SEMMELWEIS EGYETEM

DOKTORI ISKOLA

Ph.D. értekezések

2676.

CSIKÁNY NÓRA

A folyadék- és elektrolitháztartás szabályozásának élet- és kórélettana
Keringés és vérnyomás szabályozás
című program

Programvezető: Dr. Zsembery Ákos, egyetemi tanár

Témavezető: Dr. Monostory Katalin, tudományos főmunkatárs

Dr. Kóbori László, egyetemi tanár

A gyógyszer-metabolizáló képességhez igazított személyre szabott immunszuppresszív kezelés májtranszplantáción átesett betegeknél

Doktori értekezés

Dr. Csikány Nóra

Semmelweis Egyetem
Elméleti és Transzlációs Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezetők:
Dr. Monostory Katalin, Ph.D., tudományos főmunkatárs
Dr. Kóbori László, Ph.D., MTA doktora, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:
Dr. Hagymási Krisztina, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Csapó Zsolt, Ph.D., osztályvezető főorvos

Szigorlati bizottság elnöke:
Dr. Sándor József, Ph.D., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:
Dr. Lengyel Gabriella, Ph.D., med. habil., egyetemi docens
Dr. Dede Kristóf, Ph.D., főorvos, adjunktus

Budapest
2022

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke 4
1. Bevezetés 5
1.1 Irodalmi áttekintés 7
1.1.1 Májátültetés rövid ismertetése 7
1.1.2 Az immunszuppresszív terápia fejlődése 13
1.1.3 Májátültetést követő gyógyszeres terápia 16
1.1.3.1 Kalcineurin inhibitorok 17
1.1.4 Gyógyszer-metabolizmus és a CYP-enzimek 19
1.1.5 A CYP 1-3 enzimcsalád 20
1.1.6 CYP3A4 és CYP3A5 enzimek farmakogenetikai variációi és hatása a májtranszplantáción átesett betegek gyógyszer-lebontó képességére 27
1.1.7 A CYPtest™ vizsgálat alapjául szolgáló máj CYP enzim aktivitása és a fehérvérsejt génexpressziója közötti összefüggés 29
2. Célkitűzések 32
3. Anyagok és módszerek 33
3.1 A vizsgálatokba bevont betegek 33
3.2 A beültetett májgraft CYP3A-státuszának meghatározása 38
3.3 Kalcineurin inhibitor vérszint meghatározás 39
3.4 A graft működés és a takrolimusz okozta nem-kívánt hatások meghatározása 40
3.5 Statisztikai értékelés 40
4. Eredmények 42
4.1 Beültetett májgraft CYP3A-státusza 42
4.2 A donor máj CYP3A-státusza és a recipiens kalcineurin inhibitor vérszintje közti összefüggés 44
4.3 A kalcineurin inhibitorok terápiás vérszintjéhez szükséges dózis meghatározása a donor máj CYP3A-sátusza alapján 45
4.4 CYP3A-státusz alapján beállított takrolimusz terápia klinikai előnyei - összehasonlító klinikai vizsgálat 47
4.5 Korai posztoperatív időszak nem-kívánt hatásainak elemzése 50
4.6 Esetismertetések 53

5. Megbeszélés 57
5.1 Személyre szabott kalcineurin inhibitor terápia 58
5.2 CYP3A-státusz alapú takrolimusz terápia klinikai jelentősége 61
6. Következtetések 65
7. Összefoglalás 67
8. Summary 68
9. Irodalomjegyzék 69
10. Saját publikációk jegyzéke 88
10.1 Disszertációhoz kötődő közlemények 88
11. Köszönetnyilvánítás 89
Függelék 90

Rövidítések jegyzéke

ABC: ATP-Binding Cassette

CYP: citokróm P450

CIT: hideg ischaemiás idő

EDTA: etilén-diamin-tetraecetsav

EM: extensive metaboliser, extenzív metabolizáló

GAPDH: gliceraldehid 3-foszfát dehidrogenáz

GOT: glutamát-oxálacetát-transzamináz

GPT: glutamát-piruvát-transzamináz

HBV: hepatitis B vírus

HCV: hepatitis C vírus

IM: intermedier metaboliser, átlagos metabolizáló

IL: interleukin

IPF: initial poor function

mTOR: mammalian target of rapamycin

NADPH: α-nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát

OKT3: ortoklonális T3 lymphocyta ellenes globulin

PCR: polimeráz láncreakció

PM: poor metaboliser, gyenge metabolizáló

PNF: primary non function

1. Bevezetés

A májtranszplantáció, mint indikáció világszerte elfogadott megoldás a végstádiumú májelégtelenségben szenvedő betegek számára (Kóbori és mtsai, 2013). Az esetek döntő többségében krónikus megbetegedés miatt történik a beavatkozás, míg a 8%-ában akut történésről van szó, amelynek mortalitása 80% körüli értékre tehető (Olivo és mtsai, 2018). A konzervatív kezelések ellenére, végleges gyógyulást bizonyos esetekben csak a májtranszplantáció hozhat. A májtranszplantáció utáni eredmények évről-évre javulnak, a műtétet követő Kaplan-Meier analízis szerint a hazai átlagos 1, illetve 3 éves túlélés 85% feletti, mely érték a nemzetközi adatokat meghaladja, bizonyítva a hazai beavatkozások sikerességét (Kóbori és mtsai, 2012; Wettstein és mtsai, 2019). A túlélést több tényező is befolyásolja: a beültetett donor szerv minősége, a műtéti technika, az alapbetegség, kilökődés előfordulása, illetve az alkalmazott immunszuppresszív terápia és a gyógyszeres kezelés okozta nem-kívánt hatások előfordulása. Lényeges szempont az alkalmazott szűk terápiás spektrumú immunszuppresszív gyógyszerek megfelelő dozírozása, különösen a korai posztoperatív időszakban, melyek metabolizmusáért főként a májban termelődő citokróm P450 (CYP) enzimek felelősek.

A sejtekben lévő aktuális CYP enzimszint genetikailag meghatározott, amelyet külső és belső tényezők módosíthatnak. A CYPtest™ vizsgálat egy olyan többlépcsős diagnosztikai rendszer, mely nemcsak a CYP enzimek DNS analízissel kimutatható génhibáit (CYP-genotipizálás), hanem a gyógyszer-metabolizmusban jelentős szerepet játszó CYP enzimek expressziójának meghatározását is lehetővé teszi (CYP-fenotipizálás). A CYP enzimek nagyfokú polimorfizmust mutatnak, melyek egy egészséges szervezet esetében nem feltétlenül okoznak gondot. Azonban beteg emberek esetében a gyógyszeres terápia során súlyos, akár toxikus mellékhatások alakulhatnak ki, illetve csökkenhet, sőt el is maradhat, az adott gyógyszer hatása a polimorfizmusoknak köszönhetően. Ezért a betegek gyógyszer-lebontó képességének ismerete fontos információt jelenthet a kezelőorvos számára, így hozzájárulhat a személyre szabott terápia kialakításához.

Májtranszplantációt követően elvégzett CYPtest™ vizsgálat alapján beállított kalcineurin inhibitor terápia előnyös lehet a klasszikus terápiával szemben, és segítségével

csökkenteni lehet a nem-kívánat hatások (akut kilökődés, vesekárosodás) előfordulásának gyakoriságát (Monostory és mtsai, 2015).

Kutatómunkánk során két, egymásra épülő vizsgálat-sorozatot végeztünk májtranszplantáción átesett betegek bevonásával. Az első vizsgálat során 131 betegnél meghatároztuk a beültetésre került májgraft CYP3A-státuszát (*CYP3A5*-genotípus és CYP3A4 expresszió) és összefüggést kerestünk a donor máj CYP3A-státusza és a recipienseknél kialakuló kalcineurin inhibitor (takrolimusz, ciklosporin) vérszintje (C_0/D), valamint a terápiás vérszint eléréséhez szükséges dózis között. A kiértékelt adatok alapján javaslatokat fogalmaztunk meg a kezdeti kalcineurin inhibitor adagolásához.

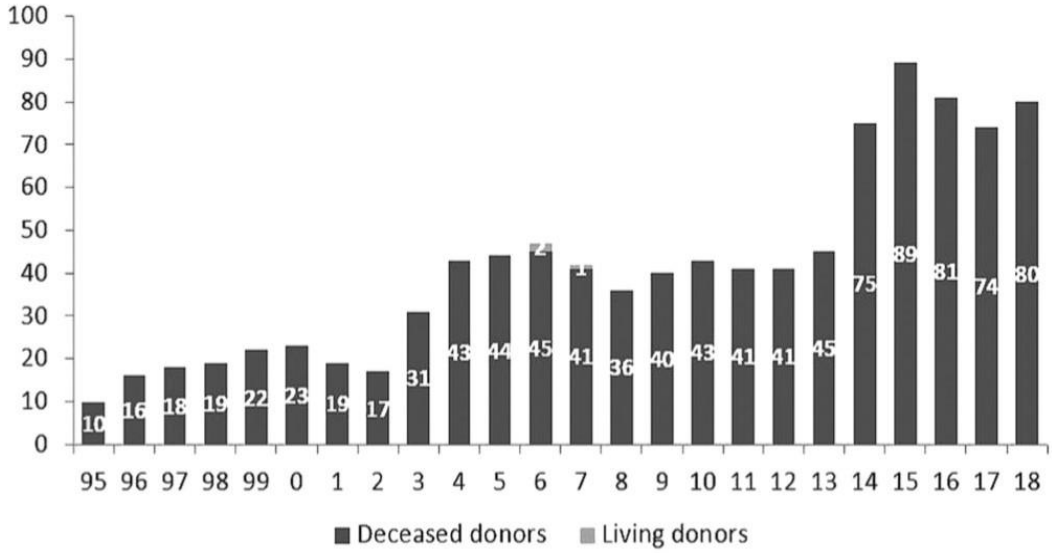
Végül prospektív módon megvizsgáltuk, hogy a donor máj CYP3A-státusz alapján beállított takrolimusz terápia milyen klinikai előnyökkel jár a májtranszplantációt követő posztoperatív időszakban. Klinikai előnyök vizsgálata során két betegcsoportot hasonlítottunk össze: 1) az ismeretlen CYP3A-státuszú, úgynevezett kontroll csoportba tartozó betegek (n=101) terápiáját a hagyományos klinikai protokoll szerint alkalmaztuk (a kezdő takrolimusz dózist a testsúly, majd a kialakuló vérszint alapján állítottuk be); 2) a CYP3A-státusz alapján kezelt betegek (n=112) a donor *CYP3A5* genotípusa és CYP3A4 mRNS expressziója alapján szükség esetén a protokolltól eltérő, módosított gyógyszeres kezelésben részesültek. Mindez elősegítheti a személyre szabott terápia kialakítását, mely javíthatja a beültetett graft és a beteg túlélését, hosszútávon pedig egy költséghatékony kezelési stratégia kifejlesztését.

1.1 Irodalmi áttekintés

1.1.1 Májátültetés rövid ismertetése

A modern transzplantáció szinte minden alapeleme szerepel Damian és Cosma Diocletanius ikerpár 4. századi történetében, miszerint egy sekrestyés amputált végtagjának helyére egy vele egykorú mór nő lábát próbálták meg átültetni. A beavatkozás mindazonáltal sikertelennek bizonyult immunológiai inkompbatilitás miatt (Küss és Bourget, 1992). Az első sikeres állat vese kísérletet a pécsi származású Ullman Imre végezte el 1902-ben, aki kutyavesét ültetett át nyaki erekre, a beavatkozás kapcsán szerzett tapasztalatait később a „Tissue and Organ Transplantation" című első modern monográfiájában összegezte (Ullmann, 1914).

Az első humán ortotopikus májtranszplantációt 1963. március 1-én Thomas E. Starlz végezte el Denverben. Magyarországon 1962-ben Németh András végezte el technikailag az első sikeres veseátültetést Szegeden (Kóbori és mtsai, 2013). A Semmelweis Egyetem I. Sebészeti Klinikáján pedig az első sikeres veseátültetést 1973. november 16-án Perner Ferenc végezte el (Perner és mtsai, 1974). Tíz évvel később Szécsény Andor hajtotta végre az első hazai májátültetést Budapesten, melyet további három eset követett, majd átmenetileg abbamaradt a transzplantációk végzése (Végső, 2008). Végül, Perner Ferenc vezetésével 1995-ben megkezdte működését Budapesten a Transzplantációs és Sebészeti Klinika és az azóta is sikeres májátültetési program. Az 1. ábrán látható, hogy az évek során fokozatosan növekedett a májtranszplantációk száma Magyarországon (Nemes és mtsai, 2019).



1. ábra: Magyarországon elvégzett májtranszplantációk száma 1995-2018 között (Nemes és mtsai, 2019)

A mára szinte rutin beavatkozásnak számító májtranszplantáció indikációs köre folyamatosan bővül. Az indikációs körbe akut és krónikus májbetegségek egyaránt tartoznak (1. táblázat). Gyermekeknél leggyakrabban a veleszületett biliáris atresia, a metabolikus megbetegedések és enzimdeficienciák (Byler kór, Alagille-szindróma) fordulnak elő. Felnőttek esetében a leggyakoribb indikációk közé a hepatitis C és B vírus (HCV, HBV), valamint az alkohol okozta (ALD) cirrhosisok és a cholestaticus megbetegedések tartoznak.

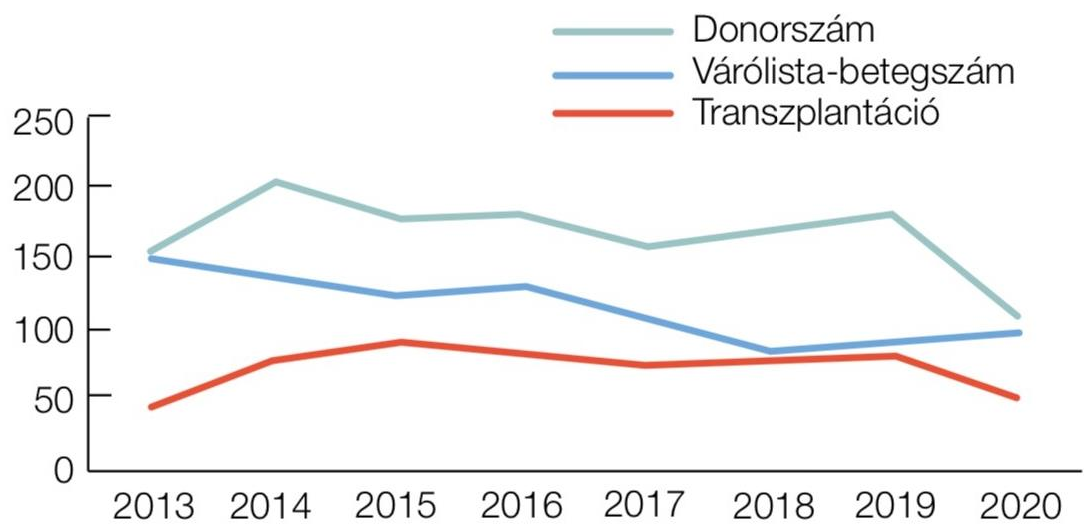
1. táblázat: A májátültetés indikációi: a leglényegesebb májbetegségek csoportosítása

A májtranszplantáció indikációi:
1. Krónikus májbetegségek
- Cholestaticus betegségek: primer biliáris cholangitis, primer sclerotizáló cholangitis, cystás fibrosis, szekunder biliáris cirrhosis - Parenchymális megbetegedések: hepatitis B és C vírus okozta cirrhosisok, cryptogen krónikus cirrhosis, alkohol indukálta májbetegség, autoimmun hepatitis, haemochromatosis - Enzimdefektus okozta megbetegedések: α-1 antitripszin-betegség, Wilson-kór
2. Fulmináns vagy subfulmináns májelégtelenség:
- gyógyszer (pl. amfetamin, metildopa, paracetamol), gyilkos galóca vagy egyéb méreg okozta elégtelenség, fulmináns Wilson-kór, vírus okozta hepatitisek (pl. HAV, HBV, HCV, HDV, HEV, Epstein-Barr vírus, adenovírus vagy cryptogen)
3. Malignus májtumorok:
- Primer tumorok: hepatocelluláris carcinoma*, fibrolamellaris hepatoma, hepatoblastoma, epitheloid haemangioendothelioma - Metastaticus tumorok: neuroendokrin tumorok, leiomyosarcoma, gastrointestinalis stromalis tumor (GIST)
4. Egyéb:
- ritka metabolikus betegségek, felnőttkori polycystás májbetegség, Budd-Chiari szindróma, neoplasma, amyloidosis - trauma, iatrogén sérülés
*Milánói kritériumok betartása mellett.

