk. A genetikai vizsgálat során ellenőriztük a Hardy-Weinberg egyensúlyt. Az adatokat átlag $\pm$ szórás formátumban adtuk meg. Az SCLC-s betegek jellemzőit Cox-regressziós analízis segítségével elemeztük. A nem parametrikus adatokat χ^2 vagy Fisher tesztel dolgoztuk fel. A túlélési görbét Kaplan-Meier analízis segítségével készítettük el. Valamennyi vizsgálatban statisztikailag szignifikánsnak a $p < 0,05$ értéket tekintettük.

5. Eredmények

5.1. Állatkísérletes modellek celluláris stressz vizsgálatára

5.1.1. I/R állatmodell

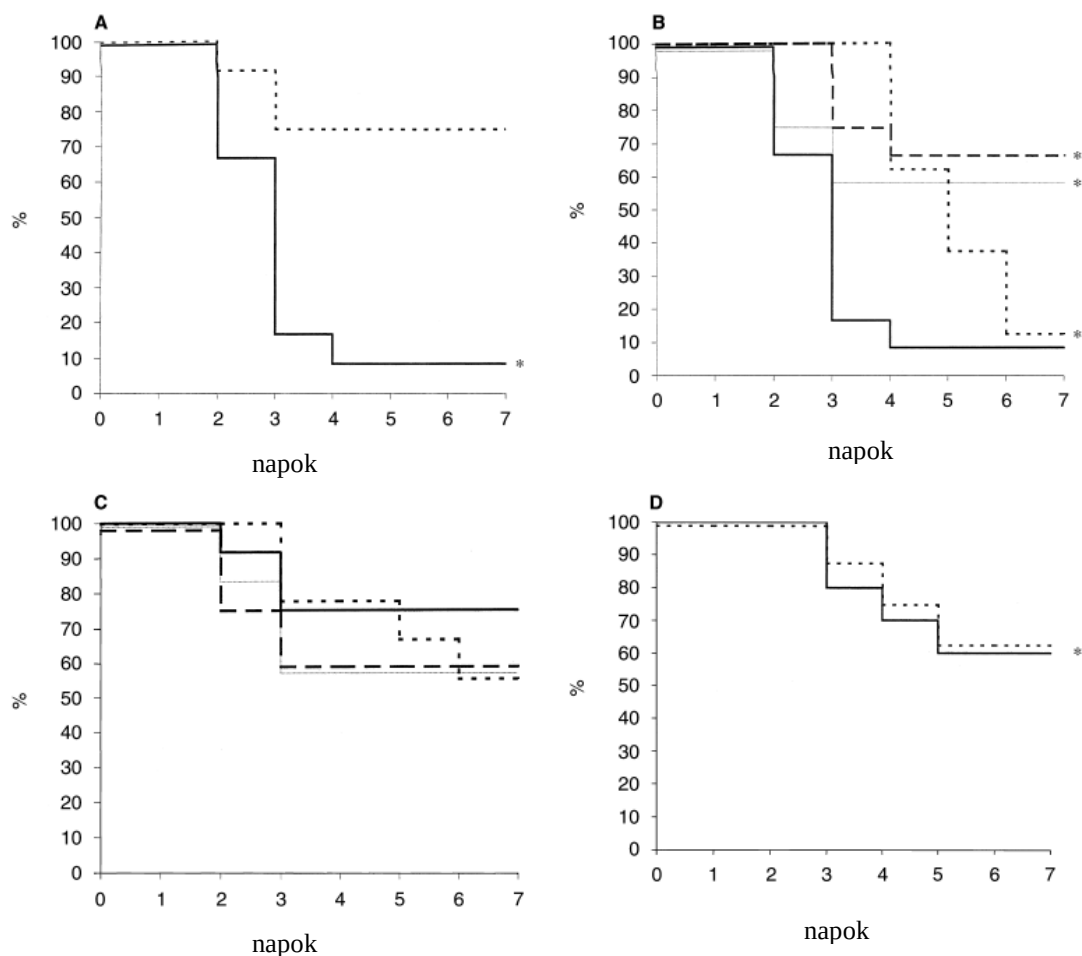
5.1.1.1. Nemi különbségek és hormonális milieu vizsgálata I/R okozta akut szervkárosodásra

Jobb oldalon nefrektomizált, ivarérett hím patkányokban a bal oldali renális erek 50 percig tartó lezserítése 92%-os mortalitással járó súlyos veseelégtelenséghez vezetett. Nőstények esetében azonos inzultus mellett szignifikánsan alacsonyabb (25%) a mortalitás. Orchiectomia és ivaréretlen állapot jelentősen javította a hím állatok túlélését (mortalitás 30% és 40% vs. 92%; $p < 0,05$). Hím állatok ösztradiol kezelése jelentősen csökkentette az I/R okozta kezdeti károsodást, a hosszú távú (7 napos) mortalitás azonban közel azonos volt a kezeletlen állatokkal (5.1/1. ábra).

Nőstények esetében sem az ovariectomia, sem az ivaréretlenség nem rontotta szignifikánsan a mortalitást (25%, 40% vs. 25%) (10/C ábra), bár az ovariectomizált állatoknál kismértékű csökkenést észleltünk a túlélésben. Ivarérett nőstények tesztoszteron kezelése sem befolyásolta a túlélést az iszkémiás inzultust követően.

Az I/R inzultust követően 5 perccel és 2 órával eltávolított vesék szövettani analízise a két nemből nem mutatott szignifikáns különbséget (szövettani pontszám: nőstények: $0,6 \pm 0,4$ vs. hímek: $0,4 \pm 0,3$). Az iszkémia után 2 órával mindkét csoportban hialin lerakódással, magatípiával és tubulussejt vakuolizációval járó enyhe tubuláris károsodás alakult ki, mely hímeknél súlyosabb fokú volt, de az eltérés nem volt szignifikáns. Szignifikáns különbség mutatkozott viszont a leukocita-infiltrációban és a tubulussejt-feloldódásban. Glomeruláris károsodást egyik csoportban sem észleltünk.

5.1/1. ábra. Renális I/R károsodást követő túlélés a két nemben. (327)



A: Ivarérett hím (folyamatos vonal, n=12) és nőstény (pontozott vonal, n=12) patkányok túlélése 50 perces renális I/R károsodást követően. 100% az adott csoportban az iszkémia előtt az állatok száma. (* p < 0,05 vs. nőstények)

B: Ivarérett hím (folyamatos vonal, n=12), kasztrált hím (szaggatott vonal, n=12), az ivaréretlen hím (apró pontos vonal, n=12) és az ösztradiol kezelt hím (pontozott vonal, n=12) állatok túlélése renális I/R károsodást követően. 100% az adott csoportban az iszkémia előtt az állatok száma. (* p < 0,05 vs. ivarérett hím).

C: Az ovariectomizált nőstény (szaggatott vonal, n=12), az ivaréretlen nőstény (apró pontos vonal, n=12) és a tesztoszteron kezelt nőstény (pontozott vonal) állatok túlélése renális I/R károsodást követően. A folyamatos vonal jelzi az ivarérett nőstény állatokat (n=12). 100% az adott csoportban az iszkémia előtt az állatok száma (* p < 0,05 vs. ivarérett nőstények).

D: LU135252 kezelt hím (folyamatos vonal, n=6) és nőstény (szaggatott vonal, n=6) állatok túlélése renális I/R károsodást követően. 100% az adott csoportban az iszkémia előtt az állatok száma.

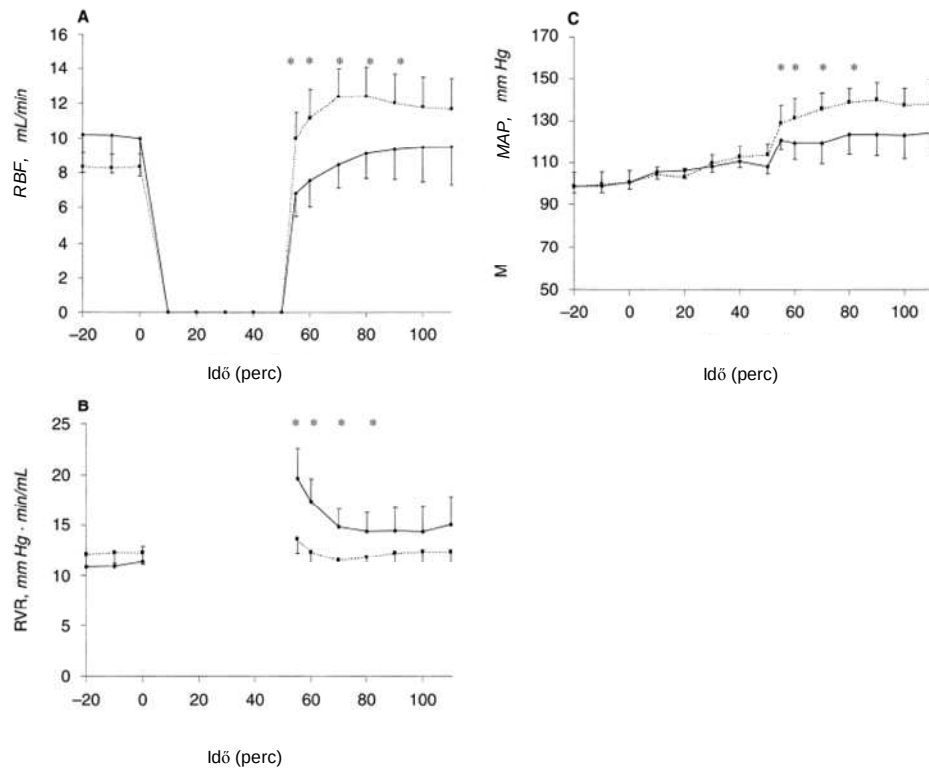
5.1.1.2. Nemi különbségek a hemodinamikai paraméterek I/R okozta akut szervkárosodásban és az endotelin szerepe a folyamatokban

A renális I/R során észlelt nemi különbségek mechanizmusának vizsgálatára szisztémás és renális haemodinamikai méréseket végeztünk az iszkémiát megelőzően, az 50 perces iszkémiás periódus alatt, majd a reperfúzió első 2 órájában. Mértük az artériás középnyomást (MAP), a perctérfogatot (CO), a szívfrekvenciát (HR), valamint a renális véráramlást (RBF), számítottuk a teljes perifériás rezisztenciát (TPR) és renális vaszkuláris rezisztenciát (RVR), melyekben alapállapotban nem volt szignifikáns különbség a két nemben. A reperfúziós fázisban a nőstények RBF-ja gyorsan emelkedni kezdett, 5 perc alatt visszatért, majd meghaladta az iszkémia előtt mért szintet. Ezzel szemben hímekben már az iszkémia előtt is alacsonyabb RBF értékeket detektáltunk és a leszorítás megszüntetését követően a vese véráramlása csak 10 perc elteltével tért vissza az eredeti szintre. Az RBF csökkenés hátterében hímekben jelentős renális vazokonstrikció állt, melyet a magas RVR mutatott. (5.1/2. ábra).

Szisztémás hemodinamikai paraméterek tekintetében a MAP értéke a nőstények esetében szignifikánsan magasabb volt I/R után, az emelkedést valószínűleg szisztémás vazokonstrikció okozta, mivel a CO és a HR nem különbözött a két csoport között.

A renális érkonstrikcióban feltételeztük a potens vazokonstriktor endotelin szerepét, ezért túléléses kísérleteinket kiegészítettük nem szelektív endotelin A és B receptor antagonistával (LU135252). A kezelést követően hím állatok túlélése szignifikánsan nőtt, nőstények esetében nem volt változás. Az endotelin központi szerepét igazolta, hogy az előmolekula pre-pro endotelin mRNS expressziója 2 órával az iszkémiás noxát követően jelentősen nőtt hím állatok veseszövetében.

5.1/2. ábra. Renális és szisztémás hemodinamikai változások renális I/R-t megelőzően, alatt és után. (327)



A: Ivarérett nőstény (szaggatott vonal, n= 6) és hím (folyamatos vonal n=6) állatok vesevéráramlásának (RBF) változása az 50 perces iszkémia előtt, alatt és után. (* p <0,05 vs. nőstények).

B: Ivarérett nőstény (szaggatott vonal, n= 6) és hím (folyamatos vonal n=6) állatok renális érellenállásának (RVR) változása az 50 perces iszkémia előtt, alatt és után. (* p<0,05 vs. nőstények).

C: Ivarérett nőstény (szaggatott vonal, n= 6) és hím (folyamatos vonal n=6) állatok artériás középnyomásának (MAP) változása az 50 perces iszkémia előtt, alatt és után. (* p<0,05 vs. nőstények).

5.1.1.2. Renális I/R során észlelt nemi különbség háttérében álló mechanizmusok vizsgálata (NKA, Hsp72, SGK-1 és EPO kezelés hatása)

5.1.1.2.1 NKA

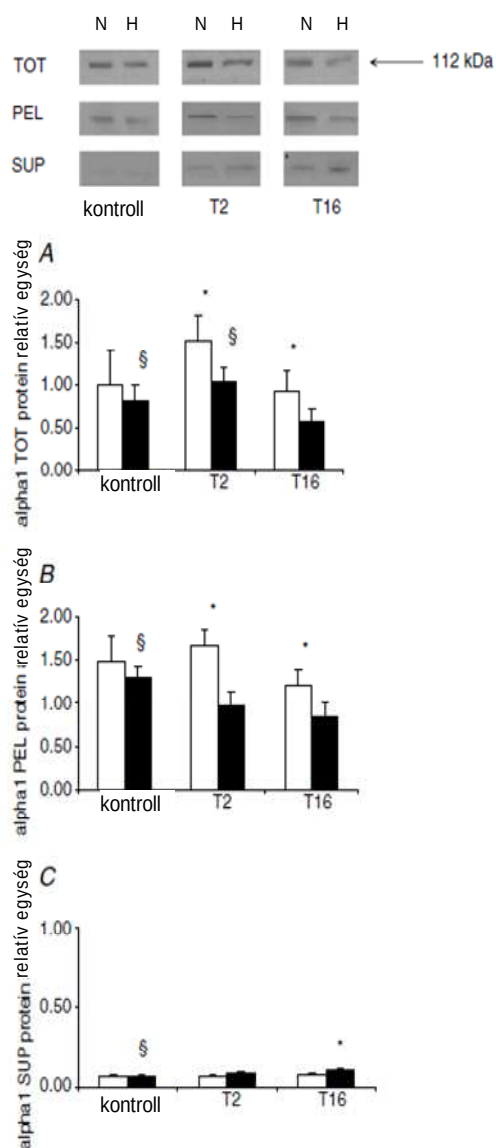
A funkcionális, szövettani és immunhisztokémiai vizsgálatokat hím és nőstény állatokon az I/R-t követően 2 (T2) és 16 (T16) órával végeztük (328). A kontroll nőstény és hím állatok karbamid (BUN, mmol/L) és szérum kreatinin (CN, $\mu\text{mol/L}$) értékei nem különböztek. Az I/R-t 2 órával és 16 órával követően nőstényekben szignifikánsan alacsonyabb BUN és CN értékeket detektáltunk, mint hímekben. (T2: BUN: $7,5 \pm 0,7$ vs. $10,2 \pm 1,0$, CN: 85 ± 5 vs. 107 ± 7 ; $p < 0,05$; T16: BUN: $27,2 \pm 3,6$ vs. $37,2 \pm 8,1$; CN: 228 ± 7 vs. 276 ± 8 ; $p < 0,05$). A szövettani vizsgálat megerősítette a funkcionális eltéréseket: 16 órával a stresszhatást követően nőstényekben a tubuláris nekrosis és a tubulussejt feloldódás mértéke kevésbé volt kifejezett, mint hímekben (tubuláris nekrosis: nőstény: 2,5 (2-4) vs. hím: 4,0 (4-4); tubulussejt feloldódás nőstény: 3,0 (1-4) vs. hím: 4,0 (4-4); $p < 0,05$). Glomeruláris károsodást, intersticiális ödémát, illetve intersticiális limfocita infiltrációt egyik csoport szövetmintáiban sem észleltünk.

Az aktív NKA α_1 alegységének mRNA expressziójában nőstényekben közel kétszerese volt a hímekének (kontroll: nőstény vs. hím: $p < 0,05$). T2 időpontban a különbség még kifejezettebb volt, és a szignifikáns nemi különbség még T16-ban is kimutatható maradt. Bár a T2 időpontban az α_1 alegység mRNA expressziója mindkét nemben jelentősen csökkent a kontroll állatokhoz képest, nőstényekben a csökkenés mértéke fele volt a hímekben észleltnek (nőstény vs. hím: $p < 0,05$; kontroll vs. T2: $p < 0,05$, nőstényben és hímben egyaránt).

A NKA fehérje szintjében a kontroll csoportok között nem volt nemi különbség. A NKA α_1 alegység protein mennyisége T2 és T16 időpontban szignifikánsan magasabb volt nőstényekben, mint hímekben (N vs. H: $p < 0,05$). A citoszol és sejtmembrán frakció összehasonlításakor igazoltuk, hogy több NKA fehérje került a szolubilis (inaktív) frakcióba.

A NKA enzimaktivitásának változása követte az α_1 alegység fehérjeszint változásait. A két nemben eltért az enzimaktivitás változásának dinamikája is: míg nőstényekben nem volt szignifikáns változás az ionpumpa aktivitásában, addig hímekben a vizsgált periódus alatt a pumpafunkció folyamatos csökkenését tapasztaltuk (kontroll vs. T2 vs. T16: $15,89 \pm 8,0$ vs. $9,15 \pm 2,21$ U vs. $5,65 \pm 3,0$ U; $p < 0,05$) (5.1/3. ábra).

5.1/3. ábra. A renális I/R károsodás hatása a NKA $\alpha 1$ alegység fehérje expressziójára és celluláris megoszlására.



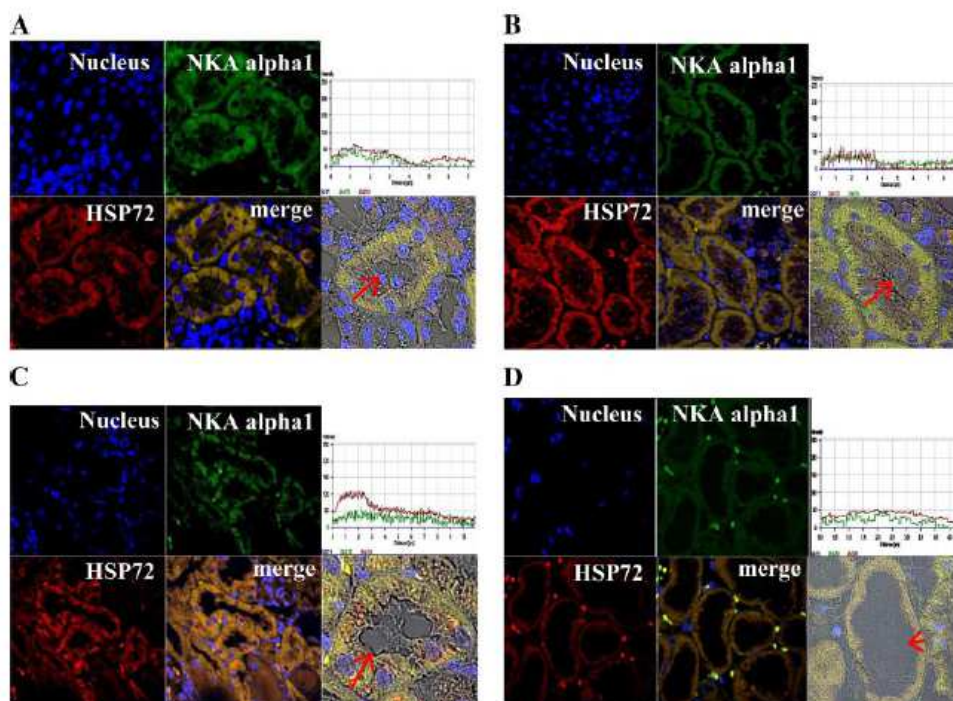
A NKA $\alpha 1$ alegységének expresszióját nőstény (N □) és hím (H ■) patkányok teljes vese szövet homogenizátumában (TOT), Triton-inszolubilis membrán (pellet=PEL) és Triton-szolubilis felülúszó (szupernatáns=SUP) frakciókban 2 órával (T2, n=6) és 16 órával (T16, n=6) az I/R-t követően. * $p < 0,05$ vs. H; § $p < 0,05$ vs. T16.

5.1.1.2.2. *Hsp72*

A *Hsp72*-t renális I/R-t követően 2, 16 és 24 órával határoztuk meg (T2,T16,T24) (329). A *Hsp72* mRNS expressziója nőstényekben szignifikánsan magasabb volt már a kontroll csoportokban is, az iszkémiát követően pedig szignifikáns mértékben növekedett (kontroll vs. T2: $p < 0,05$). A *Hsp72* protein mennyisége is szignifikánsan magasabb volt nőstényekben, mint hímekben valamennyi vizsgált csoportban ($p < 0,05$ nőstény vs. hím).

A *Hsp72* és a NKA $\alpha 1$ alegység között fennálló kapcsolat vizsgálatára immunfluoreszcens metodikát alkalmaztunk. Kontroll állatok veséjében a két fehérje a tubulussejtek bazolaterális membránján ko-lokalizálódott, és nem mutatkozott különbség a két nemben. I/R-t követően nőstényekben továbbra is jelentős mennyiségű *Hsp72* és NKA $\alpha 1$ alegység volt detektálható a bazolateralis membrán mentén, ezzel szemben, hím állatokban mindkét fehérje esetében transzlokáció igazolódott: mindkét fehérje szinte kizárólag a citoszolban és a sejtek apikális régiójában volt detektálható. (5.1/4. ábra).

5.1/4. ábra. A *Hsp72* és a NKA $\alpha 1$ alegység expressziójának és lokalizációjának változása I/R-t követően a vese tubulussejtekben a két nemben.



Kékkel jelölve a sejtmag, zölddel a NKA $\alpha 1$ alegység, pirossal a HSP72. A ko-lokalizációt narancssárga szín jelzi (zöld és piros egymásra vetülése). A: kontroll nőstény, B: kontroll hím, C: I/R (T24) nőstény, D: I/R (T24) hím vese.

7.1.1.2.3. SGK-1 és EPO kezelés hatása

A SGK-1 expressziót I/R-t követően 2 és 24 órával határoztuk meg (T2, T24) hím és nőstény patkány vesékben (330). A hím állatokban észlelhető csökkent túlélés és súlyosabb vesekárosodás ismeretében a férfi nemi hormonhatás csökkentésének vizsgálatára a kísérleteket kasztrált hím állatokkal egészítettük ki. A SGK-1 mRNS expressziója hímekben szignifikánsan magasabb volt a nőstényekben mértéhez képest a kontroll csoportokban ($p < 0,05$). Két órával az I/R-t követően mindkét nemben jelentősen nőtt a SGK-1 mRNS expressziója, és a növekedés hím állatok veséjében volt kifejezettebb. A T24 időpontban nőstényekben a T2 időponthoz viszonyítva változatlan, míg hímekben csökkent szintet mértünk. Kasztrált hímek veséjében mért SGK-1 mRNS és fehérje a nőstényekben észlelt szinteknek megfelelően változott I/R hatására és szignifikánsan különbözött az intakt hím állatokban mértektől ($p < 0,05$).

Korábbi tanulmányokban igazolták, hogy a SGK-1 csökkenti az iNOS expresszióját (331). Vizsgálatunkban az iNOS mRNS nőstényekben kontroll állapotban szignifikánsan magasabb volt mint hímekben ($p < 0,05$). I/R-t követően mindkét nemben jelentősen nőtt a szintje, a nemi különbség azonban még kifejezettebbé vált. T24 időpontban mindkét nemben alacsony expresszió igazolódott, nemi különbség nélkül. Hím állatokban észlelt magas SGK-1 mRNS és fehérje expresszió az iNOS csökkent mRNS expressziójával társult, ezzel szemben nőstények veséjében alacsonyabb SGK-1 szint és magasabb iNOS volt kimutatható. További vizsgálatunkban igazoltuk, hogy a dexamethasone I/R protektív hatását részben az SGK-1 fehérjén keresztül fejti ki (332).

A celluláris stressz általunk alkalmazott I/R modelljén az EPO antiapoptotikus, antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatásait vizsgáltuk (311,333). A kezelésben részesülő állatoknál humán rekombináns erythropoietin- β -ből (EPO) (Roche Magyarország) 1000 NE/tskg-ot adtunk intraperitoneálisan az I/R-t megelőzően 24 órával. A túlélést, valamint a NAK, Hsp72 és SGK-1 expressziót vizsgáltuk a korábbiakban alkalmazott modellen 2 és 24 órával (T2, T24) az inzultust követően hím és nőstény patkány vesékben.

EPO kezelés mellett jelentősen nőtt a hím állatok túlélése, ezzel szemben nőstényekben csak minimális túlélést növelő hatást észleltünk. A NKA α alegységének és a Hsp72 fehérjének szintje a korábbiakban igazoltnak megfelelően szignifikánsan magasabb volt nőstényekben, mint hím kontroll állatokban ($p < 0,05$). T2 időpontban az EPO kezelés hatására nőstényekben szignifikánsan nőtt a NKA α alegység expressziója, hímekben nem volt változás a kezelés hatására. T24 időpontban kontroll nőstényekben és hím állatokban, valamint EPO kezelt nőstényekben csökkent a fehérje szintje, ezzel szemben szignifikánsan magasabb, a kiindulási értéket jelentősen meghaladó NKA α protein expresszió volt igazolható EPO kezelt hím állatokban.

Immunfluorescens vizsgálatok szerint kontroll körülmények között a NKA α alegység a tubulusok bazolaterális membránján helyezkedett el, Hsp72 lényegében nem volt kimutatható. Iszkémiás inzultust követően a NKA α megjelent a citoszolban, mely hatás hímekben volt kifejezettebb és EPO kezelés hatására jelentősen mérséklődött.

A SGK-1 szerepét hím állatokon vizsgáltuk kontroll és EPO kezelt csoportokban I/R inzultust követően. EPO kezelés valamennyi vizsgált időpontban (kontroll, T2, T24) szignifikánsan magasabb SGK-1 mRNS szinttel járt. I/R hatására 2 órával a reperfüzió után nőtt a SGK-1 expresszió, EPO kezelés mellett a szignifikánsan magasabb érték nem mutatott további növekedést. T24 időpontban csökkent az SGK-1 mRNS expresszió, de a kezelés hatására ebben az időpontban is szignifikánsan magasabb értéket regisztráltunk ($p < 0,05$). A T24 időpontban a kezeletlen csoportban nőtt az aktív SGK-1 fehérje szintje, elérve a T2 és T24 időpontokban EPO kezelt csoportokban mért értéket.

5.1.2. Transzplantációs állatmodell

5.1.2.1. Graftműködést meghatározó tényezők: nem és nemi hormonok

Korábbi munkáinkban igazoltuk, hogy a transzplantációs modell alkalmas a donor és a recipiens által meghatározott nemi különbségek vizsgálatára. A donor és recipiens nemének, valamint a recipiens nemi hormonális környezetének tényezőit vizsgáló tanulmányunkban allograft transzplantációt végeztünk ovariectomizált nőstény és kasztrált hím recipienseket használva (334). A nemi hormonokat (ösztadiol vagy tesztoszteron) az élettani tartománynak megfelelő dózisban pótoltuk. Vívőanyaggal kezelt csoport szolgált kontrollként. Négy héttel a transzplantációt követően a proteinuria valamennyi csoportban minimális volt. Tesztoszteron kezelés hatására a 8. héttől progresszíven emelkedett a fehérjeürítés, melyet a 12. héttől az állatok kifejezett testsúlycsökkenése is kísért mind hím, mind nőstény recipiensekben. Ezzel szemben az ösztadiollal kezelt csoportokat minimális proteinuria jellemezte mindvégig. A hím donortól származó transzplantátumok esetében kismértékben magasabb proteinuria értékeket észleltünk a nőstény donortól származókkal összehasonlítva. A vívőanyaggal kezelt csoportoknál a donor neme jelentősen befolyásolta a proteinuriát. A nőstényekből származó graftok esetében a tesztoszteronnal kezeltékhez hasonlóan progresszív proteinuria lépett fel, ezzel szemben a hímeiből származó graftoknál nem emelkedett jelentősen a fehérjeürítés.

A tesztoszteron kezelésben részesült állatok transzplantátumában a 16. hétre a krónikus kilökődésre jellemző elváltozások alakultak ki. Hasonló, bár kisebb mértékű elváltozások mutatkoztak a vívőanyaggal kezelt, nőstény grafttal rendelkező csoportban. A vívőanyaggal kezelt, hím donortól származó transzplantátumok, valamint az ösztadiollal kezelt állatok

graftjában a glomeruloszklerózis 20% alatt maradt, melyet szignifikánsan kisebb mértékű intersticiális fibrózis és vaszkuláris elváltozás kísért.

Hím donortól származó vesékben tesztoszteron kezelés hatására a glomeruláris volumen szignifikánsan magasabb volt, mint a vivőanyaggal, vagy ösztradiollal kezelt esetekben ($3,03 \pm 0,12$ vs. $2,51 \pm 0,17$ és $2,48 \pm 0,11$, $p < 0,05$). Nőstényekből származó vesék esetében a glomeruláris volumen a vivőanyaggal és a tesztoszteronnal kezelt esetekben jelzetten magasabb volt, mint ösztradiol kezelést követően. A két ösztradiollal kezelt csoport közül a hím eredetű graftoknál észleltünk szignifikánsan nagyobb glomeruláris volument ($3,03 \pm 0,12$ vs. $1,89 \pm 0,24$, $p < 0,05$).

5.1.2.2. Nemi különbségek az immunszuppresszív kezelésre adott válaszbán és a renális NOS rendszerben

5.1.2.2.1. CsA hatása

A kísérlet során vese isograftokat (ISO) és allograftokat (ALLO) vizsgáltunk nőstény (N) és hím (H) állatokban (335). A transzplantáció során mind a donor, mind a recipiens neme megegyezett. A csoportokat a 7. táblázat összesíti.

7. táblázat. Vizsgálati csoportok a nemi különbség kimutatására CsA immunszuppresszió alkalmazásakor és a renális NOS rendszerben vesetranszplantációt követően.

Széria	ISO N (n)	ISO H (n)	ALLO N (n)	ALLO H (n)	Iszkémia idő (perc)	Immunszuppresszív kezelés	Követési idő (hét)
I	5	6	2*	6	45	CsA (1,5 mg/kg/nap)	22
II	6	-	6	-	30	CsA (1,5 mg/kg/nap)	7
III	7	7	8	8	30	CsA (3 mg/kg/nap)	22
IV (Kontroll)	F344 N (n=7)		F344 H (n=7)		-	-	22

*ebben a csoportban a 7 transzplantált állatból 5 a veseátültetést követő hetekben akut rejeckió miatti veseelégtelenségben elhalt.

Az I. szériában alacsonyabb CsA dózis és hosszabb I/R idő (45 perc) mellett az operált 7 ALLO nőstényből csak 2 élte túl a transzplantációt követő 4-6 hetet és volt követhető 22 hétig.

Ebből a csoportból így nincsenek értékelhető funkcionális és egyéb mérési paraméterek. Az I. széria többi csoportja, ISO nőstény, ALLO és ISO hím mindegyike túlélte a 22 hetes követési periódust. Ahogyan az 8. táblázat mutatja az ISO nőstényekben a kiindulási értékhez képest szignifikáns proteinuria alakult ki. Ennek mértéke azonban nem különbözött az ALLO és ISO hímekben mért, a transzplantáció előtti helyzethez képest szintén szignifikánsan emelkedett értékektől. Ezzel szemben a szövettani vizsgálat a krónikus allograft diszfunkció súlyos jeleit mutatta az ALLO hím állatokban. Az ISO nőstény és hím csoportokban csak minimális krónikus elváltozások igazolódtak.

A II. szériában, ahol csak nőstény állatokat transzplantáltunk csökkentett (30 perc) I/R idővel, már 4 héttel a transzplantációt követően jelentős különbség alakult ki a proteinuria mértékében ISO és ALLO állatok között (ALLO: 10 ± 1 vs. ISO: 5 ± 3 mg/nap, $p < 0,05$). Hat héttel a transzplantációt követően szignifikáns emelkedés volt látható a proteinuria mértékében ALLO állatokban, míg ISO csoportban változás nem volt (ALLO: 37 ± 14 vs. ISO: 4 ± 1 mg/nap, $p < 0,05$). A 7. hétre az ALLO csoportban további progresszió volt megfigyelhető, amely miatt a kísérletet be kellett fejezni. Szövettani analízis az ALLO állatokban súlyos, akcelerált krónikus allograft nefropátia és kilökődés jeleit mutatta, míg az ISO csoportban csak enyhe szövettani elváltozások voltak megfigyelhetők (8. táblázat).

A III. szériában az állatok emelt, 3 mg/kg/nap dózisban kaptak CsA kezelést, amely elégséges volt, hogy nőstény állatokban elnyomja a kezdeti akut vagy akcelerált krónikus kilökődést és az összes transzplantált állat túlélte a 22 hetes követési időt. A funkcionális paraméterek (szérum kreatinin, szérum urea nitrogén és kreatinin clearance) ISO nőstényekben szignifikánsan jobb graftfunkciót mutattak ALLO nőstényekkel összehasonlítva. Ezzel szemben hím ALLO és ISO állatokban a vizsgált paraméterek csak kismértékben különböztek egymástól (9. táblázat). A vérnyomás ISO nőstényekben hasonló volt a kontrollokéhoz, míg csökkenő tendenciát láttunk ALLO nőstény állatokban. Hímekben a transzplantált állatok vérnyomása alacsonyabb volt a kontrollokéhoz hasonlítva és ez kifejezettebb volt az ALLO csoportokban. Fontos kihangsúlyozni, hogy az ALLO csoportokban a recipiens Lew patkány volt, míg a kontroll és ISO csoportot F344 állatok adták. A nemtől függetlenül, az összes transzplantált csoportban a graftok hipertrófiát mutattak az egészséges kontroll állatok veséjével összehasonlítva és ez független volt a nemtől vagy az immunszuppresszív kezeléstől. A vesék nagyságában észlelhető és ismert nemi különbség (nagyobb hím vesék) mindegyik csoportban megmaradt.

8. táblázat. Proteinuria és szövettani elváltozások alacsony dózisu (1,5 mg/kg/nap) CsA kezelés után.

	Proteinuria transzplantáció előtt (mg/nap)	Proteinuria (mg/nap)	Banff pont (0-12)
I. széria			
ISO N	1,3±0,3*	44,8±24,1+	1,6±0,4
ISO H	10,2±1,9	67,5±11,1+	1,7±0,2
ALLO H	8,7±0,7	65,5±16,1+	7,7±0,9*
II. széria			
ISO N	2,0±0,2	3,8±0,9	2,7±1,0
ALLO N	2,7±0,3	76,2±33,0*+	8,7±0,3*#

*p<0,05 vs ISO H, +p<0,05 vs. transzplantáció előtti érték, #p<0,05 vs. ISO N.

9. táblázat. Funkcionális paraméterek a transzplantációt követően 22 héttel a III. és IV. széria csoportjaiban.

III. és IV: széria	Testsúly (g)	UprotV (mg/nap)	Cr (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Ccr (ml/min/ tskg)	BP (Hgmm)	Tx/ bal vese súly (g)
ISO N	202±2#	3,8±0,5§	0,36±0,01	22±1*	6,9±0,4	90±5	1,12±0,03 *§
ISO H	418±6*#	43,7±7,2	0,40±0,01*	23±1*	5,9±0,5*	97±3*	2,37±0,12 *
ALLO N	218±2§	24,1±9,3*+	0,44±0,02*+	31±1*+	5,1±0,3*+	78±3*+	1,31±0,05 *#
ALLO H	451±12+	15,5±1,9*+	0,45±0,04*	30±1*+	5,4±0,3*	63±3*+	2,18±0,10 *
Kontroll N	222±4 #	3,3±0,2 #	0,29±0,01	16±1	6,8±0,5	99±2	0,81±0,02 #
Kontroll H	456±8	35,8±4,3	0,30±0,02	18±2	7,3±0,5	113±3	1,84±0,14

*p<0,05 vs azonos nemű kontroll F344, +p<0,05 vs. azonos nemű ISO, #p<0,05 vs. megfelelő hím csoport.

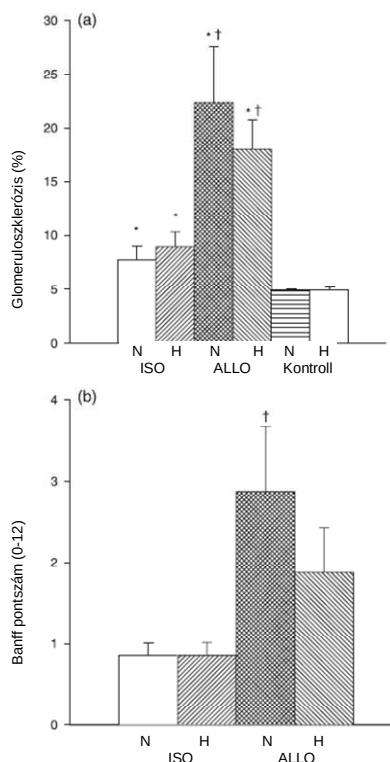
UprotV: proteinuria, Cr: plazma kreatinin, BUN: karbamid, Ccr: kreatinin clearance, BP: vérnyomás, Tx: transzplantált vese.

A szövettani értékelés során közepes mértékű glomeruloszklerózis alakult ki a magasabb dózisú CsA kezelés mellett. Ennek mértéke szignifikánsan különbözött a kontrollokban megfigyelt, korral (öregedéssel) járó szövettani változásoktól. A nemtől és kezeléstől függetlenül az ALLO állatokban a glomeruláris elváltozások szignifikánsabban kifejezettebbek voltak, mint a nekik megfelelő ISO csoportokban (5.1/5. ábra).

A III. széria csoportjainál vizsgáltuk a renális konstitutív NOS fehérje expressziókat (eNOS és nNOS). CsA kezelés mellett a kortikális eNOS fehérje expresszió hasonló mértékű volt nőstény és hím ISO és ALLO csoportokban. A medullában mindkét CsA kezelt hím csoportban magasabb eNOS expresszió volt mérhető a nőstényekhez képest, az ALLO állatokban azonban ez a különbség nem érte el a statisztikailag szignifikáns értéket ($p=0,057$). Az azonos nemű ISO és ALLO csoportok között nem volt különbség megfigyelhető.

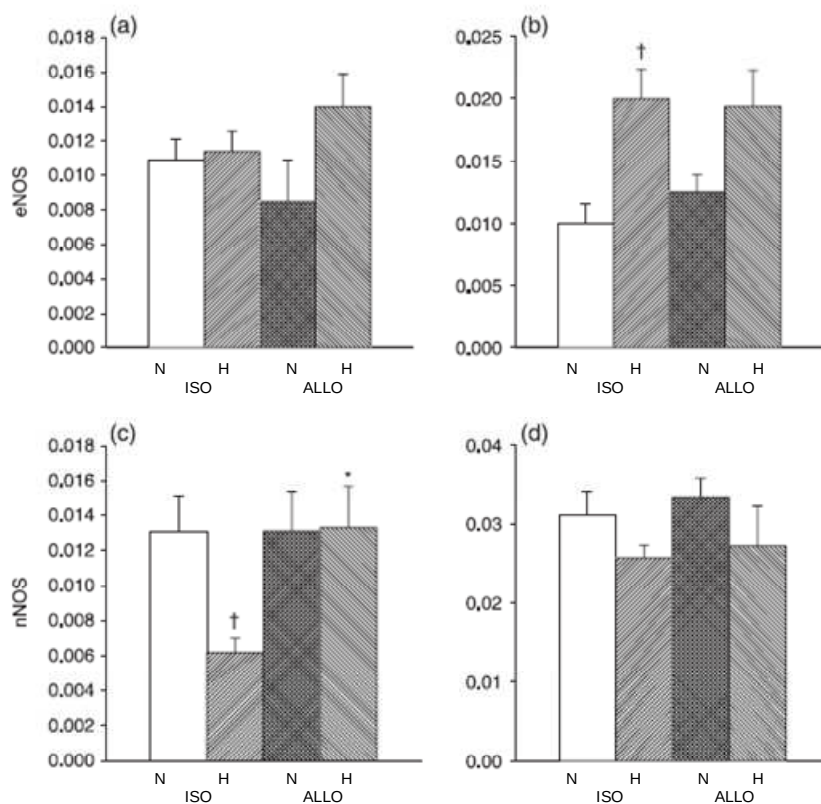
A kortikális nNOS expresszió alacsonyabb volt ISO hím vesékben a többi CsA kezelt csoporttal összehasonlítva. A medullában CsA kezelés mellett a nNOS expresszió nem mutatott különbséget nőstény és hím állatokban (5.1/6. ábra).

5.1/5. ábra. Glomeruloszklerózis és Banff pontszám a vesében 22 héttel a transzplantációt követően 3 mg/kg CsA kezelésben részesült allograftokban (ALLO) és isograftokban (ISO).



a. Glomeruloszklerózis ISO és ALLO állatokban, valamint kontrollokban 22 hét után. * $p<0,05$ vs. megfelelő kontroll: † $p<0,05$ vs. megfelelő ISO csoport, b. Banff-pontszám ISO és ALLO állatokban 22 héttel a Tx után CsA kezelés mellett. † $p<0,05$ vs. megfelelő ISO csoport.

5.1/6. ábra. Renális eNOS és nNOS fehérje expresszió a kortexben (a,c) és a medullában (b,d) 22 héttel a transzplantációt követően 3 mg/kg CsA kezelésben részesült allograftokban (ALLO) és isograftokban (ISO).



* $p < 0,05$ vs. megfelelő ISO csoport, † $p < 0,05$ vs. nőstény (N).

5.1.2.2.2. RAPA immunszuppresszió alkalmazása transzplantációs modellen

A következő kísérlet során az mTOR gátló rapamycin (RAPA) immunszuppresszív hatásait vizsgáltuk a két nemben. Korábbi vizsgálatainkban hím állatokon igazoltuk, hogy a RAPA hím állatokban jelentősen csökkenti az idült graftkárosodás és krónikus rejekció mértékét (336), de nőstényre vonatkozóan nem rendelkezünk adatokkal.

A klinikai adatok és CsA-val végzett kísérletek eredménye szerint nőkben és nőstény állatokban a transzplantációt követő, kezdeti rejekció kifejezettebb, mint férfiakban és hím állatokban. Ebben a kísérletben arra kerestük a választ, hogy immunszuppresszív szer (RAPA) esetében is kimutatható-e a nemi különbség, illetve hogyan változik a renális NOS rendszer (337)?

A transzplantációt követően mindkét nemből 1,6 mg/kg/nap RAPA immunszuppressziót alkalmaztunk a kezdeti kilökődés megakadályozására az első 10 posztoperatív napban. Mindkét nemből F344 recipiensekbe ültetett isograftok szolgáltak kontrollként, valamennyi csoportban 22 hetes utánkövetést végeztünk. A funkcionális adatokat a 10. táblázat összegzi.

Hím állatok súlya és vesesúlya nagyobb volt, mint a nőstényekben mértek. Korábbi kísérletekben igazoltaknak megfelelően a vérnyomás az ALLO csoportban (Lewis recipiens) volt alacsonyabb az ISO csoporthoz képest (F344 recipiens). Az ISO nőstényeket leszámítva valamennyi vizsgálati csoportban szignifikáns proteinuria alakult ki.

10. táblázat. Funkcionális paraméterek a transzplantációt követően 22 héttel a RAPA kezelt allograftokban (ALLO) és isograftokban (ISO) a két nemben.