Az utóbbi időben az életmódbeli változások és a metabolikus szindróma következtében kialakult nem alkoholos zsírmájbetegség (NASH) miatt egyre gyakoribb a májtranszplantációk száma, míg a legújabb direkt hatású antivirális szereknek köszönhetően, a HCV miatt végzett májtranszplantációk száma csökken (Perumpail és mtsai, 2017; Naggie, 2019). Nagyon ritka esetekben trauma, illetve iatrogén sérülés miatt is végeznek májtranszplantációt (Krawczyk és mtsai, 2016).

A donor-rizikóindex (DRI) koncepciója alapján az ideális donor 40 év alatti, traumás agyhalott stabil keringéssel, akinek anamnézisében sem zsírmáj, sem egyéb májbetegség, illetve átvihető betegség nem szerepel (Feng és mtsai, 2006; Badawy és mtsai, 2020).
Azonban a korlátolt szervellátás határt szab az elvégezhető májátültetések számának, mely miatt az ideálistól bizonyos mértékig eltérő szervek átültetése is szükségessé válhat, másrészt többféle stratégia kidolgozására van annak érdekében szükség, hogy a beavatkozások számát növelni lehessen. A májtranszplantációk számát tovább lehet növelni a donor kritériumainak újragondolásával, hiszen az ideális donor ritka. A nem ideális, úgynevezett kiterjesztett kritériumú donorok esetében megfelelő elővigyázatossággal, jó eredményekkel lehet transzplantálni 80–90% feletti egyéves betegtúléléssel (Barshes és mtsai, 2007; Ghinolfi és mtsai, 2021). A centrumokban lehetőség van „split", illetve élődonoros májtranszplantációra is [donor lehet genetikai rokon (egyeneságbeli rokon/egyeneságbeli rokonának testvére/testvére/testvérének egyeneságbeli rokona); minden más esetben a Semmelweis Egyetem Etikai Bizottságának engedélye szükséges], kihasználva a máj kedvező anatómiai sajátosságait (szegment-átültetés).
A 'split' átültetést Pichlmayr és Bismuth dolgozta ki az 1980-as években. Az eljárás során csak kiváló minőségű cadaver máj felezhető meg. A jobb oldali szegmenteket tartalmazó graft nagyobb méreténél fogva egy felnőttnek, a kisebb, bal oldali (II., III., IV.) szegmenteket vagy a bal laterális (II., III.) szegmenteket tartalmazó graft egy gyermeknek ültethető be (Abradelo és mtsai, 2012).
Az első sikeres élő donoros májátültetés Strong és munkacsoportja nevéhez fűződik (1989). Ennél az eljárásnál egy egészséges donor májának jobb vagy bal oldali szegmentjeit távolítják el és tervezett időpontban ültetik át gyermekbe vagy felnőttbe (Tanaka és mtsai, 1993). Heaton monoszegment átültetésről is beszámolt, mely során a III-as májszegment sikeres átültetését végezték el egy csecsemőben (Srinivasan és mtsai, 1999). Cadaver donor esetén kettő, míg élődonoros split májátültetésnél egy ember élete menthető meg, sőt gyermek recipiensek fejlődése zavartalanul folytatódhat.
Amennyiben akut májelégtelenség esetén sürgős műtétre van szükség, előnyt jelent, hogy Magyarország 2013 óta tagja az 1967-ben alapított, leiden-i székhelyű Eurotransplant International Foundation-nak (ET), mely Ausztria, Belgium, Hollandia, Magyarország, Horvátország, Luxemburg, Németország és Szlovénia transzplantációs

központjait, laboratóriumait és donorkórházait tömörítő kiszolgáló, szervallokációs szervezet. A várólistán előnyt élveznek a gyermekek, sürgős szervre várók, illetve olyan hyperimmunizáltak, akik majdnem minden donorral szemben pozitív keresztpróbát mutatnak. A csatlakozás hatására csökkent a várólistán lévő betegek száma Magyarországon, több transzplantációt végeztünk az utóbbi időben és megnőtt a többszervi donációk száma is (2. ábra) (Langer, 2018; Bihari és mtsai, 2021).



2. ábra: A májtranszplantációk, a donorszám és a várólistán lévő betegszám alakulása Magyarországon az Eurotransplant-hoz való csatlakozás után (Bihari és mtsai, 2021)

A beavatkozások számát nemcsak a donorszám növekedésével lehet emelni, hanem a műtéttechnika biztonságosabbá tételével is, így kisebbé válhat annak az esélye, hogy a beültetett májgraft és a beteg a posztoperatív időszakban veszélybe kerüljön. A gépi perfúzió alkalmazásával a hideg ischaemiás idő (CIT) lecsökkenthető és ma már a technikai háttér lehetővé teszi, hogy akár vérmentes májtranszplantációt is végezhessenek (Wettstein és mtsai, 2019).

A májátültetésnél többféle műtéti típust alkalmazhatnak. Heterotopikus transzplantáció esetén, bent hagyják az eredeti májat, és az újat a hasüregben máshol helyezik el, így elkerülik a veszélyes, úgynevezett anhepaticus időszakot, és a máj kivágásakor gyakori, vérzés sem fordul elő. A standard ortotopikus átültetés során, a májgraft a régi helyére kerül, ilyenkor a retrohepaticus vena cava inferior szegmentet is eltávolítják. Az

érképletek (vena cava, vena portae, arteria hepatica) anastomosisai után, a graft keringésbe való visszakapcsolását (reperfúzió) követően általában azonnal működni kezd. Utolsó lépésként kerül sor az epeúti anastomosis elkészítésére, amely legtöbbször direkt vég a véghez choledocho-choledochostomia, vagy ha a recipiens epeútja alkalmatlan az anastomosisra (például primer sclerotizáló cholangitis, epeúti hegesedések miatt), akkor hepaticojejunostomiát készítenek. A vese vénás pangásának kivédésére biopumpát készítenek, ami egy veno-venosus Y bypass, ilyenkor a bal oldali vena saphena és a vena mesenterica superior vérét ugyanazon oldali vena axillarisba vezetik.
Amennyiben a beteg vérkeringése nem tolerálja vena cava inferior kirekesztését, akkor Calne által ismertetett és később Tzakis által publikált piggyback technikát kell alkalmazni, mely során a vena cava szegmentet megtartják. Kiváló kardiális állapot esetén alkalmazható crossclamping technika ugyanaz, mint a piggyback, csak nem készítenek vénás bypasst (Nemes és mtsai, 2005).
A májtranszplantációk számának növekedése érdekében tett erőfeszítések ellenére továbbra is vannak abszolút és relatív kontraindikációk, melyeket a 2. táblázatban tüntettem fel. További nehézséget és hatalmas kihívást jelentenek a posztoperatív időszakban jelentkező technikai szövődmények, (arteria hepatica thrombosis, vena portae thrombosis, infra- és suprahepaticus cava anastomosis stenosis, epeúti szövődmények és a veseelégtelenség), a graft kilőködése, fertőzések, sárgaság, melyek mind a graft diszfunkciójához vezethetnek (Matsunami és mtsai, 2000; Craig és Heller, 2021).

2. táblázat: A májtranszplantáció abszolút és relatív kontraindikációi

Abszolút	Relatív
Kontrollálhatatlan infekció	Idős (60 év feletti) vagy túl fiatal életkor
Extrahepaticus malignus elváltozás	Műtétet akadályozó anatómiai variáció
Előrehaladott májdaganat	Súlyos extrahepaticus megbetegedés
Coronarographiával igazolt, nem revascularizálható coronaria betegség	Pszichoszociális faktor
Súlyos cardiomyopathia, Cl<2l/min/m^2	Többször operált has
Aktív drogabúzus	Aktív hepatitis B vírusfertőzés
Súlyos, nem korrigálható vitium	Humán immundeficiencia-vírus (HIV)
Fixált kisvérköri hypertonia (systoles > 60 Hgmm, vagy pulmonalis artériás nyomás > 45 Hgmm)	Portathrombosis
Súlyos krónikus, gyógyszerrel és sebészileg nem korrigálható légzési elégtelenség	
Súlyos intrapulmonalis arteriovenosus shunt	
Irreguláris ellenanyagok jelenléte miatt megfelelő mennyiségű vérkészítmény nem biztosítható	
Non-compliance	
Irreverzibilis agyi károsodás	
Többszervi elégtelenség	
Inoperábilitás	

1.1.2 Az immunszuppresszív terápia fejlődése

Az immunszuppresszív terápia fejlődése jelentősen javította a beültetett májgraft és a recipiens túlélését az elmúlt évtizedekben. Gyógyszerkutatások során új hatásmechanizmusú szerek jelentek meg, melyeket a 3. táblázatban foglaltam össze (Moini és mtsai, 2015; Di Maira és mtsai, 2020). A májtranszplantáció eredményességének javításában szerepet játszott a 6-merkaptopurin immungátló

hatásának felfedezése is. Továbbfejlesztett változata, a 6-aminomerkaptopurin (Imuran) hatásosabbnak és kevésbé toxikusnak bizonyult. Később az Imuran és Prednisolon sikeres kombinációját Starz vezette be konvencionális terápiaként, amelyet utána közel 20 évig alkalmaztak, és a mai napig több helyen alkalmaznak.

Az újabb áttörést a kalcineurin inhibitorok bevezetése hozta meg. Borel 1970-ben a *Tolypocladium inflatum* nevű gombából izolálta a ciklosporint, majd 1976-ban felismerte ennek immunszuppresszív hatását. A hatóanyag gyártását a norvég Sandoz gyógyszercég indította el, Cyclosporin-A gyári néven végül Norman Shumway vezette be. A takrolimusz felfedezése egy japán kutatócsoport (T. Goto, T. Kino, H. Hatanaka) nevéhez fűződik, melyet a *Streptomyces tsukubaensis* nevű talajban élő gombából vontak ki. A mikofenolát-mofetil nevű hatóanyag 1995-ben került bevezetésre a klinikai gyakorlatban, mely tovább javította a májtranszplantáció sikerességét (Kaltenborn és Schrem, 2013; Tustumi és mtsai, 2021).

3. táblázat: Májtranszplantációt követő immunszuppresszív terápia során alkalmazott gyógyszercsoportok, gyári nevük és hatásmechanizmusuk

Hatóanyag	**Gyári név**	**Hatásmechanizmus**
takrolimusz	Prograf	IL-2 szintézis gátlás
ciklosporin-A	Sandimmun Neoral	IL-2 szintézis gátlás
mikofenolát-mofetil	Cellcept	DNS szintézis gátlás
prednizolon	Prednisolon	Antigénprezentáció, citokinprodukció és nyiroksejt proliferáció gátlás
metilprednizolon	Medrol	Antigénprezentáció, citokinprodukció és nyiroksejt proliferáció gátlás
everolimus	Certican	mTOR-gátló (mammalian target of rapamycin)
sirolimus (rapamycin)	Rapamune	mTOR-gátló
muronomab-CD3 (OKT3)	----	anti-CD3 immunglobulin G (Anti-CD3 IgG)
basiliximab	Simulect	IL-2Rα ellenes antitest
daclizumab	Zenapax	IL-2Rα ellenes antitest
antithymocyta globulin	ATG	T lymphocyta ellenes poliklonális immunglobulin
antilymphocyta globulin	ALG	Poliklonális immunglobulin

1.1.3 Májátültetést követő gyógyszeres terápia

A posztoperatív időszak korai szakaszában, a recipiensek a klinikai protokoll alapján kapják az immunszuppresszív és egyéb olyan gyógyszereket is, melyeket részben a CYP enzimek alakítanak át. Rutinszerűen ulcus profilaxisként famotidint vagy pantoprazolt, bakteriális fertőzés megelőzésére ciprofloxacint vagy meropenemet kapnak. Pneumocystis jirovecii pneumonia kivédése érdekében szulfametoxazol-trimetoprim, valamint herpes vírus profilaxisként acyclovir terápiában részesülnek. Emellett cytomegalovírus fertőzés (CMV) profilaxisaként valgancyclovirt, gombás fertőzések ellen szükség esetén amfotericin B-t vagy flukonazolt kapnak. Különböző erősségű fájdalom enyhítésére analgetikumok vagy anesztetikumok (propofol) adásában részesülnek.

Az immunszupressziót az új máj beültetésekor az anhepaticus fázisban magas dózisú szteroiddal indítják (1000 mg metilprednizolon intravénásan), majd lassan csökkentik, fokozatosan a 32 mg-os napi fenntartó dózisra. Későbbiek során ezt a dózist a még szükséges, legalacsonyabb szintre lehet lecsökkenteni, akár el is lehet hagyni, amennyiben a betegnek nem immunológiai eredetű májbetegsége volt. Immunológiai eredetű májbetegség esetén a szteroid elhagyása kilökődési reakciót válthat ki (Jain és mtsai, 2002; Wiesner és Fung, 2011). A transzplantáció után 6 órával a protokoll alapján kalcineurin inhibitort indítanak el a gyógyszerszint monitorizálásával. Kalcineurin inhibitorként ciklosporint (Sandimmun Neoral, Novartis Hungária) vagy takrolimuszt (Prograf, Astellas Pharma) alkalmaznak naponta két alkalommal (12 órás különbséggel). A kezdeti kalcineurin inhibitor dózist a betegek testtömegéhez (mg/ttkg) igazítják, majd az előzetesen adagolt kalcineurin inhibitor vérkoncentrációk alapján szabályozzák a további dózisokat a szokásos klinikai protokoll szerint. A szükséges kalcineurin inhibitor mennyiséget a (cél C_0/aktuális C_0) x aktuális kalcineurin inhibitor dózis képlet segítségével számolják ki.

A betegek napi 0,1 mg/kg takrolimuszt vagy 10 mg/kg ciklosporint kapnak orálisan, melyeket a protokoll szerinti vérszintekhez állítanak be, optimálisan 10-15 ng/ml cél vérszintre a takrolimusz és 200-300 ng/ml cél vérszintre a ciklosporin esetén. Terápiás gyógyszerszint monitorozást az első héten minden nap, a második héten pedig minden második napon végeznek. Az immunszuppresszív terápiát mikofenolát-mofetillel (2x1 g intravénásan) egészítik ki.

Májbiopsziával igazolt enyhe rejekció esetében elegendő lehet az alkalmazott immunszuppresszív gyógyszer (ciklosporin/takrolimusz) dózisának megemelése, valamint szükség esetén a beállított ciklosporin terápia konvertálása takrolimuszra, ritka esetekben fordítva. Közepes és súlyos fokú rejekció esetén szteroid 'shot' terápiát alkalmaznak három egymást követő napon (intravénásan 500-1000 mg metilprednizolon). A rejekció előrehaladása esetén szintén májbiopszia szükséges, amennyiben igazolódik a szteroid rezisztens kilökődési reakció, akkor immunoterápiára [antilymphocyta globulin/antithymocyta globulin/ortoklonális T3 lymphocyta ellenes globulin (OKT3)] térhetnek át. Amennyiben a folyamat nem reagál a terápia módosításokra, végső megoldásként retranszplantáció jön szóba.