	Testsúly (g)	UprotV (mg/nap)	Cr (mg/dl)	BUN (mg/dl)	UNOxV (μM/nap/ 100 g ts)	BP (Hgmm)	Tx/ bal vese súly (g)
ISO N	220±1#	6,7±2,4#	0,33±0,03*#	21±1*	1,31±0,08	91±3	1,24±0,11#
ISO H	435±4	69,7±12,7	0,42±0,02	21±1*	1,06±0,02*	98±2*	2,38±0,11
ALLO N	224±7#	26,2±17,7	0,42±0,02	26±1	1,28±0,06	81±9	1,29±0,05#
ALLO H	436±9	37,4±16,6	0,49±0,03	26±1	1,45±0,17	79±5	2,21±0,12

*p<0,05 vs azonos nemű kontroll, +p<0,05 vs. azonos nemű ISO, #p<0,05 vs. megfelelő hím csoport. UprotV: proteinuria, Cr: plazma kreatinin, BUN: karbamid, UNOxV:vizelettel ürített NO₂ és NO₃, BP: vérnyomás, Tx: transzplantált vese, ts: testsúly.

A szövettani értékelés során allograftokban jelentős glomeruloszklerózist és a transzplantátumot érintő elváltozásokat összesítő szignifikánsan magasabb Banff pontszámot igazoltunk (5.1/7. ábra).

A renális eNOS fehérje expresszió szignifikánsan magasabb volt az ALLO csoportban, összehasonlítva az ISO csoporttal a kortexben, míg a medullában nem volt különbség kimutatható (5.1/8. ábra).

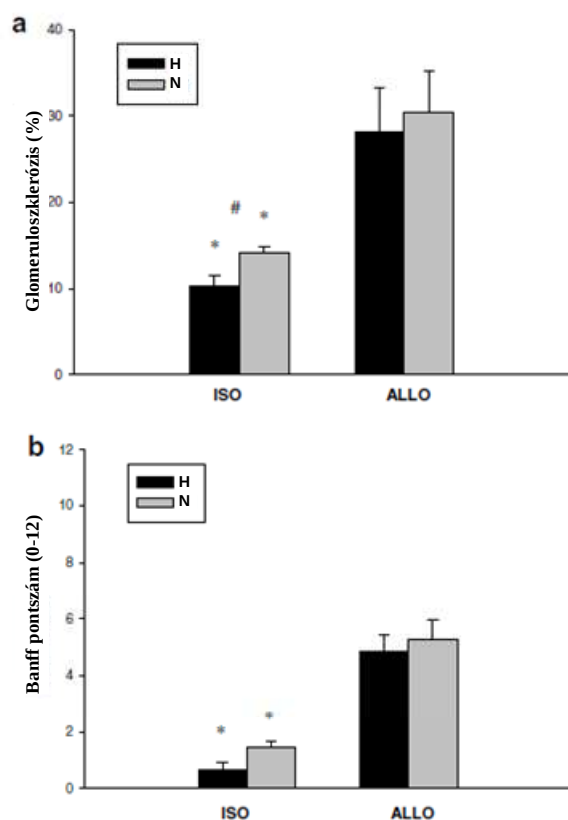
Az nNOSα vizsgálatokor a vese kortexben sem isograftokban, sem allograftokban nem lehetett a fehérjét kimutatni, ezért CSA kezelt allograftok és RAPA kezelt allograftok felhasználásával ismételtük a vizsgálatot. A két kezelés összehasonlítása igazolta, hogy a transzplantációt követően alkalmazott RAPA mellett a kortikális nNOSα fehérje nem mutatható ki a graft kortexében, míg CsA kezelés mellett kimutatható.

(5.1/9. ábra).

A kétfajta kezelésben részesült transzplantált állat más szöveteiben az nNOS fehérjében különbséget kimutatni nem tudtunk. Az nNOSβ esetében CSA kezelés nem befolyásolta a kortikális expressziót egészséges vesékben mértékhez képest, RAPA kezelés mellett viszont

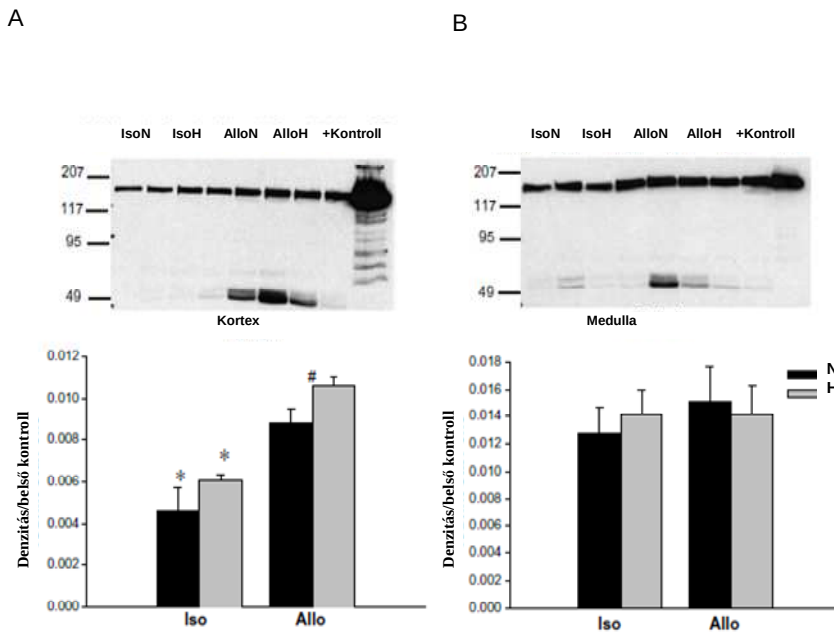
szignifikánsan magasabb értéket mértünk (5.1/10. ábra). A medulláris nNOS expresszió alacsonyabbnak bizonyult mind ISO, mind ALLO hím vesékben a nőstény csoporttal összehasonlítva.

5.1/7. ábra. Glomeruloszkerózis (a) és Banff pontszám (b) a vesében 22 héttel a transzplantációt követően 1,6 mg/kg RAPA kezelésben részesült allograftokban (ALLO) és isograftokban (ISO).



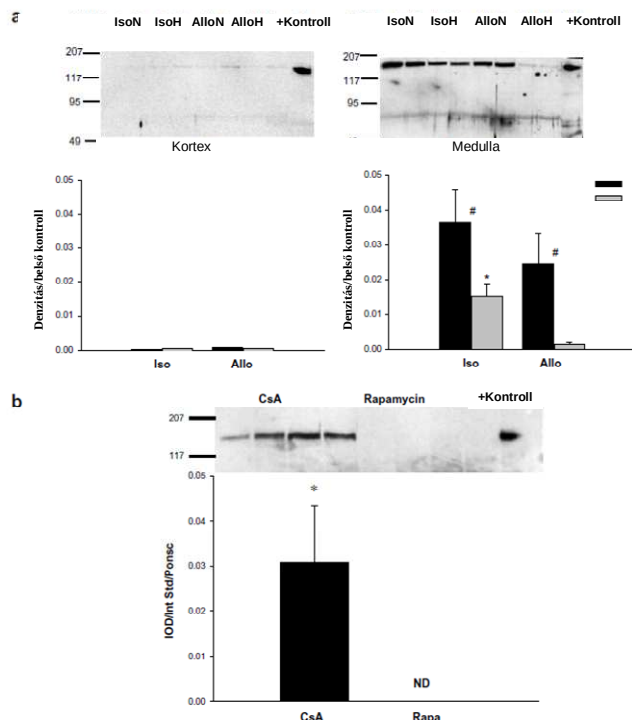
* $p < 0,05$ vs. megfelelő ALLO csoport, # $p < 0,05$ vs. megfelelő hím (H) csoport.

5.1/8. ábra. Renális eNOS fehérje expresszió a kortexben (A) és a medullában (B) 22 héttel a transzplantációt követően 1,6 mg/kg RAPA kezelésben részesült allograftokban és isograftokban.



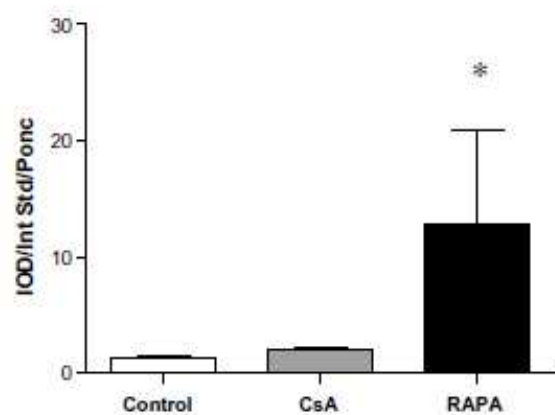
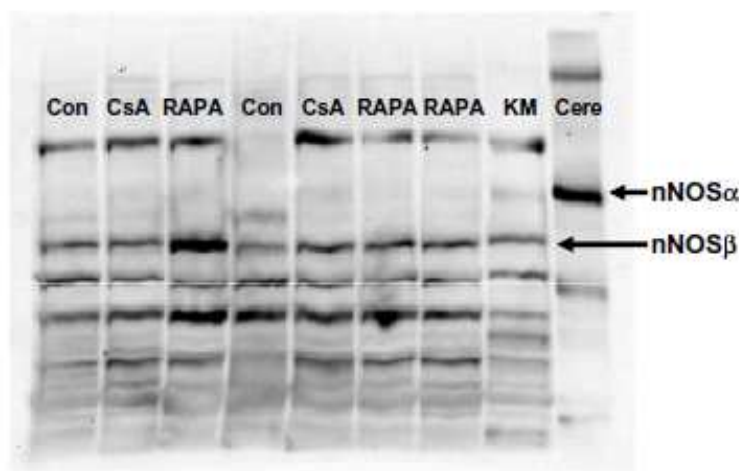
* $p < 0,05$ vs. megfelelő ISO csoport, # $p < 0,05$ vs. hím.

5.1/9. ábra. Renális nNOS α fehérje expresszió a kortexben és a medullában 22 héttel a transzplantációt követően 1,6 mg/kg RAPA kezelésben részesült allograftokban és isograftokban (a), illetve CsA és RAPA kezelés mellett allograftok kortexében (b).



* $p < 0,05$ vs. megfelelő ISO csoport (a), illetve vs. RAPA (b), # $p < 0,05$ vs. hím.

5.1/10. ábra. Renális nNOS β fehérje expresszió a cortexben CsA és RAPA kezelés mellett allograftban és kontroll vesékben.



* $p < 0,05$ vs. kontroll (Con). KM= vese medulla

5.1.3. A működő szövetmennyiség csökkentésének hatása a szerv hosszú távú működésére

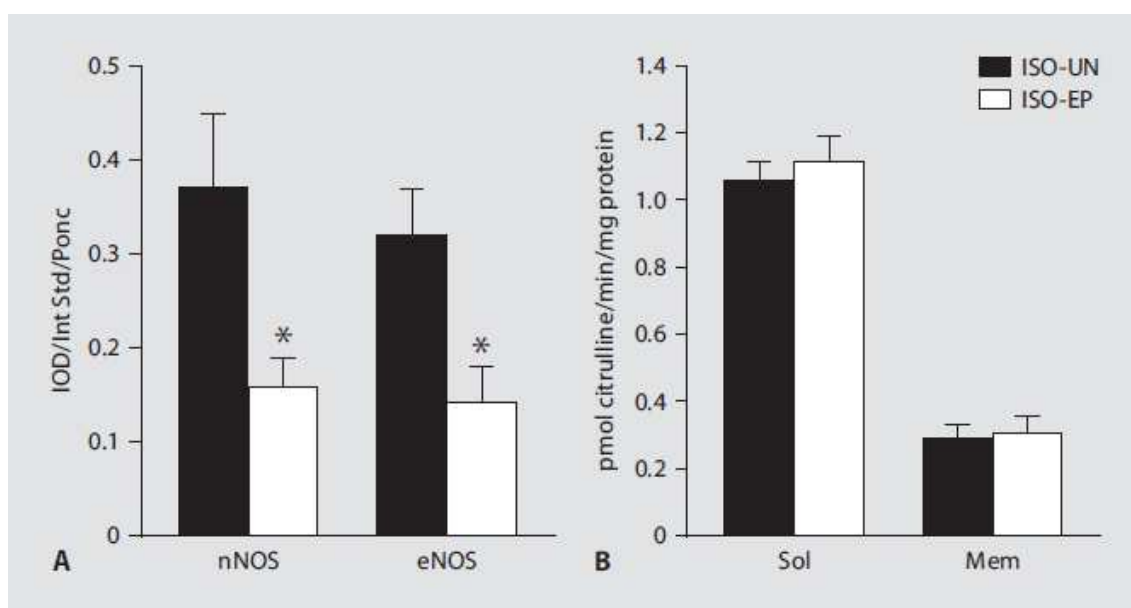
Kísérleteinkben különböző vesekárosító hatásokat vizsgáltunk több modell felhasználásával, a NOS rendszer központi szerepének igazolására a krónikus vesekárosodásban.

5.1.3.1 Endotélprotekcio

A transzplantáció során elkerülhetetlen I/R csökkentésére endotélprotektív (EP) hatású kezelést alkalmaztunk isograftok felhasználásával (338). A donort 30 perccel a vese kivétele előtt 10 mg/kg iv. dexamethasone kezelésben részesítettük, a vese perfúziójára használt Ringer-laktát oldatot antioxidáns 1mM deferoxamin és 3 mM 4-hydroxy-tempo-val egészítettük ki. A recipienst az ivóvízbe adagolt 1% L-argin és 1mM 4-hydroxy-tempo-val kezeltük a transzplantációt megelőző naptól a műtétet követően 10 napig. A graftokat a renális NO

rendszer vizsgálatára 22 hét múlva távolítottuk el. Az EP kezelés hatására az isograftok működése és szövettani elváltozásai nem különböztek az EP kezelésben nem részesülő vesékkal összehasonlítva. A transzplantáció időszakában alkalmazott antioxidáns és gyulladáscsökkentő kezelés ebben a modellben nem befolyásolta a graft hosszú távú működését. A renális NOS rendszer tekintetében a graftok kortexében EP kezelés hatására mind az nNOS, mind az eNOS szintje csökkent a kezeletlen csoporthoz képest, míg a NOS aktivitásban nem volt különbség igazolható (5.1/11. ábra).

5.1/11. ábra. Renális nNOS fehérje expresszió a kortexben endotélprotektív (EP) kezelt és kezeletlen (UN) isograftokban 22 héttel a transzplantációt követően (A), valamint NOS aktivitás renális kortex szolubilis (Sol) és membrán (Mem) frakciójában (B).



* $p < 0,05$ vs. ISO-UN.

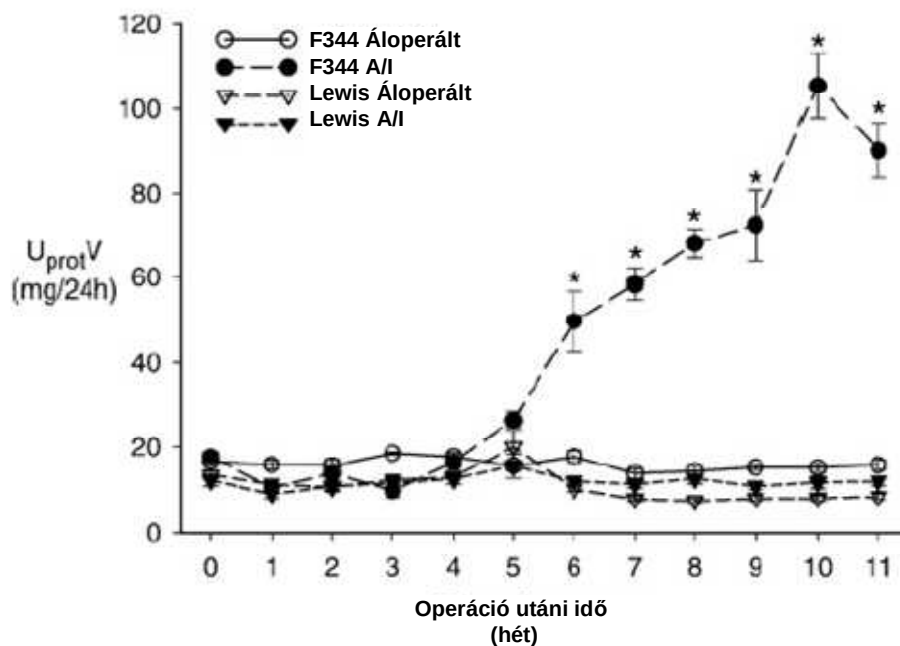
5.1.3.2. Működő nefronszám hatása a szerv működésére: patkánytörzsek összehasonlítása

A veseműködés jelentős különbségeket mutat az egyes patkánytörzsek tekintetében (339,340). Míg egyes törzsekben az öregedés, vagy egyéb stresszhatások következtében veseeltérések alakulnak ki, addig más törzsek „rezisztensek” ezekre a noxákra. Ennek egyik jó példája, hogy a F344 vese Lewis állatba történő transzplantációja krónikus vesekárosodást eredményez, míg a Lewis vese F344 állatban nem mutatja a krónikus graftkárosodásra jellegzetes elváltozásokat (341). Ennek hátterében a vese strukturális és/vagy funkcionális eltérései, illetve az immunrendszer különbsége állhat.

Első vizsgálatunkban a F344 és Lewis veséket hasonlítottuk össze a funkcionális szövet 5/6-d részének eltávolítását követően (jobb oldali nefrektómia, bal vese artéria renális 2/3-ának lezserítése), illetve meghatároztuk az ép vesék glomerulusszámát.

Egészséges állatokban a glomeruláris térfogat szignifikánsan nagyobb volt F344 állatokban ($1,56 \pm 0,05$ vs. $1,31 \pm 0,03 \text{ mm}^3 \times 10^{-3}$; $p < 0,001$), ezzel szemben a glomerulusszám mintegy 30%-al volt kevesebb, mint Lewis állatokban ($27\,131 \pm 1668$ vs. $34\,512 \pm 1549$; $p < 0,01$, $n = 5$ csoportonként). A funkcionális szövetmennyiség jelentős csökkenése (5/6-d nefrektómia) F344 állatokban szignifikáns proteinuriát eredményezett 11 héttel a beavatkozást követően (5.1/12. ábra).

5.1/12. ábra. Proteinuria F344 és Lewis állatokban 5/6-d nefrektómiát követően.



* $p < 0,05$ vs. kiindulási érték.

A második kísérletben vesekárosodásra érzékeny Spague Dawley (SD) és a vesekárosodásra rezisztens Wistar Furth (WF) állatok esetében végzetünk 5/6-d nefrektómiát a vesekárosodás hátterében a renális NOS rendszer központi szerepének igazolására. Korábbi munkákban igazoltuk, hogy a renális nNOS csökkenése jelentős szerepet játszik a krónikus vesekárosodás kialakulásában (128,130).

A funkcionális vese szövet jelentős csökkentésének hatására SD állatokban szignifikáns proteinuria alakult ki WF állatokhoz képest, mely jelentős funkcióvesztéssel és kifejezett szövettani károsodással járt együtt. Az 5/6-d nefrektómiát követően mindkét csoportban csökkent a vese kortexében a nNOS fehérje szintje, mely azonban kifejezettebb volt a már alapállapotban is alacsonyabb szintet mutató SD vesékben. A NOS aktivitás a két csoportban ellentétesen változott: SD állatokban károsító hatás nélkül szignifikánsan magasabb aktivitás volt igazolható mint WF állatok veséiben, ezzel szemben a károsító hatás után SD-ben csökkent, míg WF-ben jelentős NOS aktivitás emelkedés volt mérhető.

WF állatokban mértek alapján súlyos károsodást követően a csökkent renális nNOS az enzim funkciójának fokozásával járulhatott hozzá az NO termelés fenntartásához. A NOS enzim és az NO termelés fenntartásának védő szerepét bizonyítandó WF állatokat NOS gátló N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) kezelésben részesítettük. A kezelés mellett WF állatok elvesztették a súlyos funkcionális szövetcsökkentés káros hatására rezisztenciájukat, a kezelés mellett SD állatokban tapasztaltakkal hasonló súlyos vesekárosodás lépett fel, csökkent a szervezetben képződött NO mennyiséget mutató vizelet NO₂ és NO₃ (NO_x) mennyisége (U_{NOxV}).

5.1.3.3. Egérmodell

A renális nNOS megfelelő működésének a krónikus szervkárosodás kivédésében játszott fontos szerepét vizsgáltuk egérmodellen. A C57/BL6 egérben a jobb oldali nefrektómia és a bal vesekortex elektrokoagulációjával idéztük elő a vesekárosodást (krónikus nefropátia=KN), illetve a NOS rendszer vizsgálatához nem szelektív NOS blokkoló (L-NAME) és szelektív nNOS gátló 7-nitro-indazole (7NI) kezelést alkalmaztunk. A vese szövet csökkentésének hatását az eNOS rendszerre eNOS KO egereken vizsgáltuk.

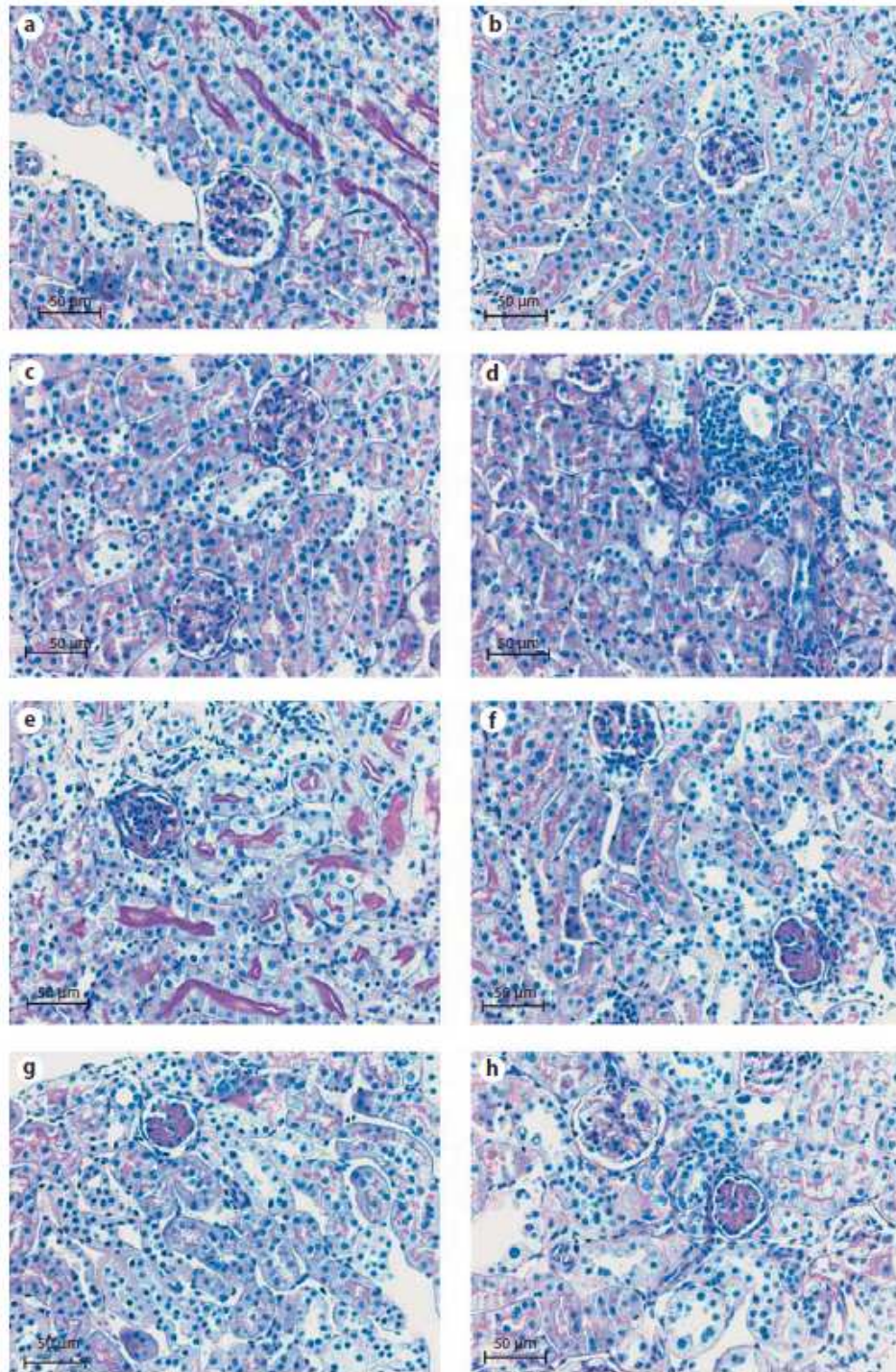
A vesekárosodást jelző albumin ürítés csak szelektív nNOS gátló 7NI kezelés mellett emelkedett enyhén a 11 hetes kezelés végére. KN-ban szignifikánsan emelkedett az albuminürítés, melyet mindkét NOS gátló kezelés jelentősen tovább fokozott. Az eNOS KO egerekben már a kísérlet elején észlelhető volt albuminuria, mely mintegy 2,5x-re nőtt a kísérlet végére. KN mellett eNOS KO egerekben nagyfokú albuminuria volt igazolható a vizsgálat végén (11. táblázat). A szövettani elváltozások a funkcionális eredményeknek megfelelő károsodásokat igazolt (5.1/13. ábra).

11. táblázat. Napi albuminuria (mg/nap) a kezelést követő hetekben.

Csoportok	0	4	8	11
WT áloperált (n=4)	22±3	21±6	20±3	26±5
WT L-NAME (n=4)	18±6	15±5	14±6	28±7
WT 7-NI (n=6)	24±3	33±6	42±6*	43±4*
WT KN (n=6)	25±1	30±1	15±8*	68±14*
WT KN/L-NAME (n=6)	22±2	34±6	106±35*	383±194*
WT KN/7-NI (n=5)	35±2	143±29*	162±30*	248±67*
eNOS KO áloperált (n=4)	62±10	55±6	133±30*	162±17*
eNOS KO KN (n=5)	124±29	648±169*	964±67*	1170±44*

*p<0,05 vs WT az adott megfigyelési héten. WT: vad típus, KN: krónikus vesekárosításon átesett.

5.1/13. ábra. Jellegzetes szövettani eltérések működő funkcionális egységek számának csökkentése után előidézett krónikus szervkárosodásban.



Jellegzetes szövettani elváltozások: a: ép struktúra WT, b: ép struktúra L-NAME kezelt WT, c: mezangiális mátrix kiszélesedés 7-NI kezelt vesében, d: fokális tubulointersticiális fibrózis és gyulladás WT KN vesében, e: szignifikáns glomeruláris szklerózis WT KN L-NAME kezelést követően, f: globális mezangiális mátrix kiszélesedés és felszívódó szklerotikus glomerulus, g: felszívódóban lévő súlyosan szklerotikus glomerulusok eNOS KO egérben, h: mezangiális mátrix kiszélesedés és felszívódó szklerotikus glomerulus eNOS KO egérben KN kezelés után.

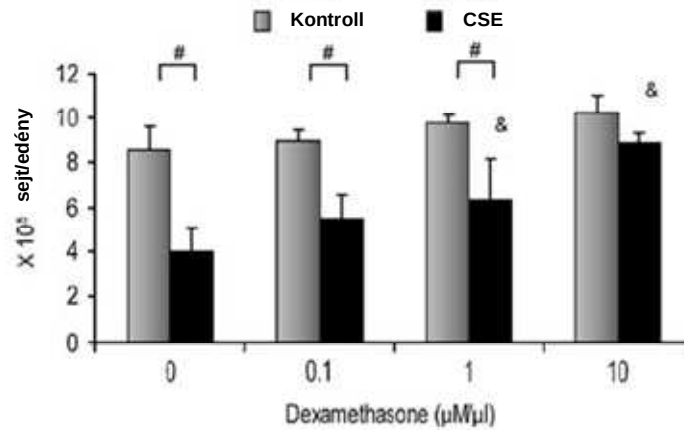
5.2. Dohányfüst okozta sejtkárosodás

5.2.1. Dohányfüst és szteroid (dexamethasone) hatása tüdő alveoláris epitélsejtek Hsp72 rendszerére

Kísérleteinket humán alveoláris epitélsejt vonalon végeztük (342). Kontroll körülmények között, 24 órás inkubációt követően a sejtek proliferáltak, átlagosan $8,55 \pm 1,1 \times 10^5$ végső sejtszámot elérve. Dexamethasone (DEX) kezelés hatására nem tapasztaltunk szignifikáns sejtszám emelkedést. Ezzel ellentétben a dohányfüst kivonattal (CSE) kezelt sejteken a 24 órás inkubálást követően a sejtszám szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll csoportokhoz képest. CSE és DEX együttes alkalmazása esetén szignifikánsan, és dózis-függő módon nőtt a végső sejtszám a csak CSE-vel kezelt csoporthoz képest (5.2/1. ábra).

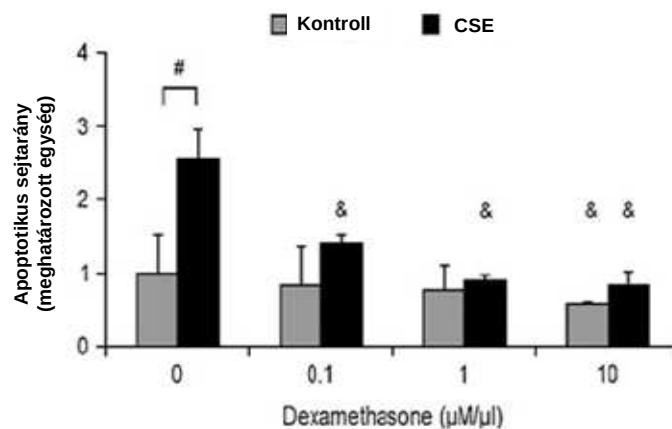
DEX kezelés mérsékelten növelte az apoptotikus sejtek számát a kontroll csoportokban, de statisztikailag is szignifikáns különbség csak a DEX (10) csoportban jelentkezett. A szteroid-mentes, csak CSE kezelt sejtcsoportokban az apoptózis mértéke megháromszorozódott a szteroid-mentes kontroll csoporthoz képest. DEX kezelés a CSE kezelt csoportokban szignifikánsan csökkentette az apoptotikus sejtek számát, eltörölve ezzel a különbségeket a CSE kezelt és a megfelelő kontroll csoport között a legnagyobb, DEX (10) dózisinál (5.2/2. ábra).

5.2/1. ábra. Alveoláris epitélsejtszám változása 24 órás kontroll médium vagy cigarettafüst extraktum (CSE) alkalmazást követően, növekvő (0-szteroid-mentes, 0,1 valamint 1 és 10 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$) koncentrációban adott dexamethasone (DEX) kezelés mellett.



& p < 0,05 vs. 0 $\mu\text{M}/\mu$ DEX; # p < 0,05 vs. kontroll.

5.2/2. ábra. Alveoláris epitélsejtekben apoptózis és nekrozis változása 24 órás kontroll médium vagy cigarettafüst extraktum (CSE) alkalmazást követően, növekvő (0-szteroid-mentes, 0,1 valamint 1 és 10 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$) koncentrációban adott dexamethasone (DEX) kezelés mellett.

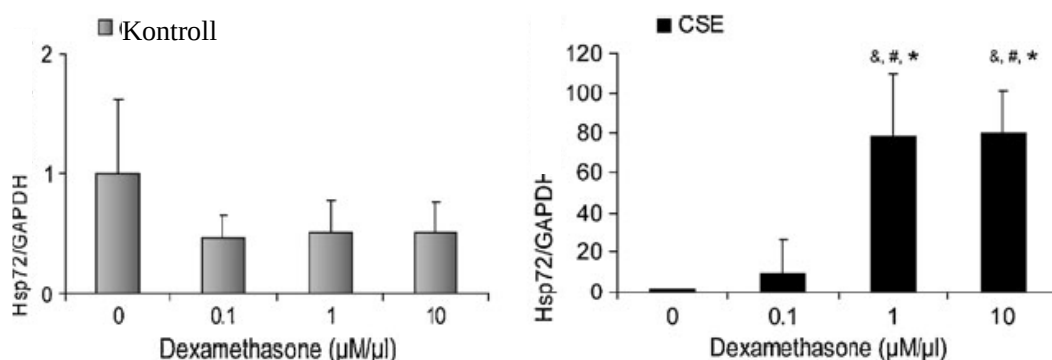


& p < 0,01 vs. 0 $\mu\text{M}/\mu$ DEX; # p < 0,05 vs. kontroll.

A Hsp72 mRNA expresszió nem változott a szteroid kezelés hatására, ezzel szemben CSE alkalmazása jelentősen csökkent szinttel társult. Ezzel ellentétben a szteroid kezelés a CSE kezelt csoportokban szignifikánsan, dózisfüggően emelte a Hsp72 mRNA expresszióját (5.2/3. ábra).

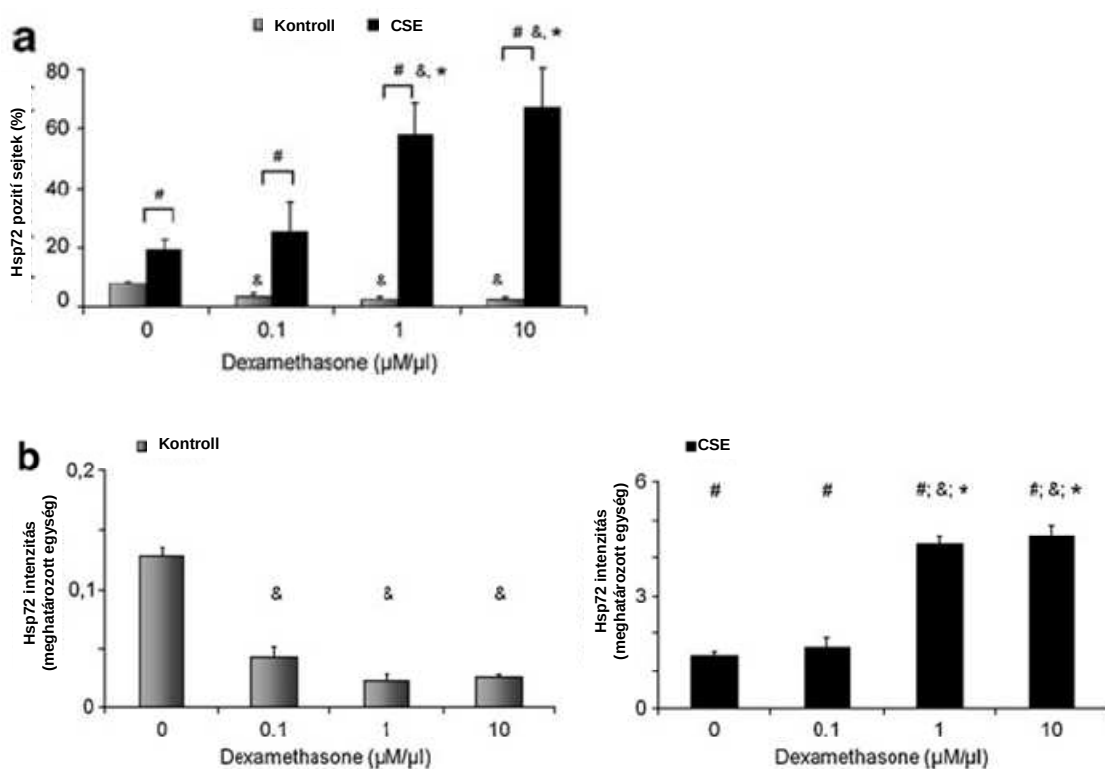
A szteroid-mentes kontroll csoportban az egyes sejtek Hsp72 fehérje expressziója alacsony volt, csakúgy, mint a Hsp72-t expresszáló sejtek aránya. A kontroll csoportokban a DEX kezelés csökkentette mind a pozitív sejtek arányát, mind az egyes sejtek Hsp72 tartalmát. Mindegyik CSE kezelt csoportban a Hsp72 pozitív sejtek aránya szignifikánsan magasabb volt, mint a megfelelő kontroll csoportokban. Szteroid kezelés jelentősen, és dózis-függően emelte a Hsp72-t expresszáló sejtek arányát, a legnagyobb mértékben a CSE+DEX (10) csoportban, ahol a sejtek közel 80%-ában volt kimutatható a fehérje. CSE kezelés a megfelelő kontroll csoportokhoz viszonyítva szignifikánsan növelte a sejtek Hsp72 tartalmát mind a szteroid-mentes, mind a szteroiddal kezelt csoportokban. A Hsp72 pozitív sejtek átlagos Hsp72 intenzitása a CSE kezelés után az emelkedő DEX adagokkal arányosan nőtt. Az emelkedést a DEX(1) és DEX(10) csoportokban találtuk szignifikánsnak a szteroid-mentes csoporthoz képest (5.2/4. ábra).

5.2/3. ábra. Alveoláris epitélisejtek Hsp72 mRNA expresszió változása 24 órás kontroll médium vagy cigarettafüst extraktum (CSE) alkalmazást követően, növekvő (0-szteroid-mentes, 0,1 valamint 1 és 10 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$) koncentrációban adott dexamethasone (DEX) kezelés mellett.



&p<0,01 vs. 0 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$ DEX; #p<0,05 vs. kontroll; *p<0,01 vs. 0.1 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$ DEX.

5.2/4. ábra. Hsp72 fehérjét tartalmazó alveoláris epitélsejtek aránya (a) és az egyes sejtek átlagos Hsp72 tartalma (b) 24 órás kontroll médium vagy cigarettafüst extraktum (CSE) alkalmazást követően, növekvő (0-szteroid-mentes, 0,1 valamint 1 és 10 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$) koncentrációban adott dexamethasone (DEX) kezelés mellett.

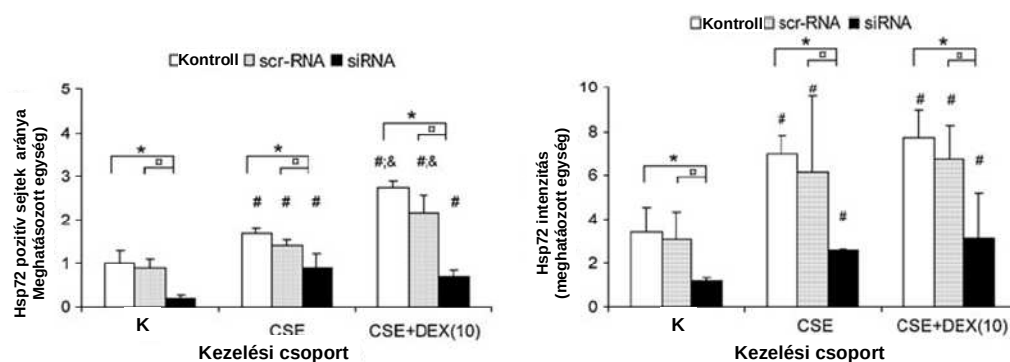


& $p < 0,01$ vs. 0 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$ DEX; # $p < 0,01$ vs. kontroll; * $p < 0,01$ vs. 0,1 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$ DEX.

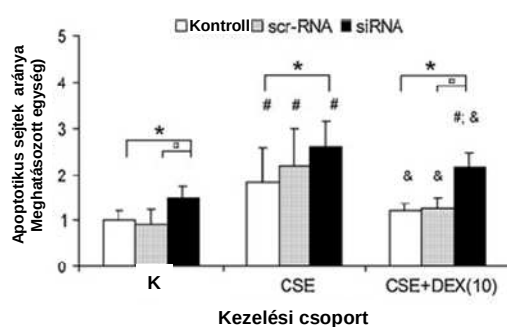
Transzfekciós kísérleteink sikeresek voltak mind a szteroid-mentes kontroll, mind a CSE kezelt sejteken. A kísérletek első részében igazoltuk, hogy a legmagasabb Hsp72 expresszió a CSE+DEX (10) sejtekben mérhető, így ezt a csoportot választottuk, hogy bizonyítsuk a CSE és a szteroid kezelés együttes hatását a sejtek Hsp72 expressziójára. Míg a negatív transzfekciós kontroll (scr-RNS) nem változtatta meg a Hsp72 expressziót, a csendesítő (si)RNS-sel történő transzfekció szignifikáns – 60-80%-os - csökkenést eredményezett a fehérjeszintézis mértékében, mind kontroll, mind CSE kezelt sejtekben. Hasonlóan alakult a Hsp72-t expresszáló sejtek aránya is. A Hsp72 fehérje expressziójának csökkenésével párhuzamosan a transzfektált sejtekben az apoptózis minden csoportban szignifikánsan nőtt, bizonyítva ezzel a közvetlen kapcsolatot a celluláris Hsp72 és az apoptotikus sejthalál között (5.2/5. ábra).

5.2/5. ábra. A: Hsp72 fehérje expresszió változása Hsp72 csendesítő (si)RNS transzfekciót követően kontroll médium, cigarettafüst extraktum (CSE) és CSE+10 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$ dexamethasone - DEX (10)- kezelés mellett. B: Apoptózis változása Hsp72 csendesítő (si)RNS transzfekciót követően kontroll médium, cigarettafüst extraktum (CSE) és CSE+10 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$ dexamethasone – DEX(10)-kezelés mellett.

A



B



A: &p<0,01 vs. CSE, #p<0,05 vs. szteroid kezelésben nem részesült kontroll (C); *p<0,01 vs. kontroll, p<0,01 vs. scrRNS (transzfekciós kontroll RNS).

B: &p<0,01 vs. CSE, #p<0,05 vs. szteroid kezelésben nem részesült kontroll (C); *p<0,01 vs. kontroll, p<0,01 vs. scrRNS (transzfekciós kontroll RNS).

5.3. Klinikai vizsgálatok

5.3.1. Transzplantációt követően a krónikus graftműködést befolyásoló faktorok

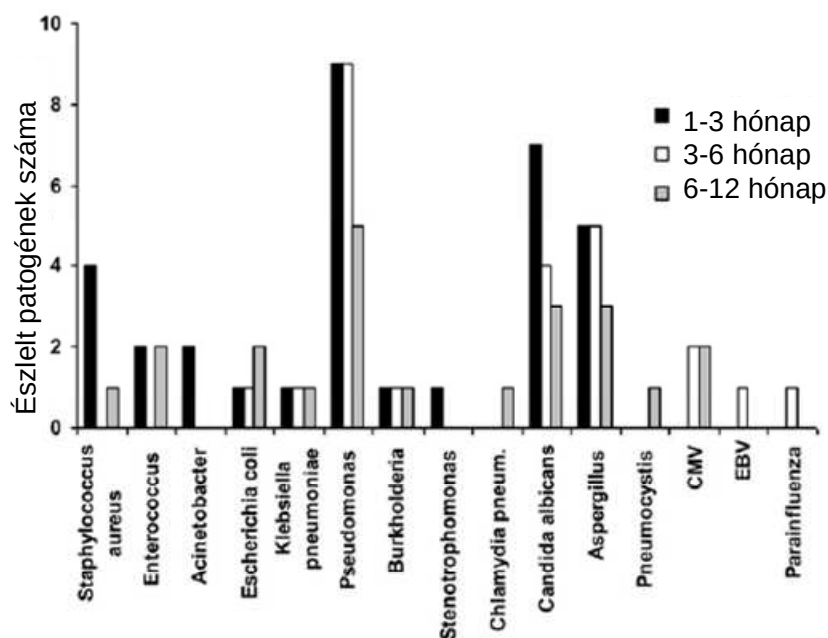
Tüdőtranszplantáció után az első évben jelentősen nő az infekciók rizikója. Magyarországon a disszertáció megírásakor a tüdőtranszplantációt a Medizinische Universität Wien Mellkassebészeti osztálya végezte magyar tüdőbetegek részére. A Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján 2008 októbere óta végezzük a betegek utógondozását. Munkánkban az első 12 esetről a légúti kórokozók spektrumát analizáltuk. Vizsgálatunkban az első posztoperatív évben igazolt infekciókat összegeztük a legalább 6 hónapja szervátültetésen átesett pácienseknél (343). A betegek klinikai adatait a 12. táblázat összesíti. Az első három hónapban a műtétet követően leggyakrabban *Pseudomonas* törzset igazoltunk a légutakból, melynek hátterében a CF-s recipiensek nagy száma állt, akiknél már a műtét előtt is igazolható *Pseudomonas* kolonizáció. A 3-6. hónapban *Pseudomonas* csak CF-es páciensekben volt kimutatható, *Candida* fajokat COPD miatt transzplantáltakban azonosítottunk. Gyakori volt még az *Aspergillus* infekció és 2 esetben igazolódott CMV fertőzés (5.3/1. ábra).