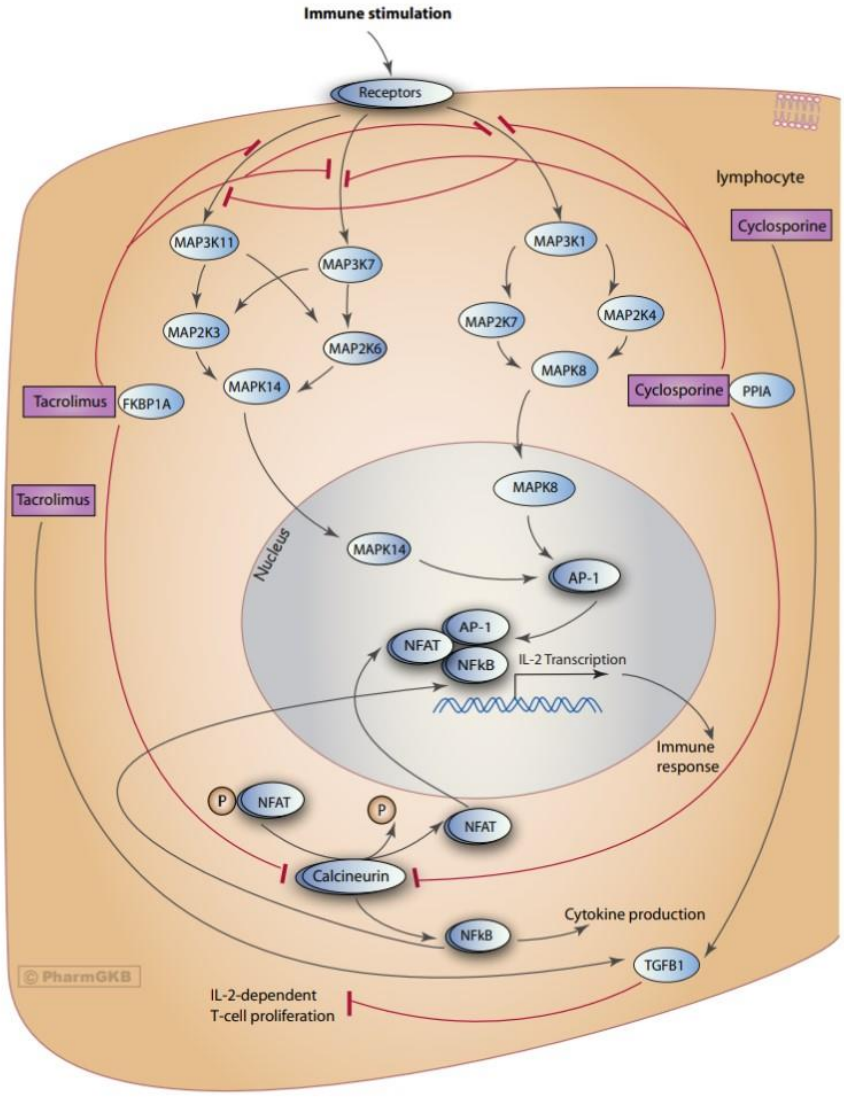
1.1.3.1 Kalcineurin inhibitorok

A műtétet követő időszakban bevezetett kalcineurin inhibitorok, mint bázisszerek lipofil tulajdonságuknak köszönhetően átjutnak a sejtmembránon, a citoszolban a ciklosporin a cyclophilinhez, a takrolimusz pedig az FK506 binding proteinhez (FKBP) kötődik. A kialakult komplex a kalcineurin katalitikus egységéhez kapcsolódva megakadályozza annak Ca-dependens szerin-treonin foszfatáz aktivitását. Gátolja a T lymphocyta-eredetű cytokinek, elsősorban az IL-2 termelődését és így a T-sejt aktiválódást (3. ábra) (Bram és mtsai, 1993).

A ciklosporin egy olyan 11 aminosavból álló peptid, amely gátolja az IL-2, IL-3, IL-4 gének transzkripcióját, amely a T- és B-sejt proliferációhoz szükséges, továbbá az interferon-α (IFN-α) és a B-sejt aktiváló lymphokinek termelődését is megakadályozza.

A takrolimusz szintén gátolja a kalcineurint, és így számos citokin, elsősorban az IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, granulocyta-macrophag kolóniastimuláló faktor (GM-CSF) szintézisét, illetve az IL-2Rα, IL-7R expresszálódását (Hamawy, 2003).

A kalcineurin inhibitorok a májban és kisebb mértékben a bélfalban CYP3A4 és a CYP3A5 enzimeken keresztül metabolizálódnak és az epével ürülnek ki. Azonban az enzimek aktivitása a genetikai variációk és az enzimexpressziós okok következtében több, mint százszoros különbséget is mutathat a populációban (lásd 1.1.6 fejezet).



3. ábra: A kalcineurin inhibitorok hatásmechanizmusában szerepet játszó folyamatok (*https://www.pharmgkb.org/pathway/PA165985892; FKBP: FK506 binding protein; NFAT: Nuclear Factor of Activated T cell; AP-1: Activator protein 1)*

A beadott ciklosporin kisebb hányada változatlan formában jelenik meg a vizeletben, és clearance-ét a vesekárosodás, vagy a dialízis gyakorlatilag alig befolyásolja. A takrolimusz kisebb hányada szintén megjelenik a vizeletben változatlan formában (Barbarino és mtsai, 2013).

Mindkét hatóanyag szűk terápiás hatásspektrumú, emiatt lényeges, hogy elkerüljük a túl- vagy aluldozírozásukat. Amennyiben a terápiás tartományon kívül esik a vérszintjük,

nem-kívánt hatások léphetnek fel (vesekárosodás, fertőzések, donorszerv kilökődés és károsodás).

A ciklosporin legjelentősebb hátránya kifejezett nephrotoxicitása, továbbá gyakran fordul elő hypertrichosis, gingivahyperplasia, különböző fertőzések és malignus daganatok kialakulása (elsősorban lymphomák). Takrolimusz mellékhatásprofilja azonban kedvezőbbnek tűnik, de diabetogen, nephro- és neurotoxikus hatása mellett előfordul magas vérnyomás és hyperlipidaemia is (Pillai és Levitsky, 2009; Song és mtsai, 2018; Yu és mtsai, 2018). Ciklosporin alkalmazása az utóbbi években nagymértékben visszaszorult, a fokozatosan bevezetésre kerülő takrolimusz használatával jelentősen lecsökkent az akut rejekciók aránya, és javultak a hosszú távú graft túlélési eredmények is (Busuttil és Holt, 1998).

1.1.4 Gyógyszer-metabolizmus és a CYP-enzimek

A gyógyszerek a szervezet számára olyan testidegen anyagok, úgynevezett xenobiotikumok, melyek nagy része apoláris, könnyen átjut a sejtmembránon. Ezen anyagok metabolizmusa során vízoldékonyabb vegyületek képződnek, amelyek az epével és/vagy vizelettel választódnak ki szervezetünkből (Grant, 1991) .

A metabolizmus, a xenobiotikumok enzimatikus átalakításának folyamata két fázisból áll, a fázis I. reakciói során oxidáció, hidrolízis, redukció történik a molekulán, amelyek endogén vegyületekkel történő konjugációra alkalmasak. Ezekben a reakciókban elsősorban a CYP enzimek vesznek részt (Ziegler és mtsai, 1994).

Működésükhöz szükség van redukált nikotinsavamid-adenin-dinukleotid-foszfát (NADPH) - citokróm P450 oxidoreduktázra is. A folyamat bruttó egyenlete:

$$\text{RH (szubsztrát)} + O_2 + \text{NADPH}+H^+ = \text{ROH (termék)} + H_2O + \text{NADP}^+$$

A folyamat eredményeként, nagyrészt inaktív metabolitok képződnek, azonban ritkán aktív gyökök is kialakulhatnak, melyek káros hatásúak lehetnek szervezetünkre (pl. allergia, enzimkárosodás, karcinogenitás).

„Prodrug” gyógyszermolekulák, viszont hatásukat metabolitjaik útján fejtik ki pl. clopidogrel lebomlása során aktív tiol-származék keletkezik (Ford, 2016). Továbbá

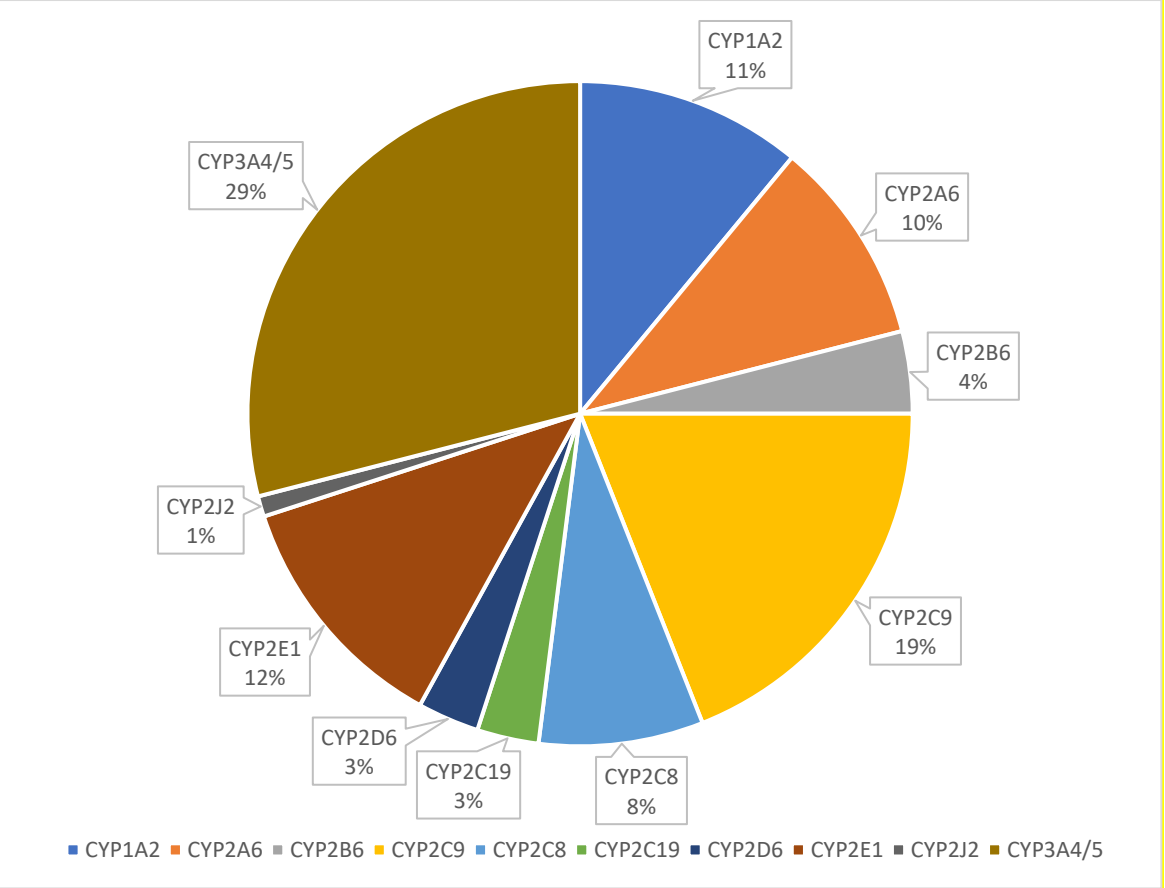
előfordulhat, hogy az eredeti vegyület az elimináció folyamata során toxikusabbá válik pl. paracetamol-ból képződő *N*-acetil-*p*-benzoquinon-imin (Brunton és mtsai, 2005).
A fázis II. reakciók során a xenobiotikumok, illetve a fázis I. reakcióban képződött metabolitok endogén vegyületekkel (pl. glutation, szulfát, glükuronsav) kapcsolódnak, így fokozódik a polaritásuk, és vízben való oldékonyságuk (Jakoby és mtsai, 1994).
A szakirodalom fázis III. folyamatként tartja számon, az eliminációban szintén részt vevő, úgynevezett ATP-Binding Cassette (ABC) nevű transzportereket. Az ABC-k olyan transzmembrán fehérjék, amelyek segítségével a gyógyszer molekula átjut a sejtmembránon, bejut vagy éppen kijut a sejtből (Döring és Petzinger, 2014; Roberts, 2021).

1.1.5 A CYP 1-3 enzimcsalád

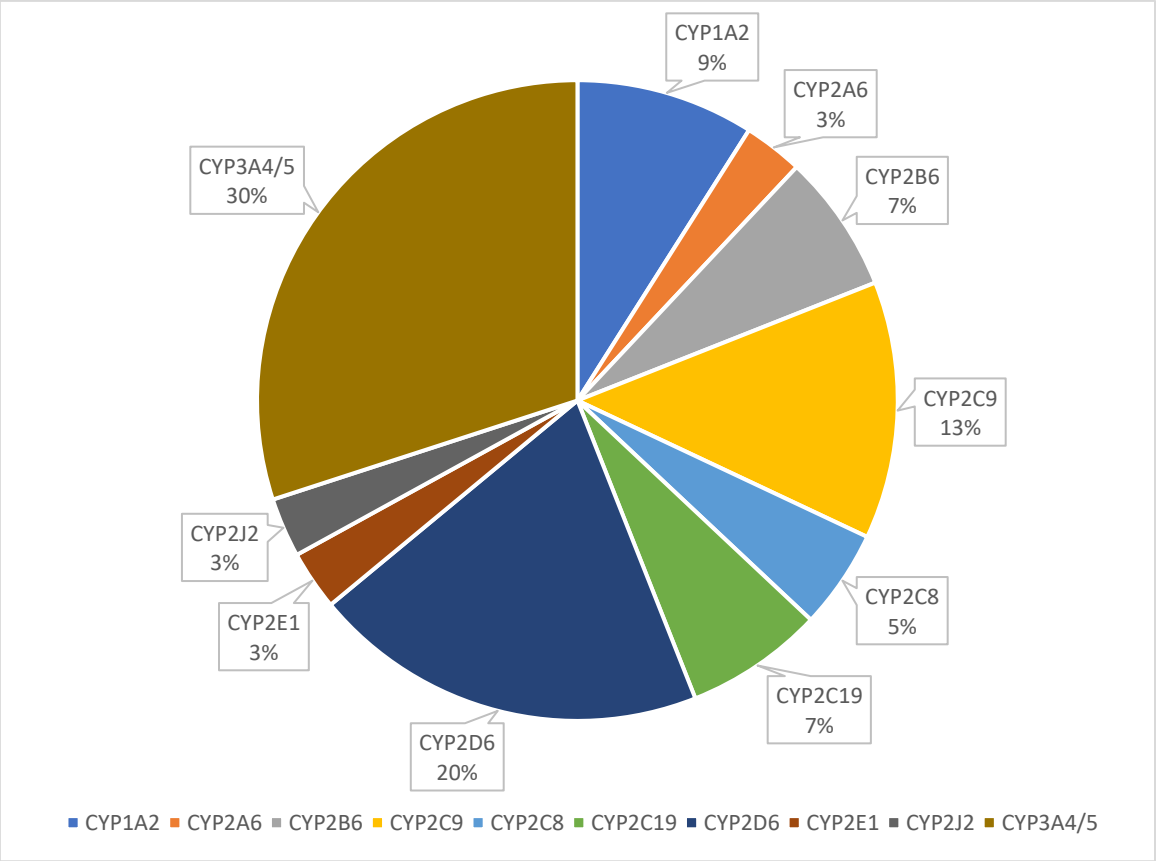
A CYP enzimek hem-tiolát típusú monooxigenázok, szén-monoxiddal (CO) alkotott komplexük 450 nm-nél jellegzetes, úgynevezett Soret-abszorpciós maximumot mutat (Omura és Sato, 1964). Ezen enzimek az apoláros vegyületek oxidatív, peroxidatív és reduktív átalakításáért felelősek (Nebert és mtsai, 2002). Jelenlegi ismereteink szerint a humán genomban a CYP szupercsaládot 57 gén és 58 pszeudogén alkotja (Zanger és mtsai, 2013).
A géncsalád felosztása és elnevezése az aminosav-szekvencia homológia alapján történik, 40% hasonlóság esetén egy családba, míg 55% esetén egy alcsaládba sorolják az enzimeket (Vereczkey és mtsai, 2005). Egy adott CYP enzim neve megmutatja, hogy melyik család, alcsalád tagja, illetve hogy pontosan melyik enzimről és annak allélvariánsáról van szó, melyhez egy egységes nomenklatúra került kidolgozásra (http://www.cypalleles.ki.se/).
Például a *CYP3A5*3* esetén a CYP betűjelek után a 3-as szám jelöli az enzimcsaládot, az A betű az alcsaládot, a 5-ös szám pedig magát az enzimet, míg a *3 az allélról ad információt. A * jelzés után állhat egy szám-betű kombináció is, amely az allél variánst jelöli (pl. *CYP3A4*1A*) (Rogers és mtsai, 2002). Jelenlegi ismereteink alapján a szupercsaládban 18 család, ezen belül pedig 44 alcsalád van (Nelson, 2006). Több adatbázis foglalkozik az eddig azonosításra került CYP enzimeket kódoló gének és allélok nyilvántartásával, melyek elérhetőségi adatait a

http://drnelson.uthsc.edu/CytochromeP450.html honlap foglalja össze, míg humán CYP génekről a https://www.pharmvar.org honlapon található részletes információ.

A humán CYP enzimek legnagyobb mennyiségben a májban, kisebb koncentrációban a vékonybél enterocytáiban, a vesében, tüdőben, bőrben és az agyban expresszálódnak. Az eukarióta sejtben a sima felszínű endoplazmás retikulumban (mikroszóma), a mitokondriumban és a maghártya membránjában találhatóak meg. A gyógyszer-metabolizmus szempontjából legfontosabb CYP enzimek mennyiségét a májban a 4. ábra, a gyógyszer-metabolizmusban betöltött eltérő szerepüket pedig az 5. ábra szemlélteti.



4. ábra: A gyógyszer-metabolizáló CYP enzimek relatív mennyisége a májban (Zanger és mtsai, 2013)

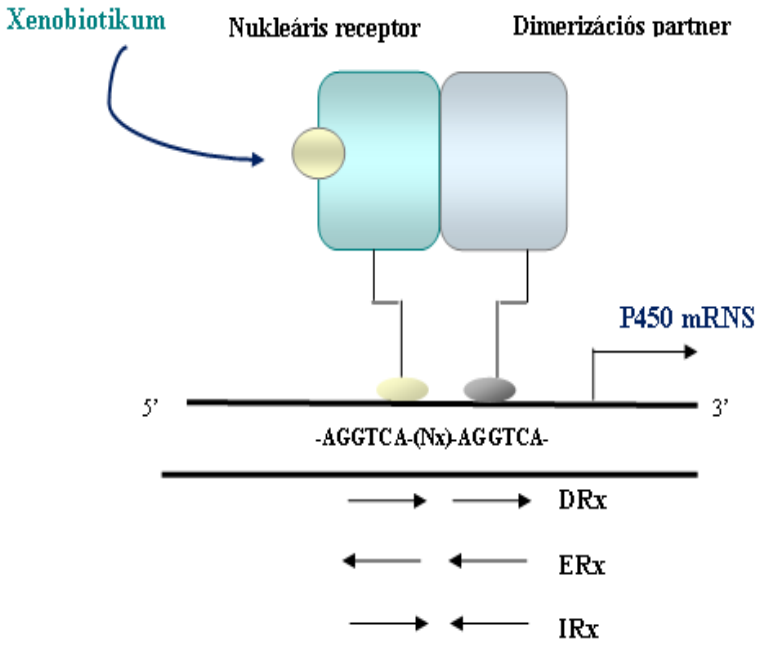


5. ábra: A CYP enzimek gyógyszer-metabolizmusban betöltött szerepe (Zanger és mtsai, 2013)

A CYP enzimek nemcsak exogén (xenobiotikumok), hanem endogén anyagokat (tesztoszteron, zsírsavak) is metabolizálnak, vagyis képesek a szervezet saját anyagait is szintetizálni, lebontani (tromboxán A, epesavak, leukotriének, szteroid hormonok) (Tamási és Monostory, 2006). Továbbá aspecifikus enzimek, azaz képesek többféle szerkezetileg különböző vegyületet átalakítani, valamint többféle reakciót katalizálni. Sőt egy vegyület ugyanazon reakcióját több CYP enzim is képes katalizálni. A fenti ábrák alapján látható, hogy a májban folyó metabolizmusban a CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 és CYP3A5 enzimek a legmeghatározóbbak, melyek közül számos klinikai jelentőséggel bíró polimorfizmust mutat.

Nemcsak genetikai faktorok vannak hatással a CYP enzimek expressziójára, hanem bizonyos külső (gyógyszeres kezelés, dohányzás) és belső (nem, kor, hormonok, betegségek) tényezők is, ez magyarázza, hogy működésükben interindividuális különbségek fordulhatnak elő (Manikandan és Nagini, 2018). A CYP enzimek nagy része

különböző mechanizmusokon keresztül indukálható. Valódi indukcióról beszélünk, ha egy hatóanyag a nukleáris receptorokon keresztül fokozza az adott CYP-gén expresszióját, ami végső soron az enzimfehérje mennyiségi növekedését okozza. Látszólagos indukció esetén valamely vegyület hatására a CYP mRNS-expresszió, vagy az enzimfehérje életideje növekszik (Monostory és Pascussi, 2008). Az indukció hatására nő az enzimaktivitás mértéke, emiatt a gyógyszerek eliminációja gyorsabban megy végbe. Ilyenkor emelni kell az adott szer dózisát, hogy a terápiás tartományon belül maradjon az érték és hatékony legyen a terápia. A folyamat során az enzimek Michaelis-konstans (K_m) értéke változatlan marad, a maximális reakciósebesség értéke (V_{max}) azonban nő, így az intrinsic clearance (V_{max}/K_m hányados) értéke is nő. Az indukció néhány nap alatt éri el a maximális enzimexpressziót és az induktor megvonása után körülbelül egy hét alatt szűnik meg (Honkakoski és Negishi, 2000). A valódi indukció nukleáris receptor aktiválódásával közvetlenül vagy szignál transzdukcióval valósul meg. A receptor tartalmaz egy dezoxiribonukleinsav kötőhelyet (DNS), egy ligand és egy ko-regulátor kötőhelyet. A xenobiotikum bekötődését követően a nukleáris receptor homo- vagy heterodimerizációja jön létre, mely a gén promoter régiójához kötődik, ahol az ismétlődő 5'-AGGTCA-3' szekvenciához kapcsolódik. Az ismétlődő szekvenciák között 1-7 nukleotid található, irányultság alapján lehet egyirányú (direct repeat, DRn), fordított (everted repeat, ERn) és ellentétes (inverted repeat, IRn), az n a „spacer" nukleotidok számát jelenti (6. ábra) (Temesvári, 2012).



6. ábra: CYP enzimek szabályozásának sematikus ábrája (Monostory és Passcusi, 2008) *(DRx: direct repeat; ERx: everted repeat; IRx; inverted repeat)*

Az enzimek nukleáris receptorokon keresztül aktiválódnak, más-más mechanizmussal. A CYP1A géncsalád izoenzimeinek regulációjában az aromás szénhidrogén receptor (AhR) játszik szerepet. A CYP2B, CYP2C, CYP3A gének expresszióját sokféle nukleáris receptor befolyásolja, mint például a konstitutív androsztán receptor (CAR), a pregnán X receptor (PXR), a glükokortikoid receptor (GR) és a D-vitamin receptor (VDR). A megfelelő vegyület kapcsolódását követően az AhR az AhR nukleáris transzlokátorral, a CAR és a PXR a retinoid X receptorral (RXR) alkot heterodimert, a GR pedig GR/GR homodimert képez. Majd a homo-, vagy heterodimerek bekötődnek a CYP gén promoter régiójában elhelyezkedő kötőhelyhez és módosítják az adott gén transzkripcióját. A szerkezetbeli eltérés ellenére a receptorok funkciója hasonlóságot mutat.

A CYP enzimek működését bizonyos gyógyszer-hatóanyagok gátolhatják is. Az enzimgátlás lehet reverzibilis (kompetitív, nem kompetitív), illetve irreverzibilis mechanizmusú. Kompetitív reverzibilis gátlás során az inhibitor megakadályozza, hogy a szubsztrát hozzákötődhessen az enzimhez, ilyenkor az enzim aktív kötőhelyéért a szubsztrát és az inhibitor között versengés folyik. A szubsztrát koncentrációjának emelésével az enzim-szubsztrát komplex kialakulhat (Temesvári és mtsai, 2012).

Nem kompetitív reverzibilis gátlás esetén az inhibitor nem az enzim aktív centrumához, hanem valamely a katalízisben résztvevő csoporthoz kapcsolódik, vagy más módon (pl. enzim konformáció megváltoztatása), de megakadályozza az enzim működését (CYP2D6 esetén pl. hiperforin). A gátló hatást csak az inhibitor eltávolításával lehet megszüntetni. Irreverzibilis gátlás során a gátló anyag enzimatikus átalakulás következtében éri el ezt a hatást. Hozzákötődik a szubsztrát kötőzsebhez, ahol enzimatikusan átalakul és a keletkezett metabolit fejti ki a gátló hatást (pl. erythromycin, fluoxetin, ritonavir) (Zhou és mtsai, 2005).

Az enzimgátlás következménye függ a vegyületek terápiás indexétől. Széles terápiás index esetén az enzimgátlás jelentősége kisebb, nem jár klinikai következményekkel. Szűk terápiás indexű hatóanyagok esetén súlyos mérgezés alakulhat ki, főleg akkor, ha két olyan vegyületet alkalmazunk, amelyek ugyanazon az enzimen keresztül metabolizálódnak (Vereczkey és mtsai, 2005). A nem-kívánt gyógyszer-interakciók elkerülése érdekében a genetikai háttér mellett ismerni kell az egyes CYP enzimek induktorait és inhibitorait, valamint az enzimek szerepét a gyógyszer hatóanyagok metabolizmusában (4. táblázat).

4. táblázat: A gyógyszer-metabolizmusban szerepet játszó CYP enzimek szelektív inhibitorai, induktorai és szubsztrátjai (Tamási és Monostory, 2006)

CYP enzim	Inhibitorok	Induktorok	Szubsztrátok
CYP2C9	flukonazol, metronidazol	rifampicin, phenobarbital, orbáncfű-tea	diclofenac, ibuprofen, phenytoin, S-warfarin, tolbutamid, valproát, szulfametoxazol, trimetoprim
CYP2C19	ticlopidin, ketokonazol, protonpumpa-gátlók, chloramphenicol	rifampicin, phenobarbital, szteroidok, orbáncfű-tea	S-mephenitoin, R-warfarin, protonpumpa-gátlók, diazepam, imipramin
CYP3A4 és CYP3A5	ketokonazol, clarithromycin, erythromycin, itrakonazol, telithromycin, verapamil	rifampicin, phenobarbital, dexamethason, phenytoin, carbamazepin,	alprazolam, amlodipin, atorvastatin, ciklosporin, takrolimusz, sirolimus, metilprednizolon, diazepam, verapamil, zolpidem, simvastatin
CYP2D6	dexametazon	fluoxetin, kinidin	β-blokkolók, antidepresszánsok, antipszichotikumok, lidocain, kodein

A CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 és CYP3A43 enzimet kódoló gének a 7-es kromoszómán (7q22.1) foglalnak helyet, aminosav szekvenciájuk 90%-os hasonlóságot mutat.

A CYP3A gének 25 kb hosszúak, 13 exont és 12 intront tartalmaznak. A forgalomban levő gyógyszerek 30%-át metabolizálják (5. ábra). A nagy és rugalmas kötőzsebüknek köszönhetően széles szubsztrát spektrummal rendelkeznek, ebből következik, hogy szubsztrát-specificitásuk egyben átfedő is.

A CYP3A5 enzim májban, a bélben, a vesében, a tüdőben és az agyban, míg a CYP3A4 enzim a májban és a vékonybélben expresszálódik a legnagyobb mértékben (Daly, 2006; Monostory és Pascussi, 2008). A CYP3A4 enzim 60-100-szoros mennyiségi különbséget is mutat az egyes egyének között (Temesvári és mtsai, 2012). A máj teljes CYP3A enzim készletének nagy részét a CYP3A4, míg mindössze 7-8%-át a CYP3A5 teszi ki, viszont nagy jelentősége van a bélhámsejtekben megtalálható enzimeknek is (Zhou, 2008). A

CYP3A4 enzim elsősorban a ciklosporin, míg a CYP3A5 enzim a takrolimusz fő katalizátora (Anglicheau és mtsai, 2007). A CYP3A enzimek kevesebb, mint 6%-át a CYP3A43 enzimek alkotják, így funkciójukról keveset tudunk (Zhou és mtsai, 2005). A CYP3A7 enzimnek elsősorban a magzati korban van jelentősége, ilyenkor expresszálódik a legnagyobb mennyiségben a májban, születés után azonban szerepét fokozatosan átveszi a CYP3A4 enzim (Zanger és mtsai, 2013).

1.1.6 CYP3A4 és CYP3A5 enzimek farmakogenetikai variációi és hatása a májtranszplantáción átesett betegek gyógyszer-lebontó képességére

Az egyének közötti eltérő gyógyszer-lebontási képesség elsősorban genetikai polimorfizmusra vezethető vissza. Ha a CYP génnek két vad típusú allélja közül az egyiket, vagy mindkettőt variáns helyettesíti akkor genetikai variabilitásról, ha a genetikai variáns 1%-nál nagyobb gyakorisággal fordul elő úgynevezett genetikai polimorfizmusról beszélünk. A CYP enzimekre (különösen a CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A5 enzimekre) nagyfokú genetikai polimorfizmus jellemző. A humán CYP gének leggyakoribb mutációja, az úgynevezett pontmutáció. A DNS kódoló régióban vagy nem-kódoló régióban bekövetkező funkcióvesztő mutációk esetében a variáns allélok csökkent aktivitású, vagy működésképtelen enzimet kódolnak (Lynch és Price, 2008; Wilkinson, 2005). Előfordul teljes leolvasási keret eltolódást okozó deléció és inszerció is. Azokra az egyénekre, akiknél mindkét allél funkcióvesztő mutációt hordoz, gyenge metabolizáló (PM) fenotípus jellemző. A gyenge metabolizálóknál magasabb gyógyszer vérkoncentrációk jelentkeznek, emiatt módosítani kell a terápián a toxikus mellékhatások elkerülése céljából. Heterozigóta fenotípusú egyénekben, akiknél egy vad és egy mutáns allél fordul elő, csökkent lebontóképességre lehet számítani.

A CYP3A4 enzimnek nincsen klinikailag nagy jelentőséggel bíró genetikai variabilitása, viszont expressziójában, a környezeti faktorok nagyobb szereppel bírnak, mint az egyén genotípusa (Temesvári és mtsai, 2012). A *CYP3A4*1B* allél a CYP3A4 fokozott transzkripcióját okozhatja, klinikai jelentősége azonban a CYP3A4 funkció szempontjából inkább ellentmondásos (Amirimani és mtsai, 2003; Kurzawski és Droździk, 2013; Hesselink és mtsai, 2014). A *CYP3A4*22* allél alacsony hepaticus CYP3A4 mRNS expressziót, következésképpen csökkent enzim aktivitást eredményez (Okubo és mtsai, 2013). A *CYP3A4*22* allél a kaukázusi populáció 5-7%-ában fordul elő

(Elens és mtsai, 2013). A nem genetikai tényezők hatására a funkcionális CYP3A4 gén a donor májban átmeneti gyenge vagy extenzív kalcineurin inhibitor metabolizmust okozhat, tehát a fenotípust változtatja meg (fenokonverzió jelensége) (Shah és Smith, 2015; Déri és mtsai, 2021).

A CYP3A5 enzim genetikai polimorfizmusa jelentős (Temesvári, 2012). A vad típusú *CYP3A5*1* allél normál enzimaktivitást eredményez, a *CYP3A5*3* allélt hordozó homozigóta mutáns genotípus teljes enzimhiányt eredményez (Abbouid és MacPhee, 2012). A *CYP3A5*3* allél expresszióját egyetlen egypontos nukleotid-polimorfizmus (SNP) módosítja, mely a gén 3-as intron szakaszán a 6986-os pozícióban egy adenin-guanin cserét eredményez. A mutáció splicing rendellenességet okoz, amelynek következménye a teljes enzimhiány (Tamási és Monostory, 2006). Tehát a *CYP3A5*3/*3* homozigóta mutáns egyéneknél nem fejeződik ki működőképes enzim (Staatz és mtsai, 2010). A *CYP3A5*3* variáns allél a kaukázusi populációban a leggyakoribb, az egyének több mint 90 %-a hordozza. Az afrikai-amerikai populációban ez az érték 50 %, az ázsiai populációban pedig 70 % (Temesvári, 2012). Feltevések szerint a *CYP3A5*3* mutáns allél elterjedése az Egyenlítőtől távol eső populációkban, amiatt volt lehetséges, mert a só és víz visszatartásáért felelős CYP3A5 enzimre nem volt akkora szükség a hidegebb éghajlatokon (Thompson és mtsai, 2004).