12. táblázat. Tüdőtranszplantált betegek demográfiai jellemzői.

	Tüdőtranszplantált páciensek (n=12)
Kor (év)	36,96±14,73 (18-56)
Nem	
Férfi	8
Nő	4
Alapbetegség	
CF	7
COPD	3
Idiopatiás tüdőfibrozis	1
Pulmonális hipertónia	1
Transzplantáció óta eltelt idő (hónap)	10,33±3,11 (4,5-12)
Immunszuppresszió n (%)	
Tacrolimus	12 (92%)
Everolimus + tacrolimus	1 (8%)
Cyclosporin A	1 (8%)
Mycophenolate mofetil	9 (75%)
Mycophenolsav	3 (25%)
Szteroid	12 (100%)

Adatok átlag±SEM (tartomány).

5.3/1. ábra. Légúti patogének a tüdőtranszplantációt követő első 12 hónapban.



5.3.2. Dohányzás speciális populációkban

5.3.2.1. Dohányzás magyarországi vesetranszplantáltak körében

Keresztmetszeti vizsgálatunkban a Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikáján gondozott 402 véletlenszerűen kiválasztott vesetranszplantált pácienset kérdeztünk dohányzási szokásairól, kilégzett CO mérést végeztünk, valamint a klinikai adatokat összesítettük a betegek dokumentációja alapján (320).

A páciensek adatait a 13. táblázat összesíti. A betegek életkorában volt csak szignifikáns különbség a dohányzás függvényében: dohányzó veseelégtelenek esetében korábban volt szükség vese átültetésére. A transzplantáció után a páciensek 25 %-a folytatta a dohányzást (n=102), a transzplantáció előtt dohányzók közül 28 beteg (7%) szokott le a cigarettáról transzplantációt követően. A dohányosok átlagosan $12,4 \pm 12,4$ csomagévnnyit (1 csomagév = 1 csomag (20 szál) naponta 1 éven keresztül) dohányoztak, a kilégzett CO szintjük $9,1 \pm 6,8$ ppm volt (normál szint: <2 ppm). A Fagerström nikotin dependencia teszt eredménye a dohányzók enyhe-középsúlyos függőségét igazolta. A szérum kreatinin értékeket vizsgálva 1 hónappal a

transzplantáció után nem volt különbség a dohányzó és nem dohányzó vesetranszplantált betegekben. A már legalább 3 éves graftműködéssel rendelkezők esetében szignifikánsan magasabb szérum kreatinin értékek igazolódtak dohányzóknál, mint nem dohányzóknál ($138,9 \pm 42,4$ vs. $128,4 \pm 48,5$ $\mu\text{mol/L}$, $p=0,002$).

13. táblázat. Vesetranszplantáltak jellemzői a páciens dohányzási státusa szerint.

	Összes beteg (n=402)	Dohányzók (n=102)	Nem dohányzók (n=300)	p
Kor (év)	45,3 $\pm$ 13,2	40,1 $\pm$ 13,4	47,1 $\pm$ 12,7	<0,001
Férfi/nő (%)	55/45	63/37	52/48	0,066
Alapbetegség: %				0,08
Glomerulonefritisz	10	14	10	
Diabetes mellitus	5	5	5	
Magasvérnyomás	13	19	11	
Krónikus vesemedence gyulladás	14 20	15 10	13 23	
Policisztás vesebetegség	38	37	38	
Egyéb				
Késői graftműködés (%)	32	37	30	0,21
Dialízis a transzplantáció előtt (hónap)	29,1 $\pm$ 28,5	27,6 $\pm$ 24,2	29,6 $\pm$ 29,9	0,57
Transzfúzió (%)	34	32	25	0,8
BMI (testtömeg index) (kg/m^2)	25,9 $\pm$ 4,6	25,5 $\pm$ 5	26,1 $\pm$ 4,4	0,11
Hipertónia (%)	85	86	63	0,75
Iszkémiás szívbetegség (%)	15	13	15	0,52
Perifériás érbetegség (%)	13	15	14	0,74
Iskolai végzettség: alap/közép /felső fok (%)	18/59/23	7/73/20	19/56/25	0,12
Rendszeres testmozgás (%)	63	62	63	0,9

5.3.2.2. *Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján dolgozók dohányzási szokásainak felmérése*

A Pulmonológiai Klinikára a legtöbb esetben dohányzással összefüggő kórképek miatt kerülnek a betegek felvételre. A betegellátásban dolgozók dohányzása jelentősen befolyásolja a beteg dohányzásához és dohány dependencia kezeléséhez viszonyulásukat. Vizsgálatunkban 2004. októberében a Pulmonológiai Klinika dolgozói körében mértük fel a dohányzási szokásokat (254).

A dolgozók 70%-a (n=92) válaszolt, a válaszadók 33%-a dohányzott a felmérés idejében. A nők között a dohányosok aránya szignifikánsan magasabb volt (40%, n=27), mint a férfi munkatársak között (17%, n=4, p= 0,016). Az iskolai végzettség jelentősen befolyásolta a dohányosok arányát, alacsonyabb végzettség mellett volt magasabb a dohányosok száma. A 15 leszokott dohányos közt szignifikánsan magasabb volt a férfiak aránya (férfi: 33%, n=8 a válaszadó 24-ből, nő: 10%, n=7 a válaszadó 68-ból). A dohányosok többsége (70%) legalább egyszer tett már kísérletet a leszokásra, de 76%-uk a vizsgálat időpontjában nem kívánt leszokni. A dohányosok és a leszokott dohányosok az erős elhatározást és a súlyos betegséget jelölték meg a leszokást segítő legfontosabb tényezőként. A dohányosok között a légzőrendszeri tünetek közül a köhögés (48%) és a terhelésre jelentkező nehézlégzés (33%) voltak a leggyakoribbak, és a válaszadók 46%-a ítélte magát túlsúlyosnak. A megkérdezettek nagy részét (65%) zavarta a dohányfüst. A dohányosok, leszokott dohányosok és a nem dohányzók valamennyien károsnak tartották a dohányzást, és 65%-uk a passzív dohányfüstöt. Függetlenül a válaszadó dohányzási statusától 82% jelezte, hogy fél a dohányzás egészségkárosító hatásaitól.

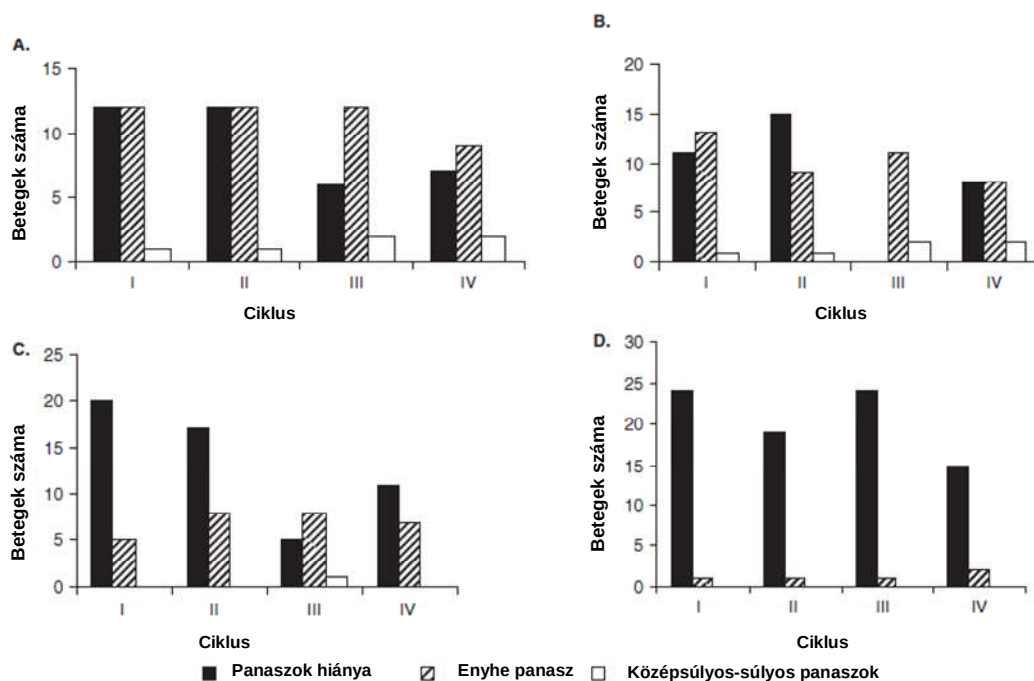
5.3.3. *Sejtkárosodás és hatásai tüdőrákos betegekben*

5.3.3.1. *Kemoterápiás kezelés klinikai tolerálhatósága*

A NSCLC kemoterápiájának alapja a platina alapú kettős citotoxikus kezelés. A kezelések mellett számos mellékhatással kell számolni, melyek alapvetően befolyásolják a betegek életminőségét (315,316). A cisplatin-vinorelbin kezelés mellett a QoL tekintetében nem volt jelentős romlás a négy kemoterápiás ciklust vizsgálva (az első ciklus előtt $3,0 \pm 1,4$ pont, az utolsó ciklus 1. napján $3,6 \pm 0,5$ pont; p>0,05). Az egyes tünetek tekintetében az egyes ciklusok kapcsán a gyengeség, az étvágytalanság, fogyás és láz tekintetében szignifikáns romlás nem volt igazolható. Az egyes tünetek a betegek kis hányadánál jelentkeztek, és csak kismértékben romlottak a ciklusszám előrehaladásával (5.3/2. ábra).

A citotoxikus kemoterápiás kezelések ismert mellékhatása a vérképzésre gyakorolt negatív hatás, mely a szisztémás daganatkezelés halasztását, dózis redukciót és/vagy további kezelést igényel. Vizsgálatunkban a ciszplatin-vinorelbin kezelés mellett a hemoglobin érték nem romlott jelentősen a ciklusok kapcsán (első ciklus előtt $118,4 \pm 12,3$ g/L, az utolsó ciklus első napján $109,0 \pm 11,3$ g/l; $p > 0,05$). Ezzel szemben az abszolút neutrofil szám (első ciklus előtt $5,95 \pm 5,81$ G/L, az utolsó ciklus első napján $2,15 \pm 1,21$ G/L; $p < 0,005$) és a trombocita szám jelentősen csökkent a vizsgálati periódus végére (344).

5.3/2. ábra. Ciszplatin-vinorelbin kezelésben részesülő tüdőrákos betegek tünetei az egyes ciklusok során. A: gyengeség, B: éhvágytalanság, C: fogyás, D: láz.



5.3.3.2. Kemoterápia indukálta anémia (CIA) és nefrotoxitás tüdőrákban

5.3.3.2.1. CIA kialakulása kemoterápia mellett (345)

A tüdőrák kemoterápiás kezelése során észlelt másik gyakori celluláris mellékhatás az kemoterápia indukálta anémia (CIA). Vizsgálatunkban arra kerestük a választ, hogy amennyiben CIA igazolható, ennek milyen a súlyossága, és történik-e az irányelveknek

megfelelően intervenció. A Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján 2008-ban kemoterápiával kezelt tüdőrákos pácienseknél (n=482) 83 esetben (17%) igazolódott CIA (férfi: 44,6%, Nő: 55,4%, kor: 70±8,6 év, NSCLC: 67,5%, SCLC: 32,5%).

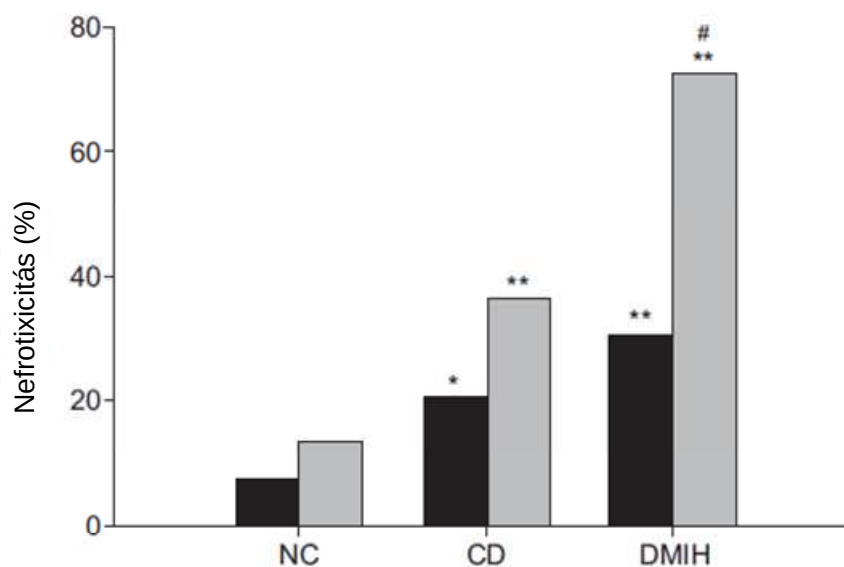
A közepesen súlyos-súlyos CIA (hemoglobin<100 g/L) esetek fele nem részesült EPO kezelésben. A kemoterápia halasztására EPO kezelésben részesülők 32,26%-ában, EPO kezelést nem kapókban 41,94%-ban volt szükség ($p<0,05$). EPO kezelésben részesülőkben az anémia mértéke nem változott (hemoglobin 10,17 (8,9-11,0: 25-75% quartilis) g/L), ezzel szemben a nem kezeltékben súlyosbodott (hemoglobin 9,37 (8,9-10,1: 25-75% quartilis) g/L). Retrospektív adatfeldolgozásunk eredményei szerint a CIA kezelés nem felel meg a nemzetközi és hazai irányelveknek a napi gyakorlatban.

5.3.3.2.2. *Nefrotoxitás citotoxikus kemoterápia mellett (346)*

Tüdőrák citotoxikus kezelésének bázisszere a ciszplatin, mely ismertén tubuluskárosító hatásán keresztül nefrotoxikus mellékhatású. A tüdő malignus betegségei leggyakrabban idősebb pácienseket (leggyakrabban 60 év felett) érintenek, akiknél gyakoriak a szív- érrendszeri megbetegedések és a diabetes mellitus. Klinikai vizsgálatunkban tüdőrák miatt kemoterápiás kezelésben részesülőkben vizsgáltuk a ciszplatin nefrotoxicitás kialakulását társbetegséggel nem rendelkező (NC), illetve a hipertóniás és iszkémiás szívbetegséggel (CD), vagy diabetes mellitus és iszkémiás szívbetegséggel (DMIH) bíró betegeknél. A retrospektív analízis során a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján kezelt 242 beteg adatait összegeztük, 1-4 kemoterápiás ciklus során kialakult nefrotoxicitás tekintetében. A GFR-t a kreatinin clearance számításával határoztuk meg.

A páciensek mintegy kétharmadának voltak társbetegségei, a betegek kora, neme az alkalmazott ciszplatin dózis, a ciklusok száma nem különbözött a csoportok között. Az NC páciensek 7,5%-ában (n=80), a CD 20,9%-ában (n=110), míg DMIH 30,8%-ában (n=52) igazolódott ciszplatin nefrotoxicitás. A kezelésből kiesők esetében a NC páciensek 14%-ában, a CD 38%-ában, míg DMIH 75%-ában kellett a terápiát ciszplatin nefrotoxicitás miatt abbahagyni (5.3/3. ábra). Eredményeink alapján a társbetegségekkel rendelkezők esetén a már kialakult szubklinikai vesekárosodás miatt jelentősen megnő a tüdőrák kezelésében alkalmazott ciszplatin kezelés mellett a nefrotoxicitás.

5.3/3. ábra. Ciszplatin nefrotoxicitás (■) és nefrotoxicitás miatt a kezelés felfüggesztése (▨) tüdőrákos páciensekben.



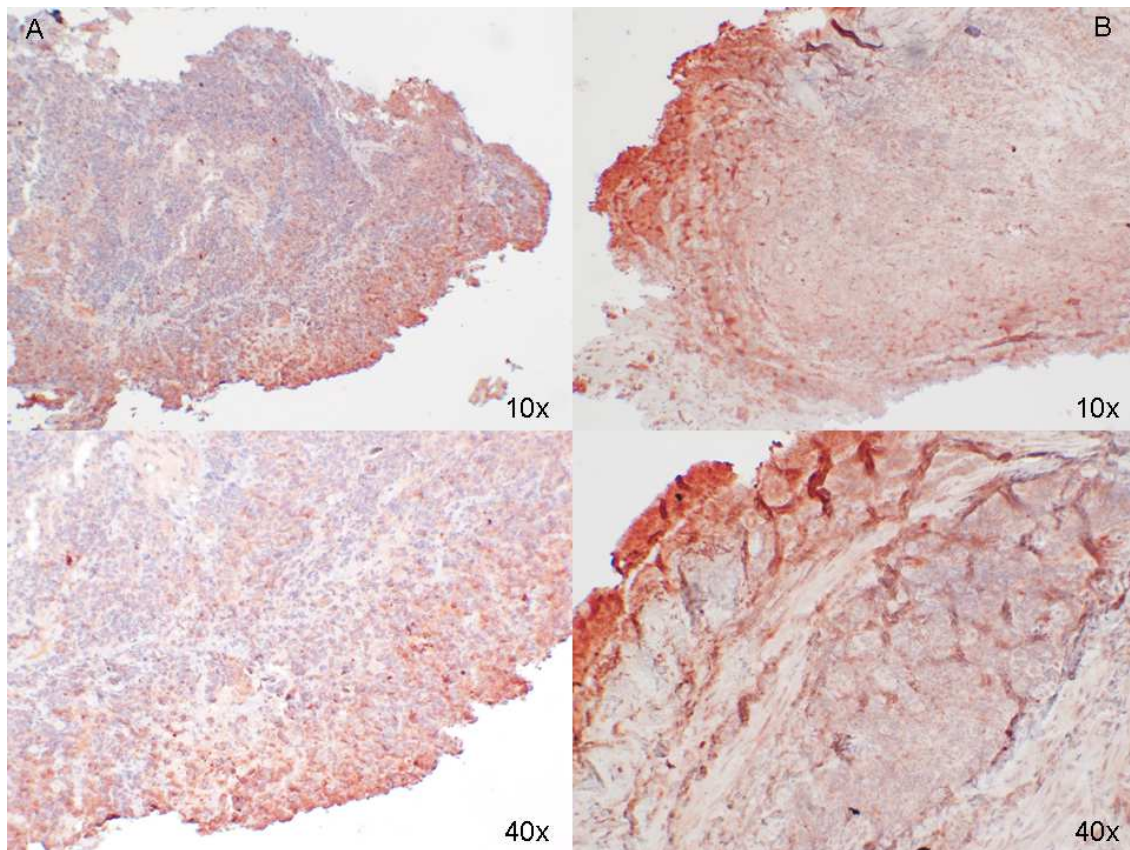
* $p < 0,05$ vs. NC; ** $p < 0,01$ vs. NC; # $p < 0,01$ vs. CD.

NC= társbetegséggel nem rendelkező, CD= hipertóniás és iszkémiás szívbeteg, DMIH= cukorbeteg és iszkémiás szívbeteg tüdőrákos páciensek.

5.3.3.2. Hsp72 szerepe SCLC-ban

Minden sejt mutatott Hsp72 fehérje expressziót, de a relatív intracelluláris Hsp72 expresszió különbözött a tumorsejtek és az egészséges sejtek között (7.3/4. ábra). A SCLC sejtekben immunhisztokémia során észlelt Hsp72 fehérje expressziója, és a Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) genotípusa közötti összefüggést vizsgálva igazoltuk, hogy a GG genotípusú betegekben a tumorsejtek szignifikánsan alacsonyabb Hsp72 fehérje expressziót mutattak.

5.3/4. ábra. Hsp72 fehérje expresszió SCLC-s betegek tüdőmintáiból készített immunhisztokémiai metszeteken.



Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) GG genotípusú (B panel) SCLC-s betegeknél a tumorsejtek szignifikánsan alacsonyabb Hsp72fehérje expressziót mutatnak mint az A alléllal rendelkezők (A panel).

A Hardy-Weinberg kritérium a Hsp72 polimorfizmusra mind a vizsgált, mind az egészséges kontroll csoportnál fennállt. Az allél frekvencia kismértékű csökkenést mutatott az A allélben a SCLC betegeknél a kontrollokhoz képest (OR: 0,88 [95% CI: 0,53-1,46]; $p=0,69$). Ezzel ellentétben a GG genotípus sokkal gyakoribb volt SCLC csoportban az egészségesekhez képest, de a különbség nem érte el a szignifikancia szintjét (19% vs. 13%) (14. táblázat).

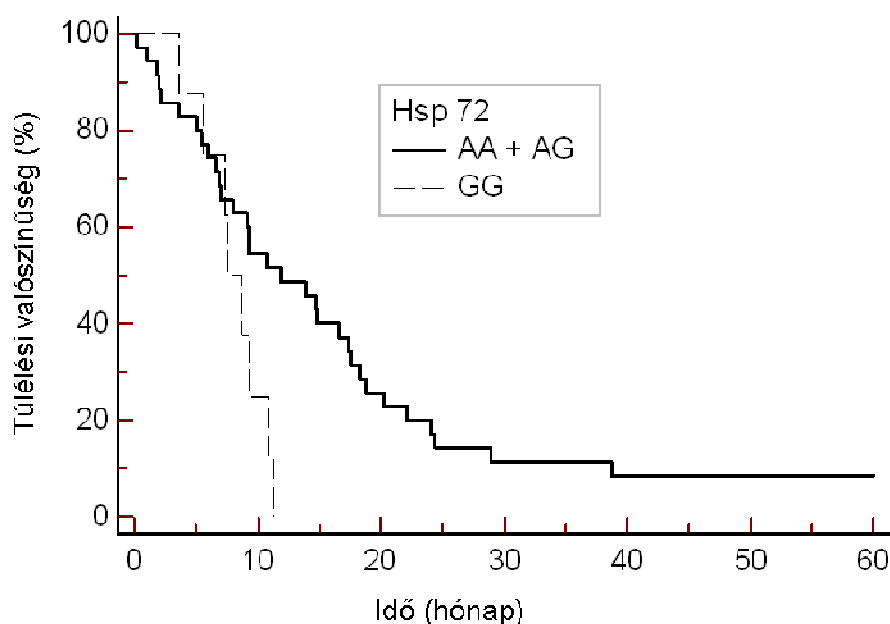
Az A allélt hordozó betegek átlagos túlélési ideje szignifikánsan magasabb volt a GG csoporthoz képest (AA és AG csoport: 11,97 hónap, konfidencia intervallum (CI) (95%) 6,83-17,11 vs. GG csoport: 8,15 hónap CI (95%) 6,37-9,93, $p<0,05$). Az átlagos túlélési idő rövidebb volt azokban a betegeknél, akik az AA genotípust hordozták, az AG genotípusú betegekhez képest, de ez a különbség nem volt szignifikáns. Ennek hátterében részben az állt, hogy az AA csoportban volt egy beteg, aki a diagnózis felállítása után rövid időn belül (1,86 hó) meghalt, míg többi, ebbe a csoportba tartozó beteg minimum 6 hónapig túlél.

Mivel a tumorsejtek HSP72 szöveti festődése nem különbözött az A allél hordozásakor, így az AA és az AG Hsp72 genotípusú betegeket GG genotípusú SCLC-ben szenvedő betegekhez viszonyítva vizsgáltuk a túlélést (5.3/5. ábra).

14. táblázat A különböző genotípusok gyakorisága a Hsp (HSPA1B) A(1267)G lókuszon SCLC-s betegekben és egészséges referencia populációban.

HSPA1B A(1267)G	AA	AG	GG	Össz
SCLC beteg	7 (16%)	28 (65%)	8 (19%)	43
Egészséges kontrollok	17 (17%)	67 (70%)	13 (13%)	97

5.3/5. ábra. Az SCLC-s betegek 5 éves túlélése a Hsp72 genotípus szerint.



Az A allélt hordozó betegek átlagos túlélési ideje szignifikánsan jobb volt a GG csoporthoz képest (AA és AG csoport: 11.97 hónap, CI (95%) 6.83-17.11 vs. GG csoport: 8.15 hónap CI (95%) 6.37-9.93, $p < 0.05$).

A GG genotípusú betegeknél a tüdőrák előrehaladottabb stádiumban került felfedezésre, hiszen szignifikánsan több páciensnél volt kimutatható távoli metasztázis (M1) a diagnózis felállításakor (62% vs. 29% az AG és 28% az AA csoportban, $p < 0.05$).

A COX-regresszió analízis szignifikáns összefüggést mutatott a túlélés, és a Hsp72 GG genotípusa, a dohányzás intenzitása (doboz/év), az életkor, valamint a testtömegindex (BMI)

között. A nem nem befolyásolta a végkimenetelt, és a TNM stádiumok emelkedésével (TNM IIIA, IIIB, IV) sem nőtt a betegek halálozási rizikója (15. táblázat).

A BMI szignifikánsan magasabb volt a GG genotípusú betegekben, az AA genotípusúakhoz viszonyítva ($p < 0,05$). Fontos negatív prognosztikai faktornak bizonyult a COPD egyidejű jelenléte ($p = 0,0125$), csak úgy, mint az alkalmazott kemoterápiás ciklusok száma ($p = 0,0007$). Más paraméterek, mint a mellkas röntgenen észlelt eltérések, az endobronchiális morfológia, paraneopláziás szindróma, vagy a kemo-, illetve radioterápia mellékhatásai tekintetében nem volt szignifikáns különbség a különböző HSP72 genotípusú SCLC betegek között.

15. táblázat. A túlélést befolyásoló faktorok SCLC páciensekben.

	HR	95 % CI	p
HSPA1B A(1267)G (GG genotípus)	8.432	2.633-26.996	0.0004
Dohányzás (csomag év)	1.029	1.011-1.048	0.0016
Életkor (év)	1.081	1.031-1.134	0.0014
BMI (kg/m²)	0.862	0.768-0.967	0.011
Női nem	0.469	0.212-1.041	0.064
TNM (emelkedő stadium)	0.806	0.513-1.264	0.350

5.3.4. Légúti gyulladás vizsgálata obstruktív tüdőbetegségekben

5.3.4.1. Inhalációs eszközválasztás obstruktív tüdőbetegeknél

Az asztma bronchiale okozta hörgőgyulladás kezelésének alapja az ICS (347). Az egyes ICS készítmények esetén a szteroid molekula szerkezetéből adódó eltérések, a gyógyszerbevitel módja (por, vagy oldat), az inhalációs eszköz, valamint az inhalációs technika befolyásolják a tüdődepozíciót, ezzel pedig a kezelés sikerét (348). A beteg részére választott inhalációs eszköz csak megfelelő használat mellett éri el az asztma kezelés célját: a kontrollált állapotot. Kontrollált a páciens asztmája, ha nincs nappali, vagy esti tünete, nem korlátozza az asztma a terhelés során, fiziológiás a légzésfunkciója, csak heti $< 2 \times$ alkalmaz gyors hatású hörgőtágítót (SABA) és nem volt exacerbációja az elmúlt évben (291). Az aktuális terápiás útmutatás

szerint nem megfelelő asztma kontroll esetén a terápiás lépcsőn a magasabb terápiás fokozatba kell léptetni a beteget (256).

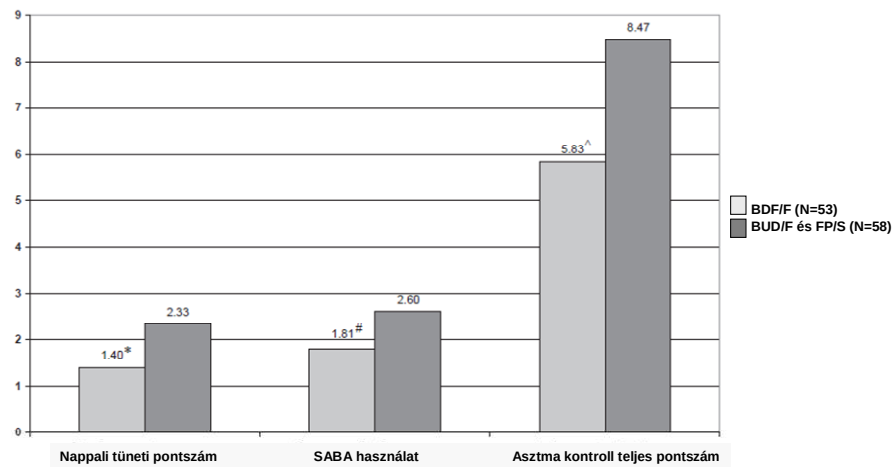
5.3.4.1.1. Különböző ICS-LABA kombinációs kezelések hatékonysága asztmás betegeknél (322)

A spray formátumú belégzők (metered dose inhaler =MDI) használatával sok páciensnek lehet problémája, bár a klinikai adatok arra utalnak, hogy megfelelő használat mellett a szárazpor belégzőkhöz (dry powder inhaler=DPI) hasonló effektivitás érhető el. Vizsgálatunkban arra kerestük a választ, hogy az ICS és hosszú hatású β_2 agonista (LABA) kombinált készítményt használó asztmás betegekben hogyan változik az asztma kontroll MDI és DPI használata mellett.

Való élet vizsgálatunkban 111 asztmás, ICS-LABA kombinációt használó ambuláns betegnél határoztuk meg a diagnóziskor az asztma súlyosságát és a vizsgálati időpontjában az asztma kontroll fokát. A pácienseink 47,7%-a (n=53) belomethasone-formoterol (BDF/F) extrafinom formulációt MDI-ben, 22,5%-a (n=25) fluticasone-salmeterolt (FP/S) DPI-ben, és 29,7%-a (n=33) budesonide-formoterolt (BUD/F) szintén DPI-ben használt. A betegek majdnem felében volt az asztma kontroll elérhető (45,9%), 38,7% részlegesen, 15,3% nem volt megfelelően kontrollált az állapot. A BDF/F csoportban az asztma kontroll összpontszáma, a nappali tüneti pontszám és a SABA használat szignifikánsan jobb volt, mint a másik két DPI-t használó betegcsoportban (5.3/6. ábra). A jobb kontrollt alacsonyabb ICS dózis mellett lehetett biztosítani a BDF/F extrafinom MDI-t használóknál (5.3/7. ábra).

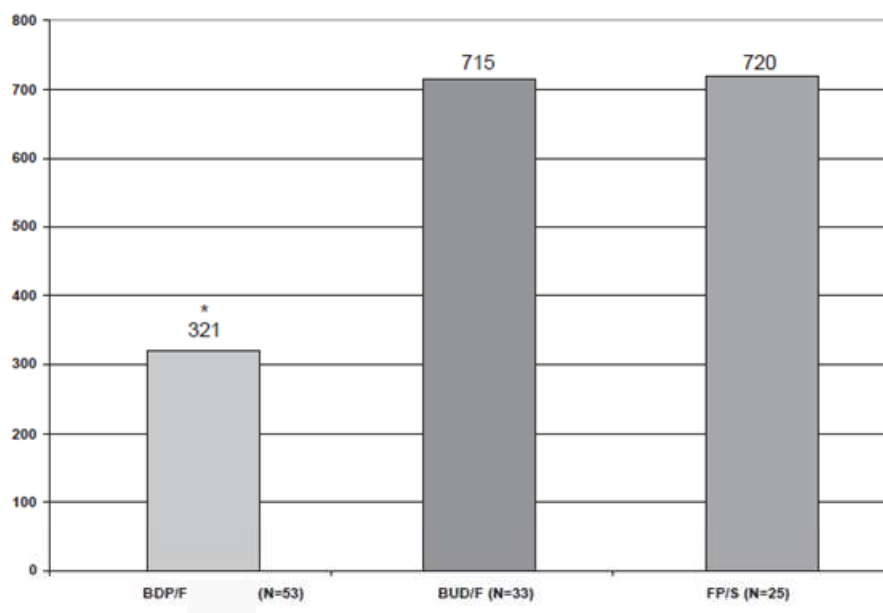
Eredményeink alapján a spray formátumú, extrafinom BDF/F-t használó betegekben jobb asztma kontroll érhető el a nagyobb szemcseméretet biztosító DPI-khez képest, melynek hátterében jobb tüdődepozíció és/vagy az egyes eszközök esetében változó inhalációs technikából adódó különbségek állhatnak.

5.3/6. ábra. Nappali tünetek, rohamoldó (SABA) használat és asztma kontroll összpontszám változása különböző ICS-LABA kombinációt használó asztmás pácienseknél.



*p=0,012 vs. BUD/F és FP/S; #p=0,025 vs. BUD/F és FP/S; ^p=0,016 vs. BUD/F és FP/S..BDF/F: belomethasone-formoterol extrafinom formuláció MDI, FP/S: fluticasone-salmeterol DPI, BUD/F budesonide-formoterol DPI.

5.3/7. ábra. Napi átlagos ICS dózis (µg) különböző ICS-LABA kombinációt használó asztmás pácienseknél.



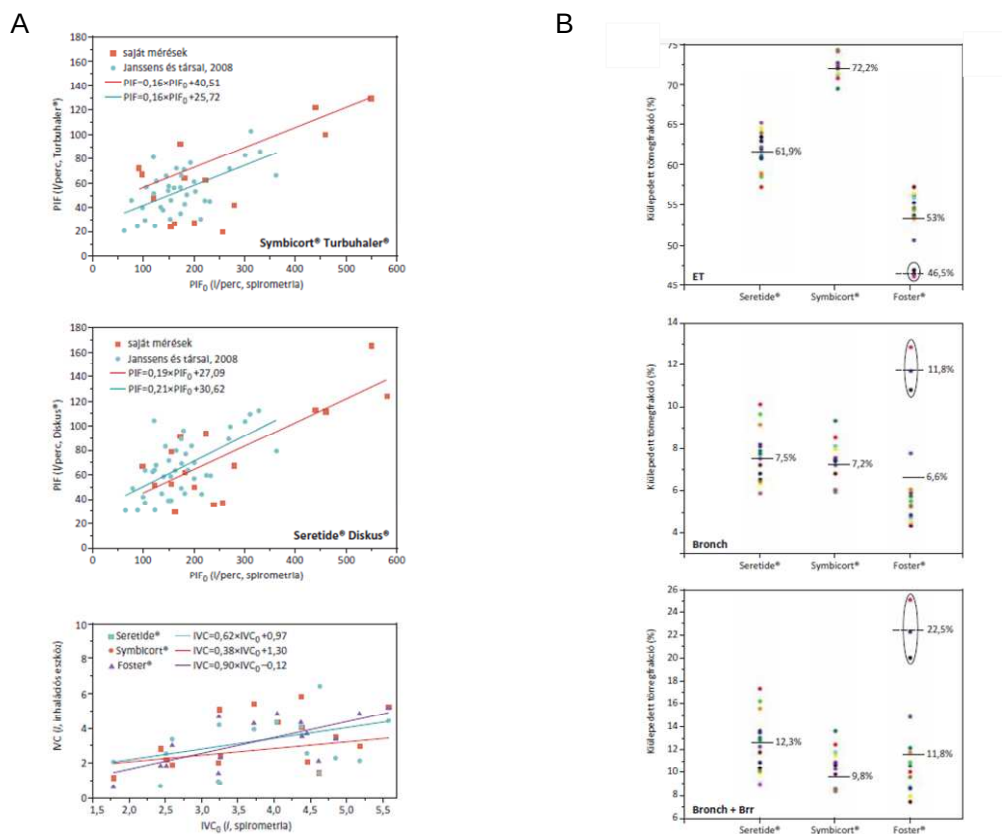
*p<0,0001 BDF/F vs. BUD/F és FP/S.. BDF/F: belomethasone-formoterol extrafinom formuláció MDI, FP/S: fluticasone-salmeterol DPI, BUD/F budesonide-formoterol DPI.

5.3.4.1.2. ICS-LABA kombinációk légúti depozíciójának modellezése (323,349)

Inhalációs gyógyszerek esetében a hatás helyére (légút) kell a megfelelő mennyiségű gyógyszert juttatni. Megvizsgáltuk normál légzésfunkciójú egyéneknél a készüléken keresztül történő belégzési csúcsáramlás és a légzésfunkció során mért PIF összefüggését, valamint összevetettük a korábban közölt adatokkal. Valamennyi vizsgált ICS-LABA készítmény (fluticasone/salmeterol (Seretide Discus®) DPI, budesonide/formoterol (Symbicort Turbuhaler®) DPI és beclomethasone/formoterol (Foster®) pMDI) esetén az irodalomban fellelhető korábbi mérésekkel közel azonos eredményt kaptunk.

Az eredményeket felhasználva teszteltük a korábban kidolgozott matematikai modellben a 3 készítmény pulmonális depozícióját. Felső légúti (ET), bronchiális (Bronch) és bronchiális plusz bronchiolus respiratórikus (Bronch+Brr) depozíció jelentős különbségeket mutatott. A Symbicort Turbuhaler® esetében igazolódott a legnagyobb ET depozíció, mely a gyógyszer jelentős részének nem a terápiás céltartományba jutását mutatja. Magas ET kiülepedés a készítmény mellékhatásainak előfordulási valószínűségét növeli, jellemzően az orofaringeális nem kívánt eseményeket. A pMDI esetében a légutakban magas depozíciós arány igazolódott, az extrafinom részecskék (350) megfelelő pulmonális penetrációját bizonyítva (7.3/8. ábra).

5.3/8. ábra. Az egyes ICS-LABA készítmények korábbi adatokkal történő összevetése (A) és a modell alapján az egyes pulmonális területeken a depozíció (B)



A: Normál spirometriás (PIF0) és a gyógyszerbevétel során mért belégzési csúcsáramlás (PIF) értékek közötti összefüggések és azok összehasonlítása a megfelelő szakirodalmi adatokkal Symbicort® Turbuhaler® (fent) és Seretide® Diskus® (középen) esetében, valamint a megfelelő inspiratorikus vitálkapacitások (IVC és IVC0) közötti összefüggések mindhárom gyógyszerre.

B: Felső légúti (ET), bronchiális (Bronch) és bronchiális plusz bronchiolus respiratorius (Bronch+Brr) depozíció.

5.3.4.2. D vitamin szint és obstruktív tüdőbetegségek kapcsolata

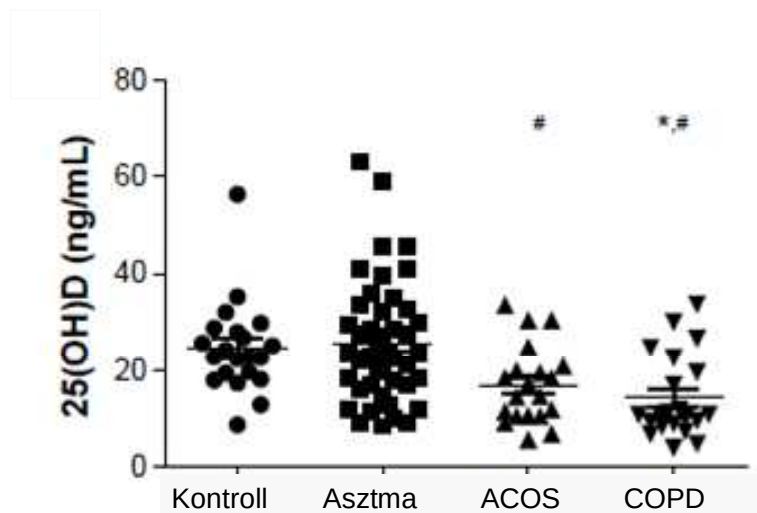
Vizsgálatunkban asztmás, COPD-s és a két betegség együttes jellemzőit mutató ACOS-os betegeknél elemeztük, hogy a 25(OH)D vitamin hiánya mennyiben befolyásolja a betegek tüneteit (324). Vizsgálatunk igazolta, hogy hazánkban az obstruktív tüdőbetegek jelentős része D vitamin hiányban szenved (5.3/9. ábra). A hiányállapot nem mutatott összefüggést a használt ICS dóziséval. A 25 (OH)D vitamin szérumszintje szignifikáns összefüggést

mutatott az FVC, FEV1, FEF25-75 és csúcsáramlás (PEF) referencia %-ban kifejezett értékével (5.3/10. ábra).

Az életminőség tekintetében az ACT szignifikánsan rosszabb értékeket mutatott ACOS esetekben, asztmával összevetve ($p < 0,0001$). A CAT tekintetében azonban nem volt különbség COPD-s és ACOS-os betegek között, bár mindkét csoport pontszáma alapján nagyon tünetek csoportot alkotott (CAT pontszám átlag [tartomány]: ACOS: 17.95 [6–30]; COPD: 21.14 [12–31]). Míg az ACT esetében az összes asztmás és az ACOS csoport is szignifikáns összefüggést mutatott a 25(OH)D vitamin szinttel, addig a CAT esetében csak az ACOS csoportnál igazolódott összefüggés (5.3/11. ábra).

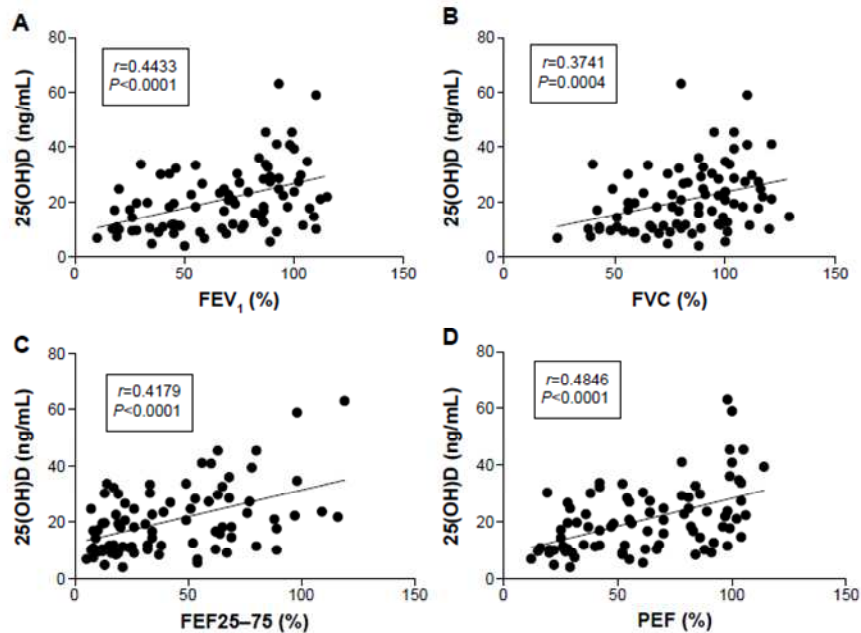
A D vitamin hiányra rizikófaktornak bizonyult a kor, a FEV1, 80% alatti PEF érték, az ACT összpontszám, atópia, alacsonyabb dózisú ICS és az obstruktív tüdőbetegség klinikai diagnózisa (asztma, COPD és ACOS).

5.3/9. ábra. 25(OH)D vitamin szintek obstruktív tüdőbetegeknél és kontroll egyéneknél.

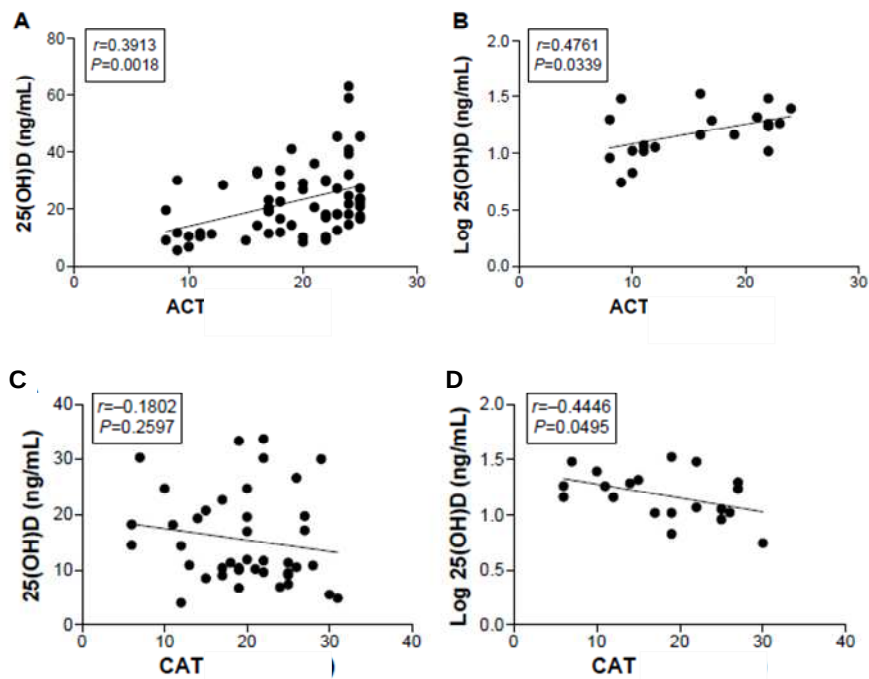


* $p < 0,05$ vs. control. # $p < 0,05$ vs. asztma

5.3/10. ábra. 25(OH)D vitamin szint összefüggése obstruktív tüdőbetegeknél a FEV₁ (A), FVC (B), FEF₂₅₋₇₅ (C) és PEF (D) referencia %-os értékével.



5.3/11. ábra. 25(OH)D vitamin szint összefüggése az ACT teszttel az összes asztmás (A) és az ACOS (B) csoportnál, illetve a CAT teszttel az összes COPD-s (C) és az ACOS (D) csoport tekintetében.



5.3.4.3. Pulmonális manifesztációk megjelenése és a perifériás immunválasz változása autoimmun tüdőbetegségekben

Szisztémás autoimm kórképek esetében a pulmonális manifesztációk megjelenési gyakorisága, illetve a háttérben fennálló immunfolyamatok vizsgálata nagy kihívást jelent. Bizonyos esetekben a többszervi manifesztáció akár életet veszélyeztető eltérés is lehet (326).

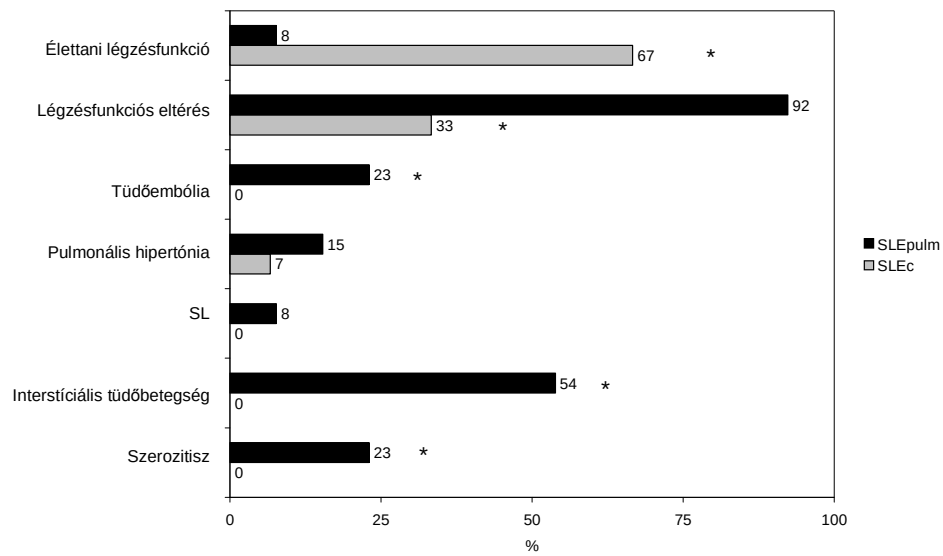
Pulmonális manifesztációval járó (SLE_{pulm}) és pleuropulmonális érintettséggel nem járó SLE-s betegeinkben (SLE_c) az érintettség megoszlását az 5.3/12. ábra mutatja. A légzésfunkciós eltérések mind restriktív, mind obstruktív, mind kevert ventilációs zavart is igazoltak (5.3/13. ábra). A két SLE-s csoport között az FVC, FEV1, kislégutakat jellemző FEF25-75 és a diffúzió értéke között is szignifikáns különbség mutatkozott (5.3/14. ábra). Az egyes mért perifériás T-sejt populációkat és mennyiségüket a 16. táblázat tartalmazza, melyekben a korábbi munkáinkban részletesen leírt áramlási citometriát alkalmaztuk (351,352,353,354). Az egyes sejtarányok egészségesekhez viszonyított arányait az SLE-s, illetve a két vizsgált SLE-s alcsoportban a 5.3/15. ábra mutatja. Az egyes sejtarányok esetében szignifikáns negatív korreláció igazolódott az FVC, FEV és DLco értékével, kifejezetten a CD4+CD25hi+/CD4+ sejteket tekintve (FVC %: $r=-0,556$, $p=0,0109$; FEV1%: $r=-0,515$, $p=0,020$; DLco %: $r=-0,520$, $p=0,027$).

16. táblázat. Perifériás CD4+ T-sejtek SLE_c (N=13) and SLE_{pulm} (N=9), valamint az összes SLEs (N=22) betegnél és kontrollokban (N=40).

	SLE _c	SLE _{pulm}	Összes SLE	Kontroll
Th1 (CD4+CXCR3+) G/L	0,655±0,108	0,846±0,199	0,731±0,102	0,865±0,069
Th2 (CD4+CCR4+) G/L	0,023±0,005#	0,023±0,006#	0,023±0,004#	0,138±0,015
Th17 (CD4+CCR4+CCR6+) G/L	0,012±0,003#	0,023±0,006#	0,016±0,003#	0,067±0,007
CD4+ CD25hi+ G/L	0,034±0,007*	0,218±0,046#	0,108±0,027	0,093±0,008
Treg (CD4+ CD25hi+CD127-) G/L	0,030±0,006#	0,032±0,012#	0,031±0,005#	0,056±0,005

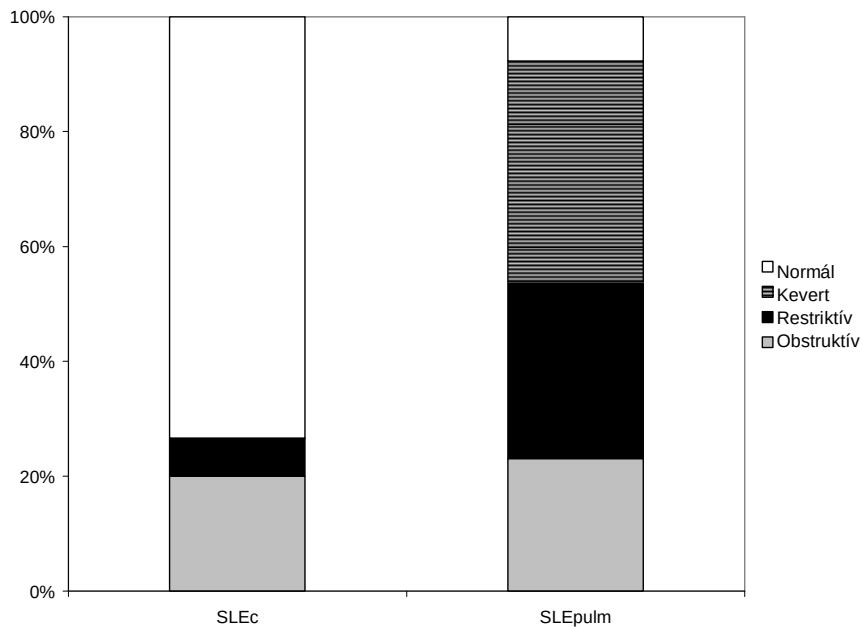
* $p<0.05$ vs. SLE_{pulm}; # $p<0.05$ vs. kontroll.

5.3/12. ábra. Pulmonális manifesztációk megoszlása SLE-s betegekben.



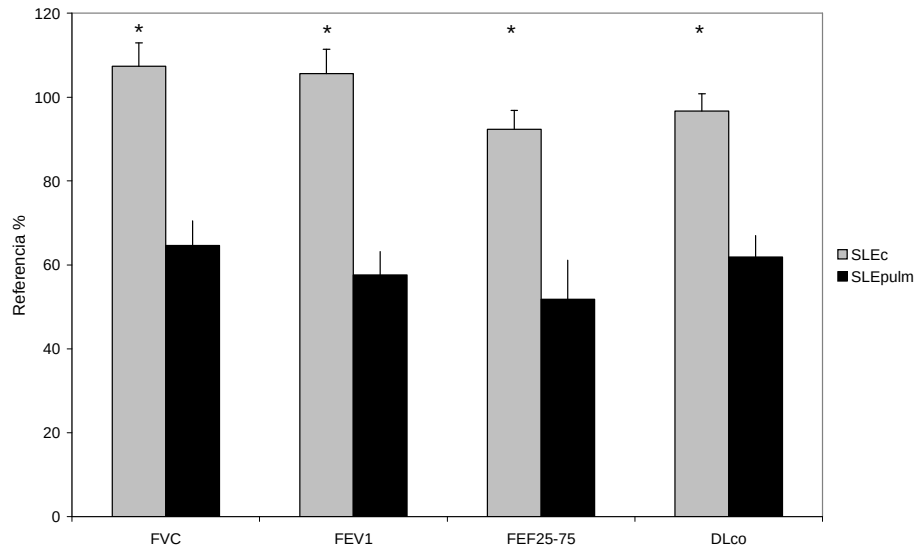
* $p < 0.0001$ vs. SLEpulm group. SL (shrinking lung)= „zsugorodó tüdő”.

5.3/13. ábra. Ventilációs zavarok megoszlása SLE-s betegekben.



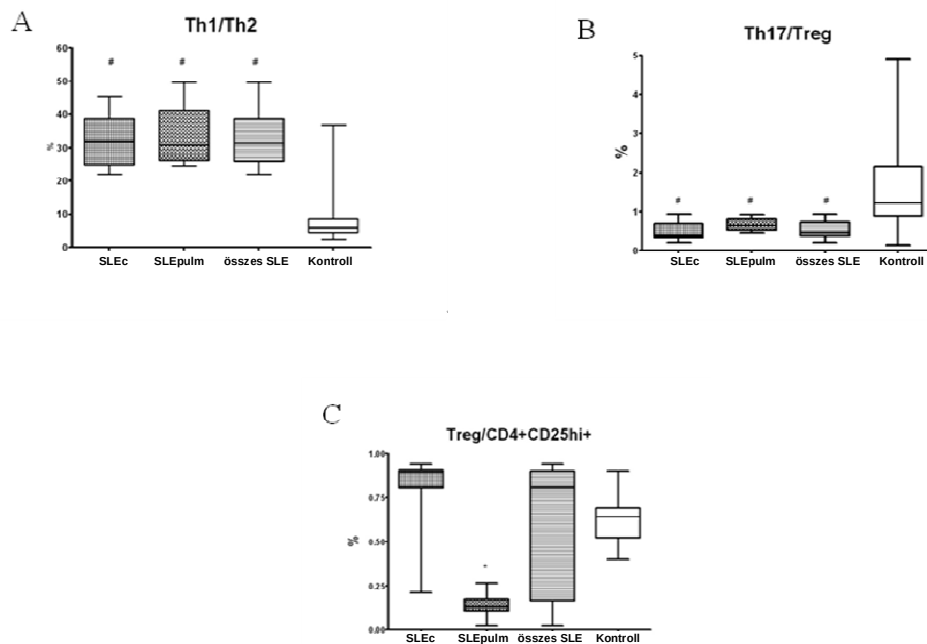
$p=0,0018$ vs. SLEpulm.

5.3/14. ábra. Légzésfunkció egyes paraméterei a két SLE-s csoportban.



p < 0,05 vs. SLEpulm.

5.3/15. ábra. Perifériás Th1/Th2 (A), Th17/Treg (B) és Treg/CD4+CD25hi+ sejtarányok SLEs csoportokban és kontroll egyénekben.



*p < 0,05 vs. SLEpulm; #p < 0,05 vs. kontroll.

6. Megbeszélés

6.1. Állatkísérletes modellek celluláris stressz vizsgálatára

6.1.1. I/R modell

Vizsgálatainkban egy egyszerű modellt alkalmaztunk a hipoxia és a következményes reperfúziós károsodás modellezésére. Igazoltuk, hogy jelentős oxigénhiány mellett olyan súlyos szervkárosodás jön létre, mely a kísérleti állat halálát okozza. A háttérben zajló folyamatok jobb megértéséért több lehetséges enzim szerepét, illetve terápiás lehetőségét vizsgáltuk.

Bár a klinikumban jól ismert, hogy nemi különbségek igazolhatók számos betegség előfordulásában, vagy progressziójában, elsőként igazoltuk, hogy jelentős nemi különbség mutatható ki a vese I/R károsodásában kísérletes körülmények között.

Mind klinikai, mind állatkísérletes megfigyelések szerint nemi különbség mutatható ki az agy, a szív vagy a bél iszkémiás érzékenységeiben (355), illetve egyéb noxákra adott válaszban (356,357). Bár jól ismert, hogy nemi különbség van számos élettani és patofiziológiai folyamatban, a kísérletes vizsgálatok nagy részét mégis hím állatokon végezték.

Vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy a hím állatok veséje érzékenyebb az I/R károsodással szemben, mint a nőstényeké. Az észlelt nemi különbségért elsősorban az androgén hormonok szintézise lehet felelős, mivel az előzetes kasztráció, illetve az ivaréretlen állapot jelentősen javította a túlélést és csökkentette a vesekárosodás mértékét. Ezzel szemben az ivarérett nőstények tesztoszteron kezelése nem csökkentette számottevően a túlélést, ami arra utal, hogy nem a tesztoszteron, hanem más androgén hormonok hatása áll az ivarérett, kasztrált és ivaréretlen állatok között megfigyelt különbségek hátterében.

Az észlelt különbséghez az ösztrogének védő szerepe is hozzájárulhat, mivel míg ivarérett hímek ösztradiol kezelése szignifikánsan javította az I/R után a túlélést, addig az ovariectomizált és ivaréretlen nőstényeknél a túlélés csökkenését észleltük. A hím állatok túlélését a kasztráció, illetve az ivaréretlen állapot nagyobb mértékben javította, mint az ösztrogénkezelés. Mindezek alapján feltételezhető, hogy az androgén hormonok mennyiségének csökkenése kedvezőbb hatású a túlélés szempontjából, mint az ösztrogének jelenléte. Feltehetően az ösztrogén és a tesztoszteron mellett más nemi hormonok, valamint

az ösztrogén/androgén arány is szerepet játszik az I/R károsodás okozta túlélésbeli különbségekben.

Ivarérett hím állatokban az I/R vazokonstrikcióhoz és következményes véráramlás csökkenéshez vezetett. Ezzel szemben nőstényekben sem a renális érellenállás növekedését, sem a renális véráramlás csökkenését nem észleltük.

Az I/R károsodást követően számos vazoaktív mediátor szabadul fel, melyek együttes hatására intrarenális vazokonstrikció és a külső medulla hipoperfúziója jön létre. Elképzelhető, hogy ezek a mediátorok a két nemben különböző mennyiségben és más-más dinamikát követve expresszálódnak, ezáltal hozzájárulhatnak a nőstények és hímek között észlelt eltérő renális és szisztémás hemodinamikai változások magyarázatához. Ezt a megfigyelést támasztották alá az endotelin antagonistával végzett vizsgálatok.

Az I/R kialakulásában endotoxin és az Il-6 szerepét igazoltuk korábbi munkáinkban (356,357). A két nemben észlelhető I/R különbség hátterében több fehérje szerepét is megvizsgáltuk. Korábbi tanulmányok igazolták, hogy I/R során hím állatokban a NKA központi jelentőségű (358). A női nemi hormonok a NKA aktivitásának ismert, szövetspecifikus modulátorai (359,360), azonban renális hatásaikról kevés és igen ellentmondásos adat állt csak rendelkezésre (361,362).

Kísérleteinkben elsőként mutattuk ki, hogy a NKA enzim alegységeinek mRNS és fehérje expressziója, redistribúciója, illetve az ionpumpa aktivitása szignifikánsan eltér a nőstény és hím állatok között. Kísérleteinkben a nőstények NKA $\alpha 1$ alegységének mRNS expressziója már kontroll állatokban is mintegy kétszerese volt a hímekben mértnek és ez a különbség a vizsgált periódus során mindvégig megmaradt. Ezek alapján a nem és a nemi hormonok jelentősen befolyásolják a NKA $\alpha 1$ alegységének I/R-t követő mRNS expresszióját.

Figyelembe véve a NKA $\alpha 1$ alegységének 8 órás transzlációs idejét a mért mRNS és fehérje értékek vizsgálatainkban jól korreláltak egymással. Míg hímekben az I/R-t követően az $\alpha 1$ protein szintje jelentősen lecsökkent, addig nőstényekben nem változott számottevően, ami felveti annak lehetőségét, hogy az I/R hatására hímekben károsodik a NKA $\alpha 1$ alegységének fehérjeszintézise, de nőstényekben nem. A másik fontos tényező az enzim megfelelő, funkcionálisan aktív elhelyezkedése. Az áthelyeződött, tehát eredeti fiziológias helyéről elszakadt NKA fehérje mennyisége is jelentősen különbözött a nőstény és hím állatok között. Míg hímeknél jelentős mennyiségű NKA $\alpha 1$ került át a citoszólba az I/R inzultust követően, addig nőstények esetében a fehérjemennyiség nagyobb része eredeti helyén, a bazálmembránhoz kötve maradt. A nőstényekben mért magasabb $\alpha 1$ protein

szinttel párhuzamosan, az ionpumpa aktivitása is nagyobbnak bizonyult az I/R-t követő minden vizsgált időpontban a hímekkel összehasonlítva. Hím állatokban az iszkémiát követően a NKA aktivitás szignifikáns csökkenését tapasztaltuk, mely eltérést azóta más tanulmányok is megerősítettek (363).

Hsp72 segít a sejtmembrán fehérjeszerkezetének megőrzése révén a NKA pumpafunkciójának fenntartásában (364). A Hsp72 tekintetében is igazoltuk a vese I/R kapcsán a nemi különbséget. Élettani körülmények között a nőstényekben 1,5-szerese a Hsp72 mRNS szint a hímekben mértnek. Azok a sejtek, melyek nagyobb mértékben expresszálják a Hsp72-t celluláris stresszel szemben ellenállóbbak (365). A női nem / női nemi hormonok protektív hatását azóta is több tanulmányban megerősítették (366). Az androgén hormonok esetében a Hsp72 leginkább az androgén receptor megfelelő működéséhez kell, melynek kasztrációrezisztens prosztatakarcinómában van kiemelt jelentősége (367). A Hsp72 és NKA α 1-alegység mintázatában I/R-t követően jelentős nemi különbséget igazoltunk. Élettani körülmények között a proximális tubulussejtek basolaterális membránján ko-lokalizálódik a két fehérje (368). A sejtet ért I/R inzultus után is itt volt megfigyelhető a NKA és a Hsp72 nőstényekben. Ezzel szemben hímeknél mindkét fehérje a citoszolba és az apikális régióba helyeződött át, vagyis a fehérjék aktív, membránhoz kötött formája jelentősen csökkent. Hímekben így a csökkent Hsp72 szint nem tudja a NKA-t a funkcionális helyén stabilizálni, vagyis az iontranszport súlyos zavara, később pedig irreverzibilis sejtkárosodás következik be.

Az SGK-1 esetében is igazolódott nemi különbség. Ebben az esetben hím állatokban kontroll körülmények között magasabb volt a fehérje mennyisége, de nem társult sejtprotektív és szervprotektív hatással. Ezzel szemben EPO kezelés mellett jelentősen javult hím állatok I/R iránti védelme. A kezelés mellett nőtt a NKA és a Hsp72 szintje és a NKA funkciójának megfelelő bazolaterális lokalizáció. Az EPO hatására az antiapoptotikus SGK-1 tartósan magas maradt, ezzel biztosítva ebben az esetben ezen fehérje sejtprotektív hatásait. Az EPO kezelés protektív szerepét azóta humán vizsgálatokban is megerősítették (369).

Vizsgálataink első részében kimutattuk, hogy az I/R okozta vesekárosodásban nemi különbség igazolható, melynek hátterében részben nemi hormonok hatása áll. I/R-t követően hímekben kialakuló jelentős renális vazokonstriktó elhúzó hipoxiát (celluláris stresszhatást) eredményez. E folyamat hátterében az endotelin központi

fontosságú, hiszen hím állatokban endotelin receptor gátló alkalmazásával javítható a túlélés.

Az I/R noxára kialakuló sejtkárosodás kialakulásában észlelt nemi különbségek háttérében a NKA és a Hsp72 szerepét igazoltuk. Nőtényekben az I/R inzultus után a két fehérje nagyobb arányban expresszálódik és a funkció helyén (basalmembrán) marad. Hímekben a csökkent expresszió mellett a NKA citoszólba történő transzlokációjával elveszti ionpumpa működését. EPO kezeléssel hím állatokban a NKA és Hsp72 szint és a sejtmembránhoz kötött lokalizáció jelentősen nő. Az EPO protektív hatásában az antiapoptotikus SGK-1 fehérje is szerepet játszik.

6.1.2. Transzplantációs állatmodell

Az első, nemi különbségeket vizsgáló transzplantációs kísérletünkben igazoltuk a nemi hormonok fontos szerepét a graft hosszú távú működésében. Tesztoszteron gyorsította, míg ösztadiol lassította a krónikus kilökődés folyamatát.

Bizonyítottuk, hogy nagy jelentősége van a donor nemének is a folyamatban. A kísérleti elrendezés jelentősége, hogy ezek a faktorok humán transzplantáció során alig vizsgálhatók, hiszen számos egyéb tényező is jelentősen befolyásolja a graftok hosszútávú működését (370). Nagy klinikai adatbázisok vizsgálata azonban szintén felvetette, hogy bizonyos nemi kombinációk hosszú távon előnyt (férfiből nőbe), más kombinációk hátrányt (nőből férfiba) jelentenek vesetranszplantáció esetén (91,92). Hasonló nemi különbségeket igazoltak a közelmúltban tüdőtranszplantáció során is (371).

A klinikai, sok esetet vizsgáló tanulmányok azonban nem vizsgálják a nemi hormonok hatását, melyek a női graftoknál észlelt rövidebb túlélést magyarázhatják, különösen férfi recipienseknél. Kísérletünkben a recipiens valamennyi csoportban azonos volt, így a graft működését csak a nemi hormon kezelés és a donor neme befolyásolta. A nőstény graftok esetén ösztadiol hiányában a veseműködés progresszíven romlott, míg hím vesék esetében a tesztoszteron hiánya, és nem az ösztadiol jelenléte volt jótékony hatású.

Miben különbözik a két nem esetén a donor szerv? Régi hipotézis a működő funkcionális egységek (vese esetén nefron) mennyiségének változása. Amennyiben a recipiens igényeihez képes kevesebb funkcionális egységet kap, úgy a beültetésre kerülő kisebb donorszerv fokozott igénybevétele gyorsabb funkcióvesztéshez vezet. Ezt a feltevést

támasztják alá azon kísérletes megfigyelések is, amelyekben további vese beültetése javította (372), míg a transzplantált vese tömegének csökkentése rontotta a transzplantátum működését (373).

A hímeknél észlelt nagyobb vesesúly androgén hatásra kialakuló proximális tubuláris hipertrofia eredménye, mely a nemek közötti vesesúlyból és nagyságból eredő differenciákért nagyrészt felelős tényező. Tesztoszteron kezelés tovább növeli a testsúlyt, mely növekedett táplálék, és ezzel párhuzamosan nagyobb fehérjebevitelt jelent. A metabolikus tényezők ismerten rontják a graft hosszú távú működését (240). Ezzel szemben más kísérleteinkben kimutattuk, hogy immunszuppresszív szerek (pl. RAPA) csökkentik a vese méretét (374) de nem befolyásolják a funkcionális egységek számát.

Egy másik mechanizmus, mely a donor neméből adódó különbségek hátterében állhat, az a női vese erősebb antigén tulajdonsága, illetve fokozottabb érzékenysége az immunológiai reakciókra, vagy a CsA nefrotoxicitásra (84,375). A nemi hormonok mind a humorális, mind a celluláris immunválaszt befolyásolják (376). Kimutatták, hogy nőkben az immunglobulin szint magasabb, mint férfiakban, melynek hátterében nemi hormonok hatása áll (377).

I/R károsodást követően az első reakció a leukociták és a graft endotéliuma közötti interakció. A endotélsejtek aktivációja adhéziós molekulák, kemotaktikus faktorok és citokinek expresszióját okozza, ezáltal fokozza az immunsejtek adhézióját és migrációját a graftba. Kísérletünkben az ösztradiol kezelés csökkentette a mononukleáris sejt infiltrációt, csökkent számos citokin expressziója, mely hozzájárulhatott ezen transzplantátumok jobb túléléséhez.

Összefoglalva, kísérletünkben kimutattuk, hogy a krónikus kilökődést a nemi hormonok befolyásolják. A tesztoszteron kezelés hatására súlyos veseelégtelenség alakult ki. Ösztradiol javította a graft működését. Ovariectomizált nőtény recipiensekben nemi hormonok hiányában a donor neme befolyásolta a transzplantátum működését. Összességében a hím vese működése javul tesztoszteron hiányában, míg a nőtény vese megfelelő működéséhez az ösztradiol elengedhetetlennek tűnik.

A második, nemi különbségeket vizsgáló transzplantációs kísérletsorozatunkban igazoltuk, hogy nőtény állatokban alacsony dózisú (hímekben elégséges) CsA kezelés nem gátolja

meg az akut-, illetve az akcelerált krónikus rejekció kialakulását. Nőstény állatoknak magasabb dózisú immunszuppresszív terápia szükséges közvetlenül a graft beültetése után. A modellben hím állatokban az iniciális akut rejekciók kivédésére az eddig használt 1,5mg/kg/nap adagú CsA kezelés elégségesnek bizonyult. Nőstény állatokban azonban ilyen dózisú immunszuppresszió nem volt képes a kilökődési reakció teljes kivédésére. Az I/R behatás (idő) csökkentése javította a kezdeti graftfunkciót, de alacsony dózisú CsA terápia mellett így is kialakult az akcelerált krónikus rejekció. Nőstényekben az allograftokat a kilökődéstől csak a dózis megduplázása védte meg. Újabb klinikai vizsgálatok igazolták, hogy az akut rejekciók kialakulásának valószínűsége nőkben 10%-kal nagyobb, mint férfiakban, míg a krónikus graft diszfunkció 10%-kal ritkábban fordul elő. Ez utóbbi megfigyelés alátámasztja a disszertációban korábban bemutatott kísérletes munkánkat (334). Az akut rejekciók nőkben való gyakoribb előfordulását magyarázhatja az agresszívabb immunválasz a szervezetet ért hatásokra. Ezt támasztja alá a nőkben gyakrabban észlelt autoimmun betegségek kialakulása is (326). Tekintettel arra, hogy az akut rejekció a krónikus allograft diszfunkció egyik legfontosabb rizikótényezője, így a nem és a nemi hormonok az akut rejekción keresztül is befolyásolják a graft hosszú távú túlélését. Csak megfelelő immunszuppresszív kezelés mellett várható az akut immunológiai hatás megfelelő kontrollja, és következményesen a lassabb krónikus diszfunkció kialakulása. Az immunszuppresszív kezelések eltérő hatásosságot mutathatnak, így fontos annak ismerete, hogy a transzplantátum hosszú távú működése mely kezelés mellett a legjobb (378). Megfelelő immunszuppresszív kezelés esetén (3mg/kg/nap CsA) nem alakult ki súlyos graftkárosodás a nőstényekben és az elváltozások megfeleltek, vagy kisebbek voltak a hím izograft csoportban észlelteknél.

Szintén elsőként vizsgáltuk nőstény donorokat és recipiensket használva transzplantációs modellben a RAPA terápia után a krónikus graftfunkciót. A RAPA hatásának vizsgálatakor a hím állatoknál általában használt dózisonál nagyobb adagot alkalmaztunk, hogy elkerüljük az előbbieken részletezett inadekvát immunszuppressziót a nőstény ALLO állatokban. Így a hím és nőstény ALLO állatok graftja hasonló működést mutatott 22 héttel a transzplantáció után. Korábbi vizsgálatok már igazolták, hogy alacsonyabb dózisú RAPA monoterápia elégséges az akut rejekciók kivédésére hím állatokban (379,336). Vizsgálatunk megerősítette, hogy a nagyobb dózisú immunszuppresszív terápia effektíven gátolja az akut kilökődést nőstényekben.. Nem várt megfigyelés volt azonban, hogy RAPA terápia mellett a graft károsodása súlyosabb volt, mint magasabb dózisú CsA alkalmazásakor. RAPA esetén eddig nem igazoltak nephrotoxicitást és csak igen enyhe vazokonstriktor hatását

mutatták ki a renális mikrocirkulációban (380). Tény, hogy egy összehasonlító vizsgálatban RAPA kezelés mellett I/R károsodást követően 14 nappal a vesefunkció jobb volt, mint CsA kezelés esetén és a RAPA kezelt vesékben strukturális károsodást nem tudtak kimutatni, míg CsA terápiánál enyhe akut tubuláris nekrózis jelei voltak láthatóak. Ezzel szemben akut (2 napos) RAPA-mediálta funkcióromlás és károsodás volt észlelhető izograftokban különböző I/R behatási idők (24-48 óra) esetén (381). Ennek hátterében a RAPA antiproliferatív hatása állhat, amely lassítja a regenerációt és így elhúzódóbb felépüléshez vezet a graft működésének késleltetett indulása esetén.

A vizsgálatokban a renális NOS rendszer nemtől és kezeléstől függő változásait is vizsgáltuk a transzplantációs modellben. Experimentális és klinikai adatok is alátámasztják a krónikus vesebetegségben megfigyelt csökkent NO szintézist. Míg az eNOS változása eltérő a nNOS azonban csökken krónikus vesebetegségben a kiváltó tényezőtől függetlenül (128,339).

A CsA kezelt állatokban csak kis különbségek voltak megfigyelhetők a kortextben és a medullában az ALLO csoportokban mind az eNOS, mind az nNOS tekintetében. CsA kezelés mellett a medullában mindkét CsA kezelt hím csoportban magasabb eNOS expresszió volt mérhető a nőstényekhez képest. A kortikális nNOS expresszió alacsonyabb volt ISO hím vesékben a többi CsA kezelt csoporttal összehasonlítva.

RAPA kezelt állatokban nem volt nemi különbség igazolható ISO és ALLO csoportokban az eNOS renális expressziójában. Fontos azonban kiemelni, hogy a RAPA a kezelt csoportok egyikében sem volt nNOS fehérje kimutatható a kortextben, míg a medullában jelentősen csökkent nNOS expressziót detektáltunk hím állatokban a nőstényekhez képest.

CsA és RAPA kezelt graftok egyidejű vizsgálata megerősítette a RAPA kezelés mellett észlelt nNOS hiányt, mely alapkán ez az immunuszuppresszív szer a kortikális nNOS szelektív gátlójának tekinthető ebben a modellben.

Vizsgálataink igazolták, hogy a megfelelő immunuszuppresszió megválasztása a két nemben eltérő dózisu CsA és RAPA terápiát igényel. A női nem rizikót jelent az akut rejekció kialakulására és az akcelerált krónikus rejekcióra, így csak magasabb dózisu CsA és/vagy RAPA kezeléssel védhető ki a kezdeti immunreakció. Magas dózisu RAPA kezelés hímeknél jelentősebb hosszú távú graftkárosodással jár CsA-val összevetve. Míg a CsA terápiának a renális nNOS és eNOS expresszióra nincs komolyabb hatása, a RAPA kezelés párhuzamosan a kortikális nNOS fehérje expresszió teljes gátlásával, hosszú távon rosszabb graftfunkciót eredményezett

mindkét nemben. Vizsgálataink alátámasztják a nemtől és hormonális státusztól is függő immunszuppresszív protokollok kidolgozásának szükségességét.

6.1.3. A működő szövetmennyiség csökkentésének hatása a szerv hosszú távú működésére

Az NO rendszer fontos szerepet játszik a vese megfelelő működésében, és az I/R károsodásban melyet egy korábbi tanulmányunkban is igazoltuk (382). Subtotalis nefrektómiában az NO prekursor L-arginin szupplementációja javítja (382), míg a NO szintézis gátlása a vesetranszplantátum kilökődését fokozva rontja a vese működését (383). A kísérletsorozatokban több modellt felhasználva vizsgáltuk a renális eNOS és nNOS kortikális és medulláris expresszióját krónikus stresszhatás kiváltását követően.

Az első vizsgálatban ISO modellben alkalmazott endotélprotektív perfúziót alkalmaztunk. A kezelés mellett nem változott jelentősen a graftok működése, tekintve, hogy immunológiailag azonos volt a donor és a recipiens. Endotélprotektív kezelést követően a renális nNOS és eNOS is csökkent a kortexben, azonban az aktivitás nem igazolt különbséget. Ez a modell jelentős szervelegteleniséget nem okozott, így a perfúziós oldat hatásosságát nem lehetett megfelelően alátámasztani.

A kísérletes transzplantáció során különböző beltenyésztett állattörzsek használhatók. Míg egyes törzsekben az öregedés, vagy egyéb stresszhatások következtében veseeltérések alakulnak ki (F344 és SD) addig más törzsek (Lewis és WF) „rezisztensek” ezekre a noxákra (339,340,341). Vizsgálatainkban igazoltuk, hogy F344 és SD állatokban progresszív proteinúria alakul ki stresszhatásra, míg Lewis és WF állatokban ez nem volt kimutatható. A szervkárosodás NOS gátló kezeléssel ezen állatoknál is provokálható volt, igazolva a renális NOS rendszer szervprotekciónban betöltött központi szerepét.

A vizsgálatokat továbbvive egérmodell alkalmazásával is igazoltuk, hogy mind a nem szelektív NOS gátló, mind a szelektív nNOS gátlás jelentősen fokozta a már károsodott szerv funkciójának romlását. Egér esetében nagy lehetőség a KO egerek használata, így eNOS KO egérben is vizsgáltuk a funkcionális egységek csökkentése mellett kialakuló vesekárosodást. Ebben az esetben már a kontroll állatokban is kimutatható volt a vese károsodása, melyet a funkcionális szövetmennyiség csökkentése rendkívüli mértékben fokozott.

Kísérleteinkben igazoltuk, hogy az általunk összeállított endotélprotektív perfúziós oldat izograftokban a vizsgált követési szakban nem befolyásolta jelentősen a vesefunkciót. A vese funkcionális szövetmennyiségének csökkentése a noxákra érzékenyebb állattörzsekben gyors progressziójú szervkárosodást eredményezett. A renális funkció megfelelő biztosításában a renális NOS rendszereknek kiemelt jelentősége van: mind az eNOS, mind az nNOS fontos szerepet játszik a stresszhatást követően a szerv alkalmazkodásában.

6.2. Dohányfüst okozta sejtkárosodás

A dohányfüst szignifikánsan csökkentette az alveoláris epitélisejtek túlélését és proliferációját. Eredményeink szerint a CSE súlyos sejtsérülést okoz, mely a sejtek megnövekedett apoptózisához vezet. Korábbi munkákban igazolták, hogy a CSE megnöveli a reaktív oxigéngyökök képződését, fokozza a citokinek termelését valamint az apoptózist, közvetlenül csökkenti a sejtproliferációt ezáltal összességében pusztítva a tüdősejteket (384,385).

Kísérleteinkben immortalizált alveoláris epitélisejteket használtunk, mely a legfőbb sejttípus az alveolusokban. Az A549 humán sejtvonalat általában akkor használják, ha az II-es típusú alveoláris sejtek fiziológias szerepét akarják vizsgálni (386). Ez a sejttípus alkotja az alveoláris epitélisejtek kb. 60 %-át, és a tüdőparenchima sejteinek kb. 15 %-át, és egy felnőtt ember tüdejének körülbelül 5%-át borítja. Többfunkciós szerepet játszanak az alveoláris egyensúly fenntartásában azáltal, hogy alveoláris védőgátat formálnak, felületaktív anyagokat termelnek, szaporodnak és I típusú alveoláris sejtekké differenciálódnak a javító folyamatok során. A dohányfüst károsítva a tüdő epitélisejtjeit, fontos szerepet játszik a tüdő funkcionális egységeinek pusztulásában, végső soron az emfizéma kialakulásában (387). Ugyanakkor fontos kiemelni, hogy az A549 sejtvonal immortalizált sejtekből áll, melyek a rákos sejtek karakterisztikáját is magukon viselik. Több vizsgálat bebizonyította a COPD és a tüdőrák kockázatának kapcsolatát (388). COPD-re jellemző a gyulladás és az alveoláris szeptumok pusztulása, míg a tüdőrák a sejtek kontrollálatlan szaporodásának következménye. A parenchima-pusztulás fontosságát mutatja, hogy már kezdődő emfizéma is jelentősen növeli a tüdőrák kialakulásának kockázatát (389).

Kontroll körülmények között a szteroid kezelés nem befolyásolta sem az alveoláris epitélisejtek apoptózist, sem a celluláris Hsp72 expressziót. Ezzel ellentétben CSE kezelés mellett a DEX szignifikánsan emelte a sejtek túlélését és szaporodását, dózisfüggően mérsékelte az apoptózist. A glukokortikoidok serkentik az apoptózist a gyulladásos sejtekben, ugyanakkor az epiteliális sejtekben apoptózist gátló hatásuk feltételezett (390). COPD-s betegek tüdőszövetében több apoptotikus sejtet igazoltak, mind a nem dohányzó, mind a dohányzó, de egészséges emberek tüdejéhez viszonyítva (391). A COPD-ben megfigyelt ICS rezisztencia pontos mechanizmusa még nem ismert. A terápiás válasz elmaradását számos sejten belüli folyamat okozhatja (2.12.2 fejezet). A dohányzást elhagyó, ICS-el kezelt COPD-s betegek esetében csökkent tüdőrák előfordulási

gyakoriságot igazoltak. Feltehető, hogy ha elmarad a dohányfüst alveoláris sejtek apoptózisát és a kísérő gyulladást kiváltó hatása, csökkenthető a tumor kialakulásának esélye (392).

CSE kezelt sejtekben a Hsp72 szintje emelkedik. Míg az mRNS szintben nem láttunk különbséget, addig a sejtek Hsp72 fehérje tartalma és a Hsp72 pozitív sejtek aránya szignifikánsan nőtt CSE kezelés hatására. CSE a sejteknek stresszhatást jelent, ezért aktiválódhatnak a sejt védelmi folyamatai, nevezetesen csökkenhet a Hsp72 degradációja. A Hsp72 óvja a sejteket mind az apoptózistól, mind a nekrozistól (329).

DEX kezelés elősegítette az epitélsejtek túlélését CSE kezelés mellett. Hsp72 „csendesítő” RNS transzfekciót alkalmazva a sejtekben a kezelések hatására nem emelkedett sem az mRNS, sem a fehérje szint, azonban jelentősen nőtt az apoptózis mértéke, kevesebb sejt élt túl. Ezek az eredményeink rámutattak arra, hogy a DEX hatását részben a Hsp72-n keresztül fejt ki, melynek a sejtvédelemben kulcsfontosságú szerepe van CSE kezelés esetén.

A Hsp72 sejtfelszíni expresszióját mindeddig csak tumorsejteken írták le. A veleszületett immunitás sejtjei: a makrofágok, dendritikus sejtek, NK-sejtek szerepet játszanak a tumor ellenes immunitásban. A Hsp72 specifikus C-terminális részét felismerve azonosítani tudják a kóros sejteket (393).

DEX csak egyidejű CSE kezelés mellett növelte az epitélsejtek túlélését és proliferációját. Mivel dohányosok milliói részesülnek szteroid kezelésben, további adatok szükségesek a cigarettafüst és a glukokortikoidok kölcsönhatásáról. További vizsgálatok segíthetnek annak eldöntésében, hogy mi a szerepe a Hsp72-nek a dohányos, illetve a nem dohányos COPD-s betegekben, és ezen belül mely tényezők felelősek az alveoláris struktúrák pusztulásáért.

Alveoláris epitélsejtes vizsgálataink igazolták, hogy a CSE jelentős sejtkárosító hatású. In-vitro körülmények között növeli a sejtek apoptózisát és nekrozisát. DEX csökkenti az apoptózist, ezáltal mérsékli a CSE indukálta sejtkárosodást. Vizsgálatunkban elsőként igazoltuk a Hsp72 kulcsfontosságú szerepét az epitélsejtek túlélésében DEX - CSE együttes kezelés esetén. A transzfekciós kísérleteink igazolták, hogy a dohányfüst káros hatását mérséklő DEX a celluláris Hsp72-n keresztül fejt ki védő hatását. Vizsgálatunk szerint a Hsp72 potenciális terápiás célpont a dohányfüstnek kitett tüdősejtek védelmének fokozásában.

6.3. Klinikai vizsgálatok

6.3.1. Transzplantációt követően a krónikus graftműködést befolyásoló faktorok

A transzplantációt követő időszakban kialakuló fertőzőes komplikációk jellegzetes időrendi megjelenést mutatnak. A közvetlen a postoperatív szakban (általában első hónap) a donort ellátó intenzív osztály, a transzplantációt végző osztályok és a recipiens mikrobiológiai flórája határozza meg az infekciót kiváltó patogéneket. Minél hosszabb a transzplantációt megelőzően vagy követően a hospitalizáció időtartama, annál nagyobb a pneumónia előfordulásának rizikója (394,395).

A környezeti patogének elsődlegesen a 2. hónaptól játszanak fontos szerepet. Tüdőtranszplantáció esetén mind a donor (lélegeztetés), mind a recipiens (végállapotú tüdőben gyakran kimutatható problémapatogének) légúti kolonizációja kifejezetten emeli az infekciók rizikóját a graftban.

Szervtranszplantációt követő egyes időszakok jellegzetes infektológiai komplikációkkal jellemezhetők, melyek ismerete jelentősen növelheti azok megelőzésének és leküzdésének esélyeit. Pneumónia bármikor kialakulhat, azonban a kiváltó kórokozók a transzplantációtól eltelt idővel változnak. Új pulmonális infiltratum esetében a mellkasi röntgen mellett sok esetben CT vizsgálat elvégzése is javasolt. Tüdőtranszplantátum infekciója esetén általában szükséges az invazív bronchoszkópos mintavétel. A bronchoalveoláris lavage (BAL) során nyert mikrobiológiai minta esetében általában már a 10^3 csíraszám is kórjelző (immunsuppresszió mértéke szerint), és ennek megfelelően kell a kezelést megkezdeni. A bronchoszkópia során nyert mintából aerob (esetenként anaerob) bakteriológiai, virológiai (légúti patogének direkt kimutatása: *Influenza A* és *B*, *Parainfluenza*, *RSV*, *Adenovírus*, valamint külön vizsgálandó a *Cytomegalovírus* (CMV)), mikológiai (beleértve a galactomannán kimutatást), *Mycobacterium* és *Pneumocystis jirovecii* irányú vizsgálatok mellett a BAL sejtszám összetételét is meg kell vizsgálni. A korrekt infektológiai diagnózis felállításához esetenként transzbronchiális tüdőbiopszia is végzendő. Tüdőtranszplantációt követően a transzbronchiális biopszia a kilökődés megítéléséhez egyébként is elengedhetetlen. Szervtranszplantációt követő 2-6 hónapos időszakban jelentősen megváltozik a kórokozók spektruma. Elsősorban immunmoduláló vírusinfekciók kialakulásával kell számolni, melyek közül kiemelkedő jelentőségű a CMV fertőzés. A CMV infekció során kialakulhat pneumónia, de a fertőzés hozzájárulhat a szerv kilökődéséhez is (226). Külön kiemelendő, hogy a vírus immunsuppresszív hatása révén tovább növeli az opportunisták infekciók rizikóját; különösen *Pneumocystis jirovecii*, *Aspergillus*, *Nocardia* fajokkal szemben. Tüdőtranszplantációt

követően, a 6 hónap után általában a minimális fenntartó kezelésre csökkentjük az immunszuppresszió mértékét. Ebben a betegcsoportban a közösségben előforduló kórokozók okozta infekciók dominálnak (*Influenza*, *RSV*, *Pneumococcus*). A betegek másik csoportjában, ahol a transzplantátum működése nem optimális, a rejekciók kezeléséhez elhúzódóbb és nagyobb dózisú immunszuppresszív kezelés szükséges. Ezen betegek lesznek különösen fogékonyak a *Pneumocystis jirovecii*, *Cryptococcus neoformans*, *Nocardia asteroides* és *Aspergillus* fajok okozta fertőzésekre. Ebben a csoportban az elnyújtott trimetoprim/sulfametoxazole kezelés mellett fluconazole terápia is mérlegelendő. Külön probléma a tüdőtranszplantáltakban a felső légúti *Pseudomonas aeruginosa*-val kolonizáltak (főleg CF miatt transzplantáltak) csoportja (396).