Azoknál az egyéneknél, akiknél a CYP3A4 enzim mellett a CYP3A5 is aktívan expresszálódik, gyorsabban metabolizálják a CYP3A szubsztrátokat, ezért szükség lehet a napi gyógyszer dózis megemelésére. Ez a takrolimusz metabolizmusára fokozottan jellemző, mert a CYP3A5 enzim még intenzívebben alakítja át a takrolimuszt, mint a CYP3A4 (Dai és mtsai, 2006). Hesselink és munkatársai megállapították, hogy a takrolimusz metabolizmusát a *CYP3A5* variánsok nagyban befolyásolják (Hesselink és mtsai, 2003). Az irodalmi adatok szerint a *CYP3A5*3* mutáció a ciklosporin farmakokinetikáját gyakorlatilag nem befolyásolja, viszont a takrolimusz esetében igen nagy jelentősége van. Akik legalább egy *CYP3A5*1* vad típusú allélt hordoznak (*CYP3A5*1/*3* és *CYP3A5*1/*1* genotípus) az ugyanolyan gyógyszerszint beállításához kétszerannyi takrolimusz dózisra van szükségük, mint a *CYP3A5*3/*3* genotípusú betegeknek. Mindezekből következik, hogy a *CYP3A5* genotípus ismerete előnyös a rejekció profilaxisában és a hatékony immunszuppresszív terápia beállításában (Staatz és mtsai, 2010).

A kalcineurin inhibitorok in vitro eliminálásában feltehetőleg az ABCB1 transzportereknek is szerepük van, melyek polimorfizmusa hatással lehet a kalcineurin inhibitorok egyedi farmakokinetikájára (Saeki és mtsai, 1993). Azonban a rendelkezésre álló klinikai adatok nem erősítik meg azt az állítást, miszerint az ABCB1 variánsok valóban hatással lennének a kalcineurin inhibitorok kiválasztására (Provenzani és mtsai, 2013; Elens és mtsai, 2014; Tron és mtsai, 2019).

1.1.7 A CYPtest™ vizsgálat alapjául szolgáló máj CYP enzim aktivitása és a fehérvérsejt génexpressziója közötti összefüggés

A gyógyszer-metabolizmus döntően a májban zajlik, és kisebb mértékben egyéb szervekben és szövetekben (bél, vese, agy). A májban zajló folyamatokat a CYP enzimek mennyisége és aktivitása határozza meg. A CYP enzimek aktivitásának meghatározásához, melyeket CYP szelektív szubsztrátokkal végeznek, nagy mennyiségű májszövetre van szükség, így a közvetlen aktivitás mérés a betegeknél nem alkalmazható. Farmakogenetikai vizsgálatok alkalmazásával a genomialis DNS-ből kimutathatók a klinikai jelentőséggel bíró CYP génhibák, melyhez elegendő a perifériás vérminta. A vizsgálatot elegendő egyszer elvégezni az egyén életében, hiszen a DNS-ben található hibák nem változnak meg. Mivel a CYP gének kifejeződését külső és belső tényezők befolyásolhatják, így az enzim expressziója és aktivitásának mértéke változhat. Tehát a farmakogenetikai vizsgálatokon alapuló szolgáltatások, bár elterjedtek a világban, nem feltétlenül nyújtanak pontos információt a gyógyszer-lebontó képességről abban az esetben, amikor nincs jelen génmutáció (Brockmüller és mtsai, 2000; Wilke és mtsai, 2005).

A CYP enzimaktivitás és a májban lévő CYP mRNS mennyiség kapcsolatát már több más kutató is vizsgálta (Sumida és mtsai, 1999; Rodriguez-Antona és mtsai, 2001), azonban a perifériás vérből izolált fehérvérsejtek CYP mRNS expressziójának mértéke és a máj CYP enzim aktivitásai közötti összefüggéseket Temesvári és munkatársai írták le (Temesvári és mtsai, 2012). A fehérvérsejteket májtranszplantáció esetén a donor, minden más esetben pedig a recipiens perifériás véréből nyerjük. Az érett vörösvértestekben nincs jelen a génexpresszió transzkripciós szabályzása. Az erythrocytákban a különböző gének expressziója, mRNS mennyisége csak a sejtmag

kilökődése előtti állapotot mutatja (Kabanova és mtsai, 2009). A fehérvérsejtekből történő CYP expresszió viszont a külső hatásokra bekövetkező transzkripciós szabályozást is tükrözi.

A Természettudományi Kutatóközpont és a Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinika munkatársai kidolgoztak egy kétlépcsős diagnosztikai rendszert, amely nemcsak a CYP enzimek génhibáit, hanem szükség esetén azok expressziójának meghatározását is lehetővé teszi. A beültetésre kerülő máj CYPtest^{TM} vizsgálata során a donor fehérvérsejtjeiből meghatározásra kerül a CYP-genotípus, míg a fehérvérsejtekből meghatározott relatív CYP mRNS mennyiség alapján becsülhető a májban levő aktivitásuk. A fehérvérsejtek CYP mRNS szintjei alapján a vizsgált egyének alacsony (PM), átlagos (IM) és extenzív (EM) metabolizáló kategóriákba sorolhatók. Az mRNS szintek 'cut-off' értékeit, melyek alapján a különböző csoportokba soroljuk az egyéneket, az 5. táblázat tartalmazza (Temesvári és mtsai, 2012).

5. táblázat: A gyógyszer-lebontó képesség osztályozása fehérvérsejtekből mérhető CYP mRNS szintek alapján (Temesvári és mtsai, 2012)

	PM/IM	IM/EM
	Cut-off értékek	
CYP1A2	10^{-4}	$2*10^{-3}$
CYP2C9	$5*10^{-6}$	$2,5*10^{-5}$
CYP2C19	10^{-6}	10^{-5}
CYP3A4	10^{-6}	10^{-4}

Egy 1997 és 2006 között végzett vizsgálat során 109 májdonornál a PM fenotípus előfordulását vizsgálták. 16 beteg esetében a transzplantációt követően a CYP-státusz ismeretében történt a gyógyszeres terápia beállítása, két fiatalnál pedig a jelentősen csökkent CYP (CYP2C9 és CYP2C19) metabolizmus miatt az észszerűen megválasztott és beállított gyógyszereknek köszönhetően igen gyors volt a felépülés.

Következtetésként levonható, hogy a beültetésre szánt májgraft fenotípusának ismerete javítja a graft és a recipiens túlélését, továbbá hozzájárulhat a kórházi kezelés csökkentéséhez (Kóbori és mtsai, 2008).

2. Célkitűzések

A májtranszplantációt követő időszakban fontos az immunszuppresszív gyógyszerek megfelelő kezdő dózisának megválasztása és vérszintjének szűk terápiás tartományban való megtartása. Ugyanazon dózis a betegeknél eltérő gyógyszerszinteket eredményezhet, amely részben az immunszuppresszív hatóanyagok metabolizmusában és eliminációjában részt vevő enzimek működésére (CYP enzimek) vezethető vissza. Az enzimek működését egyrészt a genetikai változatosság, másrészt külső (gyógyszeres kezelés, dohányzás) és/vagy belső (kor, nem, betegségek, hormonális állapot) tényezők befolyásolják.

Jelen kutatómunka célja, hogy a májtranszplantációval egyidőben történt gyógyszer-metabolizáló képesség meghatározásával segítséget nyújtson a beavatkozáson átesett betegek immunszuppresszív kezelésének optimalizálásához, amellyel megelőzhető a súlyos mellékhatások kialakulása, javítható a májgraft és a beteg túlélése, mely hozzájárulhat a kórházi kezelés csökkentéséhez.

Az alábbi kérdésekre kerestünk válaszokat:

- Milyen összefüggés van a donor máj CYP3A-státusza (*CYP3A5* genotípus és CYP3A4 expresszió) és a kalcineurin inhibitorok recipienseknél kialakult vérszintje között a korai posztoperatív időszakban?

- A beültetésre került máj CYP3A-státusza alapján előre meghatározható-e a terápiás ciklosporin, illetve takrolimusz vérszinthez szükséges dózis?

- Milyen alapvető különbségek (takrolimusz vérszint beállítás, nem-kívánt hatások) vannak a donor CYP3A-státusza alapján kezelt, és a kontroll (klasszikus protokoll alapján kezelt) betegcsoport takrolimusz terápiájában?

3. Anyagok és módszerek

Kutatómunkánk során két, egymásra épülő vizsgálat-sorozatot végeztünk májtranszplantáción átesett betegeknél. Az első vizsgálat során a májtranszplantációval egyidőben meghatároztuk 131 beültetésre kerülő máj *CYP3A5* genotípusát és CYP3A4 expresszióját, valamint összefüggést kerestünk a donorok CYP3A-státusza és a recipiensekben kialakult kalcineurin inhibitor (takrolimusz, ciklosporin) szérumszint, illetve a terápiás vérszint eléréséhez szükséges dózis között.

A második vizsgálat során a donor CYP3A-státusza alapján történő takrolimusz terápia előnyeit határoztuk meg. Két betegcsoportot hasonlítottunk össze: 1) az ismeretlen CYP3A-státuszú, úgynevezett kontroll csoportba tartozó betegek (n=101) takrolimusz terápiáját a hagyományos klinikai protokoll szerint alkalmazták (a kezdő dózist a testsúly, majd a kialakuló takrolimusz vérszint alapján állítottuk be). 2) A CYP3A-státusz alapján kezelt betegek (CYPtest csoport, n=112) a donor *CYP3A5* genotípusa és CYP3A4 mRNS expressziója alapján szükség esetén a protokolltól eltérő, módosított takrolimusz kezelésben részesültek.

3.1 A vizsgálatokba bevont betegek

A Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikája, illetve a Természettudományi Kutatóközpont Metabolikus Gyógyszerkölcsönhatások Kutatócsoportja rendelkezik a Tudományos és Kutatásetikai Bizottság szükséges engedélyeivel humán minták tudományos célból történő felhasználásához (4799-0/2011-EKU). A kutatásokat az egészségügyről szóló 1997. évi CLIV. törvény és a 23/2002 az Egészségügyi Miniszteri Rendelet alapján végeztük el a Helsinki Nyilatkozatnak megfelelően. A betegek teljeskörű tájékoztatást követően írásbeli hozzájárulásukat adták a vizsgálatok elvégzéséhez. A két vizsgálat során a májtranszplantációk a Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikáján történtek, a műtéti lépéseket a klinika standard protokollja szerint végezték.

A Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinika archívumából kigyűjtöttük a betegek demográfiai adatait és a kalcineurin inhibitor terápia részleteit, (az alkalmazott immunszuppresszív gyógyszerek típusát/napi dózisát/vérszintjét), illetve az

összehasonlító vizsgálathoz a műtétet követő 20 napos időintervallumra vonatkozó adatokat (esetleges nem-kívánt hatásokat, a terápiás takrolimusz vérszint beállításának részleteit, hospitalizációs napok számát, az intenzív osztályon eltöltött időt, a graftműködés és veseműködés minőségét). A májgraft működésének minőségéről a májfunkciós paraméterek [szérum bilirubin, protrombin, glutamát-oxálacetát-transzamináz (GOT), glutamát-piruvát-transzamináz (GPT)], míg a veseműködés minőségéről a vesefunkciós paraméterek (karbamid vérszint, szérum kreatinin szint) változásából következtettünk. Rögzítettük a korai posztoperatív időszakban előfordult rejekciós epizódokat és fertőzéseket is.

Az első vizsgálat során a transzplantált szerv CYP3A-státuszát vizsgáltuk (n=131), továbbá a korai posztoperatív időszakban bevezetett kalcineurin inhibitorok (takrolimusz, ciklosporin) dózisát és vérszintjét elemeztük. A recipiensek demográfiai és alapbetegségeinek adatait a 6-os táblázat tartalmazza.

6. táblázat: Az első vizsgálat-sorozatba bevont májtranszplantált betegek demográfiai adatai (Monostory és mtsai, 2015)

Betegek paraméterei	
Nemek aránya: férfi/nő (%)	54,2/45,8
Életkor (év), medián (tartomány)	50 (38,5-55)
Testsúly (kg), medián (tartomány)	74 (61,25-87)
Transzplantációk száma:	
-első	126 (96,2%)
-második/több	5 (3,8%)
Recipiensek alapbetegségei	
1. Akut májelégtelenség	
Gombamérgezés	1 (0,76%)
Egyéb	2 (1,53%)
2. Krónikus májbetegségek	
Autoimmun hepatitis	6 (4,58%)
Alkohol okozta	22 (16,79%)
Congenitális fibrosis	3 (2,29%)
Hepatitis B	7 (5,34)
Hepatitis C	51 (38,93%)
Primer biliáris cholangitis	4 (3,05%)
Primer sclerotizáló cholangitis	19 (14,50%)
Tumor: hepatocellularis carcinoma	3 (2,29%)
Tumor: egyéb	2 (1,53%)
Wilson-kór	2 (1,53%)
Egyéb májbetegségek	9 (6,87%)

A vizsgálathoz felhasznált májszövetek vagy hemodinamikailag stabil agyhalottakból (cadaver) (n=130) vagy élő donorból (n=1) származtak normális májfunkcióval. A posztoperatív periódusban a recipiensek a klinikai protokoll alapján kapták a 1.1.3-as számú fejezetben ismertetett gyógyszeres terápiát. Hagyományos protokoll alapján a recipiensek napi 10 mg/kg/nap ciklosporint (n=34) vagy napi 0,1 mg/kg takrolimuszt

(n=97) kaptak oralisan. Ciklosporin esetén a célszintet 200-300 ng/ml-re, míg takrolimusz esetén 10-15 ng/ml-re állítottuk be.

A második, prospektív vizsgálatba összesen 226 beteget vontunk be. A beültetésre került májgraftok minden esetben hemodinamikailag stabil agyhalott donorokból származtak normális májfunkcióval. A parcialis májtranszplantáción átesett, illetve retranszplantációra szoruló betegeket (n=13) kizártuk a vizsgálatból. A recipiensek demográfiai és klinikai adatait a 7. táblázat tartalmazza.

7. táblázat: A 2. vizsgálat recipienseinek demográfiai és klinikai adatai (Csikány és mtsai, 2021)

Betegek paraméterei	CYPtest csoport	Kontroll csoport
Betegek száma	112	101
Nemek aránya: férfi/nő (%)	62/50 (55,4%/44,6%)	64/37 (63,4%/36,6%)
Életkor a transzplantáció idején (év), medián (tartomány)	50,5 (42 - 56)	49 (36 - 53)
Testsúly (kg), medián (tartomány)	75,5 (65 - 87,6)	76 (65 - 84)
Recipiensek alapbetegségei		
1. Akut májelégtelenség		
Gyógyszer-indukálta	-	2 (2,0%)
Gombamérgezés	-	1 (1%)
Egyéb	1 (0,9%)	2 (2,0%)
2. Krónikus májbetegségek		
Hepatitis C	46 (41,4%)	38 (37,6%)
Hepatitis B	6 (5,4%)	4 (4,0%)
Alkohol okozta	18 (16,1%)	18 (17,8%)
Primer sclerotizáló cholangitis	16 (14,3%)	9 (8,9%)
Primer biliáris cholangitis	3 (2,7%)	5 (5,0%)
Autoimmun hepatitis	4 (3,6%)	3 (3,0%)
Congenitális fibrosis	3 (2,7%)	3 (3,0%)
Cryptogen cirrhosis	3 (2,7%)	3 (3,0%)
Tumor: hepatocellularis carcinoma	4 (3,6%)	2 (2,0%)
Tumor: egyéb	2 (1,8%)	4 (4,0%)
Wilson-kór	1 (0,9%)	7 (6,9%)
Egyéb májbetegségek	5 (4,5%)	-

A demográfiai adatok és az etiológiai tényezők tekintetében nem mutatkozott a két betegcsoport között szignifikáns különbség. Mindkét vizsgálatba a CYP3A-státusz megállapításához szükséges donor vérmintákat a beavatkozást végző Transzplantációs és

Sebészeti Klinika biztosította. A vizsgálatok elvégzéséhez fontos, hogy a vérmintákat EDTA tartalmú vérvételi csőben hűtve szállítsák és a levételtől számított 4 órán belül feldolgozásra kerüljenek. A recipiensek takrolimusz, valamint ciklosporin vérszintjének meghatározásához szükséges vérvétel minden esetben a reggeli gyógyszer-bevétel előtt történt.