Klinikai vizsgálatunkban a tüdőtranszplantációt követő első 3 hónapban észleltük a legtöbb infekciót. Leggyakrabban *Pseudomonas* törzset igazoltunk, melyet számban a gombás fertőzések (*Candida* és *Aspergillus*) követtek. Ennek a hátterében a CF-s recipiensek nagy száma állt, akiknél már a műtét előtt is minden esetben igazolható *Pseudomonas* kolonizáció. A 3-6. hónapban *Pseudomonas* csak CF-es páciensekben volt kimutatható, *Candida* fajokat COPD miatt transzplantáltakban azonosítottunk. Az infekciók száma az irodalmi adatokkal egyezően az első év második részében jelentősen csökkent.

Klinikai vizsgálatainkat aktuálisan a Klinikán kezelt közel 100 beteg adataira egészítjük ki. A transzplantáció óta eltelt idő mellett megfigyeltük, hogy a tüdőtranszplantáltakban is jelentős szezonalitást mutatnak az infekciók. Az adatok aktuális feldolgozása mellett igazolható, hogy a hazánkban jellemző havi átlaghőmérséklet a bakteriális alsó légúti infekciók rizikófaktora.

Tüdőtranszplantált betegeinknél kimutattuk, hogy az infekciók száma a transzplantációt követő első 3 hónapban a legmagasabb. Az alsó légúti pulmonális fertőzéseket leggyakrabban *Pseudomonas*, *Candida* és *Aspergillus* fajok okozták. A transzplantációt követően eltelt idővel csökkent a légúti infekciók száma, de továbbra is a *Pseudomonas* és a gombák a legfontosabb kiváltó ágensek.

6.3.2. Dohányzás speciális populációkban

A dohányzás jelentős népegészségügyi probléma. Sajnos a jelentős betegséggel küzdők, vagy akár az egészségügyi dolgozók esetében is számottevő a dohányosok aránya. Két

felmérésünkben igazoltuk, hogy vesetranszplantációt követően, illetve pulmonológiai betegeket ellátó dolgozók esetében is jelentős az aktív dohányosok száma.

Vesetranszplantációt követően a betegek 25%-a folytatta a dohányzást, mely kismértékben magasabb, mint más centrumokban (287). A dohányos betegeknél fiatalabb életkorban került sor a transzplantációra, melynek hátterében a dohányzás krónikus szervégtelenséget fokozó hatása is állhat (397). A transzplantáció előtt dohányzók közül 28 beteg (7%) szokott le a cigarettáról transzplantációt követően, mely mutatja, hogy a transzplantáció kapcsán valószínűleg már a minimális intervenció is hatásosabb, mint egészségesekben. A már legalább 3 éves graftműködéssel rendelkezők esetében szignifikánsan magasabb szérum kreatinin értékek igazolódtak dohányzóknál, mint nem dohányzóknál, melynek hátterében a dohányfüst graftműködést rontó hatása is állhat (398).

A pulmonológiai betegekkel foglalkozó, nagyrészt egészségügyi végzettségű munkatársak naponta szembesülnek a dohányzás okozta pulmonológiai komplikációkkal (COPD, tüdőrák, végállapotú tüdőbetegség stb.). Klinikai felmérésünkben igazoltuk, hogy a dolgozók körében az akkori magyarországi átlagnak megfelelő arányban dolgoztak dohányzó kollégák. A felmérés még a zárt téri dohányzás teljes tiltása előtt készült, de jól mutatta, hogy egyértelműen támogató volt a vélemény a zárttéri dohányzás teljes tiltásának bevezetésére. A dolgozóknál is igazolódtott a jól ismert tény, hogy a dohányzók aránya jelentősen csökken az iskolai végzettséggel (399). A dohányzás leszokás segítése az egészségügyi tevékenység alappillére (290). Sajnos több tanulmány igazolta, hogy a dohányzó egészségügyi dolgozó kevésbé tanácsolja a betegeinek a dohányzás elhagyását (400).

Vizsgálataink igazolták, hogy vesetranszplantáción átesett betegeknél is jelentős a dohányzók aránya. A dohányzás elkerülhető rizikófaktor, így ezen sejtkárosító elhagyása lassíthatja a krónikus vesebetegség transzplantációt megelőző progresszióját, és nem károsítja a már átültetett szerv hosszú távú működését. A dohányzás egészségügyi kockázatának megfelelő ismertetésében az egészségügyi személyzetnek fontos szerepe van. Dohányzó egészségügyi dolgozóknál kevésbé jellemző a betegek dohányzásról történő leszokásának segítése, ezért ezen célcsoport oktatása és a motiváltakban a dohány dependencia kezelése javasolt.

6.3.3. Sejtkárosodás és hatásai tüdőrákos betegekben

A tüdőrák ma Magyarországon a leggyakoribb, magas mortalitású daganat. Évente mintegy 10.000 beteget érint. A legkisebb, nyirokcsomó áttétet sem adó NSCLC esetekben lehet csak a műtét után a további aktív kezeléstől eltekinteni. Amennyiben az általános állapot megengedi, a tüdőrákban szenvedő beteg esetében kemoterápiára kerül sor palliatív (IIIB-IV), adjuváns (IIA-IIIA, IB esetében opcionális), vagy neoadjuváns (IIIA stádium) céllal (401). A klasszikus (platina alapú) kemoterápiás kombinációk alkalmazása mellett számos, az életminőséget és az aktív onkoterápia sikerességét jelentősen rontó mellékhatás veszélyével kell számolni. E mellékhatások jórészt sikeresen megelőzhetőek vagy kezelhetőek. A kezelőorvos feladata, hogy a nagy kockázatot jelentő vagy életminőséget rontó mellékhatásokat megelőzze, vagy, amennyiben már kialakultak, kezelje (315,316,317,318,402). Megfelelő szupportáció mellett az aktív kemoterápia könnyebben és tartósabban tolerálható, a szövődmények rizikója nagymértékben csökkenthető, illetve a megfelelő dózis fenntartható és így nagyobb terápiás sikert érhetünk el.

A palliatív kemoterápiák közül a ciszplatin vinorelbin kombináció tolerálhatóságát vizsgáltuk. A QoL tekintetében nem volt jelentős romlás a négy kemoterápiás ciklust vizsgálva, vagyis megfelelő szupportáció mellett a betegeknél nem/alig alakult ki a kezelés folytatását megakadályozó, vagy a kezelés halasztását igénylő mellékhatás. A gyengeség és az étvágytalanság sok betegnél már a kezdeteknél enyhe panaszként jelentkezett, de ezen panaszokat említők aránya nem nőtt a cikluszám előrehaladtával.

Az étvágytalanság nagyon gyakori tünete a daganatos betegségeknek (403,404). Ezt komplikálja a tény, hogy a tüdőrák kezelésében használt készítmények közül a ciszplatin magas rizikót jelent a kemoterápia indukálta hányinger és hányás kialakulására (315,317). A vizsgálatunk során nem észleltük az étvágytalanság fokozódását, így a betegeknél a szupportáció megfelelő lehetett.

A kemoterápia következtében kialakuló csontvelőszuppresszió egyik legveszélyesebb szövődménye a keringő neutrofil granulocytaszám csökkenése. Ciszplatin vinorelbin kombináció mellett jelentősen csökkent az abszolút neutrofil szám, azonban nem érte el a kritikus értéket a 4. ciklusra sem. Hasonlóan szignifikáns, de az esetek döntő többségében beavatkozást nem igénylő trombocitaszám csökkenést észleltünk. Bár a hemoglobin érték is csökkent a kezelések végére, ez azonban nem érte el a szignifikancia szintjét.

A betegek többsége idős volt, így az eredményeink megerősítették az a korábbi megfigyelést, hogy ebben az életkorban is megfelelően alkalmazható ez a kemoterápiás kombináció a NSCLC kezelésében (405).

A kemoterápia következtében kialakuló csontvelő szuppresszió másik gyakori szövődménye az anémia. A tüdődaganatok esetében bázisszerként alkalmazott platina, különösen a ciszplatín nefrotoxikus mellékhatása csökkenti a vese EPO termelését, ezzel fokozva az CIA rizikóját. A kezelési lehetőségek szempontjából fontos megkülönböztetni a CIA-t a tumoros (ez leggyakrabban a csontvelő direkt daganatos infiltrációjának következménye), illetve az infekciókat kísérő anémiától. Az NCCN irányelv szerint az anémia kritériuma a 110 g/L alatti, illetve a 20 g/L mértéket meghaladó hemoglobinszint csökkenés (406). Fontos a laboratóriumi analízis során a vörösvérsejtek átlagos térfogatának, illetve a retikulocita számnak a meghatározása az anémia etiológiájának meghatározásához. Az aktuális irányelvek és a hazai finanszírozás szerint EPO terápia hemoglobinszint <100 g/L esetén adható tüdőrákos betegeknek, amennyiben az anémia tüneteket okoz, a megfelelő vaspótlás ellenére perzisztál, és a citosztatikus kezelés nem kuratív célú. Saját klinikai megfigyeléseink szerint az EPO kezelés kritériumait kielégítő betegeknek csupán az 50%-a részesül ebben a kezelésben. Az EPO kezelést nem kapó CIA-ban szenvedő betegek esetében a kemoterápia gyakoribb halasztására van szükség, ezért a dózisintenzitás nem tartható fenn (345).

Az ismételt nagy dózisú (≥ 75 mg/m²) ciszplatín kezelések mellett a nefrotoxikus mellékhatás szintén fontos tényező a klinikai gyakorlatban. Kardiiovaszkuláris, vagy cukorbetegségben szenvedő tüdőrákos betegek körében különösen gyakran jelentkezik jelentős vesefunkciós beszűkülés a ciszplatín mellékhatásaként (407). Nagy dózisú ciszplatín beadása előtt önmagában a szérum-kreatinin koncentráció alapján nem szabad megítélni a vesefunkciót, mindig ki kell számítani - leginkább a Cockcroft-Gault-képlet segítségével - a kreatininclearance értéket és értékelni a vesefunkció csökkenésének mértékét. E mellett biztosítani szükséges a ciszplatinnal kezelendő beteg euvolémiáját, és azt, hogy a kezelés előtt, alatt és utána még napokig minimum 100 ml/óra sódiurézis álljon fenn (sódiourézis: ~1%-os NaCl-koncentrációjú vizelet; elő- és utóhidráció a kemoterápiát megelőző napon, illetve a beadást követően összesen 3,5-4,0 liter sóinfúzióval 3-4 óra alatt). A megfelelő hidrációs ajánlások betartásával a tüdőrákos betegek ciszplatinnal is tartósan kezelhetők maradhatnak.

A tüdőrák kemoterápiája során kialakuló mellékhatásokat vizsgáló tanulmányainkban igazoltuk, hogy a citotoxikus kemoterápiák alkalmazása mellett számos mellékhatás megjelenik, és a szupportív kezelés döntő jelentőségű a dózisintenzitás fenntartásában. Vizsgálatunk szerint idős betegeknél is jól tolerálható a ciszplatín vinorelbin kezelés. A CIA gyakori mellékhatás platina alapú kezeléseknél, de megfelelő EPO terápia mellett kevesebb volt a halasztást igénylő kemoterápiák aránya. A ciszplatín vesetoxicitása

kardiovaszkuláris és metabolikus társbetegségben szenvedőknél kifejezettebb, így ezen betegeknek fokozottabb körütekintést igényel az alkalmazása.

Következő munkánkba igazoltuk, hogy SCLC-ben szenvedők esetében a betegség kimenetele összefüggésbe hozható a tumorsejtek Hsp72 expressziójával. A rákos sejtek csökkent Hsp72 expressziója függött - legalábbis részben -, a Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) gén polimorfizmusától, vagyis a GG genotípusú SCLC pácienseknél a HSP72 fehérje expresszióját alacsonyabbnak láttuk. Míg az A allél hordozása esetén semmilyen különbséget nem találtunk, az A allél hiánya a páciensek túlélésének szignifikáns csökkenését eredményezte vizsgálatunkban.

Korábbi tanulmányok már kimutatták, hogy a különböző gén polimorfizmusok befolyásolhatják a tüdőrák kialakulását (408,409). A Hsp72 polimorfizmus jelentőségét különböző rosszindulatú daganatokban már vizsgálták; azonban SCLC-ben fontossága ezidáig még ismeretlen volt. Vizsgálatunkban először igazoltunk összefüggést a Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) gén polimorfizmusa és a SCLC páciensek túlélése között. A két G allélt hordozóknál szignifikánsan rövidebb volt a betegek túlélése a diagnózis felállításától az A allélt hordozókhoz képest. Immunhisztokémiai analízisünk megerősítette, hogy a GG genotípusú betegekben a tumorsejtek Hsp72 expressziója csökkent az ugyanazon betegek mintáiban látható nem malignus sejtekhez viszonyítva.

Az intracelluláris Hsp72 csökkenése fogékonyabbá teheti a sejteket különböző stresszhatásokra fellépő károsodások iránt. Másrészt a tumorsejtekből felszabaduló Hsp72 serkenti a gazdaszervezet immunrendszerét, ezáltal fokozott tumor ellenes immunitást eredményez (410). Feltételezhető, hogy a Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) génen GG genotípusú SCLC-ben szenvedők alacsony Hsp72 szintje emeli a rák kialakulásának kockázatát, és/vagy hozzájárul a sokkal gyorsabb tumor progresszióhoz.

Adataink szerint SCLC-ben a daganatsejtek Hsp72 általi védelme kisebb jelentőségűnek tűnik, mint az extracelluláris Hsp72 által kiváltott tumor ellenes immunválasz, hisz a GG genotípusú betegekben észlelt alacsonyabb Hsp72 szint gyorsabb daganatprogresszióval, valamint rövidebb túlélési idővel volt összefüggésben. A HSP72 (HSPA1B A(1267)G) GG genotípusú SCLC-ben szenvedők esetén a tüdőrák gyorsabb progressziója mellett, szignifikánsan nőtt a távoli metasztázisok száma is. Hasonló eredményeket írtak le mellrákos betegek esetében, ahol a Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) G allél hordozása hasonlóképpen sokkal gyorsabb tumornövekedéssel volt összefüggésbe hozható (411). A testtömegindexet vizsgálva azt találtuk, hogy a Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) GG genotípusú egyéneknél magasabb volt a

BMI , ami megegyezik korábban publikált adatokkal, mely szerint ez a genotípus összefüggésben áll a kövérségre és a cukorbetegségre való nagyobb hajlammal (412). SCLC betegeinknél a GG genotípus összefüggést mutatott a magasabb BMI értékkel, és negatívan befolyásolta a betegek túlélését.

Eredményeink szerint a Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) GG genotípusú betegekben csökken a daganatsejteknél a Hsp72 expressziója. A Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) polimorfizmusa SCLC betegek túlélésének egy szignifikáns negatív prediktora, a tüdőrák gyorsabb progressziójával és a metasztázisok számának növekedésével jár együtt.

6.3.4. Légúti gyulladás vizsgálata obstruktív tüdőbetegségeken

Inhalációs gyógyszerbevitellel obstruktív tüdőbetegségeken a hatóanyag közvetlenül a hatás helyszínére kerül, így kis dózisok alkalmazására van lehetőség, ami a szisztémás mellékhatások valószínűségét jelentősen csökkenti. Ehhez hajtógázzal, túlnyomással működő adagoló aeroszolok (pMDI) és szárazpor-belégzők (DPI) állnak rendelkezésre (291,292). Az egyes belégzők között - még az azonos csoporton belül is -, jelentős különbségek vannak a készülékek technikai felépítése, a kibocsátott gyógyszer szemcsenagysága és méreteloszlása között, a készülék alkalmazásának egyszerűsége, illetve a készülék által kibocsátott gyógyszer tüdőbe jutó hányadának (tüdőbeli depozíciójának) mértéke között.

Nem kontrollált asztmás betegeknél három, a klinikai gyakorlatban használt ICS-LABA mellett vizsgáltuk a készítmények klinikai hatását. Az extrafinom részecskeméretű BDF/F tartalmazó pMDI és FP/S és BUD/F DPI került összehasonlításra. Korábbi randomizált klinikai vizsgálatok nem igazoltak eltérést a készítmények között a légzésfunkció, rohamoldó kezelés, exacerbációk gyakorisága és biztonságosság tekintetében (413,414). Kiemelendő, hogy ezek a vizsgálatok nem a való életnek megfelelő használatot tükrözték, ahol a beteg egyéni képessége az eszköz használatát tekintve nagyon eltérő lehet. Minden eszköz esetén jelentős egyéni eltérések lehetnek a belégzők használatában, így a pulmonális depozíció és hatásosság nagy szórást mutathat az egyes betegek között (415). Azon inhalátorok esetén kell több technikai hibával számítani, ahol az emittált partikulumok nagyok (416), de e tekintetben nem igazolódott különbség a formulációkban (pMDI vagy DPI) (417).

Vizsgálati eredményeink szerint az asztma kontrollja jelentősen jobb volt BDF/F extrafinom pMDI-t alkalmazó betegeknél, mint a DPI-t használó csoportban. Főleg a nappali tüneti pontszám és a rohamoldó szükséglet volt szignifikánsan kevesebb.

Az asztma mind a centrális, mind a perifériás légutakat érinti (418), így olyan gyógyszerekre van szükség, melyek valamennyi légúti területre lejutathatók (300).

Az alkalmazott ICS-LABA kombinációk közül a BDF/F estében a gyógyszer szemcsék mérete mintegy fele a FP/S és BUD/F DPI-ből emittáltaknak (419). A kisebb szemcseméret miatt a légutakban egyenletesebb eloszlás, ezáltal jobb gyulladáscsökkentő hatás várható. A BDF/F a kisebb légutakba is lejutva járulhatott hozzá az asztmás betegek jobb tüneti kontrolljához.

A légzésfunkció tekintetében nem igazolódott különbség a két formulációban adagolt ICS-LABA között. Való élet vizsgálatunkban a dohányzó asztmás betegek nem kerültek kizárásra, mint a legtöbb klinikai vizsgálat esetén. A dohányosokban az asztma kontroll hasonlóan mutatkozott, mint nem dohányzóknál, de a nem kontrollált asztmások aránya magasabb volt. Mivel a randomizált klinikai vizsgálatokból ezek a betegek általában kizárásra kerülnek, így alig állnak adatok rendelkezésre dohányzó asztmások terápiára adott válaszával kapcsolatban. Ezen betegeknél is a FDP/F hatásosabbnak bizonyult. Vizsgálatunkban a BDF/F kisebb ICS dózisa mellett volt azonos a klinikai hatásosság, mely fontos szempont lehet a terápia megválasztásában a gyakran szteroid fóbiát jelző asztmás betegeknél.

Az inhalációs gyógyszerek aerodinamikai tulajdonságai, a betegek viselkedése és a klinikai hatékonyság adatai alapján az inhalációs gyógyszerbeviteli eszközök egymással nem azonosak azonos kémiai összetevők esetén sem. A beteg inhalációs eszköz preferenciája és a választásba történő bevonása központi jelentőségű a megfelelő adherencia kialakításában, ezért a beteg véleményét figyelembe kell venni. Az azonos hatóanyag tartalmú, de eltérő inhalációs eszközök jelentős terápiás hatékonyságbeli különbséget mutattak való-élet vizsgálatok eredményei szerint (299). Egy másik, való élet vizsgálatban az Easyhaler® eszköz használata kapcsán észlelt hibák számát, illetve a betegek visszajelzései szerint az eszközhasználat egyszerűségét vizsgáltuk obstruktív tüdőbetegeknél. Az inhalátor alkalmazásának 6 lépését ellenőriztük a betegeknél, és kérdőív segítségével elégedettségüket az eszközzel. A betegek jelentős része megfelelően használta az inhalátort már egy bemutatást követően, ismételt bemutatást és oktatást csak a betegek 26 %-a igényelt. A vizsgálat során mind a FEV1, mind a csúcsáramlás jelentősen javult, igazolva az inhalátor megfelelő hatását és a betegek terápiás hűségét (420).

Az in-vivo depozíciós vizsgálatok kivitelezése nagyon költség és időigényes, valamint általában sugárterheléssel jár, így nagyon fontos in-vitro és/vagy matematikai modellek

kidolgozása, melyben egyénre szabottan lehet a gyógyszerek légúti depozícióját tanulmányozni. Az asztma bronchiális inhalatív terápiájában célpontul szolgáló receptorok légzőrendszeri eloszlása változó (300).

Matematikai modellt használó munkánkban a konduktív légutakat tekintettük célterületnek, részben hozzácsatolva a bronchiolus respiratórikusokat. Eredményeink szerint az egyes eszközökön keresztül mért belégzési csúcsáramlás és a rutin légzésfunkció során mért PIF az irodalomban korábban leírtaknak megfelelő összefüggést mutatott a vizsgálatunkban. Ezen adatok alapján a matematikai modellt használva az ET és a bronchiális depozíciós adatokban jelentős eltérések igazolódtak a vizsgált 3 ICS-LABA készítmény tekintetében. Modellünk rávilágított arra, hogy nagy egyéni különbségek lehetnek az egyes eszközök tekintetében a pulmonális depozícióban, mely megteremti az alapját, hogy egyénre szabott mérésekkel optimalizáljuk az gyógyszerválasztást.

Asztmás betegeknél végzett való élet vizsgálatunk eredménye szerint az ICS-LABA gyógyszerformulációk tekintetében jelentős különbségek igazolhatók az asztma kontroll tekintetében. BDF/F pMDI esetén jobb tüneti kontroll volt elérhető, alacsonyabb ICS dózis alkalmazásával, mint a nagyobb partikulumokat adagoló FP/S vagy BUD/F DPI esetén.

Numerikus modellezési tanulmány során sikerült összefüggéseket levezetni a hagyományos spirometriás, és az inhalációs eszközön át történő légzést jellemző paraméterértékek között. Bebizonyosodott, hogy a kísérletekkel megfelelően validált számítógépes modellek alkalmasak az aeroszol gyógyszerek légúti depozícióeloszlásának jellemzésére, akár a jelenleg elérhető képalkotó technikák felbontását túlhaladó szintű skálán is. A komplex numerikus modellezés segítségével lehetőség nyílik a személyre szabott gyógyszerbevitel optimalizálására.

Az asztma légúti gyulladással, nyálkahártya ödémával, és bronchiális hiperreaktivitással jellemezhető krónikus tüdőbetegség. A betegség egyik legfontosabb jellemzője és a diagnosztika alapeleme a reverzibilis obstruktív ventilációs zavar. Leggyakrabban fiatal életkorban kezdődik, vezető tünetei a rohamokban jelentkező nehézlégzés, köhögés, mellkasi nyomásérzés, a tüdők felett hallható sípolás, bűgás. A tünetek hátterében légutak, jelentős részben a kisméretű (<2mm átmérőjű) légutakat érintő kontrollálatlan, általában eozinofil sejtes gyulladásos folyamat áll (291).

A krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) progresszív, nem teljesen reverzibilis légúti szűkülettel járó krónikus gyulladásos légúti megbetegedés. COPD kialakulásában a különböző gázok és partikulumok belégzése kapcsán alakul ki dominálónan neutrofil granulociták és makrofágok által jellemzett légúti gyulladás és következményes főleg a perifériás légutakat érintő szűkület. Európában és hazánkban a COPD kialakulásában a legfontosabb rizikótényező a dohányzás. Általában 40 év felett jelentkezik (292).

A magyar lakosság mintegy harmada dohányos, és az asztmás betegek között is hasonló arányban találunk dohányzó betegeket (421). Ezen betegeken a légúti gyulladás az asztmára jellemző eltérések mellett számos, a COPD-re jellemző elváltozást is mutat. Asztmás betegek mintegy 20 %-ánál igazolható COPD fennállása is (422). A COPD-s betegek körében számos vizsgálat igazolja, hogy sok páciensnél kimutatható allergiás megbetegedés, valamint a légúti obstrukció is jelentősen csökkenthető hörgőtágítókra: vagyis részben reverzibilis a légúti obstrukció (423). Ebben a betegcsoportban a COPD asztmás jellegű tulajdonságokkal is rendelkezik.

Természetesen a fentiekből világos, hogy a légzésfunkció és a légúti variabilitás igazolása, a farmakospirometria (424) a légúti kórképek diagnosztikájának az egyik alapeleme. Bár a vizsgálat egyszerűnek tűnik, mégis a napi gyakorlatban számos olyan buktató jelenhet meg, amely a két kórkép elkülönítését nehezíti (425). Egy új klinikai vizsgálatunkban igazoltuk, hogy DPI salbutamol formulációt alkalmazva a COPD-s betegek jelentős részénél igazolható asztmás mértéket elérő légúti kaliberingadozás (426).

Az asztma és a COPD mindkettő gyakori kórkép így együttes előfordulásuk halmozott előfordulásával is számolni kell. Már a 1960-as években felmerült, hogy az asztma és a COPD a légutakat érintő megbetegedés eltérő megjelenési formája mely „holland hipotézis” –ként vonult be a pulmonológiai köztudatba. Számos tanulmány foglalkozik ezen betegcsoport pontosabb meghatározásával, illetve az asztma és a COPD fenotipizálásával (427).

Ma az irányelvek szerint az asztma és a COPD együttes megjelenése (ACOS) leginkább a klinikai jellemzők alapján meghatározott obstruktív légúti megbetegedési spektrum része, melynek két szélén az asztma és a COPD klasszikus megjelenése áll, míg a két betegség közötti átmenetben helyezhető el az ACOS (428,429). Egy amerikai biztosítótársaság vizsgálata szerint az ACOS jelentősen nagyobb költségű betegcsoport jelent, mint a tisztán asztmában vagy COPD-ben szenvedő betegek. Általában középkorú populáció érintett és a költségek legjelentősebb része kórházi kezelés 430.

Tekintve, hogy egy problémás, definíciójában is nehezen meghatározható betegcsoportról van szó, így nagyon nagy az igény a betegség kialakulásában szerepet játszó faktorok meghatározására.

Vizsgálatunkban elsőként igazoltuk, hogy az ACOS-os betegek körében gyakori a D vitamin hiánya, mely hasonlóan kimutatható volt COPD-s betegeknél, de asztmásokban inkább csak a D vitamin szint mérsékelt csökkenése igazolódott. Egészséges kontrollok esetében is alacsonyabb D vitamin szint Magyarországi jellemzőnek tekinthető (431).

A betegek leginkább idősebb korosztályból kerültek ki, ahol ismert a D vitamin szint csökkenése (432,433) Többszörös regressziós analízist alkalmazva a kor nem volt a D vitamin hiány rizikófaktora, míg az obstruktív tüdőbetegségek mind rizikófaktorként jelentkeztek. Súlyos COPD esetén az életminőséget a betegség legmarkánsabb tünete, a nehézlégzés rontja. Ezért a betegek kevesebbet mozognak, így kevesebb is a szabadban töltött idő, mely hozzájárulhatott a vitaminhiányhoz (434,435,436).

Az összes obstruktív tüdőbeteg tekintetében a D vitamin szint összefüggést mutatott a légzésfunkció során mért obstrukciót jellemző paraméterekkel. ACOS-os betegeknél mind az ACT, mind a CAT jelentős életminőség romlás mutatott más tanulmányokhoz hasonlóan (437). ACOS-os betegeknél a nehézlégzés mértéke nem érte el a COPD-s betegekét, így maga a diszpnoe kevésbé lehetett a D-vitamin hiány fő oka. Az ACOS esetén észlelt rosszabb tüneti pontszámok (CAT és ATC) ebben a betegcsoportban szoros összefüggést mutattak a D vitamin szintjével, mely alapján feltételezhető, hogy ezen betegeknél ez a vitamin fontosabb életminőséget meghatározó paraméter, összehasonlítva asztmás vagy COPD-s betegekkel.

A D vitamin megfelelő pótlása egy lehetséges megoldás az állapot kezelésére. Asztmás betegeknél a D vitamin szupplementáció kedvező hatását igazolták (438,439), így feltételezhető, hogy ACOS esetén is javíthatja az életminőséget, és akár a légzésfunkciót.

A vizsgálat limitációja, hogy keresztmetszeti vizsgálat, és hogy a COPD-s betegek mind a legsúlyosabb (D) csoportból származtak. Hosszú távú követés és D vitamin pótlás hatásának a vizsgálata adhatna választ arra, hogy a vizsgálatunkban észlelt eltérések betegségspecifikusnak tekinthetők-e, és hogy a kezelés mennyiben hatásos.

Korábban az ACOS-os betegeket vagy súlyos (nem kontrollált) asztmás, vagy tünetes COPD-s betegekként kezelték. Ma az ACOS egy új entitás, melynek klinikai jellemzésére nagy az igény. Vizsgálatunkban először igazoltuk, hogy ezen betegeknél jelentős arányban kimutatható D vitamin hiány. A D vitamin szintje szoros összefüggést mutatott a légúti betegeknél az obstrukciós paraméterekkel. Új megfigyelés, hogy ACOS esetén mind a CAT, mind az ACT szoros összefüggést mutatott a D vitamin szintjével, mely asztmásoknál is jól korrelált az ACT-vel, de hasonló összefüggés COPD-s betegeknél CAT tekintetében nem volt igazolható.

Az SLE-ben igazolható tüdőeltérésekről az irodalmi adatok nem egységesek. Leggyakrabban a diagnosztikus kritériumok között is szereplő szerozitisz részeként pleurális érintettség igazolható (440). SLE-s betegekben 4-70 %-ban mutattak ki diffúz tüdőbetegséget, mely egyértelműen igazolja egységes diagnosztikus kritériumok hiányát (441). Az SLE-s betegek kevesebb, mint 2 %-ban jelentkező akut lupus pneumonitisz 50 %-os mortalitással jár. Sok esetben nehezen igazolható a diffúz alveoláris hemorrhágia. Extrapulmonális restriktív – zsugorodó tüdő (angol szakirodalomban használt kifejezése „shrinking lung”) - jól ismert pulmonalis komplikáció SLE-ben. A rekszmozgás zavarát terhelési dyspnoe, restriktív ventilációs zavar és jelentős DLco csökkenés jellemzi (442). A betegek közel 10 %-ában igazolható pulmonális hipertónia, főleg az antifoszfolipid szindrómával járó esetekben (443). SLE-ben az irodalomban viszonylag keveset vizsgált és észlelt pulmonalis eltérés az obstruktív ventilációs zavarral járó bronchiolitis obliterans.

Viszgálatunkban az SLE-s betegek jelentős részénél (92%) igazoltunk pulmonális manifesztációt, mely jelentős tünetekkel, ezen belül leginkább nehézlégzéssel járt.

A pulmonális komplikációk magas arányát magyarázhatja, hogy a betegek klinikánkat mint autoimmun pulmonális tüdőbetegségekre specializált országos központot keresték fel. A leggyakrabban légzésfunkciós eltérést igazoltunk, mely mind obstruktív, mind restriktív, mind kombinált ventilációs zavart jelenthetett. Ez igazolja, hogy a légzésfunkciós vizsgálat fontos eleme az SLE-s betegek szisztémás, ezen belül pulmonális érintettségének vizsgálataiban. A betegségaktivitást mutató betegeknél gyakrabban fordult elő intersticiális tüdőbetegség, mely felveti, hogy az egyéb intersticiális tüdőfolyamatokban is szerepe lehet a vizsgált immunválaszoknak (444). A légzésfunkciós vizsgálatok és a DLco meghatározása rutin, olcsó, nem invazív pulmonológiai metodikának tekinthető, így rendszeres elvégzése javasolt szisztémás autoimmun kórképben szenvedőknél. Longitudinális vizsgálatok további információt adhatnak, hogy mely tényezők befolyásolják elsődlegesen a pulmonális érintettség kialakulását és/vagy progresszióját.

Az obstruktív tüdőbetegségek immunológiai jellemzésére speciális modellként szolgálnak olyan kórállapotok, ahol az alapbetegség (vagy állapot) jelentős immunológiai eltérésekkel jár. Az itt bekövetkező eltérések, vagy a klasszikus obstruktív tüdőbetegségek esetén észlelt immunfolyamatok közötti különbségek segíthetik a tüdőt érintő elváltozások jobb megismerését. Erre jó példa a terhesség (igazoltan Th2 típusú immunállapot) alatt az asztmás vizsgálat. A munkacsoport több értékes tanulmányban igazolta, hogy asztmás nőknél a terhesség során a normálistól eltérő immunválasz alakul ki, mely mind az asztma, mind a terhesség kimenetelét befolyásolhatja (445,353,354,376). Hasonló modell a

transzplantáció, ahol az allograft és a recipiens immunfolyamatai befolyásolják az immunrendszer sejtjeit, illetve ezekben a citokinek termelődését (446,447). Ezért értékes modell az autoimmun betegek pulmonális manifesztációinak vizsgálata és a háttérben álló lehetséges perifériás T sejt válasz jobb megismerése.

A perifériás vérben csökkent a Th2, míg nem változott a Th1 mennyisége, így SLE-ben nőtt a Th1/Th2 arány, mely korábbiaknak megfelelő megfigyelés (448,449). A Th17, Treg és a Th17/Treg arány szignifikánsan csökkent minden SLE-s betegben. A Th 17 sejtek kimutatásának nincs egységes protokollja. Vizsgálatunk igazolta a CD4+CCR4+CCR6+ sejtfelszíni markerekkel kimutatott Th17 sejtek szerepét először SLE pulmonalis manifesztációjában. A Th17 sejtek jelentőségéről SLE-ben ellentmondásos eredmények állnak rendelkezésre (450). Felmerült a sejtek SLE-ben észlelhető krónikus gyulladást fenntartó szerepe. A másik oldalról, pulmonológiai folyamatokban is igazolták a Th17 gyulladást fokozó hatását (451,452), de az SLE okozta pulmonális eltérések tekintetében eddig nem rendelkezünk adatokkal.

Vizsgálatunkban először igazoltunk pozitív összefüggést a perifériás CD4+CD25hi+ T sejtek, a légzésfunkciós paraméterek (FVC, FEV1 and FEF25-75) és DLco között, mely felveti ezen sejtek szerepét a tüdő specifikus immunológiai folyamatokban. Míg ez a szubpopuláció jellegzetesen változott, addig a Treg sejtek számában nem volt eltérés a két SLE-s alcsoportban. Korábbi vizsgálatokban SLE csökkent Treg sejtszámmal és funkciócsökkenéssel járt (453,454,455), a szteroid kezelés pedig általában emelte a Treg sejtek számát (456). Vizsgálatunkban szinte minden beteg szteroid kezelésben részesült, és az SLEpulm csoportban nagyobb dózist kaptak a betegek, mint az SLEc csoportban. A Treg sejteknek számos típusa ismert. SLEpulm betegeknél a CD4+CD25hi+ T sejteken belül a Treg (CD4+CD25hi+CD127-) sejtek száma nem változott, vagyis ezen a sejtcsoporton belüli egyéb sejtek változása jellemzi az SLE pulmonális manifesztációját. Dohányzás és COPD esetében is igazolták a CD4+CD25hi+ sejtek magasabb arányát a BAL-ban, mely ezen nem regulatórikus sejtek pulmonológiai betegségek kialakulásában/fenntartásában betöltött lehetséges szerepére utal (457,458). SLE-s betegeinknél a dohányzás szerepe felmerül az észlelt T sejt alcsoport jellegzetes eltéréseinek háttérében, azonban nem dohányzóknál is azonos irányú válasz jelentkezett az SLEpulm csoportban.

SLE-s betegeken végzett vizsgálataink rámutattak, hogy a betegek jelentős részénél igazolható pulmonális manifesztáció. A légzésfunkciós paraméterek tekintetében az FVC, FEV1, FEF25-75 és a DLco is szignifikánsan alacsonyabb volt SLEpulm betegeknél az SLEc páciensekkel összehasonlítva. A perifériás T sejtek tekintetében igazoltuk a

Th1/Th2 arány szignifikáns emelkedését, míg a Th17/Treg arány szignifikánsan csökkent az SLE-s betegeknél. Míg a Treg (CD4+CD25hi+CD127-) sejtek száma valamennyi SLE-s betegnél csökkent, addig a CD4+CD25hi+ sejtek aránya a pulmonális manifestációt kísérő SLE-ben jellegzetesen nőtt. A CD4+CD25hi+ sejtek száma a pulmonális manifestáció légzésfunkciós súlyosságával arányosan változott.

7. Eredmények összefoglalása

1. A szervek átültetése során mindig fennálló I/R károsodás mennyiben különbözik a két nemben?

I/R okozta vesekárosodásban nemi különbség igazolható, melynek háttérében részben nemi hormonok hatása áll. I/R-t követően hímekben kialakuló jelentős renális vazokonstriktio elhúzódó hipoxiát (celluláris stresszhatást) eredményez. E folyamat háttérében az endotelin központi fontosságú, hiszen hím állatokban endotelin receptor gátló alkalmazásával javítható a túlélés. Az I/R noxára kialakuló sejtkárosodásban észlelt nemi különbségek háttérében igazoltuk az NKA, a Hsp72 és az SGK-1 szerepét, valamint az EPO terápia ezen fehérjéken keresztül megvalósuló protektív hatását.

2. Transzplantációt követően a nem és a nemi hormonok mennyiben befolyásolják a szerv akut és krónikus kilökődését, valamint a graftfunkciót?

A transzplantátum krónikus kilökődését a nem és a nemi hormonok befolyásolják. A hím vese működése javul tesztoszteron hiányában, míg a nőstény vese megfelelő működéséhez az ösztadiol elengedhetetlennek tűnik. A női nem rizikót jelent az akut rejekció és az akcelerált krónikus rejekció kialakulására, így csak magasabb dózisú CsA és/vagy RAPA kezeléssel védhető ki a kezdeti immunreakció.

3. Különböző immunszuppresszív és sejtprotektív kezelések hogyan befolyásolják a transzplantált szerv kilökődését?

Magas dózisú RAPA kezelés hímeknél jelentősebb hosszú távú graftkárosodással jár CsA-val összevetve. Míg a CsA terápiának a renális nNOS és eNOS expresszióra nincs komolyabb hatása, a RAPA kezelés párhuzamosan a kortikális nNOS fehérje expresszió teljes gátlásával, hosszú távon rosszabb graftfunkciót eredményezett mindkét nemben. Az általunk összeállított endotélprotektív perfúziós oldat isograftokban a vizsgált követési szakban nem befolyásolta jelentősen a vesefunkciót.

4. A szerv funkcionális szövetének csökkenése mennyiben befolyásolja a szerv hosszútávú működést és mely celluláris mechanizmusok állnak a háttérben?

A vese funkcionális szövetmennyiségének csökkentése a noxákra érzékenyebb állattörzsekben gyors progressziójú szervkárosodást eredményezett. A renális funkció megfelelő biztosításában a renális NOS rendszereknek kiemelt jelentősége van: mind az

eNOS, mind az nNOS fontos szerepet játszik a stresszhatást követően a szerv alkalmazkodásában.

5. Dohányfüst hatására hogyan változik az epitél sejtek sejtprotektív Hsp72 rendszere szteroidkezelés mellett?

Alveoláris epitélsejteken a CSE jelentősen növeli a sejtek apoptózist és nekrozist. DEX csökkenti az apoptózist, ezáltal mérsékli a CSE indukálta sejtkárosodást. Vizsgálatunkban elsőként igazoltuk a Hsp72 kulcsfontosságú szerepét az epitélsejtek túlélésében DEX - CSE együttes kezelés esetén. A transzfekciós kísérleteink igazolták, hogy a dohányfüst káros hatását mérséklő DEX a celluláris Hsp72-n keresztül fejti ki védő hatását. Vizsgálatunk szerint a Hsp72 potenciális terápiás célpont a dohányfüstnek kitett tüdősejtek védelmének fokozásában.

6. Citotoxikus kemoterápia mellékhatásai milyen gyakoriak tüdőrákos betegekben?

A tüdőrákban alkalmazott citotoxikus kemoterápiák számos mellékhatással járnak, így a szupportív kezelés döntő jelentőségű a dózisintenzitás fenntartásában. Vizsgálatunk szerint idős betegeknek is jól tolerálható a ciszplatin vinorelbin kezelés. A CIA gyakori mellékhatás platina alapú kezeléseknél, de megfelelő EPO terápia mellett kevesebb volt a halasztást igénylő kemoterápiák aránya. A ciszplatin vesetoxicitása kardiovaszkuláris és metabolikus társbetegségben szenvedőknél kifejezettebb.

7. Milyen hatása van a Hsp72 rendszernek kissejtes tüdődaganatok túlélésében?

A Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) GG genotípusú SCLC betegekben csökken a daganatsejtekben a Hsp72 expressziója. A Hsp72 (HSPA1B A(1267)G) polimorfizmusa SCLC betegek túlélésének egy szignifikáns negatív prediktora, a tüdőrák gyorsabb progressziójával és a metasztázisok számának növekedésével jár együtt.

8. Asztmás betegeknek mennyiben különbözik az ICS-LABA kombinációk klinikai hatásossága és milyen lehetséges összefüggést mutat a pulmonális depozícióval?

Asztmás betegeknek végzett való élet vizsgálatunk eredménye szerint az ICS-LABA gyógyszerformulációk tekintetében jelentős különbségek igazolhatók az asztma kontroll tekintetében. BDF/F pMDI esetén jobb tüneti kontroll volt elérhető, alacsonyabb ICS dózis alkalmazásával, mint a nagyobb partikulumokat adagoló FP/S vagy BUD/F DPI esetén.

Numerikus modellezési tanulmányunkban a spirometriával meghatározott, és az inhalációs eszközön át történő légzést jellemző paraméterérték jó összefüggést mutatnak. A számítógépes modellek alkalmasak az aeroszol gyógyszerek légúti depozícióeloszlásának jellemzésére, így a komplex numerikus modellezés segítségével lehetőség nyílik a személyre szabott gyógyszerbevitel optimalizálására.

- 9. Asztma, COPD és ACOS esetében milyen hatása van a D vitaminnak a légúti obstrukcióra és a betegek tüneteire?**

Az ACOS egy új klinikai entitás, melynek jellemzésére nagy az igény. Vizsgálatunkban először igazoltuk, hogy ezen betegeknél jelentős arányban kimutatható D vitamin hiány, mely szoros összefüggést mutatott a légúti betegeknél az obstrukciós paraméterekkel, valamint mind a CAT, mind az ACT életminőségi teszttel.

- 10. Mely pulmonális manifesztációk jellemzőek SLE-ben, és ezt milyen perifériás T sejt változások kísérik?**

SLE-s betegek jelentős részénél igazolható pulmonális manifesztáció, mely csökkent funkcionális paraméterekkel jár. A perifériás vérben szingifikánsan nő a Th1/Th2, csökken a Th17/Treg arány SLE-ben, a pulmonális manifesztációval járó esetekben a CD4+CD25hi+ sejtek aránya emelkedett és a légzésfunkció súlyosságával arányosan változott.

8. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki Dr. Losonczy György professzor úrnak, aki elindított a tudományos pályán és folyamatosan segíti munkámat a mai napig. Munkáim elkészítésében, a tudományos kérdések felvetésében és kritikus megválaszolásában nyújtott segítségével köszönettel tartozom külföldi tanítómestereimnek Prof. Dr. Uwe Heemann-nak és Prof. Dr. Chris Baylis-nek. A klinikusi pályán Dr. Magyar Pál professzor indított el, tőle tanultam a betegellátás mindenre kiterjedő igényességét és a tudományos munkához való kapcsolásának lehetőségét.