3.2 A beültetett májgraft CYP3A-státuszának meghatározása

A beültetett májgraft aktuális CYP3A metabolikus kapacitását a Temesvári és munkatársai által kidolgozott CYPtest™ diagnosztikai rendszer alapján mértük. A donor vérmintájában azonosítottuk az európai fehér populációban leggyakrabban előforduló *CYP3A5*3* allélt, és a fehérvérsejtekben mérhető CYP3A4 mRNS szint meghatározásával becsültük a máj aktuális enzimaktivitását. Ugyanis a *CYP3A5*3/*3* genotípusú egyéneknél a perifériás vérből izolált fehérvérsejtek CYP3A4 mRNS expressziójának mértékéből következtetni lehet a máj specifikus CYP3A4 enzimaktivitására (Temesvári és mtsai, 2012).

A CYP genotípus és mRNS expresszió vizsgálatához EDTA-val kezelt vérmintát használtunk fel. 500 µl vérhez 1 ml vörösvértest lízis puffert (155 mM NH4Cl; 10 mM $KHCO_3$; 0,1 mM EDTA; pH=7,2-7,5) adtunk, majd 10 perces lassú keverést követően centrifugáltuk 1.000xg-n, 5 percig 15 °C-on. A cső alján fehér csapadékként összegyűlt fehérvérsejtekről eltávolítottuk a lizált vörösvértesteket tartalmazó felülúszót. A kiülepített fehérvérsejteket addig mostuk lízis pufferrel (1 ml), illetve centrifugáltuk (1.000xg, 5 perc), ameddig a keletkezett felülúszóban a vörösvértestekből álló gyűrű el nem tűnt. Felhasználásukig 1 ml TRIzol reagensben felvettük, homogenizáltuk (30 sec) és -80 °C-on tároltuk a mintákat.

A *CYP3A5* genotípus meghatározásához DNS-t izoláltunk a donor perifériás vérének fehérvérsejtjeiből, melyhez a fehérvérsejteket 200 µl PBS-ben (Phosphate Buffered Saline) szuszpendáltuk. A DNS mennyiségét és tisztaságát NanoDrop 1000 spektrofotométerrel (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington DE) ellenőriztük. A genotipizálás TaqMan próbák felhasználásával történt (BioSearch Technologies, Novato, CA) real-time polimeráz láncreakció (PCR) technikát alkalmazva, melynek során a *CYP3A5*3* allélra jellemző, báziscserével járó SNP-t (6986A>G) határoztuk meg.

Kétféle, különböző hullámhosszon emittáló fluoreszcens festékkel jelölt próbát alkalmaztunk, mely során könnyedén elkülöníthető volt a vad típusú és a mutációt hordozó allél. A PCR végén mért fluoreszcens jelek relatív intenzitása alapján megkülönböztettünk (allél diszkrimináció): homozigóta vad típusú (*CYP3A5*1/*1*), homozigóta mutáns típus (*CYP3A5*3/*3*) és a heterozigóta genotípusú (*CYP3A5*1/*3*) donorokat. A felhasznált primerek és próbák szekvenciáit, az alkalmazott végkoncentrációkat és az annealing hőmérsékletét a Függelék 8. táblázata tartalmazza. A reakciókhoz Luminaris Probe qPCR Master Mix-et (Thermo Fisher Scientific) használtunk, a gyártó által megadott hőmérséklet-protokoll szerint.

A *CYP3A5* genotípus meghatározása után a CYP3A4 mRNS expresszió mértékét határoztuk meg, mely során először a teljes RNS-t a donor fehérvérsejtjeiből extraháltuk. Az RNS preparátumokat (3 ug) reverz transzkripcióval alakítottuk át cDNS-é Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) alkalmazásával a gyártó által közölt utasítások alapján. A humán cDNS-ből real-time PCR mérés történt KAPA Fast Probes Mastermix (KAPA Biosystems, Cape Town, Dél-Afrika) és UPL-próbák alkalmazásával (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország). A CYP3A4 mRNS mennyiségét a gliceraldehid 3-foszfát dehidrogenáz szinjéhez (GAPDH, Microsynth AG, Balgach, Svájc) viszonyítva határoztuk meg. GAPDH gén úgynevezett „house-keeping" gén, expressziója különböző behatásokra nem változik. A CYP3A4 expresszió alapján (CYP3A4/GAPDH arány) Temesvári és munkatársai szerint 3 kategóriába sorolhatjuk a májgraftokat: 10^{-6} érték alatt gyenge metabolizáló, 10^{-6} és 10^{-4} között átlagos metabolizáló, valamint 10^{-4} érték felett extenzív metabolizálókról beszélünk (Temesvári és mtsai, 2012).

3.3 Kalcineurin inhibitor vérszint meghatározás

A recipiensektől a reggeli gyógyszer bevétel előtt levett vérmintákból a biokémiai, hematológiai paraméterek, illetve a kalcineurin inhibitor szint meghatározás az adott intézet helyi laboratóriumában történt (Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinika). A kalcineurin inhibitor vérszintet enzim 'immunoassay' vizsgálattal határoztuk meg (takrolimusz: TACR Flex Dimension Dade Behring Inc., Newark, DE;

ciklosporin: Cyclosporine Flex on Dimension RxL HM, Dade Behring Ltd, Milton Keynes, Egyesült Királyság).

3.4 A graft működés és a takrolimusz okozta nem-kívánt hatások meghatározása

Posztoperatív időszakban rögzítettük a takrolimusz okozta nem-kívánt hatások (akut vesekárosodás, akut rejekció, fertőzések) előfordulásának gyakoriságát. A beültetett májgraft működését is monitorizáltuk, rögzítettük a primer graftműködési elégtelenség (PNF), illetve a kezdeti rossz graftfunkció (IPF) gyakoriságát. Az akut vesekárosodásra a vesefunkciós paraméterek romlásából következtettünk (szérum karbamid- és kreatinin-szint emelkedés, becsült glomerularis filtrációs ráta csökkenés) (Barri és mtsai, 2009; Farouk és Rein, 2020). A májtranszplantációs beavatkozásnak (hosszú, bonyolult műtét, jelentős vérveszteséggel), a hypotensio-nak, szeptikus ischaemia-nak (CRP-szint emelkedés, hemodinamikai instabilitás, vér/vizelet fertőzöttség), valamint a hepatorenalis szindrómának (műtétet megelőzően is létező gyenge vesefunkciója) tulajdonítható vesefunkció romlást nem tartottuk takrolimusz okozta vesekárosodásnak. A fentieken túl, takrolimusz okozta vesekárosodásnak tekintettük, ha a szérum kreatinin-szint a takrolimusz kezelés alatt több, mint 0,5 mg/dl-el meghaladta a kezdeti értéket. A feldolgozott klinikai adatok alapján (műtéti technika, polytranszfúzió, dialízis, hosszú műtéti idő) az intraoperatív és perioperatív időszakra vonatkozó történések adatai a kapott eredményeket nem befolyásolták szignifikánsan. Az akut rejekcióra a májfunkciós paraméterek (szérum transzaminázok, alkalikus foszfatáz, γ-glutamil-transzferáz, és/vagy szérum bilirubin koncentráció) emelkedéséből következtettünk, azonban az akut rejekciót minden esetben májbiopszia szövettani értékelése alapján állapítottuk meg (Choudhary és mtsai 2017). A rejekció mértékének megállapításához Banff-sémát alkalmaztunk (Ormonde és mtsai, 1999).

3.5 Statisztikai értékelés

A beültetett donor máj CYP3A-státusza alapján megkülönböztettük azokat a donorokat, akik legalább egy *CYP3A5*1* allélt hordoztak és CYP3A5 expresszálónak tekintettük,

míg azokat, akiknél *CYP3A5*3/*3* genotípust azonosítottunk CYP3A5 nem-expresszálónak tekintettük. Meghatároztuk továbbá a CYP3A4 mRNS expressziójának mértékét, mely alapján a beültetett szervet alacsony, normál vagy magas CYP3A4 expresszáló csoportokba soroltuk.

A kalcineurin inhibitorok szérumkoncentrációs értékeit a dózissal és a recipiens testtömegével normalizáltuk (ng/ml) × (mg dózis/ttkg)$^{-1}$. A normál kalcineurin inhibitor vérkoncentrációk és dózisok a különböző CYP3A-státuszú májgraftoknál a medián expressziós értékeket mutatták. A medián értékek lényegében nem mutattak különbséget a matematikai átlagértéktől (általában 1-2% és mindig 5% alatt). A csoportok közötti különbségeket a Kruskal-Wallis variancia-analízissel, illetve a Dunn-féle összehasonlítási teszttel értékeltük.

A második vizsgálat során a CYP3A-státusz alapján beállított takrolimusz terápia és a hagyományos kezelés közötti különbségeket elemeztük. Kolmogorov-Szmirnov próba segítségével vizsgáltuk a biokémiai és klinikai paraméterek eloszlásait. A csoportok máj és vesefunkciót jellemző adatait, valamint a stabil terápiás immunszuppresszív vérszint eléréséhez szükséges időt Mann-Whitney U-teszt segítségével hasonlítottuk össze. Vizsgáltuk a CYPtest és a kontroll csoportoknál a takrolimusz alkalmazása során jelentkező nem-kívánt hatások (vesekárosodás, fertőzés, rejekció), valamint a korai májgraft diszfunkció gyakoriságát is, a különbségek vizsgálatára Fisher-féle egzakt tesztet használtunk.

A statisztikai próbákat GRAPHPAD INSTAT (v3.05; GraphPad Software, San Diego, CA, USA) szoftver segítségével végeztük el. A $P<0,05$ érték volt statisztikailag szignifikánsnak tekinthető.

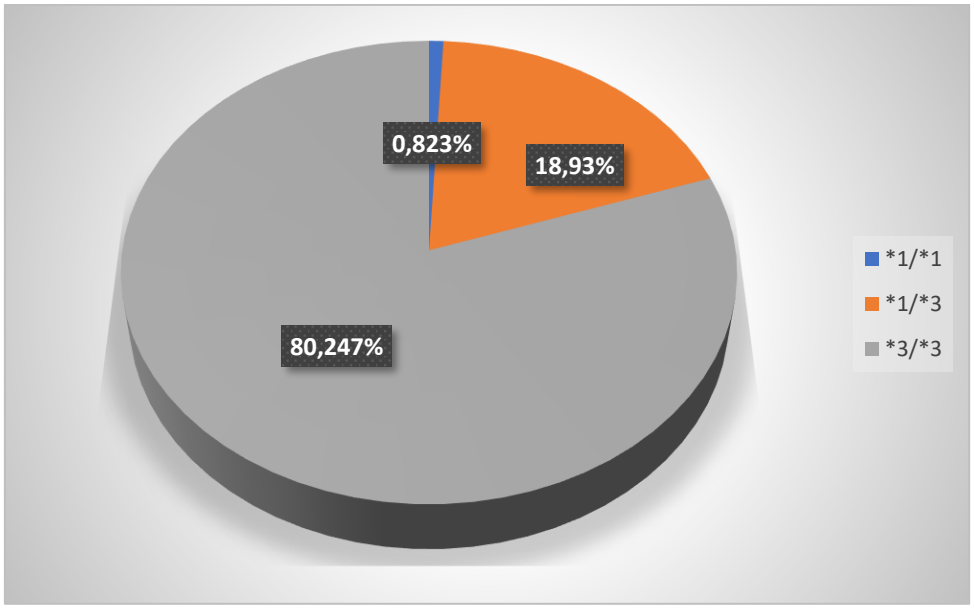
4. Eredmények

Kutatómunkánk során két, egymásra épülő vizsgálat-sorozatot végeztünk májtranszplantáción átesett betegeknél. A vizsgálatok során a májtranszplantációval egyidőben meghatároztuk a beültetésre kerülő májgraftok (n=243) CYP3A-státuszát (*CYP3A5* genotípus és CYP3A4 expresszió). Az első vizsgálat során 131 donor CYP3A-státuszának ismeretében, a recipiensekben kialakult kalcineurin inhibitor (takrolimusz, ciklosporin) vérszint, illetve a terápiás vérszint eléréséhez szükséges dózis között összefüggést kerestünk. A kapott eredmények alapján ajánlásokat fogalmaztunk meg a kezdeti kalcineurin inhibitor dozírozásához.

A második vizsgálat során a donor CYP3A-státusza alapján történő takrolimusz terápia előnyeit határoztuk meg. Két betegcsoport, kontroll és CYPtest csoport, májtranszplantációt követő 20 napos időintervallumra vonatkozó adatait, valamint klinikai paramétereit és az előforduló nem-kívánt hatások gyakoriságát hasonlítottuk össze, majd a kapott eredményeket elemeztük. Végül 4 beteg esetében ismertetjük a kalcineurin inhibitor terápia beállításának nehézségeit.

4.1 Beültetett májgraft CYP3A-státusza

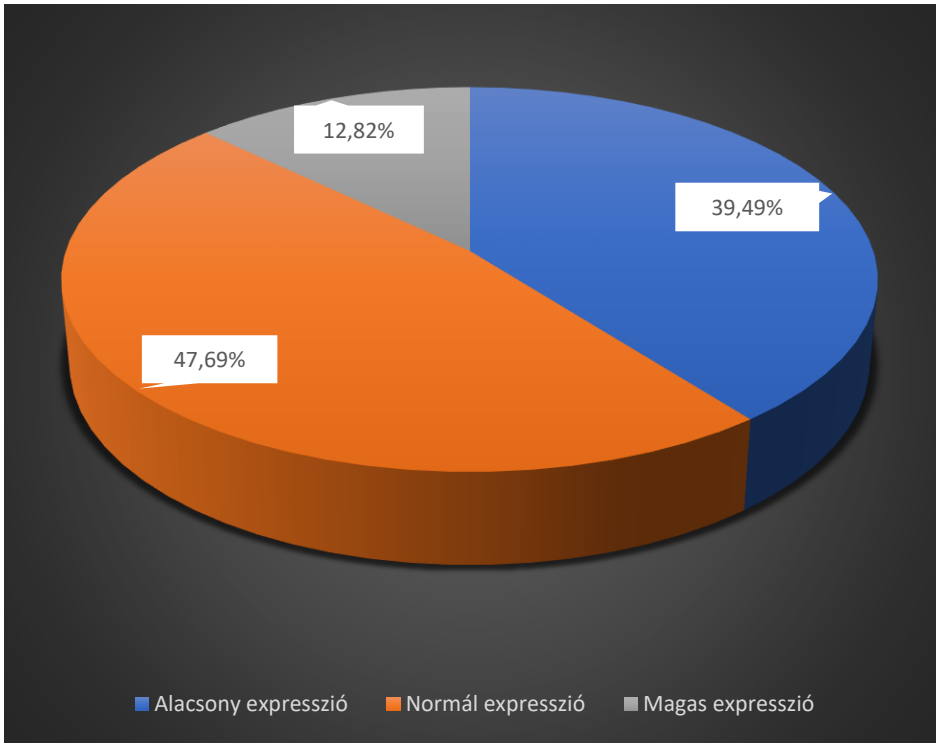
A májtranszplantáción átesett betegeknél vizsgáltuk a kaukázusi populációra jellemző, klinikailag releváns funkcióvesztő *CYP3A5*3* allél előfordulását. Az átültetésre került májgraftok (n=243) nagy része (n=195) CYP3A5-t nem expresszáló donorokból származott (*CYP3A5*3/*3*), amely a funkcionális CYP3A5 enzim hiányát jelenti (7. ábra). A többi graft *CYP3A5*1/*3* heterozigóta (n=46) és *CYP3A5*1/*1* homozigóta vad genotípust (n=2) hordozott, ezért CYP3A5 expresszálónak minősítettük. *CYP3A5*3* allél gyakorisága 93,8% volt, mely hasonló a kaukázusi (fehér) populációknál leírt gyakorisági adatokhoz (88-97%) (Kurose és mtsai, 2012; Zanger és mtsai, 2013).