A kísérletek mindig kiváló kollégákkal alkotott munkacsoportok eredményeit tükrözik. Hálás vagyok a sok együtt töltött óráért, amit idősebb és fiatalabb munkatársaim, sok esetben diákjaim szántak a tudományos kíváncsiság és tudásvágy jegyében született eredmények megismeréséért. Köszönöm pácienseim mindig odaadó együttműködését és szeretetüket, mellyel mindennapi munkám során körülvesznek.

Köszönettel tartozom a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján dolgozó valamennyi orvostársnak, ápolónak és asszisztensnek, hogy segítik a mindennapi klinikusi munkám mellett a klinikai és kísérletes tudományos tevékenységemet. Hasonlóan hálával tartozom munkáimban nyújtott segítségért az Esseni Egyetem Nephrológiai és Transzplantációs Részlegén, a Münchener Egyetem Nephrológiai Részlegén, a Morgantowni Egyetem Élettani Intézetében, a Semmelweis Egyetem I. Sz. Gyermekklinikáján, Kórélettani Intézetében és az Élettani Intézetben, az MTA Wigner Fizikai Kutatóközpontban, MTA Energiatudományi Kutatóközpontban, az Országos Korányi és Tbc Pulmonológiai Intézetben, a Charles University és a Debreceni Egyetemen velem dolgozó munkatársaknak. Köszönöm mai napig lelkes munkájukat és együttműködésüket Dr. Tamási Lillának, Dr. Bohács Anikónak, Dr. Eszes Noéminek, Dr. Vincze Krisztinának, Dr. Fekete Andreának, Dr. Rusai Krisztinának, Dr. Vannay Ádámnak, Dr. Gál Krisztinának, Dr. Komlósi Zsoltnak, Dr. Szondy Klárának, Dr. Lukácsovits Józsefnek, Dr. Kovács Zsuzsannának, Dr. Odler Baláznak és a kutatási munkákban aktívan résztvevő tudományos diákkörös hallgatóimnak.

A legtöbb köszönet és hála azonban Dr. Szabó Attilát, férjemet és kutatótársamat illeti, aki nem csak a tudományos kérdések felvetésében és megvalósításában, hanem az élet valamennyi területén a legtöbbet adta nekem. Köszönöm szüleim és gyermekeim megértő türelmét és támogatását, akik külön értelmet adnak munkáimnak. Hálásan köszönöm barátaim megértő szeretetét mellyel vidámságot adnak a mindennapoknak.

9. Megjelent saját közlemények bibliográfiai adatai

9.1. A disszertáció témájában a PhD értekezést követően megjelent első- vagy utolsószerzős közlemények.

Közlemény	IF	Független idézet
Odler B, Ivancsó I, Somogyi V, Benke K, Tamási L, Gálffy G, Szalay B, Müller V. Vitamin D deficiency is associated with impaired disease control in asthma-COPD overlap syndrome patients. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2015 Sep 24;10:2017-25.	3,141#	
Vincze K, Kovats Z, Cseh A, Pasti K, Kiss E, Polgar A, Vasarhelyi B, Szabo AJ, Bohacs A, Tamasi L, Losonczy G, Müller V. Peripheral CD4+ cell prevalence and pleuropulmonary manifestations in systemic lupus erythematosus patients. Respir Med. 2014 May;108(5):766-74.	3,086	1
Szondy K, Rusai K, Szabó AJ, Nagy A, Gal K, Fekete A, Kovats Z, Losonczy G, Lukacsovits J, Müller V. Tumor cell expression of heat shock protein (HSP) 72 is influenced by HSP72 [HSPA1B A(1267)G] polymorphism and predicts survival in small Cell lung cancer (SCLC) patients. Cancer Invest. 2012 May;30(4):317-22.	2,238	2
Tamási L*, Müller V*, Eszes N, Kardos T, Budai M, Vincze K, Losonczy G, Szilasi M. Patterns of erythropoiesis-stimulating agent use for chemotherapy-induced anemia in lung cancer: results of a retrospective Hungarian real-life clinical data analysis. Expert Opin Drug Saf. 2011 Jul;10(4):503-7. (* equo loco)	3,015	1
Gál K, Cseh A, Szalay B, Rusai K, Vannay A, Lukácsovits J, Heemann U, Szabó AJ, Losonczy G, Tamási L, Müller V. Effect of cigarette smoke and dexamethasone on Hsp72 system of alveolar epithelial cells. Cell Stress Chaperones. 2011 Jul;16(4):369-78.	3,013	7
Müller V, Gálffy G, Eszes N, Losonczy G, Bizzi A, Nicolini G, Chrystyn H, Tamási L. Asthma control in patients receiving inhaled corticosteroid and long-acting beta2-agonist fixed combinations. A real-life study comparing dry powder inhalers and a pressurized metered dose inhaler extrafine formulation. BMC Pulm Med. 2011 Jul 15;11:40.	-	27

Kovats Z, Sütto Z, Muraközy G, Bohacs A, Czebe K, Lang G, Renyi-Vamos F, Klepetko W, Müller V. Airway pathogens during the first year after lung transplantation: a single-center experience. Transplant Proc. 2011 May;43(4):1290-1.	1,005	10
Muller V, Tain YL, Croker B, Baylis C. Chronic nitric oxide deficiency and progression of kidney disease after renal mass reduction in the C57Bl6 mouse. Am J Nephrol. 2010;32(6):575-80.	2,658	4
Gombos P, Langer RM, Korbely R, Varga M, Kaposi A, Dinya E, Müller V. Smoking following renal transplantation in Hungary and its possible deleterious effect on renal graft function. Transplant Proc. 2010 Jul-Aug;42(6):2357-9.	0,993	5
Tain YL*, Muller V*, Szabo AJ, Erdely A, Smith C, Baylis C. Renal cortex neuronal nitric oxide synthase in response to rapamycin in kidney transplantation. Nitric Oxide. 2008 Feb;18(1):80-6. (* equo loco)	2,650	6
Muller V, Szabo AJ, Erdely A, Tain YL, Baylis C. Sex differences in response to cyclosporine immunosuppression in experimental kidney transplantation. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2008 May;35(5-6):574-9.	2,196	8
Müller V, Losonczy G, Heemann U, Vannay A, Fekete A, Reusz G, Tulassay T, Szabó AJ. Sexual dimorphism in renal ischemia-reperfusion injury in rats: possible role of endothelin. Kidney Int. 2002 Oct;62(4):1364-71.	5,016	62

MTMT lezárást követően megjelent közlemény, nem szerepel az összesítésben.

Összesített impakt faktor: 25,870*

Független idézettség: 133

*MTMT nem számolta az equo loco közleményeket

9.2. A disszertáció témájában a PhD értekezést követően megjelent társszerzős nemzetközi közlemények.

Közlemény	IF	Független idézet
Farkas A, Jókay A, Fűri P, Balásházy I, Müller V, Odler B, Horváth A. Computer Modelling as a Tool in Characterization and Optimization of Aerosol Drug Delivery. Aerosol and Air Quality Research, x: 1–9, xxxx (publikációra elfogadva)	2.094#	
Rusai K, Prokai A, Juanxing C, Meszaros K, Szalay B, Pásti K, Müller V, Heemann U, Lutz J, Tulassay T, Szabo AJ. Dexamethasone protects from renal ischemia/reperfusion injury: a possible association with SGK-1. Acta Physiol Hung. 2013 Jun;100(2):173-85.	0,747	3
Eszes N, Bohács A, Cseh A, Toldi G, Bikov A, Ivancsó I, Müller V, Horváth I, Rigó J Jr, Vásárhelyi B, Losonczy G, Tamási L. Relation of circulating T cell profiles to airway inflammation and asthma control in asthmatic pregnancy. Acta Physiol Hung. 2012 Sep;99(3):302-10.	0,882	1
Polgár A, Rózsa C, Müller V, Matolcsi J, Poór G, Kiss EV. Devic's syndrome and SLE: challenges in diagnosis and therapeutic possibilities based on two overlapping cases. Autoimmun Rev. 2011 Jan;10(3):171-4.	6,624	14
Máthé C, Bohács A, Duffek L, Lukácsovits J, Komlosi ZI, Szondy K, Horváth I, Müller V, Losonczy G. Cisplatin nephrotoxicity aggravated by cardiovascular disease and diabetes in lung cancer patients. Eur Respir J. 2011 Apr;37(4):888-94	5,895	7
Toldi G, Molvarec A, Stenczer B, Müller V, Eszes N, Bohács A, Bikov A, Rigó J Jr, Vásárhelyi B, Losonczy G, Tamási L. Peripheral T(h)1/T(h)2/T(h)17/regulatory T-cell balance in asthmatic pregnancy. Int Immunol. 2011 Nov;23(11):669-77.	3,415	20
Prókai A, Fekete A, Bánki NF, Müller V, Vér A, Degrell P, Rusai K, Wagner L, Vannay A, Rosta M, Heemann U, Langer RM, Tulassay T, Reusz G, Szabó AJ. Renoprotective effect of erythropoietin in rats subjected to ischemia/reperfusion injury: gender differences. Surgery. 2011 Jul;150(1):39-47.	3,103	7

Rusai K, Prókai A, Szebeni B, Mészáros K, Fekete A, Szalay B, Vannay Á, Degrell P, Müller V, Tulassay T, Szabó AJ. Gender differences in serum and glucocorticoid regulated kinase-1 (SGK-1) expression during renal ischemia/reperfusion injury. <i>Cell Physiol Biochem</i> 2011;27:727-38.	2,857	4
Tamási L, Horváth I, Bohács A, Müller V, Losonczy G, Schatz M. Asthma in pregnancy--immunological changes and clinical management. <i>Respir Med.</i> 2011 Feb;105(2):159-64.	2,475	9
Rusai K, Prókai A, Szebeni B, Fekete A, Treszl A, Vannay A, Müller V, Reusz G, Heemann U, Lutz J, Tulassay T, Szabó AJ. Role of serum and glucocorticoid-regulated kinase-1 in the protective effects of erythropoietin during renal ischemia/reperfusion injury. <i>Biochem Pharmacol.</i> 2010 Apr 15;79(8):1173-81.	4,889	7
Bohács A, Cseh A, Stenczer B, Müller V, Gálffy G, Molvarec A, Rigó J Jr, Losonczy G, Vásárhelyi B, Tamási L. Effector and regulatory lymphocytes in asthmatic pregnant women. <i>Am J Reprod Immunol.</i> 2010 Dec;64(6):393-401.	2,451	3
Bohács A, Pállinger E, Tamási L, Rigó J Jr, Komlósi Z, Müller V, Dong Y, Magyar P, Falus A, Losonczy G. Surface markers of lymphocyte activation in pregnant asthmatics. <i>Inflamm Res.</i> 2010 Jan;59(1):63-70.	2,004	6
Szilasi M, Müller V, Juhász E, Magyar P, Budai M, Tamási L. Cisplatin-vinorelbine chemotherapy in non-small cell lung cancer is safe and well tolerated: results of a retrospective Hungarian clinical data analysis. <i>Expert Opin Drug Saf.</i> 2009 Jan;8(1):9-14.	2,496	2
Szabo AJ, Muller V, Chen GF, Samsell LJ, Erdely A, Baylis C. Nephron number determines susceptibility to renal mass reduction-induced CKD in Lewis and Fisher 344 rats: implications for development of experimentally induced chronic allograft nephropathy. <i>Nephrol Dial Transplant</i> 2008;23:2492-5.	3,568	17
Rusai K, Fekete A, Szebeni B, Vannay A, Bokodi G, Müller V, Viklicky O, Bloudickova S, Rajnoch J, Heemann U, Reusz G, Szabó A, Tulassay T, Szabó AJ. Effect of inhibition of neuronal nitric oxide synthase and L-arginine supplementation on renal ischaemia-reperfusion injury and the renal nitric oxide system. <i>Clin Exp Pharmacol Physiol.</i> 2008 Oct;35(10):1183-9.	2,196	5
Fekete A, Vannay A, Vér A, Rusai K, Müller V, Reusz G, Tulassay T,	4,199	22

Szabó AJ. Sex differences in heat shock protein 72 expression and localization in rats following renal ischemia-reperfusion injury. <i>Am J Physiol Renal Physiol</i> 2006;291:F806-11.		
Tain YL, Muller V, Szabo A, Dikalova A, Griendling K, Baylis C. Lack of long-term protective effect of antioxidant/anti-inflammatory therapy in transplant-induced ischemia/reperfusion injury. <i>Am J Nephrol.</i> 2006;26(3):213-7.	2,879	5
Tamási L, Bohács A, Pállinger E, Falus A, Rigó J Jr, Müller V, Komlósi Z, Magyar P, Losonczy G. Increased interferon-gamma- and interleukin-4-synthesizing subsets of circulating T lymphocytes in pregnant asthmatics. <i>Clin Exp Allergy.</i> 2005 Sep;35(9):1197-203.	3,553	17
Fekete A, Vannay A, Vér A, Vásárhelyi B, Müller V, Ouyang N, Reusz G, Tulassay T, Szabó AJ. Sex differences in the alterations of Na(+), K(+)-ATPase following ischaemia-reperfusion injury in the rat kidney. <i>J Physiol</i> 2004;555:471-80.	4,346	29
Erdely A, Wagner L, Müller V, Szabo A, Baylis C Protection of Wistar Furth rat from renal disease is associated with maintained renal nitric oxide. <i>J AM Soc Nephrol</i> 2003;14: 2526-2533.	7,499	40
Hamar P, Szabó A, Müller V, Heemann U. The involvement of activated T cells and growth-factor production in the early and late phase of chronic kidney allograft nephropathy in rats. <i>Transpl Int.</i> 2002 Oct;15(9-10):446-54.	2,520	9
Viklický O, Müller V, Zou H, Szabó A, Vitko S, Heemann U. RAD reduces compensatory renal graft hypertrophy in a rat model of chronic rejection. <i>Transplant Proc.</i> 2001 May;33(3):2320-1.	0,568	5
Hamar P, Szabó A, Müller V, Heemann U. Involvement of interleukin-2 and growth factors in chronic kidney allograft rejection in rats. <i>Transplant Proc.</i> 2001 May;33(3):2160-2.	0,568	4
Heemann U, Szabo A, Hamar P, Müller V, Witzke O, Lutz J, Philipp T. Lipopolysaccharide pretreatment protects from renal ischemia/reperfusion injury: possible connection to an interleukin-6-dependent pathway. <i>Am J Pathol.</i> 2000 Jan;156(1):287-93.	6,971	91
Viklický O, Zou H, Müller V, Lacha J, Szabó A, Heemann U. SDZ-RAD prevents manifestation of chronic rejection in rat renal allografts. <i>Transplantation.</i> 2000 Feb 27;69(4):497-502.	4,035	71

Hamar P, Liu S, Viklický O, Szabó A, Müller V, Heemann U. Cyclosporine A and azathioprine are equipotent in chronic kidney allograft rejection. Transplantation. 2000 Apr 15;69(7):1290-5.	4,035	5
Losonczy G, Kriston T, Szabó A, Müller V, Harvey J, Hamar P, Heemann U, Baylis C. Male gender predisposes to development of endotoxic shock in the rat. Cardiovasc Res. 2000 Jul;47(1):183-91.	3,783	35

MTMT lezárást követően megjelent közlemény, nem szerepel az összesítésben.

Összesített impakt faktor: 88,558

Független idézettség: 438

9.3. A disszertáció témájában a PhD értekezést követően megjelent magyar nyelvű közlemének.

Közlemény	IF	Független idézet
Tamási L, Müller V. A tüdő neuroendokrin daganatainak tünetei és diagnosztikája. Orvosi Hetilap 2011; 152 : 366-370.		1
Müller V, Tamási L, Gálffy G, Losonczy G. Tüdőrák miatt kemoterápiában részesített betegek szupportív kezelése a mindennapi gyakorlatban. Magyar Onkológia 2012; 56: 159-65.		1
Jokay Á, Farkas Á, Füri P, Balásházy I, Horváth A, Müller V. Az asztma kezelésében néhány gyakran használt kombinált aeroszol gyógyszer (ICS-LABA) légúti kiülepedéseloszlásának numerikus modellezése. Medicina Thoracalis 2015; 68: 46-57.		
Müller V, Horváth G, Tamási L, Eszes N, Bohács A, Vincze K, Kovács Z, Lázár Z, Odler B, Kornafeld A, Erdélyi T, Somogyi V, Losonczy G. Obstruktív tüdőbetegségekben alkalmazott inhalációs gyógyszerek célpontjai: receptorok a légúti felszín sejtjein. Medicina Thoracalis 2015; 68: 6-12.		
Tamási L, Balikó Z, Bálint B, Bártfai Z, Bauknecht É, Böszörményi Nagy Gy, Csoma Zs, Gálffy G, Herjavec I, Horváth I, Losonczy Gy, Márk Zs, Müller V, Somfay A, Szilasi M. Egészségügyi szakmai irányelv - Az asthma bronchiale diagnosztikájának, kezelésének és orvosi gondozásának alapelveiről felnőttkorban. Medicina Thoracalis 2014; 67: 3-38.		
Müller V, Tamási L, Somfay A, Kovács G, Losonczy Gy. Az eltérő inhalációs eszközökből adagolt azonos hatóanyagú készítmények közötti különbségek. Medicina Thoracalis. 2012; 65: 329-335.		
Müller V, Gálffy G, Tamási L. Asthma bronchiale és krónikus obstruktív tüdőbetegség együttes megjelenése. Orv Hetil 2011; 152: 114-8.		
Müller V. Leszokás speciális esetekben. In: Kovács Gábor: Dohányzás és leszokás. Medicina Könyvkiadó Zrt, 2010., 353-358. o.		
Kovács Zs, Gál K, Tamási L, Müller V. A 72 kDa súlyú indukálható hő sokkfehérje (Hsp72) szerepe és lehetséges terápiás felhasználhatósága pulmonológiai kórképekben. Medicina Thorcalis 2010; 63: 258-263.		

Tamási L, Müller V, Magyar P. Aprepitant a tüdőrák kemoterápiája okozta hányinger és hányás megelőzésében. Magyar Onkológia 2008; 52: 179-83.		
Tamási L, Müller V, Magyar P, Losonczy G. Kissejtes tüdőrákban szenvedő betegek hatékony eritropoetikus protein kezelése - Saját tapasztalatok. Magyar Onkológia 2008; 52: 43-6.		
Gyulai N, Orosz M, Somoskövi Á, Losonczy G, Wollák A, Bohács A, Magyar P, Müller V. Dohányzási szokások egy tüdőgyógyászati intézmény dolgozóinak körében. Medicina Thoracalis 2006; 59: 67-70.		
Müller V, Kováts Zs, Tamási L. A dohányfüst hatásai az immunrendszerre. Medicina Thoracalis 2007; 60: 27-33.		
Müller V. Dohányzásleszokás segítése a háziorvosi gyakorlatban. Háziorvosi továbbképző szemle. 2007; 12: 138-143.		
Müller V. A krónikus obstruktív tüdőbetegség rizikótényezői. A betegség kialakulásában szerepet játszó mechanizmusok. Praxis. 2005; 14: 40-45.		
Müller V. Dohányfüst okozta immunológiai folyamatok a tüdőben. Allergológia és Klinikai Immunológia 2005; 8: 150-154.		

9.4. Nem a disszertáció témájában a PhD értekezést követően megjelent első- vagy utolsószerzős nemzetközi közlemények

Közlemény	IF	Független idézet
Eszes N, Tamási L, Csekeő A, Csomor J, Szepesi A, Varga G, Balázs G, Losonczy G, Müller V. Unicentric mixed variant Castleman disease associated with intrabronchial plasmacytoma. Diagn Pathol. 2014 Mar 20;9:64.	2,597	1
Kis A, Eszes N, Tamasi L, Losonczy G, Csekeo A, Csomor J, Muller V. Sarcoidosis lymphoma syndrome - the value of PET-CT in the diagnosis. World J Surg Oncol. 2013 Sep 18;11:235.	1,200	1
Kunos L, Kováts Z, Muraközy G, Süttő Z, Bohács A, Czebe K, Lang G, Rényi-Vámos F, Klepetko W, Müller V. Severe mixed sleep apnea after bilateral lung transplantation in a cystic fibrosis patient: a case report. Transplant Proc. 2011 May;43(4):1292-3.	1,005	0
Kis A, Sutto Z, Tamasi L, Eszes N, Losonczy G, Mathe Z, Langer RM, Nemeth A, Muller V. Spontaneous pneumomediastinum after kidney transplantation: case report. Transplant Proc. 2010 Jul-Aug;42(6):2350-2.	0,993	1

Összesített impakt faktor: 5,795

Független idézettség: 3

9.5. *Nem a disszertáció témájában a PhD értekezést követően megjelent társszerzősnemzetközi közlemények*

	IF	Független idézet
Eszes N, Toldi G, Bohács A, Ivancsó I, Müller V, Rigó J Jr, Losonczy G, Vásárhelyi B, Tamási L. Relationship of circulating hyaluronic acid levels to disease control in asthma and asthmatic pregnancy. PLoS One. 2014 Apr 15;9(4):e94678.	3,234	2
Ivancsó I, Toldi G, Bohács A, Eszes N, Müller V, Rigó J Jr, Vásárhelyi B, Losonczy G, Tamási L. Relationship of circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels to disease control in asthma and asthmatic pregnancy. PLoS One. 2013;8(4):e60697.	3,534	2
Eszes N, Bikov A, Lázár Z, Bohács A, Müller V, Stenczer B, Rigó J Jr, Losonczy G, Horváth I, Tamási L. Changes in exhaled breath condensate pH in healthy and asthmatic pregnant women. Acta Obstet Gynecol Scand. 2013 May;92(5):591-7.	1,985	0
Bikov A, Bohacs A, Eszes N, Weiszhar Z, Ivancso I, Muller V, Rigo J Jr, Losonczy G, Tamasi L, Horvath I. Circulating and exhaled vascular endothelial growth factor in asthmatic pregnancy. Biomarkers. 2012 Nov;17(7):648-54.	1,879	1
Szilasi M, Gálffy G, Fónay K, Márk Z, Rónai Z, Szalai Z, Szilasi ME, Budai M, Müller V, Somfay A, Horváth I, Tamási L. A survey of the burden of allergic rhinitis in Hungary from a specialist's perspective. Multidiscip Respir Med. 2012 Nov 30;7(1):49. doi: 10.1186/2049-6958-7-49.	0,151	3
Péterfi Z, Donkó A, Orient A, Sum A, Prókai A, Molnár B, Veréb Z, Rajnavölgyi E, Kovács KJ, Müller V, Szabó AJ, Geiszt M. Peroxidasin is secreted and incorporated into the extracellular matrix of myofibroblasts and fibrotic kidney. Am J Pathol. 2009 Aug;175(2):725-35.	5,673	18
Tamási L, Somoskövi A, Müller V, Bártfai Z, Acs N, Puhó E, Czeizel AE. A population-based case-control study on the effect of bronchial	1,476	18

asthma during pregnancy for congenital abnormalities of the offspring. J Asthma. 2006 Jan-Feb;43(1):81-6.		
Vannay A, Fekete A, Müller V, Strehlau J, Viklicky O, Veres T, Reusz G, Tulassay T, Szabó AJ. Effects of histamine and the h2 receptor antagonist ranitidine on ischemia-induced acute renal failure: involvement of IL-6 and vascular endothelial growth factor. Kidney Blood Press Res. 2004;27(2):105-13.	1,067	4
Losonczy G, Brown G, Mucha I, Klocke R, Muller V, Merkely B, Tornoci L, Rosivall L, Venuto R. Gestational resistance to the pulmonary vasoconstrictor effect of the TxA2 mimetic U-46619: possible mechanism. Am J Physiol. 1997 Jun;272(6 Pt 2):R1734-9.	3,116	2
Losonczy G, Mucha I, Müller V, Kriston T, Ungvári Z, Tornóci L, Rosivall L, Venuto R. The vasoconstrictor effects of L-NAME, a nitric oxide synthase inhibitor, in pregnant rabbits. Br J Pharmacol. 1996 Jun;118(4):1012-8.	4,075	10

Összesített impakt faktor: 26,190

Független idézettség: 60

9.6. A PhD értekezéshez felhasznált közlemények

Közlemény	IF	Független idézet
Müller V, Szabó A, Viklický O, Gaul I, Vogelsang M, Pörtl S, Philipp T, Heemann U. Sex hormones and gender-related differences: their influence on chronic renal allograft rejection. <i>Kidney Int</i> 1999; 55:2011-2020	3,807	57
Müller V, Hamar P, Szabó A, Vogelsang M, Philipp T, Heemann U. In-vivo migration of lymphocytes in chronically rejecting rat kidney allografts: essential role of CD 18. <i>Transplant Int</i> 1999; 12:145-151	1,599	3
Müller V, Hamar P, Szabo A, Knust E, Vogelsang M, Heemann U. The effect of mycophenolate mofetil on the in vivo infiltration of lymphocytes in the rat remnant kidney. <i>Transplant Proc</i> 1998; 30:982	0,740	14
Müller V, Becker G, Delfs M, Albrecht KH, Philipp T, Heemann U. Do urinary tract infections trigger chronic rejection in man? <i>J Urol</i> 1998; 159:1826-1829	2,685	52
Müller V, Szabó A, Becker G, Delfs M, Veres T, Albrecht KH, Philipp T, Heemann U. Húgyúti fertőzések hatása a transzplantált vese chronicus kilökődésére. <i>Hypertonia és Nephrologia</i> 2000; 4(3): 141-145		
Szabó A, Müller V, Patschan O, Kuttler B, Rettig R, Reusz G, Heemann U. Hypertónia hatása a transzplantált vese krónikus kilökődésére. <i>Hypertonia és Nephrologia</i> 1999; 3 (3): 127-131		
Szabó A, Heemann U, Müller V, Reusz Gy, Sallay P, Viazov S, Tulassay T. Hepatitis G vírus infekció vesetranszplantált és dializált gyermek és felnőtt betegekben. <i>Orvosi Hetilap</i> 1999; 140 (29): 1619-1623		
Szabo A, Patschan O, Kuttler B, Müller V, Philipp T, Rettig R, Heemann U. Hypertension accelerates the pace of chronic graft dysfunction in the rat. <i>Transplant Int</i> 1998; 11-S1:10-14	1,870	7
Hamar P, Müller V, Kohnle M, Witzk O, Albrecht KH, Philipp T, Heemann U. Metabolic factors have a major impact on kidney allograft survival. <i>Transplantation</i> 1997, 64:1135-1139	3,441	26
Schleimer K, Szabo A, Müller V, Hamar P, Heemann U, Eigler F. Einfluss des ACE-Hemmers Enalapril auf die Entstehung einer		4

chronischen Abstossung nach orthotoper Rattennierentransplantation. Langenbecks Arch Chir 1996, 1:1-5		
--	--	--

Összesített impakt faktor: 14,142

Független idézettség: 163

9.7. *Impakt faktor összesítés és százalékos arány a küszöbértékhez viszonyítva*

PhD fokozat utáni közlemények impakt faktorok összege: 146,413

Az első- vagy utolsószerzős publikációk impakt faktora: 40,496

Az első- vagy utolsószerzős publikációk független idézettsége: 262

A PhD disszertációt követően és megelőzően publikált első- vagy utolsószerzős közlemények impakt faktor aránya: 31,665 / 8,831

A PhD disszertációt követően és megelőzően publikált első- vagy utolsószerzős közlemények független idézettségének aránya: 136 / 126

A PhD disszertációt követően és megelőzően publikált összes közlemény impakt faktorának aránya: 146,413 / 14,142

A PhD disszertációt követően és megelőzően publikált összes közlemény független idézettségének aránya: 651* / 163

* MTMT adat alapján (tartalmazza a hazai közlemények idézeteit is) megadott összes független hivatkozás-PhD disszertációban szereplő közlemények független idézetei

Legmasabb impakt faktorú közlemény: 7,499

Értekezésben szereplő közlemények impakt faktora: 114,428

Pulmonológiai szakterületi első- vagy utolsó szerzős közlemények impakt faktora és idézettsége: 19,149 / 58

Összes impakt faktor: 160,6

Összes független idézettség: 814

10. Irodalomjegyzék

- ¹ Amico P. Evolution of graft survival in kidney transplantation: an analysis of the OPTN/UNOS Renal Transplant Registry. *Clin Transpl*. 2010; 1-15.
- ² Sutton TA, Molitoris BA. Mechanism of cellular injury in acute renal failure. *Semin Nephrol* 1998; 18: 490-497.
- ³ Weight SC, Bell PRF, Nicholson ML. Renal ischemia-reperfusion injury *Br J Surg* 1996; 83: 162-170.
- ⁴ Ferrari RS, Andrade CF. Oxidative Stress and Lung Ischemia-Reperfusion Injury. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:590987. doi: 10.1155/2015/590987.
- ⁵ Okusa MD. The inflammatory cascade in acute ischemic renal failure. *Nephron* 2002;90:133-138.
- ⁶ Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109: 655-678.
- ⁷ Turi S, Nemeth I, Torkos A, Saghy L, Varga I, Matkovics B, Nagy J. Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 161-168.
- ⁸ Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Basker M, Cooper DK, Hancock WW, Tilney NL. Brain death and its influence on donor organ quality and outcome after transplantation. *Transplantation* 1999; 67: 343-348.
- ⁹ Gasser M, Waaga AM, Laskowski IA, Tilney NL. The influence of donor brain death on short and long-term outcome of solid organ allografts. *Ann Transplant* 2000; 5: 61-7.
- ¹⁰ Hicks M, Hing A, Gao L, Ryan J, Macdonald PS. Organ preservation. *Methods Mol Biol* 2006; 333: 331-74.
- ¹¹ Lodhi SA, Lamb KE, Meier-Kriesche HU. Solid organ allograft survival improvement in the United States: the long-term does not mirror the dramatic short-term success. *Am J Transplant* 2011; 11: 1226-35.
- ¹² Christie JD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Aurora P, Dobbels F, Kirk R, Rahmel AO, Stehlik J, Hertz MI. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-seventh official adult lung and heart-lung transplant report-2010. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29: 1083-1141.
- ¹³ Murthy SC, Gildea TR, Machuzak MS. Anastomotic airway complications after lung transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2010; 15: 582-7.
- ¹⁴ Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Dipchand AI, Benden C, Christie JD, Dobbels F, Kirk R, Rahmel AO, Yusen RD, Stehlik J; International Society for Heart and Lung Transplantation. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirtieth Official Adult Heart Transplant Report--2013; focus theme: age. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32(10): 951-64.
- ¹⁵ Lamb KE, Lodhi S, Meier-Kriesche HU. Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. *Am J Transplant* 2011;11:450-62.
- ¹⁶ Martin-Gandul C, Mueller NJ, Pascual M, Manuel O. The Impact of Infection on Chronic Allograft Dysfunction and Allograft Survival After Solid Organ Transplantation. *Am J Transplant* 2015 Oct 16. doi: 10.1111/ajt.13486.
- ¹⁷ Blaes AH, Morrison VA. Post-transplant lymphoproliferative disorders following solid-organ transplantation. *Expert Rev Hematol* 2010; 3: 35-44.
- ¹⁸ Vajdic CM, van Leeuwen MT. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. *Int J Cancer*. 2009; 125: 1747-54.
- ¹⁹ Murray JE, Merrill JP, Harrison JH. Kidney transplantation between seven pairs of identical twins. *Ann Surg* 1958; 148: 343-59.
- ²⁰ Tilney NL. Renal transplantation between identical twins: a review. *World J Surg*. 1986; 10: 381-8.
- ²¹ Legendre C, Thervet E, Skhiri H, Mamzer-Bruneel MF, Cantarovich F, Noel LH, Kreis H: Histologic features of chronic allograft nephropathy revealed by protocol biopsies in kidney transplant recipients. *Transplantation* 1998; 65: 1506-1509.
- ²² Krensky AM. The HLA system, antigen processing and presentation. *Kidney Int* 1997; 51(S58): 2-7.

- ²³ Soosay A, O'Neill D, Counihan A, Hickey D, Keogan M. Causes of sensitisation in patients awaiting renal transplantation in Ireland. *Ir Med J* 2003; 96: 109-112.
- ²⁴ Mangi AA, Mason DP, Nowicki ER, Batizy LH, Murthy SC, Pidwell DJ, Avery RK, McCurry KR, Pettersson GB, Blackstone EH. Predictors of acute rejection after lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 2011; 91: 1754-62.
- ²⁵ Takemoto SK, Choo YW, Gjertson DW: Transplant Risks, in *Clinical Transplants 1999*, edited by Terasaki PI, Cecka JM, Los Angeles, Tissue Typing Laboratory, 1999, pp325
- ²⁶ Dierselhuis M, Goulmy E. The relevance of minor histocompatibility antigens in solid organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2009; 14: 419-25.
- ²⁷ McKenna RM, Takemoto SK, Terasaki PI. Anti-HLA antibodies after solid organ transplantation. *Transplantation* 2000; 69: 319-326.
- ²⁸ Marfo K, Lu A, Ling M, Akalin E. Desensitization protocols and their outcome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 922-36.
- ²⁹ Safavi S, Robinson DR, Soresi S, Carby M, Smith JD. De novo donor HLA-specific antibodies predict development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2014; 33(12): 1273-81.
- ³⁰ Lee PC, Terasaki PI, Takemoto SK: All chronic rejection failures of kidney transplants were preceded by the development of HLA antibodies. *Transplantation* 2002; 74: 1192-1194.
- ³¹ Matas AJ. Acute rejection is a major risk factor for chronic rejection. *Transplant Proc* 1998; 30: 1766-1768.
- ³² Hopkins PM, Aboyoun CL, Chhajed PN, Malouf MA, Plit ML, Rainer SP, Glanville AR. Association of minimal rejection in lung transplant recipients with obliterative bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 1022-6.
- ³³ Reinsmoen NL, Cornett KM, Kloehn R, Burnette AD, McHugh L, Flewellen BK, Matas A, Savik K. Pretransplant donor-specific and non-specific immune parameters associated with early acute rejection. *Transplantation* 2008; 85: 462-70.
- ³⁴ Wu O, Levy AR, Briggs A, Lewis G, Jardine A. Acute rejection and chronic nephropathy: a systematic review of the literature. *Transplantation* 2009; 87: 1330-9.
- ³⁵ Joosten SA, Sijpkens YWJ, van Kooten C, Paul LC. Chronic renal allograft rejection: Pathophysiologic considerations. *Kidney Int* 2005; 68: 1-13.
- ³⁶ Seki A, Fishbein MC. Predicting the development of cardiac allograft vasculopathy. *Cardiovasc Pathol* 2014; 23(5): 253-60.
- ³⁷ Feingold B, Irving C, Tatum GH, Webber SA. Prognostic significance of recurrent grade 1B rejection in the first year after pediatric cardiac transplantation: a case for reinstatement of the 1B rejection grade. *Pediatr Transplant*. 2011; 15(6): 589-93.
- ³⁸ International Registry for Heart and Lung Transplantation. Statistics 2015. www.ishlt.org. (belépés 2015. 10. 06.)
- ³⁹ Stewart S, Fishbein MC, Snell GI, Berry GJ, Boehler A, Burke MM, Glanville A, Gould FK, Magro C, Marboe CC, McNeil KD, Reed EF, Reinsmoen NL, Scott JP, Studer SM, Tazelaar HD, Wallwork JL, Westall G, Zamora MR, Zeevi A, Yousem SA. Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26: 1229-42.
- ⁴⁰ Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Sis B, Halloran PF, Birk PE, Campbell PM, Cascalho M, Collins AB, Demetris AJ, Drachenberg CB, Gibson IW, Grimm PC, Haas M, Lerut E, Liapis H, Mannon RB, Marcus PB, Mengel M, Mihatsch MJ, Nankivell BJ, Nicleleit V, Papadimitriou JC, Platt JL, Randhawa P, Roberts I, Salinas-Madruga L, Salomon DR, Seron D, Sheaff M, Weening JJ. Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant* 2007; 7: 518-26.

- ⁴¹ Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, Croker BP, Demetris AJ, Drachenberg CB, Fogo AB, Furness P, Gaber LW, Gibson IW, Glotz D, Goldberg JC, Grande J, Halloran PF, Hansen HE, Hartley B, Hayry PJ, Hill CM, Hoffman EO, Hunsicker LG, Lindblad AS, Yamaguchi Y, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55: 713-23.
- ⁴² Demetris A, Adams D, Bellamy C, Blakolmer K, Clouston A, Dhillon AP, Fung J, Gouw A, Gustafsson B, Haga H, Harrison D, Hart J, Hubscher S, Jaffe R, Khettry U, Lassman C, Lewin K, Martinez O, Nakazawa Y, Neil D, Pappo O, Parizhskaya M, Randhawa P, Rasoul-Rockenschaub S, Reinholt F, Reynes M, Robert M, Tsamandas A, Wanless I, Wiesner R, Wernerson A, Wrba F, Wyatt J, Yamabe H. Update of the International Banff Schema for Liver Allograft Rejection: working recommendations for the histopathologic staging and reporting of chronic rejection. An International Panel. *Hepatology* 2000; 31: 792-9.
- ⁴³ Cotts WG, Johnson MR. The challenge of rejection and cardiac allograft vasculopathy. *Heart Fail Rev* 2001; 6: 227-40.
- ⁴⁴ White SA, Shaw JA, Sutherland DE. Pancreas transplantation. *Lancet* 2009; 373: 1808-17.
- ⁴⁵ Drachenberg CB, Odorico J, Demetris AJ, Arend L, Bajema IM, Bruijn JA, Cantarovich D, Cathro HP, Chapman J, Dimosthenous K, Fyfe-Kirschner B, Gaber L, Gaber O, Goldberg J, Honsová E, Iskandar SS, Klassen DK, Nankivell B, Papadimitriou JC, Racusen LC, Randhawa P, Reinholt FP, Renaudin K, Revelo PP, Ruiz P, Torrealba JR, Vazquez-Martul E, Voska L, Stratta R, Bartlett ST, Sutherland DE. Banff schema for grading pancreas allograft rejection: working proposal by a multi-disciplinary international consensus panel. *Am J Transplant* 2008; 8: 1237-49.
- ⁴⁶ Kreis HA, Ponticelli C. Causes of late renal allograft loss: chronic allograft dysfunction, death, and other factors. *Transplantation* 2001; 71: S5-9.
- ⁴⁷ Chavalitdharmong D, Gill J, Takemoto S, Madhira BR, Cho YW, Shah T, Bunnapradist S. Patient and graft outcomes from deceased kidney donors age 70 years and older: an analysis of the Organ Procurement Transplant Network/United Network of Organ Sharing database. *Transplantation* 2008; 85: 1573-9.
- ⁴⁸ Brenner BM, Cohen RA, Milford EL. In renal transplantation, one size may not fit all. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3: 162-169.
- ⁴⁹ Nyengaard JR, Bendtsen TF. Glomerular number at size in relation to age, kidney weight, and body surface area in normal man. *Anat Res* 1992; 232: 194-201.
- ⁵⁰ Brenner BM, Milford EL. Nephron underdosing: a programmed cause of chronic renal allograft failure. *Am J Kidney Dis* 1993; 21: 66-72.
- ⁵¹ Chertow GM, Brenner BM, Mackenzie HS, Milford EL. Non-immunologic predictors of chronic renal allograft failure: Data from the United Network of Organ Sharing. *Kidney Int* 1995; 48: 48-51.
- ⁵² Brenner BM. Hemodynamically mediated glomerular injury and the progressive nature of glomerular disease. *Kidney Int* 1983; 23: 647-655.
- ⁵³ Heemann UW, Azuma H, Tullius SG, Mackenzie H, Brenner BM, Tilney NL. The contribution of reduced functioning mass to chronic kidney allograft dysfunction in rats. *Transplantation* 1994; 58: 1317-1322.
- ⁵⁴ Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA, Brenner BM. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 1981; 241: F85-F93.
- ⁵⁵ Häyry P. Molecular pathology of acute and chronic rejection. *Transplant Proc* 1994; 26: 3280.
- ⁵⁶ Koc-Zorawska E, Malyszko J, Malyszko JS, Mysliwiec M. VAP-1, a novel molecule linked to endothelial damage and kidney function in kidney allograft recipients. *Kidney Blood Press Res* 2012; 36: 242-7..
- ⁵⁷ Modena FM, Hostetter TH, Salahudeen AK, Najarian JS, Matas AJ, Rosenberg ME. Progression of kidney disease in chronic renal transplant rejection. *Transplantation* 1991; 52: 239-244.
- ⁵⁸ Hostetter TH. Chronic transplant rejection. *Kidney Int* 1994; 46: 266-279.
- ⁵⁹ Serón D, Fulladosa X, Moreso F. Risk factors associated with the deterioration of renal function after kidney transplantation. *Kidney Int* 2005; 68: 113-117.

- ⁶⁰ First MR, Vaidya PN, Maryniak RK, Weiss MA, Munda R, Fidler JP, Penn I, Alexander JW. Proteinuria following transplantation. Correlation with histopathology and outcome. *Transplantation* 1984; 38: 607-12.
- ⁶¹ Pratschke J, Paz D, Wilhelm MJ, Laskowski I, Kofla G, Vergopoulos A, MacKenzie HJ, Tullius SG, Neuhaus P, Hancock WW, Volk HD, Tilney NL. Donor hypertension increases graft immunogenicity and intensifies chronic changes in long-surviving renal allografts. *Transplantation* 2004; 77: 43-8.
- ⁶² El-Amm JM, Haririan A, Crook ED. The effects of blood pressure and lipid control on kidney allograft outcome. *Am J Cardivasc Drugs* 2006; 6: 1-7.
- ⁶³ Paul LC. Chronic allograft nephropathy: An update. *Kidney Int* 1999; 56: 783-793.
- ⁶⁴ Morales JM. Immunosuppressive treatment and progression of histologic lesions in kidney allografts. *Kidney Int* 2005; 99: 124-130.
- ⁶⁵ Joosten SA, Sijpkens YW, van Kooten C, Paul LC. Chronic renal allograft rejection: pathophysiologic considerations. *Kidney Int* 2005; 68: 1-13.
- ⁶⁶ Barrientos A, Portoles J, Herrero JA, Torralbo A, Prats D, Gutierrez-Millet V, Blanco J. Glomerular hyperfiltration as a nonimmunologic mechanism of progression of chronic renal rejection. *Transplantation* 1994; 57: 753-756.
- ⁶⁷ Cheigh JS, Mouradian J, Soliman M, Tapia L, Riggio RR, Stenzel KH, Rubin AL. Focal segmental glomerulosclerosis in renal transplants. *Am J Kidney Dis* 1983; 2: 449-455.
- ⁶⁸ Fotheringham J, Angel CA, McKane W. Transplant glomerulopathy: morphology, associations and mechanism. *Nephron Clin Pract* 2009; 113: c1-7.
- ⁶⁹ Filippone EJ, Farber JL. The specificity of acute and chronic microvascular alterations in renal allografts. *Clin Transplant*. 2013; 27(6): 790-8.
- ⁷⁰ Koukoulis GK, Gould VE, Bhattacharyya A, Gould JE, Howedy AA, Virtanen I. Tenascin in normal, reactive, hyperplastic and neoplastic tissues: biologic and pathologic implications. *Hum Pathol* 1991; 22: 636-643.
- ⁷¹ Liptak P, Kemeny E, Morvay Z, Szederkenyi E, Szenohradszky P, Marofka F, Toldi J, Exner M, Ivanyi B: Peritubular capillary damage in acute humoral rejection: an ultrastructural study on human renal allografts. *Am J Transplant* 2005; 5: 2870-2876.
- ⁷² Iványi B. Transplant capillaropathy and transplant glomerulopathy: ultrastructural markers of chronic renal allograft rejection. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 655-60.
- ⁷³ Racusen LC, Halloran PF, Solez K. Banff 2003 meeting report: new diagnostic insights and standards. *Am J Transplant* 2004; 4: 1562-1566.
- ⁷⁴ Solez K. History of the Banff classification of allograft pathology as it approaches its 20th year. *Curr Opin Organ Transplant* 2010; 15: 49-51.
- ⁷⁵ Solez K, Racusen LC. The Banff classification revisited. *Kidney Int*. 2013; 83(2): 201-6.
- ⁷⁶ Häyry P, Yilmaz S. Chronic allograft rejection: an update. *Transplant Proc* 1994; 26: 3159-3160.
- ⁷⁷ Yilmaz S, Tomlanovich S, Mathew T, Taskinen E, Paavonen T, Navarro M, Ramos E, Hooftman L, Hayry P. Protocol core needle biopsy and histologic Chronic Allograft Damage Index (CADI) as surrogate end point for long-term graft survival in multicenter studies. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 773-779.
- ⁷⁸ Davies DR, Bittmann I, Pardo J. Histopathology of calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. *Transplantation* 2000; 69: S11-23.
- ⁷⁹ Ostadal B, Ostadal P. Sex-based differences in cardiac ischaemic injury and protection: therapeutic implications. *Br J Pharmacol* 2014; 171(3): 541-54.
- ⁸⁰ Hale SL, Birnbaum Y, Kloner RA. β -estradiol, but not α -estradiol, reduces myocardial necrosis in rabbits after ischemia and reperfusion. *Am Heart J* 1996; 132: 258-262.

- ⁸¹ Squadrito F, Altavilla D, Squadrito G, Campo GM, Arlotta M, Arcoraci V, Minutoli L, Saitta A, Caputi AP. The involvement of tumor necrosis factor- α in the protective effects of 17 β oestradiol in splanchnic isch mia-reperfusion injury. *Br J Pharmacol* 1997; 121: 1782-1788.
- ⁸² Simpkins JW, Rajakumar G, Zhang YQ, Simpkins CE, Greenwald D, Yu CJ, Bodor N, Day AL. Estrogens may reduce mortality and ischemic damage caused by middle cerebral artery occlusion in the female rat. *J Neurosurg* 1997; 87: 724-730.
- ⁸³ United States Renal Data System. 2014 USRDS annual data report: Epidemiology of kidney disease in the United States. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2014.
- ⁸⁴ Silbiger SR, Neugarten J. The impact of gender on the progression of chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1995; 25: 515-530.
- ⁸⁵ Hannedouche T, Chauveau P, Kalou F, Albouze G, Lacour B, Jungers P. Factors affecting progression in advanced chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1993; 39: 312-320.
- ⁸⁶ Silbiger SR, Neugarten J. The role of gender in the progression of renal disease. *Adv Ren Replace Ther* 2003; 10: 3-14.
- ⁸⁷ Gilboa N, Magro AM, Han Y, Rudofsky UH. Contrasting effects of early and late orchiectomy on hypertension and renal disease in Fawn-hooded rats. *Life Sci* 1987; 41: 1629-1634.
- ⁸⁸ Zeier M, D hler B, Opelz G, Ritz E. The effect of donor gender on graft survival. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2570-6.
- ⁸⁹ Meier-Kriesche HU, Ojo AO, Leavey SF, Hanson JA, Leichtman AB, Magee JC, Cibrik DM, Kaplan B. Gender differences in the risk for chronic renal allograft failure. *Transplantation* 2001; 71: 429-432.
- ⁹⁰ Neugarten J, Kasiske B, Silbiger SR, Nyengaard JR. Effects of sex on renal structure. *Nephron* 2002; 90: 139-144.
- ⁹¹ Neugarten J, Silbiger SR: The impact of gender on renal transplantation. *Transplantation* 1994;58:1145-1152.
- ⁹² Neugarten J, Srinivas T, Tellis V, Silbiger S, Greenstein S. The effect of donor gender on renal allograft survival. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:318-24.
- ⁹³ Jeyapalan JC, Sedivy JM. Cellular senescence and organismal aging. *Mech Ageing Dev* 2008;129:467-74.
- ⁹⁴ Joosten SA, van Ham V, Nolan CE, Borrias MC, Jardine AG, Shiels PG, van Kooten C, Paul LC. Telomere shortening and cellular senescence in a model of chronic renal allograft rejection. *Am J Pathol* 2003; 162: 1305-12.
- ⁹⁵ Schouten LR, Schultz MJ, van Kaam AH, Juffermans NP, Bos AP, W sten-van Asperen RM. Association between Maturation and Aging and Pulmonary Responses in Animal Models of Lung Injury: A Systematic Review. *Anesthesiology*. 2015; 123(2): 389-408.
- ⁹⁶ Melk A, Schmidt BM, Vongwiwatana A, Rayner DC, Halloran PF. Increased expression of senescence-associated cell cycle inhibitor p16INK4a in deteriorating renal transplants and diseased native kidney. *Am J Transplant* 2005; 5: 1375-82.
- ⁹⁷ Melk A, Schmidt BM, Braun H, Vongwiwatana A, Urmson J, Zhu LF, Rayner D, Halloran PF. Effects of donor age and cell senescence on kidney allograft survival. *Am J Transplant* 2009; 9: 114-23.
- ⁹⁸ Halloran PF, Melk A, Barth C. Rethinking chronic allograft nephropathy: the concept of accelerated senescence. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 167-181.
- ⁹⁹ Vegso G, Mathe Z, Peter A, Perner F, Jaray J, Langer RM. Improving results of renal transplantation with the use of elderly donors: the Budapest experience. *Transplant Proc* 2005; 37: 4225-4227.
- ¹⁰⁰ Berg H. Question of age in children renal transplant recipients. *Transplantation* 1997;64:1423-1427.
- ¹⁰¹ Foss A, Tuvin D, Leivestad T, Oyen O, Bentdal O. Should kidneys from older cadaveric donors be age-matched to the recipient? *Transplant Proc* 2005; 37: 3280-3282.

- ¹⁰² Baylis C, Corman B. The aging kidney: insights from experimental studies. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 699-709.
- ¹⁰³ Alexander JW, Bennett LF, Breen RJ. Effect of donor age on outcome of kidney transplantation. *Transplantation* 1994; 57: 871-876.
- ¹⁰⁴ Langerak AD, Dreisbach LD. *Chemotherapy Regimens in Cancer Care*. Georgetown, Landes Bioscience, 2001.
- ¹⁰⁵ Kovács G, Ostoros Gy, Szondy K. Tüdőrák a gyakorlatban és a mellhártya mezoteliómája. *Medicina* 2002.
- ¹⁰⁶ Mayer KB, Madias NE. Cisplatin nephrotoxicity. *Mineral Electrolyte Metab* 1994;20:201–213.
- ¹⁰⁷ Wauters E, Janssens W, Lambrechts D. Accelerated lung function decline in smokers: spotlight on vitamin D deficiency. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 186(7): 579-81.
- ¹⁰⁸ Pollock DM, Pollock JS. Endotelin and oxidative stress in the vascular system. *Curr Vasc Pharmacol* 2005; 3: 365-367.
- ¹⁰⁹ Endemann DH, Schiffrin EL. Endotelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1983-1992.
- ¹¹⁰ Barton M. Aging and endothelin: determinants of disease. *Life Sci*. 2014; 118(2): 97-109.
- ¹¹¹ Boesen EI. Endothelin receptors, renal effects and blood pressure. *Curr Opin Pharmacol*. 2015; 21: 25-34.
- ¹¹² Shao D, Park JE, Wort SJ. The role of endothelin-1 in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Pharmacol Res* 2011; 63: 504-11.
- ¹¹³ Jerkic M, Miloradovic Z, Jovovic D, Mihailovic-Stanojevic N, Elena JV, Nastic-Miric D, Grujic-Adanja G, Rodriguez-Barbero A, Markovic-Lipkovski J, Vojvodic SB, Manero MV, Prieto MP, Lopez-Novoa JM. Relative roles of endothelin-1 and angiotensin II in experimental post-ischaemic acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 83-94.
- ¹¹⁴ Forbes JM, Jandeleit-Dahm K, Allen TJ, Hewitson TD, Becker GJ, Jones CL. Endotelin and endotelin A/B receptors are increased after ischaemic acute renal failure. *Exp Nephrol* 2001; 9: 309-316.
- ¹¹⁵ Gulmen S, Kiris I, Narin C, Ceylan BG, Merimi B, Sutcu R, Meteoglu I. Tezosentan reduces the renal injury induced by abdominal aortic ischemia-reperfusion in rats. *J Surg Res* 2009; 157: e7-e13.
- ¹¹⁶ Denton KM, Shweta A, Finkelstein L, Flower RL, Evans RG. Effect of endothelin-1 on regional kidney blood flow and renal arteriole calibre in rabbits. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004; 31: 494-501.
- ¹¹⁷ van Kesteren PJ, Kooistra T, Lansink M, van Kamp GJ, Asscheman H, Gooren LJ, Emeis JJ, Vischer UM, Stehouwer CD. The effects of sex steroids on plasma levels of marker proteins of endothelial cell functioning. *Thromb Haemost* 1998; 79: 1029-1033.
- ¹¹⁸ Teoh H, Quan A, Leung SW, Man RY: Differential effects of 17beta-estradiol and testosterone on the contractile responses of porcine coronary arteries. *Br J Pharmacol* 2000; 129: 1301-1308.
- ¹¹⁹ Wilbert-Lampen U, Seliger C, Trapp A, Straube F, Plasse A. Female sex hormones decrease constitutive endothelin-1 release via endothelial sigma-1/cocaine receptors: an action independent of the steroid hormone receptors. *Endotelium* 2005; 12: 185-191.
- ¹²⁰ Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; 357: 593-615.
- ¹²¹ Schmidt H, Hofmann H, Schindler U, Shulenko ZS, Cunningham DD, Feelisch M. No NO from NO synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 14492-14497.
- ¹²² Lieberthal W. Biology of ischemic and toxic renal tubular injury: Role of nitric oxide and the inflammatory response. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998; 7: 289-295.
- ¹²³ Goligorsky MS, Brodsky SV, Noiri E. Nitric oxide in acute renal failure: NOS versus NOS. *Kidney Int* 2002; 61: 855-861.

- ¹²⁴ Chatterjee PK, Patel NSA, Kvale EO, Cuzzocrea S, Brown PAJ, Stewart KN, Mota-Filipe H, Thiernemann C. Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int* 2002; 61: 862-871.
- ¹²⁵ Ling H, Gengaro PE, Edelstein CL. Effect of hypoxia on proximal tubules isolated from nitric oxide synthase knockout mice. *Kidney Int* 1998; 53: 1642-1646.
- ¹²⁶ Zhou L, Zhu DY. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide* 2009; 20: 223-30.
- ¹²⁷ Baylis C, Harton P, Engels K. Endothelial derived relaxing factor controls renal hemodynamics in the normal rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1: 875-881.
- ¹²⁸ Szabo AJ, Wagner L, Erdely A, Lau K, Baylis C. Renal neuronal nitric oxide synthase protein expression as a marker of renal injury. *Kidney Int* 2003; 64: 1765-1771.
- ¹²⁹ Juckett MB, Weber M, Balla J, Jacob HS, Vercellotti GM. Nitric oxide donors modulate ferritin and protect endothelium from oxidative injury. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 63-73.
- ¹³⁰ Baylis C. Sexual dimorphism, the aging kidney, and involvement of nitric oxide deficiency. *Semin Nephrol* 2009; 29: 569-78.
- ¹³¹ Schmidt RJ, Domico J, Samsell LS, Yokota S, Tracy TS, Sorkin MI, Engels K, Baylis C. Indices of activity of the nitric oxide system in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 228-2234.
- ¹³² Xiao S, Wagner L, Schmidt RJ, Baylis C. Circulating endothelial nitric oxide synthase inhibitory factor in some patients with chronic renal disease. *Kidney Int* 2001; 59: 1466-1472.
- ¹³³ Neugarten J, Ding Q, Friedman A, Lei J, Silbiger S. Sex hormones and renal nitric oxide synthases. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1240-1246.
- ¹³⁴ Lingrel JB, Van Huysse J, O'Brien W, Jewell-Motz E, Askew R, Schultheis P. Structure-function studies of the Na,K-ATPase. *Kidney Int Suppl* 1994; 44: 32-39.
- ¹³⁵ Sweadner KJ. Isoenzymes of Na⁺/K⁺ ATPase. *Biochim Biophys Acta* 1989; 988: 185-220.
- ¹³⁶ Rose, Valders RJ. Understanding the sodium pump and its relevance to disease. *Clin Chem* 1994; 39: 1674-1685.
- ¹³⁷ al-Awqati Q. Cellular and molecular mechanisms of renal development and tubulogenesis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1992; 1: 53-58.
- ¹³⁸ Sandhu S, Silbiger SR, Lei J, Neugarten J. Effects of sex hormones on fluid and solute transport in Madin-Darby canine kidney cells. *Kidney Int* 1997; 51: 1535-1539.
- ¹³⁹ Woroniecki R, Ferdinand JR, Morrow JS, Devarajan P. Dissociation of spectrin-ankyrin complex as a basis for loss of Na-K-ATPase polarity after ischemia. *Am J Physiol* 2002; 284: F358-F364.
- ¹⁴⁰ Bidmon B, Endemann M, Mueller T, Arbeiter K, Herkner K, Aufricht C. HSP-70 repairs tubule cell structure after renal ischemia. *Kidney Int* 2000; 58: 2400-2407.
- ¹⁴¹ Blanco G, Diaz H, Carrer HF, Beauge L. Differentiation of rat hippocampal neurons induced by estrogen in vitro: effects on neuritogenesis and Na, K-ATPase activity. *J Neurosci Res* 1990; 27: 47-54.
- ¹⁴² Obradovic M, Stewart AJ, Pitt SJ, Labudovic-Borovic M, Sudar E, Petrovic V, Zafirovic S, Maravic-Stojkovic V, Vasic V, Isenovic ER. In vivo effects of 17 β -estradiol on cardiac Na(+)/K(+)-ATPase expression and activity in rat heart. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 388: 58-68..
- ¹⁴³ Golden GA, Mason RP, Tulenko TN, Zubenko GS, Rubin RT. Rapid and opposite effects of cortisol and estradiol on human erythrocyte Na⁺, K⁺-ATPase activity: relationship to steroid intercalation into the cell membrane. *Life Sci* 1999; 65: 1247-1255.
- ¹⁴⁴ QUINTAS LE, Lopez LB, Souccar C, Noel F. Na⁺/K⁺-ATPase density is sexually dimorphic in the adult rat kidney. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 834: 552-554.
- ¹⁴⁵ Bullard AJ, Govewalla P, Yellon DM. Erythropoietin protects the myocardium against reperfusion injury in vitro and in vivo. *Basic Res Cardiol* 2005; 100: 397-403.

- ¹⁴⁶ Waldegger S, Erdel M, Nagl UO, Barth P, Raber G, Steuer S, Utermann G, Paulmichl M, Lang F. Genomic organization and chromosomal localization of the human SGK protein kinase gene. *Genomics* 1998; 51: 299-302.
- ¹⁴⁷ Webster MK, Goya L, Firestone GL. Immediate-early transcriptional regulation and rapid mRNA turnover of a putative serine/threonine protein kinase. *J Biol Chem* 1993; 268: 11482-11485.
- ¹⁴⁸ Leong ML, Maiyar AC, Kim B, O'Keeffe BA, Firestone GL: Expression of the serum- and glucocorticoid-inducible protein kinase, Sgk, is a cell survival response to multiple types of environmental stress stimuli in mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 2003; 278: 5871-5882.
- ¹⁴⁹ Lang F, Böhmer C, Palmada M, Seeböhm G, Strutz-Seeböhm N, Vallon V. (Patho)physiological significance of the serum- and glucocorticoid-inducible kinase isoforms. *Physiol Rev* 2006; 86: 1151-1178.
- ¹⁵⁰ Cai Z, Semenza GL. Phosphatidylinositol-3-kinase signaling is required for erythropoietin-mediated acute protection against myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 2004; 109: 2050-3.
- ¹⁵¹ Voellmy R, Boellmann F. Chaperone regulation of the heat shock protein response. *Adv Exp Med Biol* 2007; 594: 89-99.
- ¹⁵² Hartl FU, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science* 2002; 295: 1852-1858.
- ¹⁵³ Netzer WJ, Hartl FU. Recombination of protein domains facilitated by co-translational folding in eukaryotes. *Nature* 1997; 388: 329-331.
- ¹⁵⁴ Milner CM, Cambell RD. Structure and function of the tree MHX-linked HSP70 genes. *Immunogenetics* 1990; 32: 242-251.
- ¹⁵⁵ Fink AL. Chaperone-mediated protein folding. *Physiol Rev* 1999; 79: 425-449.
- ¹⁵⁶ Hayes SA, Dice JF. Roles of molecular chaperones in protein degradation. *J Cell Biol* 1996; 132: 255-258.
- ¹⁵⁷ Kováts Zs, Gál K, Tamási L, Müller V.A 72 kDa súlyú indukálható hő sokkfehérje (Hsp72) szerepe és lehetséges terápiás felhasználhatósága pulmonológiai kórképekben. *Medicina Thorcalis* 2010; 63: 258-263.
- ¹⁵⁸ Tavaría M, Gabriele T, Kola I, Anderson RL. A hitchhiker's guide to the human Hsp70 family. *Cell Stress Chaperones* 1996; 1: 23-28.
- ¹⁵⁹ Patury S, Miyata Y, Gestwicki JE. Pharmacological Targeting of the Hsp70 Chaperone. *Curr Top Med Chem* 2009; 9: 1337-1351.
- ¹⁶⁰ Schlesinger MJ. Heat shock proteins. *J Biol Chem* 1990; 265: 12111-4.
- ¹⁶¹ Chen G, Kelly C, Chen H, Leahy A, Bouchier-Hayes D. Thermotolerance protects against endotoxin mediated microvascular injury. *J Surg Res* 2001; 95: 79-84.
- ¹⁶² Ofenstein JP, Heidemann S, Juett-Wilstermann A, Sarnaik A. Expression of stress proteins HSP 72 & HSP 32 in response to endotoxaemia. *Ann Clin Lab Sci* 2000; 30: 92-98.
- ¹⁶³ Oehler R, Pusch E, Zellner M, Dungal P, Hergovics N, Homoncik M, Eliassen MM, Brabec M, Roth E. Cell type-specific variations in the induction of hsp70 in human leukocytes by feverlike whole body hyperthermia. *Cell Stress Chaperones* 2001; 6: 306-315.
- ¹⁶⁴ Wheeler DS, Dunsmore KE, Denenberg AG, Muething L, Poynter SE, Wong HR. Biological activity of truncated C-terminus human heat shock protein 72. *Immunol Lett* 2011; 135: 173-9.
- ¹⁶⁵ Pockley AG, de Faire U, Kiessling R, Lemne C, Thulin T, Frostegard J. Circulating heat shock protein and heat shock protein antibody levels in established hypertension. *J Hypertens* 2002; 20: 1815-1820.
- ¹⁶⁶ Milne KJ, Noble EG. Exercise-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *J Appl Physiol* 2002; 93: 561-568.
- ¹⁶⁷ Fleshner M, Campisi J, Amiri L, Diamond DM. Cat exposure induces both intra- and extracellular Hsp72: the role of adrenal hormones. *Psychoneuroendocrinology* 2004; 29: 1142-1152.

- ¹⁶⁸ Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications *Cell Stress Chaperones* 2005; 10: 86-103.
- ¹⁶⁹ Simar D, Malatesta D, Koechlin C, Cristol JP, Vendrell JP, Caillaud C. Effect of age on Hsp72 expression in leukocytes of healthy active people. *Exp Gerontol* 2004; 39: 1467-74.
- ¹⁷⁰ Hastie AT, Everts KB, Shaver JR, Cirelli R, Zangrilli J, Pollice MB, Fish JE, Peters SP. Beta 2-agonist-elevated stress response in human bronchial epithelial cells in vivo and in vitro. *Lung* 1997; 175: 287-98.
- ¹⁷¹ Bertorelli G, Bocchino V, Zhuo X, Chetta A, Del Donno M, Foresi A, Testi R, Olivieri D. Heat shock protein 70 upregulation is related to HLA-DR expression in bronchial asthma. Effects of inhaled glucocorticoids. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 551-60.
- ¹⁷² Sun L, Chang J, Kirchhoff SR, Knowlton AA. Activation of HSF and selective increase in heat-shock proteins by acute dexamethasone treatment. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278: H1091-7.
- ¹⁷³ Valen G, Kawakami T, Tähepõld P, Dumitrescu A, Löwbeer C, Vaage J. Glucocorticoid pretreatment protects cardiac function and induces cardiac heat shock protein 72. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H836-43.
- ¹⁷⁴ Clemons NJ, Buzzard K, Steel R, Anderson RL. Hsp72 Inhibits Fas-mediated Apoptosis Upstream of the Mitochondria in Type II Cells. *Journal Biol Chem* 2005; 280: 9005-9012.
- ¹⁷⁵ Ruchalski K, Haiping Mao, Satish K. Singh, Yihan Wang, Dick D. Mosser, Fanghong Li, John H. Schwartz, and Steven C. Borkan. HSP72 inhibits apoptosis- inducing factor release in ATP-depleted renal epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 285: C1483-C1493.
- ¹⁷⁶ Mosser DD, Caron AW, Bourget L, Denis-Larose C, Massie B. Role of the human heat shock protein hsp70 in protection against stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 5317-27.
- ¹⁷⁷ Tsai TN, Ho JJ, Liu MS, Lee TY, Lu MC, Liu CJ, Huang LJ, Lue SI, Yang RC. Role of Exogenous Hsp72 on Liver Dysfunction during Sepsis. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 508101.
- ¹⁷⁸ Nylandsted J, Gyrd-Hansen M, Danielewicz A, Fehrenbacher N, Lademann U, Håyer-Hansen M, Weber E, Multhoff G, Rohde M, Jättelä M. Heat shock protein 70 promotes cell survival by inhibiting lysosomal membrane permeabilization. *J Exp Med* 2004; 200: 425-35.
- ¹⁷⁹ Zermati, Y., Garrido, C., Amsellem, S., Fishelson, S., Bouscary, D., Valensi, F., Varet, B., Solary, E., Hermine, O. Caspase activation is required for terminal erythroid differentiation. *J Exp Med* 2001; 193: 247-254.
- ¹⁸⁰ Malusecka E, Krzyzowska-Gruca S, Gawrychowski J, Fiszer-Kierzkowska A, Kolosza Z, Krawczyk Z. Stress proteins HSP27 and HSP70i predict survival in non-small cell lung carcinoma. *Anticancer Res.* 2008; 28(1B): 501-6.
- ¹⁸¹ Pociot F, Roningen KS, Nerup J: Polymorphic analysis of the human MHC-linked heat shock protein 70 (HSP70-2) and HSP70-Hom genes in insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Scand J Immunol* 1994; 38: 491-495
- ¹⁸² Johnson JD, Fleshner M. Releasing signals, secretory pathways, and immune function of endogenous extracellular heat shock protein 72. *J Leukoc Biol* 2006; 79: 425-434.
- ¹⁸³ Guzhova I, Kislyakova K, Moskaliova O, Fridlanskaya I, Tytell M, Cheetham M, Margulis B. In vitro studies show that Hsp70 can be released by glia and that exogenous Hsp70 can enhance neuronal stress tolerance. *Brain Res* 2001; 914: 66-73.
- ¹⁸⁴ Lancaster GI, Febbraio MA. Exosome-dependent trafficking of HSP70: a novel secretory pathway for cellular stress proteins *J Biol Chem* 2005; 280: 23349-23355.
- ¹⁸⁵ Pockley AG. Heat shock proteins as regulators of the immun response. *Lancet* 2003;362: 469-476.
- ¹⁸⁶ van Eden W, van der Zee R, Prakken B. Heat-shock proteins induce T-cell regulation of chronic inflammation. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 318-30.
- ¹⁸⁷ Asea A. Mechanisms of HSP72 release. *J Biosci* 2007; 32: 579-584.

- ¹⁸⁸ Joly AL, Wettstein G, Mignot G, Ghiringhelli F, Garrido C. Dual role of heat shock proteins as regulators of apoptosis and innate immunity. *J Innate Immun* 2010; 2: 238-47.
- ¹⁸⁹ Campisi J, Leem TH, Fleshner M. Stress-induced extracellular Hsp72 is a functionally significant danger signal to the immune system. *Cell Stress Chaperones* 2003; 8: 272-86.
- ¹⁹⁰ Wang Y, Whittall T, McGowan E, Younson J, Kelly C, Bergmeier LA, Singh M, Lehner T. Identification of stimulating and inhibitory epitopes within the heat shock protein 70 molecule that modulate cytokine production and maturation of dendritic cells. *J Immunol* 2005;174:3306–3316.
- ¹⁹¹ Multhoff G. Heat shock proteins in immunity. *Handb Exp Pharmacol*. 2006; 172: 279-304.
- ¹⁹² Lappas GD, Karl IE, Hotchkiss RS. Effect of ethanol and sodium arsenite on HSP7 formation and on survival in a murine endotoxin model. *Shock* 1994; 2: 34-39.
- ¹⁹³ Van Why SK, Siegel NJ. Heat shock proteins in renal injury and recovery. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998; 7: 407-412.
- ¹⁹⁴ Plumier JC, Currie RW. Heat shock-induced myocardial protection against ischemic injury: a role for Hsp70? *Cell Stress Chaperones* 1996; 1: 13-17.
- ¹⁹⁵ Yenari MA, Dumas TC, Sapolsky RM, Steinberg GK. Gene therapy for treatment of cerebral ischemia using defective herpes simplex viral vectors. *Ann NY Acad Sci* 2001; 939: 340-357.
- ¹⁹⁶ Sharp SR, Massa SM, Swanson RA. Heat shock protein protection. *Trends Neurosci* 1999; 22: 97-99.
- ¹⁹⁷ Mueller T, Bidmon B, Pichler P, Arbeiter K, Ruffingshofer D, Van Why SK, Aufricht C. Urinary heat shock protein-72 excretion in clinical and experimental renal ischemia. *Pediatr Nephrol* 2003; 18: 97-99.
- ¹⁹⁸ Aufricht C, Bidmon B, Ruffingshofer D, Regele H, Herkner K, Siegel NJ, Kashgarian M, Van Why SK. Ischemic conditioning prevents Na,K-ATPase dissociation from cytoskeletal cellular fraction after repeat renal ischemia in rats. *Pediatr Res* 2002; 51: 722-727.
- ¹⁹⁹ Pratt WB, Toft DO. Regulation of signaling protein function and trafficking by the hsp90/hsp70-based chaperone machinery. *Exp Biol Med* (Maywood) 2003; 228: 111-33.
- ²⁰⁰ Pratt WB, Morishima Y, Murphy M, Harrell M. Chaperoning of glucocorticoid receptors. *Handb Exp Pharmacol* 2006; 172: 111-38.
- ²⁰¹ Knowlton AA, Korzick DH. Estrogen and the female heart. *Mol Cell Endocrinol*. 2014; 389: 31-9.
- ²⁰² Hamilton KL, Mbai FN, Gupta S, Knowlton AA. Estrogen, heat shock proteins, and NFkappaB in human vascular endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1628-33.
- ²⁰³ Voss MR, Stallone JN, Li M, Cornelussen RN, Knuefermann P, Knowlton AA. Gender differences in the expression of heat shock proteins: the effect of estrogen. *Am J Physiol* 2003; 285: H687-692.
- ²⁰⁴ Bittar AE, Keitel E, Garcia CD. Patient non-compliance as a cause of late kidney graft failure. *Transplant Proc* 1992; 24: 2720.
- ²⁰⁵ Hugon A, Roustit M, Lehmann A, Saint-Raymond C, Borrel E, Hilleret MN, Malvezzi P, Bedouch P, Pansu P, Allenet B. Influence of intention to adhere, beliefs and satisfaction about medicines on adherence in solid organ transplant recipients. *Transplantation* 2014; 98(2): 222-8.
- ²⁰⁶ Az Egészségügyi Minisztérium módszertani levele. A tüdőtranszplantáció indikációi, ellenjavallatai, a betegkiválasztás szempontjai, a transzplantációra való alkalmasság, a várólistára kerülés feltételei, a várólistáról való levétel. Készítette: A Nemzeti Tüdő Transzplantációs Várólista Bizottság. www.emmi.hu (bejelentkezés 2015.09. 08.)
- ²⁰⁷ Corbett C, Armstrong MJ, Neuberger J. Tobacco smoking and solid organ transplantation. *Transplantation*. 2012; 94(10): 979-87.
- ²⁰⁸ Vos R, De Vusser K, Schaevers V, Schoonis A, Lemaigre V, Dobbels F, Desmet K, Vanaudenaerde BM, Van Raemdonck DE, Dupont LJ, Verleden GM. Smoking resumption after lung transplantation: a sobering truth. *Eur Respir J*. 2010; 35: 1411-3.

- ²⁰⁹ Remuzzi G, Perico N. Cyclosporine-induced renal dysfunction in experimental animals and humans. *Kidney Int* 1995; 48: 70-74.
- ²¹⁰ Kidokoro K, Satoh M, Nagasu H, Sakuta T, Kuwabara A, Yorimitsu D, Nishi Y, Tomita N, Sasaki T, Kashihara N. Tacrolimus induces glomerular injury via endothelial dysfunction caused by reactive oxygen species and inflammatory change. *Kidney Blood Press Res.* 2012; 35(6): 549-57.
- ²¹¹ Montori VM, Basu A, Erwin PJ, Velosa JA, Gabriel SE, Kudva YC. Posttransplantation diabetes: a systematic review of the literature. *Diabetes Care* 2002; 25: 583-92.
- ²¹² Penfornis A, Kury-Paulin S. Immunosuppressive drug-induced diabetes. *Diabetes Metab* 2006; 32: 539-46.
- ²¹³ Rosenblatt RL. Lung transplantation in cystic fibrosis. *Respir Care* 2009; 54: 777-86; discussion 786-7.
- ²¹⁴ Fiorina P, Shapiro AM, Ricordi C, Secchi A. The clinical impact of islet transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8:1990-7.
- ²¹⁵ NCCN Guidelines for Supportive Care. Myeloid growth factors. www.nccn.org (letöltve 2015. 08. 08.)
- ²¹⁶ NCCN Guidelines for Supportive Care. Cancer- and chemotherapy induced anaemia. www.nccn.org (letöltve 2015. 08. 08.)
- ²¹⁷ Del Mastro L, Gennari A, Donati S. Chemotherapy of non-small-cell lung cancer: Role of erythropoietin in the management of anemia. *Ann Oncol* 1999; 10: S91-S94.
- ²¹⁸ Calvillo L, Latini R, Kajstura J, Leri A, Anversa P, Ghezzi P, Salio M, Cerami A, Brines M. Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100: 4802-6.
- ²¹⁹ Schmeding M, Rademacher S, Boas-Knoop S, Roecken C, Lendeckel U, Neuhaus P, Neumann UP. rHuEpo reduces ischemia-reperfusion injury and improves survival after transplantation of fatty livers in rats. *Transplantation* 2010; 89: 161-8.
- ²²⁰ Vesey DA, Cheung C, Pat B, Endre Z, Gobé G, Johnson DW. Erythropoietin protects against ischaemic acute renal injury. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 348-55.
- ²²¹ Bohlius J, Schmidlin K, Brillant C, Schwarzer G, Trelle S, Seidenfeld J, Zwahlen M, Clarke M, Weingart O, Kluge S, Piper M, Rades D, Steensma DP, Djulbegovic B, Fey MF, Ray-Coquard I, Machtay M, Moebus V, Thomas G, Untch M, Schumacher M, Egger M, Engert A. Recombinant human erythropoiesis-stimulating agents and mortality in patients with cancer: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2009; 373: 1532-42. Erratum in: *Lancet* 2009; 374: 28.
- ²²² Stern M, Hirsch H, Cusini A, van Delden C, Manuel O, Meylan P, Boggian K, Mueller NJ, Dickenmann M; Members of Swiss Transplant Cohort Study. Cytomegalovirus serology and replication remain associated with solid organ graft rejection and graft loss in the era of prophylactic treatment. *Transplantation* 2014; 98(9): 1013-8.
- ²²³ von Muller L, Schliep C, Storck M, Hampl W, Schmid T, Abendroth D, Mertens T. Severe graft rejection, increased immunosuppression, and active CMV infection in renal transplantation. *J Med Virol* 2006; 78: 394-399.
- ²²⁴ Martin-Gandul C, Mueller NJ, Pascual M, Manuel O. The Impact of Infection on Chronic Allograft Dysfunction and Allograft Survival After Solid Organ Transplantation. *Am J Transplant.* 2015 Oct 16. doi: 10.1111/ajt.13486.
- ²²⁵ Kalil AC, Levitsky J, Lyden E, Stoner J, Freifeld AG. Meta-analysis: the efficacy of strategies to prevent organ disease by cytomegalovirus in solid organ transplant recipients. *Ann Intern Med* 2005; 143: 870-880.
- ²²⁶ Varga M, Rempert A, Czebe K, Péter A, Toronyi E, Sárváry E, Fehérvári I, Sulyok B, Járny J. A cytomegalovírus-fertőzés rizikófaktorai, hatásai és a megelőzés lehetőségei transzplantációt követően. *Orv Hetil* 2008; 149: 551-8.
- ²²⁷ Shah PD, McDyer JF. Viral infections in lung transplant recipients. *Semin Respir Crit Care Med.* 2010; 31(2): 243-54.

- ²²⁸ Russian DA, Levine SJ. Pneumocystis carinii pneumonia in patients without HIV infection. *Am J Med Sci* 2001; 321: 56-65.
- ²²⁹ Hsu JL, Khan MA, Sobel RA, Jiang X, Clemons KV, Nguyen TT, Stevens DA, Martinez M, Nicolls MR. *Aspergillus fumigatus* invasion increases with progressive airway ischemia. *PLoS One*. 2013; 8(10): e77136.
- ²³⁰ Limper AH, Knox KS, Sarosi GA, Ampel NM, Bennett JE, Catanzaro A, Davies SF, Dismukes WE, Hage CA, Marr KA, Mody CH, Perfect JR, Stevens DA; American Thoracic Society Fungal Working Group. An official american thoracic society statement: treatment of fungal infections in adult pulmonary and critical care patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 96-128.
- ²³¹ Reihill JA, Moore JE, Elborn JS, Ennis M. Effect of *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* on pro-inflammatory response in cystic fibrosis epithelium. *J Cyst Fibros* 2011; 10(6): 401-6.
- ²³² Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ transplant recipients. *N Engl J Med* 1998; 338: 1741-1751.
- ²³³ Sachdeva MU, Nada R, Jha V, Joshi K. Viral infections of renal allografts--an immunohistochemical and ultrastructural study. *Indian J Pathol Microbiol* 2004; 47: 189-194.
- ²³⁴ Manga Sahin G, Sahin S, Kantarci G, Ergin H. Impact of hepatitis C virus infection on patient and graft survival in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2006; 38: 499-501.
- ²³⁵ Takaki A, Yasunaka T, Yagi T. Molecular Mechanisms to Control Post-Transplantation Hepatitis B Recurrence. *Int J Mol Sci* 2015; 16(8): 17494-513.
- ²³⁶ Müller V, Becker G, Delfs M, Albrecht KH, Philipp T, Heemann U. Do urinary tract infections trigger chronic rejection in man? *J Urol* 1998; 159: 1826-1829.
- ²³⁷ Savioli G, Surbone S, Giovi I, Salinaro F, Preti P, Meloni F, Oggionni T, Perlini S. Early development of metabolic syndrome in patients subjected to lung transplantation. *Clin Transplant*. 2013; 27(3): E237-43.
- ²³⁸ Guijarro C, Massy Z, Kasiske B. Clinical correlation between renal allograft failure and hiperlipidemia. *Kidney Int* 1995; 48: 56-59.
- ²³⁹ Paragh G, Asztalos L, Seres I, Balogh Z, Locsey L, Karpati I, Matyus J, Katona E, Harangi M, Kakuk G. Serum paraoxonase activity changes in uremic and kidney-transplanted patients. *Nephron* 1999; 83: 126-31.
- ²⁴⁰ Hamar P, Müller V, Kohnle M, Witzke O, Albrecht KH, Philipp T, Heemann U. Metabolic factors have a major impact on kidney allograft survival. *Transplantation* 1997; 64: 1135-1139.
- ²⁴¹ Murakami N, Riella LV, Funakoshi T. Risk of metabolic complications in kidney transplantation after conversion to mTOR inhibitor: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant* 2014; 14: 2317-27.
- ²⁴² Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H. Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 1995; 333: 621-648.
- ²⁴³ Loboda A, Jazwa A, Jozkowicz A, Dorosz J, Balla J, Molema G, Dulak J. Atorvastatin prevents hypoxia-induced inhibition of endothelial nitric oxide synthase expression but does not affect heme oxygenase-1 in human microvascular endothelial cells. *Atherosclerosis* 2006; 187: 26-30.
- ²⁴⁴ Sonkodi S, Mogyrosi A. Treatment of diabetic nephropathy with angiotensin II blockers. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: v21-23.
- ²⁴⁵ Fellstrom B, Backman U, Larsson E, Wahlberg J. Accelerated arteriosclerosis in the transplant recipient: role of hypertension. *J Hum Hypertens* 1998; 12: 851-854.
- ²⁴⁶ Paul LC, Benediktson H. Post-transplant hypertension and chronic renal allograft failure. *Kidney Int* 1995; 48: 34-37.
- ²⁴⁷ Barna I, Foldes K, Szathmari M, Gero L, de Chatel R. Decreased diurnal blood pressure variability and low dehydroepiandrosterone sulfate levels in patients with renal hypertension, and after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 30-31.
- ²⁴⁸ Szabo A, Patschan O, Kuttler B, Muller V, Philipp T, Rettig R, Heemann U. Hypertension accelerates the pace of chronic graft dysfunction in the rat. *Transplant Int* 1998; 1: 10-14.

- ²⁴⁹ Opelz G, Dohler B; Collaborative Transplant Study: Improved long-term outcomes after renal transplantation associated with blood pressure control. *Am J Transplant* 2005; 5: 2725-2731.
- ²⁵⁰ Janssens W, Bouillon R, Claes B, et al. Vitamin D deficiency is highly prevalent in COPD and correlates with variants in the vitamin D-binding gene. *Thorax*. 2010; 65: 215–220.
- ²⁵¹ Persson LJ, Aanerud M, Hiemstra PS, Hardie JA, Bakke PS, Eagan TM. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with low levels of vitamin D. *PLoS One*. 2012; 7: e38934
- ²⁵² Kovács G, Vadász I. A dohányzásról leszokást segítő program. *Pulmonológiai útmutató*. 2006.
- ²⁵³ Egészségügyi szakmai irányelv a dohányzásról való leszokás támogatásáról. Emberi Erőforrások Minisztériuma-Egészségügyi Államtitkárság. 2014. Kovács G (fejlesztő felelős), Cselkó Z, Fényes M, Müller V (tüdőgyógyászat tagozat), Varga G (addiktológia tagozat), Kudász F (foglalkozás- orvostan tagozat), Urbán R (klinikai szakpszichológia és pszichoterapeuta klinikai szakpszichológus tagozat), Balázs P, Kiss I, Sándor J (megelőző orvostan és népegészségügy, kórház-higiénia tagozat). www.emmi.gov.hu. (belépés 2015.10.23).
- ²⁵⁴ Gyulai N, Orosz M, Somoskövi Á, Losonczy G, Wollák A, Bohács A, Magyar P, Müller V. Dohányzási szokások egy tüdőgyógyászati intézmény dolgozóinak körében. *Medicina Thoracalis* 2006; 59: 67-70.
- ²⁵⁵ Müller V. A krónikus obstruktív tüdőbetegség rizikótényezői. A betegség kialakulásában szerepet játszó mechanizmusok. *Praxis*. 2005; 14: 40-45.
- ²⁵⁶ Müller V, Gálffy G, Tamási L. Asthma bronchiale és krónikus obstruktív tüdőbetegség együttes megjelenése. *Orv Hetil* 2011; 152: 114-8.
- ²⁵⁷ Siafakas NM, Tzortzaki EG. Few smokers develop COPD. Why? *Respir Med* 2002; 96: 615-24.
- ²⁵⁸ Macnee W. Oxidants/antioxidants and COPD. *Chest* 2000; 117: 303S-17S.
- ²⁵⁹ Maestrelli P, Saetta M, Mapp CE, Fabbri LM. Remodeling in response to infection and injury. Airway inflammation and hypersecretion of mucus in smoking subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: S76-80.
- ²⁶⁰ Szilasi M, Dolinay T, Nemes Z, Strausz J. Pathology of chronic obstructive pulmonary disease. *Pathol Oncol Res* 2006 ;12: 52-60.
- ²⁶¹ Müller V, Kovács Zs, Tamási L. A dohányfüst hatásai az immunrendszerre. *Medicina Thoracalis* 2007; 60: 27-33.
- ²⁶² Bosken CH, Hards J, Gatter K, Hogg JC. Characterization of the inflammatory reaction in the peripheral airways of cigarette smokers using immunocytochemistry. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 911-7.
- ²⁶³ Stanescu D, Sanna A, Veriter C, Kostianev S, Calcagni PG, Fabbri LM, Maestrelli P. Airways obstruction, chronic expectoration, and rapid decline of FEV1 in smokers are associated with increased levels of sputum neutrophils. *Thorax* 1996; 51: 267-71.
- ²⁶⁴ Park HY, Man SF, Tashkin D, Wise RA, Connett JE, Anthonisen NA, Sin DD. The relation of serum myeloperoxidase to disease progression and mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *PLoS One*. 2013; 8(4): e61315.
- ²⁶⁵ Schulz C, Kratzel K, Wolf K, Schroll S, Kohler M, Pfeifer M. Activation of bronchial epithelial cells in smokers without airway obstruction and patients with COPD. *Chest* 2004; 125: 1706-13.
- ²⁶⁶ Di Stefano A, Maestrelli P, Roggeri A, Turato G, Calabro S, Potena A, Mapp CE, Ciaccia A, Covacev L, Fabbri LM. Upregulation of adhesion molecules in the bronchial mucosa of subjects with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 803-10.
- ²⁶⁷ Blidberg K, Palmberg L, Dahlén B, Lantz AS, Larsson K. Increased neutrophil migration in smokers with or without chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology* 2012; 17: 854-60.
- ²⁶⁸ Coakley RJ, Taggart C, O'Neill S, McElvaney NG. Alpha1-antitrypsin deficiency: biological answers to clinical questions. *Am J Med Sci* 2001; 321: 33-41.

- ²⁶⁹ Rahman I. Oxidative stress, chromatin remodeling and gene transcription in inflammation and chronic lung diseases. *J Biochem Mol Biol* 2003; 36: 95-109.
- ²⁷⁰ Barnes PJ, Baraniuk JN, Belvisi MG. Neuropeptides in the respiratory tract. Part I. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 1187-98.
- ²⁷¹ Saetta M, Baraldo S, Corbino L, Turato G, Braccioni F, Rea F, Cavallero G, Tropeano G, Mapp CE, Maestrelli P, Ciaccia A, Fabbri LM. CD8+ve cells in the lungs of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 711-7.
- ²⁷² Barnes PJ, Cosio MG. Characterization of T lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease. *LoS Med* 2004; 1: e20.
- ²⁷³ Cosio MG, Majo J, Cosio MG. Inflammation of the airways and lung parenchyma in COPD: role of T cells. *Chest* 2002; 121: 160S-165S.
- ²⁷⁴ Frasca L, Piazza C, Piccolella E. CD4+ T cells orchestrate both amplification and deletion of CD8+ T cells. *Crit Rev Immunol* 1998; 18: 569-94.
- ²⁷⁵ Szabo A, Heemann U. Ischemia reperfusion injury and chronic allograft rejection. *Transplant Proc* 1998; 30: 4281-4.
- ²⁷⁶ Chrysafakis G, Tzanakis N, Kyriakoy D, Tsoumakidou M, Tsiligianni I, Klimathianaki M, Siafakas NM. Perforin expression and cytotoxic activity of sputum CD8+ lymphocytes in patients with COPD. *Chest* 2004; 125: 71-6.
- ²⁷⁷ Barnes PJ. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 515-548.
- ²⁷⁸ Saetta M, Mariani M, Panina-Bordignon P, Turato G, Buonsanti C, Baraldo S, Bellettato CM, Papi A, Corbetta L, Zuin R, Sinigaglia F, Fabbri LM. Increased expression of the chemokine receptor CXCR3 and its ligand CXCL10 in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1404-9.
- ²⁷⁹ Mattoli S, Kleimberg J, Stacey MA, Bellini A, Sun G, Marini M. The role of CD8+ Th2 lymphocytes in the development of smoking-related lung damage. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 239: 146-9.
- ²⁸⁰ Rahman I. Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: antioxidant therapeutic targets. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2002; 1: 291-315.
- ²⁸¹ Agustí A, Edwards LD, Rennard SI, MacNee W, Tal-Singer R, Miller BE, Vestbo J, Lomas DA, Calverley PM, Wouters E, Crim C, Yates JC, Silverman EK, Coxson HO, Bakke P, Mayer RJ, Celli B; Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate Endpoints (ECLIPSE) Investigators. Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: a novel phenotype. *PLoS One*. 2012; 7(5): e37483.
- ²⁸² Koch A, Gackowski M, Sturton G, Staib P, Schinkothe T, Klein E, Rubbert A, Bon K, Wassermann K, Erdmann E. Modification of surface antigens in blood CD8+ T-lymphocytes in COPD: effects of smoking. *Eur Respir J* 2007; 29: 42-50.
- ²⁸³ Korn S, Wiewrodt R, Walz YC, Becker K, Mayer E, Krummenauer F, Buhl R. Characterization of the interstitial lung and peripheral blood T cell receptor repertoire in cigarette smokers. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 32: 142-8.
- ²⁸⁴ Orth SR. Effects of smoking on systemic and intrarenal hemodynamics: Influence on renal function. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: S58-S63.
- ²⁸⁵ Orth SR. Smoking and the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1663-1672.
- ²⁸⁶ Kasiske BL, Klinger D. Cigarette smoking in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 753-759.
- ²⁸⁷ Zitt N, Kollerits B, Neyer U, Mark W, Heininger D, Mayer G, Kronenberg F, Lhotta K. Cigarette smoking and chronic allograft nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 3034-3039.
- ²⁸⁸ Müller V: dohányzás. In: ADD a kezed! Összefogás az alkohol, drog és dohányzás ellen. Információs füzet diákoknak.