7. ábra: A beültetésre került májgraftok *CYP3A5*-genotípus megoszlása (Monostory és mtsai, 2015; Csikány és mtsai, 2021 adatainak felhasználásával)

A funkcionális CYP3A5-t nem expresszáló májgraftoknál (n=195) meghatároztuk a CYP3A4 mRNS expresszió mértékét a donor fehérvérsejtjeiből, amely alapján következtettünk a máj CYP3A4 aktivitására (Temesvári és munkatársai, 2012).

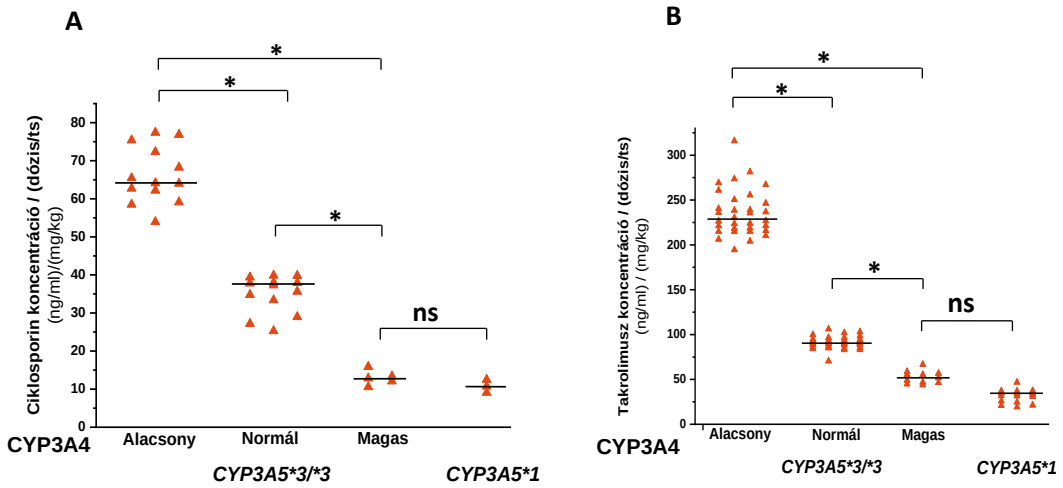
A beültetett szerveket három, alacsony (PM), normál (IM) és magas (EM) CYP3A4 expressziójú csoportba soroltuk. A CYP3A5-t nem expresszáló graftok CYP3A4 expressziójának és ennek megfelelően CYP3A4 aktivitásának megoszlását a 8. ábra mutatja be. A vizsgálatok azt mutatják, hogy a CYP3A5 enzimet nem expresszáló májgraftokban (n=195), 47,69%-ban (n=93) normál, 39,49 %-ban (n=77) csökkent, míg 12,82%-ban (n=25) fokozott CYP3A4 enzim aktivitás mutatkozott.



8. ábra: CYP3A4 expresszió mértéke a CYP3A5-t nem expresszáló májgraftokban (Monostory és mtsai, 2015; Csikány és mtsai, 2021 adatainak felhasználásával)

4.2 A donor máj CYP3A-státusza és a recipiens kalcineurin inhibitor vérszintje közti összefüggés

A májtranszplantációt követő korai posztoperatív időszakban fontos a megfelelő ciklosporin, illetve takrolimusz vérszint beállítása. Mivel a kalcineurin inhibitorok terápiás tartománya szűk (ciklosporin: 200-300 ng/ml, takrolimusz: 10-15 ng/ml), a vérszint monitorozása elengedhetetlen. Az első vizsgálat során 131 májtranszplantáción átesett betegnél 34 esetben vezettünk be ciklosporin terápiát, a többi beteg takrolimusz terápiában részesült, mely alapján látható, hogy hazánkban is a takrolimusz a preferáltabb (Haddad és mtsai, 2006). Vizsgáltuk a donor máj CYP3A-státusza (*CYP3A5* genotípus és CYP3A4 mRNS expresszió) és a recipienseknél kialakuló 'steady-state' kalcineurin inhibitor vérszintek közti összefüggést. Az összehasonlíthatóság érdekében a kalcineurin inhibitor vérszint értékeket a dózissal és a testtömeggel normalizáltuk.



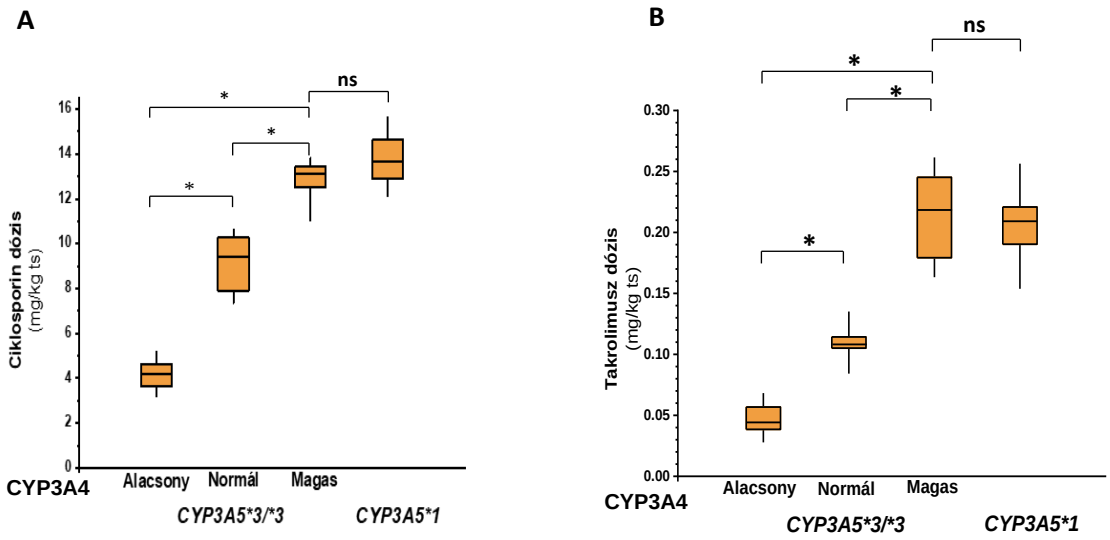
9. ábra: A donor máj CYP3A-státuszának hatása a ciklosporin (A) és takrolimusz (B) vérszintekre májtranszplantáción átesett betegeknél, * P<0,001; ns: nem szignifikáns (Monostory és mtsai, 2015)

A donor CYP3A-státusza és a recipienseknél kialakult stabil ciklosporin, illetve takrolimusz vérszintek között szignifikáns összefüggést találtunk (9. ábra). A stabil ciklosporin vérszintek szinte megegyeztek a *CYP3A5*3/*3* genotípusú magas CYP3A4 expressziót mutató és a vad típusú *CYP3A5*1* allélt hordozó májgrafttal transzplantált betegekben [10,8±1,7 és 12,9±1,95 (ng/ml)/(mg/ttkg)]. Azonban alacsony vagy normál CYP3A4 expressziót mutató donor szerv esetében ötször, illetve háromszor magasabb stabil ciklosporin értékeket mértünk [66,2±7,43 és 35,0±4,94 (ng/ml)/(mg/ttkg)]. Hasonló összefüggést találtunk a stabil takrolimusz vérszint és a donor máj CYP3A-státusza között. Nem mutatkozott szignifikáns különbség a vad típusú *CYP3A5*1* allélt hordozó és *CYP3A5*3/*3* genotípusú magas CYP3A4 expressziót mutató donor szervvel transzplantált betegekben kialakult stabil takrolimusz vérszintek között [32,0±10,91 és 52,3±7,00 (ng/ml)/(mg/ttkg)]. Normál CYP3A4 expresszió mérsékelt emelkedést, míg alacsony expresszió drasztikusan magas takrolimusz vérszintet eredményezett [91,05±6,65 és 235,4±25,92 (ng/ml)/(mg/ttkg)].

4.3 A kalcineurin inhibitorok terápiás vérszintjéhez szükséges dózis meghatározása a donor máj CYP3A-státusza alapján

A korai posztoperativ időszakban a ciklosporin esetén az ideális gyógyszerszint (C_0) 250 ng/ml (cél vérszint: 200-300 ng/ml), míg takrolimusz esetén 11 ng/ml (cél vérszint: 10-

15 ng/ml) ajánlott. Májtranszplantált betegeknél vizsgáltuk a terápiás vérszint eléréséhez szükséges dózisigény és a donor CYP3A-státusza közti kapcsolatot (8. ábra). A *CYP3A5*3/*3* genotípusú CYP3A4 normál expresszáló májgrafttal transzplantált betegekben megfelelő a hagyományos testsúly alapján alkalmazott kezdeti gyógyszerdozírozás (9,1±1,24 mg/kg ciklosporin és 0,109±0,009 mg/kg takrolimusz), azonban az alacsony CYP3A4 expressziót mutató grafttal transzplantált betegek esetében alacsonyabb, feleannyi napi dózis (4,2±0,64 mg/kg ciklosporin és 0,047±0,011 mg/kg takrolimusz) javasolható. Amennyiben magas CYP3A4 expresszió mutatkozik, illetve legalább egy *CYP3A5*1* allélt hordoz a beültetett szerv, körülbelül 30 %-kal magasabb dózis ajánlott ciklosporin esetén (12,8±1,1 és 13,8±1,77 mg/kg) és kétszerannyi takrolimusz esetén (0,213±0,037 és 0,204±0,028 mg/kg).



10. ábra: A donor máj CYP3A-státuszának hatása ciklosporin (A) és takrolimusz (B) terápiás vérszintekhez szükséges dózisra májtranszplantáción átesett betegeknél;
* P<0,001; ns: nem szignifikáns (Monostory és mtsai, 2015)

A terápiás vérszintek eléréséhez szükséges ciklosporin és takrolimusz dózisigényt mind a *CYP3A5* genotípus, mind a CYP3A4 expresszió mértéke befolyásolta (10. ábra). A vad típusú *CYP3A5*1* allél hasonló hatást eredményezett a kalcineurin inhibitor dózisigényre, mint a magas CYP3A4 expresszió. Továbbá a funkcionális CYP3A5-t nem expresszáló májgraft transzplantációját követően a CYP3A4 expresszió mértéke befolyásolta a

kalcineurin inhibitor expozíciót és dózis-igényt a recipiensekben. A fenti megállapítások alapján javaslatokat fogalmaztunk meg a kezdeti kalcineurin inhibitor dozírozással kapcsolatosan, melyeket a 9. táblázatban foglaltam össze.

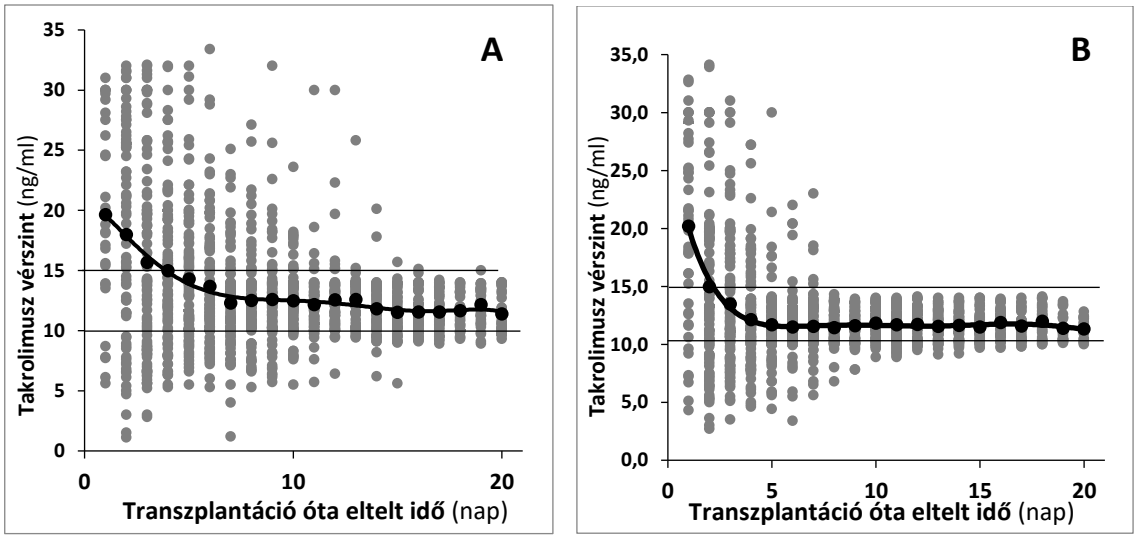
9. táblázat: Kalcineurin inhibitorok kezdeti dozírozása májtranszplantáción átesett betegeknél a beültetett májgraft CYP3A-státusza alapján (Monostory és mtsai, 2015 adatainak felhasználásával)

***CYP3A5* genotípus**	**CYP3A4 expresszió**	**Dózis (mg/kg)**	
		Takrolimusz	Ciklosporin
*CYP3A5*3/*3*	Alacsony	0,047 ± 0,011	4,2 ± 0,64
	Átlagos	0,109 ± 0,009	9,1 ± 1,24
	Magas	0,213 ± 0,037	12,8 ± 1,10
Legalább egy *CYP3A5*1* allél jelenléte		0,204 ± 0,028	13,8 ± 1,77

4.4 CYP3A-státusz alapján beállított takrolimusz terápia klinikai előnyei - összehasonlító klinikai vizsgálat

Az utóbbi években a takrolimusz alkalmazása májtranszplantált betegeknél mindinkább előtérbe került a ciklosporinhoz képest, használatával jelentősen lecsökkent az akut rejekciók aránya, és javultak a hosszú távú grafttúlélési eredmények is. Mivel a Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikáján is döntően a takrolimuszt alkalmazzák, így a második vizsgálatba csak takrolimusszal kezelt betegeket vontunk be. A második vizsgálat során a takrolimusz kezelés indítása előtt a CYPtest csoportban (n=112) meghatároztuk a *CYP3A5* genotípust, illetve a CYP3A4 mRNS expresszió

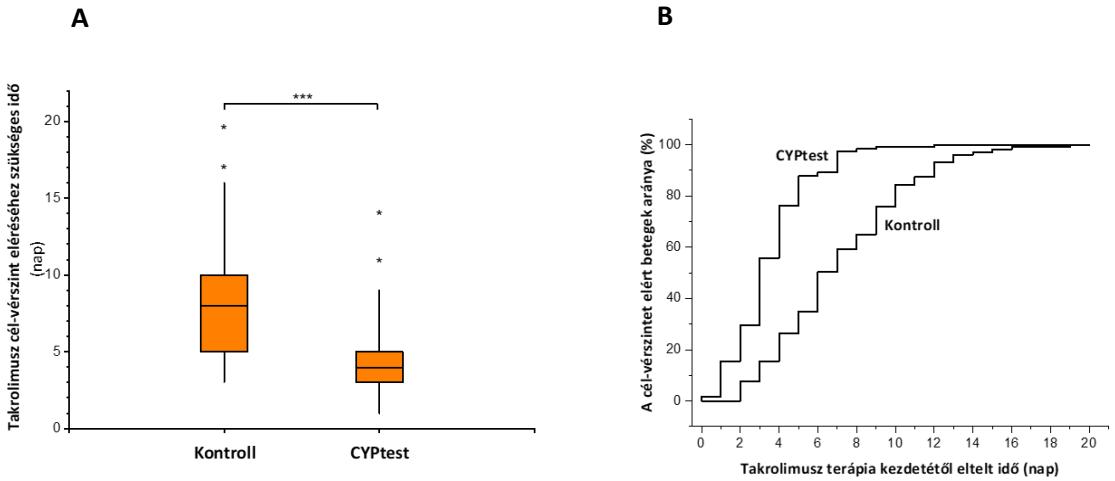
mértékét, mely alapján megállapítottuk a takrolimusz terápiás vérszinthez szükséges kezdeti dózist az első vizsgálat-sorozat takrolimuszra vonatkozó eredményei alapján. A klasszikus klinikai protokoll alapján javasolt 0,1 mg/kg dózist a funkcionális CYP3A5-t nem expresszáló, normál CYP3A4 mRNS expressziójú grafttal transzplantált betegeknél alkalmaztuk. A vad típusú *CYP3A5*1* allélt hordozó grafttal transzplantált betegeknél 0,2 mg/kg dózist és a CYP3A5 enzimet nem expresszáló, magas CYP3A4 aktivitású májjal transzplantált betegeknél szintén magasabb dózisú (napi 0,2 mg/ttkg) takrolimusz kezelést indítottunk, míg az alacsony CYP3A4 expressziójú máj beültetését követően 0,05 mg/kg takrolimusz került alkalmazásra. A kontroll csoportban a gyógyszeres kezelés beállítása hagyományos módon, testtömeg (0,1 mg/kg), majd vérszint alapján történt. A transzplantációt követő első 20 napban mindkét csoportban sikerült elérni a terápiás céltartományt, bár különböző arányban (11. ábra).