- ²⁸⁹ Müller V. Dohányzásleszokás segítése a háziorvosi gyakorlatban. Háziorvosi továbbképző szemle. 2007; 12: 138-143.
- ²⁹⁰ Müller V. Leszokás speciális esetekben. In: Kovács Gábor: Dohányzás és leszokás. Medicina Könyvkiadó Zrt, 2010., 353-358. o.
- ²⁹¹ From the Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) 2015. Available from: <http://www.ginasthma.org/>. (belépés 2015.10.23)
- ²⁹² From the Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2015. Available from: <http://www.goldcopd.org/>. (belépés 2015.10.23)
- ²⁹³ Adcock IM, Maneechotesuwan K, Usmani O. Molecular interactions between glucocorticoids and long-acting beta2-agonists. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: S261-8.
- ²⁹⁴ Müller V. Dohányfüst okozta immunológiai folyamatok a tüdőben. *Allergológia és Klinikai Immunológia* 2005; 8: 150-154.
- ²⁹⁵ Duma D, Silva-Santos JE, Assreuy J. Inhibition of glucocorticoid receptor binding by nitric oxide in endotoxemic rats. *Crit Care Med* 2004; 32: 2304-10.
- ²⁹⁶ Thomson NC, Chaudhuri R, Livingston E. Asthma and cigarette smoking. *Eur Respir J* 2004; 24: 822-833
- ²⁹⁷ Barnes PJ, Ito K, Adcock IM. Corticosteroid resistance in chronic obstructive pulmonary disease: inactivation of histone deacetylase. *Lancet* 2004; 363: 731-733.
- ²⁹⁸ Chana KK, Fenwick PS, Nicholson AG, Barnes PJ, Donnelly LE. Identification of a distinct glucocorticosteroid-insensitive pulmonary macrophage phenotype in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 133(1): 207-16.e1-11.
- ²⁹⁹ Müller V, Tamási L, Somfay A, Kovács G, Losonczy Gy. Az eltérő inhalációs eszközökből adagolt azonos hatóanyagú készítmények közötti különbségek. *Medicina Thoracalis.* 2012; 65: 329-335.
- ³⁰⁰ Müller V, Horváth G, Tamási L, Eszes N, Bohács A, Vincze K, Kovács Z, Lázár Z, Odler B, Kornafeld A, Erdélyi T, Somogyi V, Losonczy G. Obstruktív tüdőbetegségekben alkalmazott inhalációs gyógyszerek célpontjai: receptorok a légúti felszín sejtjein. *Medicina Thoracalis* 2015; 68: 6-12.
- ³⁰¹ Gras D, Bourdin A, Vachier I, de Senneville L, Bonnans C, Chanez P. An ex vivo model of severe asthma using reconstituted human bronchial epithelium. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 129: 1259-1266.
- ³⁰² Barnes PJ. Distribution of receptor targets in the lung. *Proc Am Thorac Soc* 2004;1:345-51.
- ³⁰³ Revollo JR, Cidlowski JA. Mechanisms generating diversity in glucocorticoid receptor signaling. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1179:167-78.
- ³⁰⁴ Adcock IM, Gilbey T, Gelder CM, Chung KF, Barnes PJ. Glucocorticoid receptor localization in normal and asthmatic lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:771-82.
- ³⁰⁵ Gagnon RF, Duguid WP. A reproducible model for chronic renal failure in the mouse. *Urol Res* 1983; 11: 11-14.
- ³⁰⁶ Raij L, Azar S, Keane W. Mesangial immune injury, hypertension and progressive glomerular damage in Dahl rats. *Kidney Int* 1984; 26: 137-143.
- ³⁰⁷ Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB, Croker BP, Droz D, Dunnill MS, Halloran PF, Häyry P, Jennette JC, Keown PA, Marcussen N, Mihatsch NJ, Morozumi K, Myers BD, Nast CC, Olsen S, Racusen LC, Ramos EL, Rosen S, Sachs DH, Salomon DR, Sanfilippo F, Verani R, von Willebrand E, Yamaguchi Y. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: The Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993; 44: 411-422.
- ³⁰⁸ Weibel ER. Stereological methods. Practical methods for biological morphometry. Academic Press, London. 1-145 pp., 1979

- ³⁰⁹ Chomczynsky P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidin thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Ann Biochem* 1987; 162: 156-161.
- ³¹⁰ Siegling A, Lehmann M, Platzer C, Emmrich F, Volk HD. A novel multispecific competitor fragment for quantitative PCR analysis of cytokine gene expression in rats. *J Immunol Methods* 1994; 177: 23-28.
- ³¹¹ Rusai K, Prókai A, Szebeni B, Fekete A, Treszl A, Vannay A, Müller V, Reusz G, Heemann U, Lutz J, Tulassay T, Szabó AJ. Role of serum and glucocorticoid-regulated kinase-1 in the protective effects of erythropoietin during renal ischemia/reperfusion injury. *Biochem Pharmacol* 2009; 79: 1173–1181.
- ³¹² Vászárhelyi B, Szabó T, Vér A, Tulassay T. Measurement of Na⁺/K⁺-ATPase activity with an automated analyzer. *Clin Chem* 1997; 43: 1986-7.
- ³¹³ Bernhard D, Huck CW, Jakschitz T, Pfister G, Henderson B, Bonn GK, Wick G. Development and evaluation of an in vitro model for the analysis of cigarette smoke effects on cultured cells and tissues. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2004; 50: 45-51.
- ³¹⁴ Chen NY, Lai HH, Hsu TH, Lin FY, Chen JZ, Lo HC. Induction of apoptosis in human lung carcinoma A549 epithelial cells with an ethanol extract of *Tremella mesenterica*. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008; 72: 1283-9.
- ³¹⁵ Müller V, Vincze K, Esze N, Zahorecz G, Bohacs A, Losonczy G, Tamasi L. Supportive care of palliative chemotherapy for advanced stage lung cancer patients: Summary for the daily practice. *Journal of Nursing Education and Practice*, 2014, 4: 101-111.
- ³¹⁶ Müller V, Tamási L, Gálffy G, Losonczy G. [Supportive care during chemotherapy for lung cancer in daily practice]. *Magy Onkol.* 2012; 56(3): 159-65.
- ³¹⁷ Tamási L, Müller V, Magyar P. [Experience with aprepitant in the prevention of nausea and vomiting caused by highly emetic chemotherapy of lung cancer]. *Magy Onkol.* 2008; 52(2): 179-83.
- ³¹⁸ Tamási L, Müller V, Magyar P, Losonczy G. [Erythropoietic protein supportive treatment in small cell lung cancer]. *Magy Onkol.* 2008; 52(1): 43-6.
- ³¹⁹ Torre O, Harari S. Pleural and pulmonary involvement in systemic lupus erythematosus. *Presse Med* 2011; 40:e19-29.
- ³²⁰ Gombos P, Langer RM, Korbely R, Varga M, Kaposi A, Dinya E, Müller V. Smoking following renal transplantation in Hungary and its possible deleterious effect on renal graft function. *Transplant Proc* 2010; 42: 2357-9.
- ³²¹ Szondy K, Rusai K, Szabó AJ, Nagy A, Gal K, Fekete A, Kovats Z, Losonczy G, Lukacsovits J, Müller V. Tumor cell expression of heat shock protein (HSP) 72 is influenced by HSP72 [HSPA1B A(1267)G] polymorphism and predicts survival in small Cell lung cancer (SCLC) patients. *Cancer Invest.* 2012; 30(4): 317-22.
- ³²² Müller V, Gálffy G, Eszes N, Losonczy G, Bizzi A, Nicolini G, Chrystyn H, Tamási L. Asthma control in patients receiving inhaled corticosteroid and long-acting beta2-agonist fixed combinations. A real-life study comparing dry powder inhalers and a pressurized metered dose inhaler extrafine formulation. *BMC Pulm Med.* 2011;11 :40.
- ³²³ Farkas A, Jókay A, Füri P, Balásházy I, Müller V, Odler B, Horváth A. Computer Modelling as a Tool in Characterization and Optimization of Aerosol Drug Delivery. *Aerosol and Air Quality Research*, x: 1–9, xxxx (publikációra elfogadva)
- ³²⁴ Odler B, Ivancsó I, Somogyi V, Benke K, Tamási L, Gálffy G, Szalay B, Müller V. Vitamin D deficiency is associated with impaired disease control in asthma-COPD overlap syndrome patients. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2015; 10: 2017-25.
- ³²⁵ Vincze K, Kovats Z, Cseh A, Pasti K, Kiss E, Polgar A, Vasarhelyi B, Szabo AJ, Bohacs A, Tamasi L, Losonczy G, Müller V. Peripheral CD4⁺ cell prevalence and pleuropulmonary manifestations in systemic lupus erythematosus patients. *Respir Med.* 2014; 108(5): 766-74.

- ³²⁶ Polgár A, Rózsa C, Müller V, Matolcsi J, Poór G, Kiss EV. Devic's syndrome and SLE: challenges in diagnosis and therapeutic possibilities based on two overlapping cases. *Autoimmun Rev*. 2011 Jan;10(3):171-4.
- ³²⁷ Müller V, Losonczy G, Heemann U, Vannay A, Fekete A, Reusz G, Tulassay T, Szabó AJ. Sexual dimorphism in renal ischemia-reperfusion injury in rats: possible role of endothelin. *Kidney Int* 2002; 62: 1364-71.
- ³²⁸ Fekete A, Vannay A, Vér A, Vásárhelyi B, Müller V, Ouyang N, Reusz G, Tulassay T, Szabó AJ. Sex differences in the alterations of Na(+), K(+)-ATPase following ischaemia-reperfusion injury in the rat kidney. *J Physiol* 2004; 555: 471-80.
- ³²⁹ Fekete A, Vannay A, Vér A, Rusai K, Müller V, Reusz G, Tulassay T, Szabó AJ. Sex differences in heat shock protein 72 expression and localization in rats following renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291: F806-11.
- ³³⁰ Rusai K, Prókai A, Szebeni B, Mészáros K, Fekete A, Szalay B, Vannay Á, Degrell P, Müller V, Tulassay T, Szabó AJ. Gender differences in serum and glucocorticoid regulated kinase-1 (SGK-1) expression during renal ischemia/reperfusion injury. *Cell Physiol Biochem* 2011; 27: 727-38.
- ³³¹ Kristof AS, Fielhaber J, Triantafillopoulos A, Nemoto S, Moss J. Phosphatidylinositol 3-kinase-dependent suppression of the human inducible nitric-oxide synthase promoter is mediated by FKHL1. *J Biol Chem* 2006; 281: 23958-68.
- ³³² Rusai K, Prokai A, Juanxing C, Meszaros K, Szalay B, Pásti K, Müller V, Heemann U, Lutz J, Tulassay T, Szabo AJ. Dexamethasone protects from renal ischemia/reperfusion injury: a possible association with SGK-1. *Acta Physiol Hung* 2013; 100:173-85.
- ³³³ Prókai A, Fekete A, Bánki NF, Müller V, Vér A, Degrell P, Rusai K, Wagner L, Vannay A, Rosta M, Heemann U, Langer RM, Tulassay T, Reusz G, Szabó AJ. Renoprotective effect of erythropoietin in rats subjected to ischemia/reperfusion injury: gender differences. *Surgery* 2011; 150: 39-47.
- ³³⁴ Müller V, Szabó A, Viklicky O, Gaul I, Pörtl S, Philipp T, Heemann UW. Sex hormones and gender-related differences: their influence on chronic renal allograft rejection. *Kidney Int* 1999; 55: 2011-20.
- ³³⁵ Muller V, Szabo AJ, Erdely A, Tain YL, Baylis C. Sex differences in response to cyclosporine immunosuppression in experimental kidney transplantation. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008;35:574-9.
- ³³⁶ Viklický O, Zou H, Müller V, Lacha J, Szabó A, Heemann U. SDZ-RAD prevents manifestation of chronic rejection in rat renal allografts. *Transplantation* 2000; 69: 497-502.
- ³³⁷ Tain YL, Muller V, Szabo AJ, Erdely A, Smith C, Baylis C. Renal cortex neuronal nitric oxide synthase in response to rapamycin in kidney transplantation. *Nitric Oxide* 2008; 18: 80-6.
- ³³⁸ Tain YL, Muller V, Szabo A, Dikalova A, Griendling K, Baylis C. Lack of long-term protective effect of antioxidant/anti-inflammatory therapy in transplant-induced ischemia/reperfusion injury. *Am J Nephrol* 2006; 26: 213-7.
- ³³⁹ Erdely A, Wagner L, Müller V, Szabo A, Baylis C Protection of Wistar Furth rat from renal disease is associated with maintained renal nitric oxide. *J AM Soc Nephrol* 2003; 14: 2526-2533.
- ³⁴⁰ Szabo AJ, Muller V, Chen GF, Samsell LJ, Erdely A, Baylis C. Nephron number determines susceptibility to renal mass reduction-induced CKD in Lewis and Fisher 344 rats: implications for development of experimentally induced chronic allograft nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 2492-5.
- ³⁴¹ de Heer E, Davidoff A, van der Wal A, van Geest M, Paul LC. Chronic renal allograft rejection in the rat. Transplantation-induced antibodies against basement membrane antigens. *Lab Invest* 1994; 70: 494-502.
- ³⁴² Gál K, Cseh A, Szalay B, Rusai K, Vannay A, Lukácsovits J, Heemann U, Szabó AJ, Losonczy G, Tamási L, Müller V. Effect of cigarette smoke and dexamethasone on Hsp72 system of alveolar epithelial cells. *Cell Stress Chaperones* 2011; 16: 369-78.
- ³⁴³ Kovats Z, Sütto Z, Muraközy G, Bohacs A, Czebe K, Lang G, Renyi-Vamos F, Klepetko W, Müller V. Airway pathogens during the first year after lung transplantation: a single-center experience. *Transplant Proc*. 2011; 43(4): 1290-1.

- ³⁴⁴ Szilasi M, Müller V, Juhász E, Magyar P, Budai M, Tamási L. Cisplatin-vinorelbine chemotherapy in non-small cell lung cancer is safe and well tolerated: results of a retrospective Hungarian clinical data analysis. *Expert Opin Drug Saf.* 2009; 8(1): 9-14.
- ³⁴⁵ Tamási L, Müller V, Eszes N, Kardos T, Budai M, Vincze K, Losonczy G, Szilasi M. Patterns of erythropoiesis-stimulating agent use for chemotherapy-induced anemia in lung cancer: results of a retrospective Hungarian real-life clinical data analysis. *Expert Opin Drug Saf.* 2011; 10(4): 503-7.
- ³⁴⁶ Máthé C, Bohács A, Duffek L, Lukácsovits J, Komlosi ZI, Szondy K, Horváth I, Müller V, Losonczy G. Cisplatin nephrotoxicity aggravated by cardiovascular disease and diabetes in lung cancer patients. *Eur Respir J.* 2011; 37(4): 888-94.
- ³⁴⁷ Tamási L, Balikó Z, Bálint B, Bártfai Z, Bauknecht É, Böszörményi Nagy Gy, Csoma Zs, Gálffy G, Herjavec I, Horváth I, Losonczy Gy, Márk Zs, Müller V, Somfay A, Szilasi M. Egészségügyi szakmai irányelv - Az asthma bronchiale diagnosztikájának, kezelésének és orvosi gondozásának alapelveiről felnőttkorban. *Medicina Thoracalis* 2014; 67: 3-38.
- ³⁴⁸ Müller V, Tamási L, Somfay A, Kovács G, Losonczy Gy. Az eltérő inhalációs eszközökből adagolt azonos hatóanyagú készítmények közötti különbségek. *Medicina Thoracalis.* 2012; 65: 329-335.
- ³⁴⁹ Jokay Á, Farkas Á, Fűri P, Balásházy I, Horváth A, Müller V. Az asztma kezelésében néhány gyakran használt kombinált aeroszol gyógyszer (ICS-LABA) légúti kiüledéseloszlásának numerikus modellezése. *Medicina Thoracalis* 2015; 68: 46-57.
- ³⁵⁰ Ivancsó I, Böcskei R, Müller V, Tamási L. Extrafine inhaled corticosteroid therapy in the control of asthma. *J Asthma Allergy* 2013; 6: 69-80.
- ³⁵¹ Eszes N, Bohács A, Cseh A, Toldi G, Bikov A, Ivancsó I, Müller V, Horváth I, Rigó J Jr, Vászárhelyi B, Losonczy G, Tamási L. Relation of circulating T cell profiles to airway inflammation and asthma control in asthmatic pregnancy. *Acta Physiol Hung.* 2012; 99(3): 302-10.
- ³⁵² Toldi G, Molvarec A, Stenczer B, Müller V, Eszes N, Bohács A, Bikov A, Rigó J Jr, Vászárhelyi B, Losonczy G, Tamási L. Peripheral T(h)1/T(h)2/T(h)17/regulatory T-cell balance in asthmatic pregnancy. *Int Immunol.* 2011; 23(11): 669-77.
- ³⁵³ Bohács A, Cseh A, Stenczer B, Müller V, Gálffy G, Molvarec A, Rigó J Jr, Losonczy G, Vászárhelyi B, Tamási L. Effector and regulatory lymphocytes in asthmatic pregnant women. *Am J Reprod Immunol.* 2010; 64(6): 393-401.
- ³⁵⁴ Bohács A, Pállinger E, Tamási L, Rigó J Jr, Komlósi Z, Müller V, Dong Y, Magyar P, Falus A, Losonczy G. Surface markers of lymphocyte activation in pregnant asthmatics. *Inflamm Res.* 2010; 59(1): 63-70.
- ³⁵⁵ Ostadal B, Ostadal P. Sex-based differences in cardiac ischaemic injury and protection: therapeutic implications. *Br J Pharmacol* 2014; 171: 541-54.
- ³⁵⁶ Losonczy G, Kriston T, Szabó A, Müller V, Harvey J, Hamar P, Heemann U, Baylis C. Male gender predisposes to development of endotoxic shock in the rat. *Cardiovasc Res.* 2000; 47: 183-91.
- ³⁵⁷ Heemann U, Szabo A, Hamar P, Müller V, Witzke O, Lutz J, Philipp T. Lipopolysaccharide pretreatment protects from renal ischemia/reperfusion injury: possible connection to an interleukin-6-dependent pathway. *Am J Pathol* 2000; 156:287-93.
- ³⁵⁸ Coux G, Trumper L, Elias MM: Cortical Na⁺, K⁺ -ATPase activity, abundance, and distribution after in vivo renal ischemia without reperfusion in rats. *Nephron* 2001; 89: 82-89.
- ³⁵⁹ Keller JN, Germeyer A, Begley JG, Mattson MP: 17Beta-estradiol attenuates oxidative impairment of synaptic Na⁺/K⁺-ATPase activity, glucose transport, and glutamate transport induced by amyloid beta-peptide and iron. *J Neurosci Res* 1997; 50(4): 522-530.
- ³⁶⁰ Labombarda F, Gonzalez SL, Gonzalez DM, Guennoun R, Schumacher M, de Nicola AF: Cellular basis for progesterone neuroprotection in the injured spinal cord. *J Neurotrauma* 2002; 19: 343-355
- ³⁶¹ Rafestin-Oblin ME, Couette B, Barlet-Bas C, Cheval L, Viger A, Doucet A: Renal action of progesterone and 18-substituted derivatives. *Am J Physiol* 1991; 260: F828-83.

- ³⁶² Mujais SK, Nora NA, Chen Y: Regulation of the renal Na,K pump: role of progesterone. *J Am Soc Nephrol* 1993; 3:1488-1495.
- ³⁶³ Fares M, François C, Maixent JM. Short communication: Ischemia increases cortical Na⁺,K⁺-ATPase activity (K-Pase) in a model of kidney auto-transplantation in the large white pig. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2014; 60: 16-9.
- ³⁶⁴ Riordan M, Sreedharan R, Wang S, Thulin G, Mann A, Stankewich M, Van Why S, Kashgarian M, Siegel NJ: HSP70 binding modulates detachment of Na-K-ATPase following energy deprivation in renal epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288(6): F1236-1242.
- ³⁶⁵ Young JC. Mechanisms of the Hsp70 chaperone system. *Biochem Cell Biol* 2010; 88: 291-300.
- ³⁶⁶ Saleh MC, Connell BJ, Saleh TM. Estrogen may contribute to ischemic tolerance through modulation of cellular stress-related proteins. *Neurosci Res* 2009; 63: 273-9.
- ³⁶⁷ Hessenkemper W, Baniahmad A. Targeting heat shock proteins in prostate cancer. *Curr Med Chem* 2013; 20: 2731-40.
- ³⁶⁸ Van Why SK, Hildebrandt F, Ardito T, Mann AS, Siegel NJ, Kashgarian M: Induction and intracellular localization of HSP-72 after renal ischemia *Am J Physiol* 1992; 263(5 Pt 2): F769-775.
- ³⁶⁹ Shen S, Jin Y, Li W, Liu X, Zhang T, Xia W, Wang Y, Ma K. Recombinant human erythropoietin pretreatment attenuates acute renal tubular injury against ischemia-reperfusion by restoring transient receptor potential channel-6 expression and function in collecting ducts. *Crit Care Med* 2014; 42: e663-72.
- ³⁷⁰ Kamal L, Broin PÓ, Bao Y, Ajaimy M, Lubetzky M, Gupta A, de Boccardo G, Pullman J, Golden A, Akalin E. Clinical, Histological, and Molecular Markers Associated With Allograft Loss in Transplant Glomerulopathy Patients. *Transplantation* 2015; 99: 1912-8.
- ³⁷¹ Demir A, Coosemans W, Decaluwé H, De Leyn P, Nafteux P, Van Veer H, Verleden GM, Van Raemdonck D. Donor-recipient matching in lung transplantation: which variables are important?†. *Eur J Cardiothorac Surg* 2015; 47: 974-83.
- ³⁷² Heemann U, Azuma H, Tullius SG, Mackenzie HS, Schmid C, Brenner BM, Tilney NL: Influence of renal mass on chronic kidney allograft rejection in rats. *Transplant Proc* 1995; 27: 549.
- ³⁷³ Taherimahmoudi M, Mehraei A, Nikoobakht M, Saraji A, Emamzadeh A, Pourmand G. Does donor nephron mass have any impact on graft survival? *Transplant Proc* 2007; 39: 914-6.
- ³⁷⁴ Viklický O, Müller V, Zou H, Szabó A, Vitko S, Heemann U. RAD reduces compensatory renal graft hypertrophy in a rat model of chronic rejection. *Transplant Proc* 2001; 33:2320-1.
- ³⁷⁵ Enosawa S, Hirasawa K: Sex-associated differences in the survival of skin grafts in rats. *Transplantation* 1989; 47: 933-937.
- ³⁷⁶ Tamási L, Horváth I, Bohács A, Müller V, Losonczy G, Schatz M. Asthma in pregnancy--immunological changes and clinical management. *Respir Med* 2011; 105: 159-64.
- ³⁷⁷ Grossman CJ: Interactions between the gonadal steroids and the immune system. *Science* 1985; 227: 257-261.
- ³⁷⁸ Hamar P, Liu S, Viklický O, Szabó A, Müller V, Heemann U. Cyclosporine A and azathioprine are equipotent in chronic kidney allograft rejection. *Transplantation* 2000; 69: 1290-5.
- ³⁷⁹ Schmidt RJ, Yokota S, Tracy TS: Nitric oxide production is low in end stage renal disease patients on peritoneal dialysis. *Am J Physiol (Renal Physiol)* 1999; 276: F794-F797.
- ³⁸⁰ Dumont Y, D'Amours M, Lebel M, Lariviere R: Supplementation with a low dose of L-arginine reduces blood pressure and endothelin-1 production in hypertensive uraemic rats. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(4): 746-754.
- ³⁸¹ Zatz R, Baylis C: Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension*. 1998; 32: 958-964.
- ³⁸² Rusai K, Fekete A, Szebeni B, Vannay A, Bokodi G, Müller V, Viklický O, Bloudickova S, Rajnoch J, Heemann U, Reusz G, Szabó A, Tulassay T, Szabó AJ. Effect of inhibition of neuronal nitric oxide synthase

and L-arginine supplementation on renal ischaemia-reperfusion injury and the renal nitric oxide system. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008 ; 35: 1183-9.

³⁸³ Stojanovic T, Gröne HJ, Gieseler RKH, Klanke B, Schlemminger R, Tsikas D, Gröne EF: Enhanced renal allograft rejection by inhibitors of nitric oxide synthase: a nonimmunologic influence on alloreactivity. *Lab Invest* 1996; 74: 496-512.

³⁸⁴ Kaushik G, Kaushik T, Khanduja S, Pathak CM, Khanduja KL. Cigarette smoke condensate promotes cell proliferation through disturbance in cellular redox homeostasis of transformed lung epithelial type-II cells. *Cancer Lett* 2008; 270: 120-31.

³⁸⁵ Liu Y, Gao W, Zhang D. Effects of cigarette smoke extract on A549 cells and human lung fibroblasts treated with transforming growth factor-beta1 in a coculture system. *Clin Exp Med* 2010; 10(3): 159-67.

³⁸⁶ Forbes B, Ehrhardt C. Human respiratory epithelial cell culture for drug delivery applications. *Eur J Pharm Biopharm* 2005; 60: 193-205.

³⁸⁷ Demedts IK, Demoor T, Bracke KR, Joos GF, Brusselle GG. Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD and pulmonary emphysema. *Respir Res* 2006; 7: 53.

³⁸⁸ Punturieri A, Szabo E, Croxton TL, Shapiro SD, Dubinett SM. Lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease: needs and opportunities for integrated research. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101(8): 554-9.

³⁸⁹ Rooney C, Sethi T. The epithelial cell and lung cancer: the link between chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer. *Respiration* 2011; 81(2): 89-104.

³⁹⁰ Pace E, Ferraro M, Di Vincenzo S, Cipollina C, Gerbino S, Cigna D, Caputo V, Balsamo R, Lanata L, Gjomarkaj M. Comparative cytoprotective effects of carbocysteine and fluticasone propionate in cigarette smoke extract-stimulated bronchial epithelial cells. *Cell Stress Chaperones* 2013; 18: 733-43.

³⁹¹ Yokohori N, Aoshiba K, Nagai A; Respiratory Failure Research Group in Japan. Increased levels of cell death and proliferation in alveolar wall cells in patients with pulmonary emphysema. *Chest* 2004; 125(2): 626-32.

³⁹² Kiri VA, Fabbri LM, Davis KJ, Soriano JB. Inhaled corticosteroids and risk of lung cancer among COPD patients who quit smoking. *Respir Med* 2009; 103: 85-90.

³⁹³ Tani F, Ohno M, Furukawa Y, Sakamoto M, Masuda S, Kitabatake N. Surface expression of a C-terminal alpha-helix region in heat shock protein 72 on murine LL/2 lung carcinoma can be recognized by innate immune sentinels. *Mol Immunol* 2009; 46: 1326-39.

³⁹⁴ Kotloff RM, Ahya VN, Crawford SW. Pulmonary complications of solid organ and hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 22-48.

³⁹⁵ Fishman JA. Pulmonary infection in immunocompromised hosts. In *Fishman's Pulmonary diseases and disorders*. 2007. p2203-2240.

³⁹⁶ Ahmad S, Shlobin OA, Nathan SD. Pulmonary complications of lung transplantation. *Chest* 2011; 139: 402-11.

³⁹⁷ Orth SR, Hallan SI. Smoking: a risk factor for progression of chronic kidney disease and for cardiovascular morbidity and mortality in renal patients—absence of evidence or evidence of absence? *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 226-36.

³⁹⁸ Sung RS, Althoen M, Howell TA, Ojo AO, Merion RM. Excess risk of renal allograft loss associated with cigarette smoking. *Transplantation* 2001; 71: 1752-7.

³⁹⁹ Lund M. Social Inequality in Cigarette Consumption, Cigarette Dependence, and Intention to Quit among Norwegian Smokers. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 835080.

⁴⁰⁰ Pipe A, Sorensen M, Reid R. Physician smoking status, attitudes toward smoking, and cessation advice to patients: an international survey. *Patient Educ Couns* 2009; 74: 118-23.

⁴⁰¹ NCCN Guideline for NSCLC. www.nccn.com (belépés 2015. 10.25.)

⁴⁰² Tamási L, Müller V. A tüdő neuroendokrin daganatainak tünetei és diagnosztikája. *Orvosi Hetilap* 2011; 152: 366-370.

- ⁴⁰³ Temel JS, Pirl WF, Lynch TJ. Comprehensive symptom management in patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2006; 7: 241-9.
- ⁴⁰⁴ Davis MP. The emerging role of palliative medicine in the treatment of lung cancer patients. *Cleve Clin J Med* 2012; 79: eS51-5.
- ⁴⁰⁵ Gridelli C, Maione P, Illiano A, Piantedosi FV, Favaretto A, Bearz A, Robbiati SF, Filipazzi V, Lorusso V, Carrozza F, Iaffaioli RV, Manzione L, Gallo C, Morabito A, Perrone F. Cisplatin plus gemcitabine or vinorelbine for elderly patients with advanced non small-cell lung cancer: the MILES-2P studies. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4663-9.
- ⁴⁰⁶ NCCN Guidelines for Supportive Care. Cancer- and chemotherapy induced anaemia. www.nccn.org (belépés 2015. 09. 30.)
- ⁴⁰⁷ Sánchez-González PD, López-Hernández FJ, López-Novoa JM, Morales AI. An integrative view of the pathophysiological events leading to cisplatin nephrotoxicity. *Crit Rev Toxicol* 2011; 41: 803-21.
- ⁴⁰⁸ Boldrini L, Ursino S, Gisfredi S, Faviana P, Donati V, Camacci T, Lucchi M, Mussi A, Basolo F, Pingitore R, Fontanini G. Expression and mutational status of c-kit in small-cell lung cancer: prognostic relevance. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4101-8.
- ⁴⁰⁹ Knoefel LF, Werle-Schneider G, Dally H, Müller PJ, Edler L, Bartsch H, Tuengerthal S, Heussel CP, Reinmuth N, Thomas M, Risch A. Polymorphisms in the apoptotic pathway gene BCL-2 and survival in small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 183-9.
- ⁴¹⁰ Murshid A, Gong J, Calderwood SK. Heat-shock proteins in cancer vaccines: agents of antigen cross-presentation. *Expert Rev Vaccines* 2008; 7: 1019-30.
- ⁴¹¹ Mestiri S, Bouaouina N, Ahmed SB, Khedhaier A, Jrad BB, Remadi S, Chouchane L. Genetic variation in the tumor necrosis factor-alpha promoter region and in the stress protein hsp70-2: susceptibility and prognostic implications in breast carcinoma. *Cancer* 2001; 91: 672-8.
- ⁴¹² Zouari Bouassida K, Chouchane L, Jellouli K, Chérif S, Haddad S, Gabbouj S, Danguir J. Polymorphism of stress protein HSP70-2 gene in Tunisians: susceptibility implications in type 2 diabetes and obesity. *Diabetes Metab* 2004; 30: 175-80.
- ⁴¹³ Papi A, Paggiaro PL, Nicolini G, Vignola AM, Fabbri LM. Inhaled Combination Asthma Treatment versus SYmbicort TBH (ICAT SY) Study Group. Beclomethasone/formoterol versus budesonide/formoterol combination therapy in asthma. *Eur Respir J* 2007; 29: 682-9.
- ⁴¹⁴ Papi A, Paggiaro P, Nicolini G, Vignola AM, Fabbri LM; ICAT SE study group. Beclomethasone/formoterol vs fluticasone/salmeterol inhaled combination in moderate to severe asthma. *Allergy* 2007; 62: 1182-8.
- ⁴¹⁵ Chrystyn H, Price D. Not all asthma inhalers are the same: factors to consider when prescribing an inhaler. *Prim Care Respir J* 2009; 18: 243-9.
- ⁴¹⁶ Glover W, Chan HK, Eberl S, Daviskas E, Verschuer J. Effect of particle size of dry powder mannitol on the lung deposition in healthy volunteers. *Int J Pharm* 2008; 349: 314-22.
- ⁴¹⁷ Molimard M, Le Gros V. Impact of patient-related factors on asthma control. *J Asthma* 2008; 45: 109-13.
- ⁴¹⁸ Hamid Q, Song Y, Kotsimbos TC, Minshall E, Bai TR, Hegele RG, Hogg JC. Inflammation of small airways in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 44-51.
- ⁴¹⁹ Fabbri LM, Nicolini G, Olivieri D, Papi A. Inhaled beclometasone dipropionate/formoterol extra-fine fixed combination in the treatment of asthma: evidence and future perspectives. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9: 479-90.
- ⁴²⁰ Gálffy G, Mezei G, Németh G, Tamási L, Müller V, Selroos O, Orosz M. Inhaler competence and patient satisfaction with Easyhaler®: results of two real-life multicentre studies in asthma and COPD. *Drugs R D*. 2013; 13(3): 215-22.
- ⁴²¹ Orosz M, Tamási L, Gálffy G. A dohányzás és asztma-kontroll vizsgálata hazai betegekben. *Medicina Thoracalis* 2009; 62: 112-119.

- ⁴²² Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, Barbee RA. Asthma as a risk factor for COPD in a longitudinal study. *Chest* 2004; 126: 59-65.
- ⁴²³ Decramer M, Cooper CB. Treatment of COPD: the sooner the better? *Thorax* 2010; 65: 837-41.
- ⁴²⁴ Hanania NA, Celli BR, Donohue JF, Martin UJ. Bronchodilator reversibility in COPD. *Chest* 2011; 140: 1055-63.
- ⁴²⁵ Melbye H, Drivenes E, Dalbak LG, Leinan T, Høegh-Henrichsen S, Ostrem A. Asthma, chronic obstructive pulmonary disease, or both? Diagnostic labeling and spirometry in primary care patients aged 40 years or more. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2011; 6: 597-603.
- ⁴²⁶ Müller V, Galffy G, Orosz M, Kovats Z, Odler B, Selroos O, Tamasi L. Characteristics of reversible and non-reversible COPD and ACOS patients An analysis of salbutamol Easyhaler data. *Int J COPD (közlésre elfoagadva* 2015. október)
- ⁴²⁷ Postma DS, Boezen HM. Rationale for the Dutch hypothesis. Allergy and airway hyperresponsiveness as genetic factors and their interaction with environment in the development of asthma and COPD. *Chest* 2004; 126: 96S-104S;
- ⁴²⁸ Gibson PG, Simpson JL. The overlap syndrome of asthma and COPD: what are its features and how important is it? *Thorax* 2009; 64(8): 728-35.
- ⁴²⁹ Soler-Cataluña JJ, Cosío B, Izquierdo JL, López-Campos JL, Marín JM, Agüero R, Balóira A, Carrizo S, Esteban C, Galdiz JB, González MC, Miravittles M, Monsó E, Montemayor T, Morera J, Ortega F, Peces-Barba G, Puente L, Rodríguez JM, Sala E, Sauleda J, Soriano JB, Viejo JL. Consensus document on the overlap phenotype COPD-asthma in COPD. *Arch Bronconeumol* 2012; 48: 331-7.
- ⁴³⁰ Blanchette CM, Gutierrez B, Ory C, Chang E, Akazawa M. Economic burden in direct costs of concomitant chronic obstructive pulmonary disease and asthma in a Medicare Advantage population. *J Manag Care Pharm* 2008; 14: 176-85.
- ⁴³¹ Takács I, Benkő I, Toldy E, Wikonkál N, Szekeres L, Bodolay E, Kiss E, Jambrik Z, Szabó B, Merkely B, Valkusz Z, Kovács T, Szabó A, Grigoreff O, Nagy Z, Demeter J, Horváth HC, Bittner N, Várbiro S, Lakatos P. Hungarian consensus regarding the role of vitamin D in the prevention and treatment of diseases. *Orv Hetil* 2012; 153: 5-26.
- ⁴³² Dawson Hughes B, Mithal A, Bonjour JP, Boonen S, Burckhardt P, Fuleihan GE, Josse RG, Lips P, Morales-Torres J, Yoshimura N. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int* 2010; 21: 1151-4.
- ⁴³³ Mekov E, Slavova Y, Tsakova A, Genova M, Kostadinov D, Minchev D, Marinova D, Tafradjiiska M. Vitamin D Deficiency and Insufficiency in Hospitalized COPD Patients. *PLoS One* 2015; 10(6): e0129080.
- ⁴³⁴ Wicherts IS, van Schoor NM, Boeke AJ, Visser M, Deeg DJ, Smit J, Knol DL, Lips P. Vitamin D status predicts physical performance and its decline in older persons. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2058-65.
- ⁴³⁵ Jung JY, Kim YS, Kim SK, Kim HY, Oh YM, Lee SM, Seo JB, Lee SD; KOLD Study. Relationship of vitamin D status with lung function and exercise capacity in COPD. *Respirology* 2015; 20: 782-9.
- ⁴³⁶ Hashim Ali Hussein S, Nielsen LP, Konow Bogebjerg Dolberg M, Dahl R. Serum magnesium and not vitamin D is associated with better QoL in COPD: A cross-sectional study. *Respir Med* 2015; 109: 727-33.
- ⁴³⁷ Suzuki T, Tada Y, Kawata N, Matsuura Y, Ikari J, Kasahara Y, Tatsumi K. Clinical, physiological, and radiological features of asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap syndrome. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2015; 10: 947-954.
- ⁴³⁸ de Groot JC, van Roon EN, Storm H, Veeger NJ, Zwinderman AH, Hiemstra PS, Bel EH, ten Brinke A. Vitamin D reduces eosinophilic airway inflammation in nonatopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 670-5.
- ⁴³⁹ Columbo M, Panettieri RA Jr, Rohr AS. Asthma in the elderly: a study of the role of vitamin D. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2014; 10: 48.

- ⁴⁴⁰ Highland KB, Heffner JE. Pleural effusion in interstitial lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2004; 10: 390-6.
- ⁴⁴¹ Cheema GS, Quismorio FP Jr. Interstitial lung disease in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Pulm Med* 2000; 6: 424-9.
- ⁴⁴² Laroche CM, Mulvey DA, Hawkins PN, Walport MJ, Strickland B, Moxham J, Green M. Diaphragm strength in the shrinking lung syndrome of systemic lupus erythematosus. *Q J Med* 1989; 71: 429-39.
- ⁴⁴³ Simonson JS, Schiller NB, Petri M, Hellmann DB. Pulmonary hypertension in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1989; 16: 918-25.
- ⁴⁴⁴ Sumida A, Hasegawa Y, Okamoto M, Hashimoto N, Imaizumi K, Yatsuya H, Yokoi T, Takagi K, Shimokata K, Kawabe T. TH1/TH2 immune response in lung fibroblasts in interstitial lung disease. *Arch Med Res* 2008; 39: 503-510.
- ⁴⁴⁵ Tamási L, Bohács A, Pállinger E, Falus A, Rigó J Jr, Müller V, Komlósi Z, Magyar P, Losonczy G. Increased interferon-gamma- and interleukin-4-synthesizing subsets of circulating T lymphocytes in pregnant asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 1197-203.
- ⁴⁴⁶ Hamar P, Szabó A, Müller V, Heemann U. The involvement of activated T cells and growth-factor production in the early and late phase of chronic kidney allograft nephropathy in rats. *Transpl Int* 2002; 15: 446-54.
- ⁴⁴⁷ Hamar P, Szabó A, Müller V, Heemann U. Involvement of interleukin-2 and growth factors in chronic kidney allograft rejection in rats. *Transplant Proc* 2001; 33: 2160-2.
- ⁴⁴⁸ Chang DM, Su WL, Chu SJ. The expression and significance of intracellular T helper cytokines in systemic lupus erythematosus. *Immunol Invest* 2002; 31: 1-12.
- ⁴⁴⁹ Dolff S, Bijl M, Huitema MG, Limburg PC, Kallenberg CG, Abdulahad WH. Disturbed Th1, Th2, Th17 and T(reg) balance in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol* 2011; 141: 197-204.
- ⁴⁵⁰ Fouser LA, Wright JF, Dunussi-Joannopoulos K, Collins M. Th17 cytokines and their emerging roles in inflammation and autoimmunity. *Immunol Rev* 2008; 226: 87-102.
- ⁴⁵¹ Simonian PL, Roark CL, Born WK, O'Brien RL, Fontenot AP. Gammadelta T cells and Th17 cytokines in hypersensitivity pneumonitis and lung fibrosis. *Transl Res* 2009; 154: 222-7.
- ⁴⁵² McAllister F, Henry A, Kreindler JL, Dubin PJ, Ulrich L, Steele C, Finder JD, Pilewski JM, Carreno BM, Goldman SJ, Pirhonen J, Kolls JK. Role of IL-17A, IL-17F, and the IL-17 receptor in regulating growth-related oncogene-alpha and granulocyte colony-stimulating factor in bronchial epithelium: implications for airway inflammation in cystic fibrosis. *J Immunol* 2005; 175: 404-12.
- ⁴⁵³ Gerli R, Nocentini G, Alunno A, Bocci EB, Bianchini R, Bistoni O, Riccardi C. Identification of regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2009; 8: 426-30.
- ⁴⁵⁴ Valencia X, Yarboro C, Illei G, Lipsky PE. Deficient CD4+CD25^{high} T regulatory cell function in patients with active systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2007; 178: 2579-88.
- ⁴⁵⁵ Yang J, Chu Y, Yang X, Gao D, Zhu L, Yang X, Wan L, Li M. Th17 and natural Treg cell population dynamics in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 1472-83.
- ⁴⁵⁶ Azab NA, Bassyouni IH, Emad Y, Abd El-Wahab GA, Hamdy G, Mashahit MA. CD4+CD25⁺ regulatory T cells (TREG) in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: the possible influence of treatment with corticosteroids. *Clin Immunol* 2008; 127: 151-7.
- ⁴⁵⁷ Roos-Engstrand E, Pourazar J, Behndig AF, Bucht A, Blomberg A. Expansion of CD4+CD25⁺ helper T cells without regulatory function in smoking and COPD. *Respir Res* 2011; 12: 74.
- ⁴⁵⁸ Smyth LJ, Starkey C, Vestbo J, Singh D. CD4-regulatory cells in COPD patients. *Chest* 2007; 132: 156-63.