11. ábra: Stabil terápiás takrolimusz vérszint elérése a májtranszplantációt követően a kontroll (A) és a CYPtest (B) betegcsoportban (Csikány és mtsai, 2021)

Annak ellenére, hogy a CYPtest csoportba bevont betegek több, mint felénél (n=68) a CYP3A-státusz alapján módosított kezdeti takrolimusz dózist alkalmaztunk, lényegesen gyorsabban alakult ki a stabil terápiás vérszint (10-15 ng/ml), mint azoknál a kontroll betegeknél akiknek a 0,1 mg/kg kezdeti takrolimusz dózissal, majd vérszint monitorizálás

alapján történt a dozírozás (CYPtest csoport: 4,56±2,07 nap; kontroll csoport: 8,33±3,55 nap; P<0,0001), (12. ábra).



12. ábra: A stabil terápiás takrolimusz vérszint eléréséig eltelt napok száma (A), valamint a terápiás takrolimusz vérszintet elért betegek aránya a CYPtest és a kontroll csoportban a vizsgált 20 napos időintervallumban (B). (Az ábra 'A' része a medián ± QD értékeket és a minimum/maximum értékeket mutatja.) (Csikány és mtsai, 2021)

Az optimális takrolimusz vérszintet a transzplantációt követő 8. napra a CYPtest csoportban majd minden beteg (97,5%) elérte, míg a kontroll csoportban a betegek mindössze 59%-nál alakult ki a megfelelő takrolimusz vérszint (12. ábra).

A transzplantációt követő első 3 hétben vizsgáltuk a máj működést jellemző biokémiai és klinikai paramétereket (10. táblázat). A máj működést jellemző paraméterek (GOT, GPT, szérum bilirubin szint, protrombin idő) gyorsan normalizálódtak mindkét csoportban. A korai posztoperatív időszakban előfordulhat elsődlegesen nem működő máj (PNF, primary non-function), melynek egyetlen megoldása végső esetben a retranszplantáció. A „kezdeti szegényes májműködés" (IPF, initial poor function) konzervatív terápia mellett normalizálódhat (Olthoff és mtsai, 2010; Davis és Florman, 2014). A vizsgálatba bevont recipienseknél PNF nem fordult elő. Az IPF incidenciája mindkét csoportban hasonló volt (8,9% mindkét esetben), mely megegyezett a korábban leírt tanulmányok alsó értékeivel (8,7-24,7%) (Pokorny és mtsai, 2000; Bolondi és mtsai, 2016). A vizsgált időszakban egyetlenegy beteget sem veszítettünk el.

10. táblázat: Májtranszplantáción átesett betegek klinikai adatai a korai posztoperatív időszakban (Csikány és mtsai, 2021 adatainak felhasználásával)

	CYPtest csoport	Kontroll csoport	P-érték
Normál szérum koncentrációig eltelt idő (nap)			
GOT	3 (2-4)	3 (2-5)	Ns
GPT	4 (2-7)	5 (2-9)	Ns
Protrombin idő	1 (1-2)	1 (1-3)	Ns
Bilirubin	1 (1-3)	1 (1-4)	Ns
Graft funkció (betegek száma)			Ns
Normál	102	92	
Kezdeti csökkent funkció (IPF)	10	9	
Intenzív osztályon töltött napok száma (nap)*	7 (5-9)	7 (5-10)	Ns
Kórházban töltött napok száma (nap)*	22 (18-29)	24 (21-32)	0,0174

Ns: nincs szignifikáns különbség, *Medián tartományban feltüntetve.

A Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikáján a májtranszplantációt követően a betegek átlagosan 20-30 napot töltenek az intézetben. Vizsgálatunk során a májgraft CYP3A-státusz vezérelte takrolimusz terápiával kezelt csoport betegei 22 napot, mérsékelten, de szignifikánsan rövidebb időt töltöttek kórházi körülmények között, mint a hagyományos protokoll alapján kezelt betegek (24 nap, P>0,0174). Az Intenzív Osztályon történő kezelés mindkét betegcsoport esetén megegyezett, átlagosan 7 nap volt.

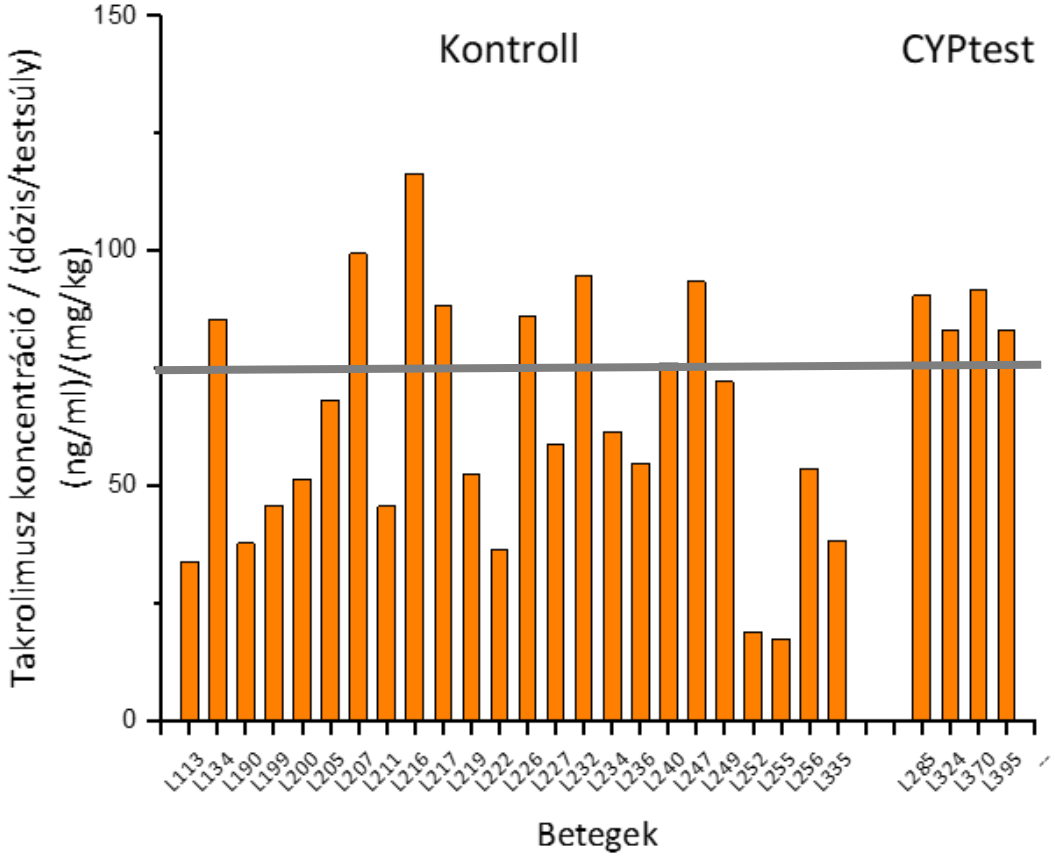
4.5 Korai posztoperatív időszak nem-kívánt hatásainak elemzése

Korai posztoperatív időszakban elemeztük a CYPtest és a kontroll csoportokban a nem-kívánt hatások előfordulásának gyakoriságát, a vesekárosodást, a fertőzések és az akut kilökődés incidenciáját (11. táblázat). A profilaktikus gyógyszeres terápia mellett 3,6 % és 5,9 %-ban fordult elő fertőzés a CYPtest és a kontroll csoportban, mely értékek között nem találtunk szignifikáns különbséget.

11. táblázat: Nem-kívánt hatások előfordulása májtranszplantált betegeknél (Csikány és mtsai, 2021 adatainak felhasználásával)

Nem-kívánt hatások	CYPtest csoport	Kontroll csoport	P-érték
Vesekárosodás (betegek száma)			0,0004
Vese - Normál funkció	103	74	
Vese - Akut károsodás	9	27	
Akut rejekció	4	24	<0,0001
Fertőzés	4	6	Ns
Ns: nincs szignifikáns különbség			

A szövettani eredmények alapján igazolt akut rejekciók száma szignifikánsan magasabb volt a kontroll csoportban, mint a CYPtest betegcsoportban (23,8% vs 3,6% P<0,0001). A legtöbb, akut rejekciót mutató betegnél a transzplantációt követő első héten 2-5 napig a takrolimusz vérszint a terápiás szint alatt volt (<10 ng/ml) volt (20/24 a kontroll és 2/4 a CYPtest csoportokban). A kontroll csoportban a kilökődés hátterében valószínűleg a beültetett szerv fokozott takrolimusz metabolizáló képessége állt. A normalizált takrolimusz vérszintek alapján feltételezhető (13. ábra), hogy 17 kontroll betegnél a *CYP3A5*1* vad típusú allél jelenléte, vagy a *CYP3A5*3/*3* genotípusú magas CYP3A4 enzim aktivitású donortól származó májgraft vezethetett rejekcióhoz. A funcionális CYP3A5-t expresszáló, vagy *CYP3A5*3/*3* genotípusú, de magas CYP3A4 expressziójú májgraft átültetése esetén a recipienseknél emelt takrolimusz dózisra van szükség (0,2 mg/kg). További 7 kontroll betegnél a vérszint alapján normál CYP3A4 expresszió volt feltételezhető. A CYPtest csoportban 4 betegnél észleltünk akut kilökődést, melynek hátterében *CYP3A5*3/*3* genotípus mellett, normál CYP3A4 expressziót mértünk a donornál. A 13. ábrán a vízszintes vonal jelzi a takrolimusz cut-off értékét, mely alapján a két betegcsoportban el tudjuk különíteni a magas és átlagos CYP3A4 metabolizáló képességű májgraftokat.



13. ábra: Takrolimusz vérkoncentrációja akut rejekciók esetén a két betegcsoportban. A vízszintes vonal a *CYP3A5*1*-et hordozó, illetve a CYP3A4 magas expressziójú és az átlagos CYP3A4 expressziójú grafttal transzplantáltak közti takrolimusz cut-off értéket jelzi. (Csikány és mtsai, 2021)

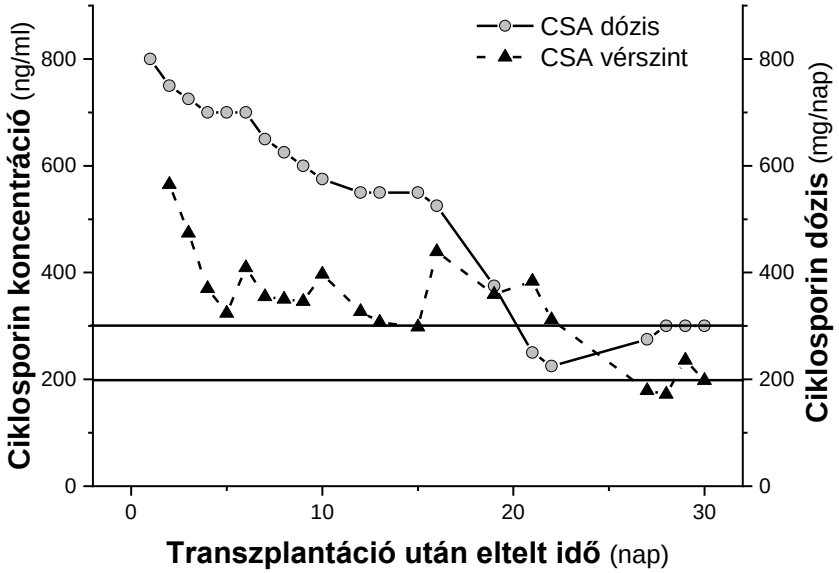
Takrolimuszhoz köthető vesekárosodás szignifikánsan gyakrabban fordult elő a kontroll csoport betegei között, mint a CYPtest csoportban (27% vs 8% P=0,0004). Korábbi vizsgálatokban összefüggést mutattak ki a magas takrolimusz koncentráció (20-25 ng/ml) és a vesekárosodás előfordulása között (Venkataramanan és mtsai, 2001), ezért vizsgáltuk a nephrotoxicitást a betegeknél, illetve az emelkedett takrolimusz szintekre is fókuszáltunk. A kontroll csoportban 27 esetben észleltünk akut vesekárosodást, ezek közül 13 esetben mutatkozott legalább 2 napig tartó magas takrolimusz vérszint (>20 ng/ml) az első poszttranszplantációs héten. Meg kell jegyezni, hogy a vesekárosodást nem mutató kontroll betegeknél is akadt magas takrolimusz vérszint az első posztoperatív

héten (8/74), azonban az előfordulási gyakorisága lényegesen alacsonyabb volt (magas takrolimusz koncentráció vesekárosodott betegeknél körülbelül 50%; egészséges vesefunkciójú kontroll betegeknél 10,8%, P=0,0001). A CYPtest csoportban magas takrolimusz vérszintet (>20 ng/ml) csak 5 esetben (5/112) mértünk, mely akut vesekárosodással (2/9) vagy anélkül (3/103) fordult elő, szemben a kontroll csoport betegeivel (13/27 és 8/74).

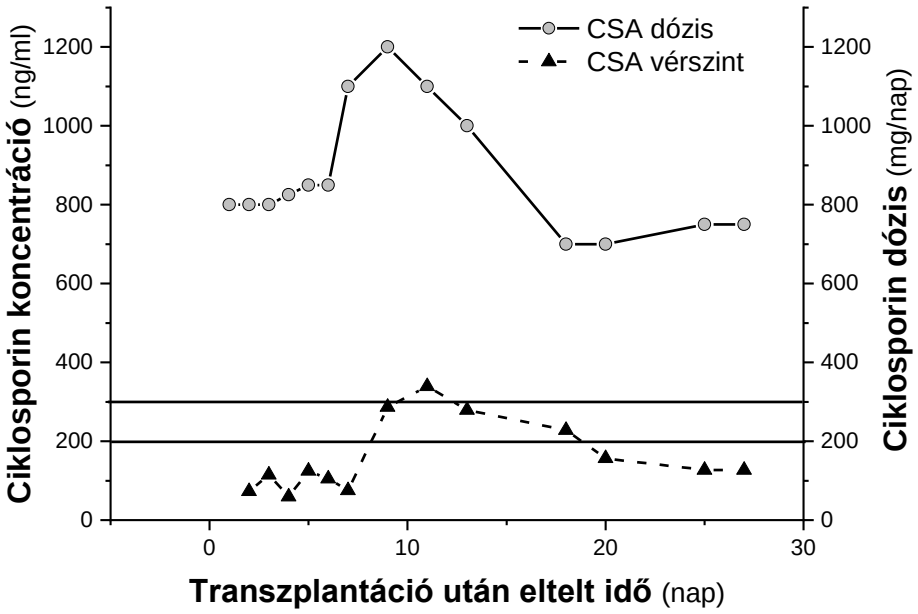
4.6 Esetismertetések

A CYP3A-státusz ismerete jelentős segítséget nyújthat az optimális kalcineurin inhibitor vérszint eléréséhez szükséges idő minimalizálásához és az optimális dózis megállapításához. A 14. és 15. ábrákon négy olyan recipiens reggeli gyógyszer bevétel előtti vérszintjének (C_0) változását mutatjuk be, akiknél a CYP3A-státusz még nem volt ismert és a normál klinikai protokoll szerint történt a gyógyszeres kezelés. Bár utólagosan meghatároztuk a donor máj CYP3A-státuszát, az immunszuppresszív terápia nem a májgraft gyógyszer-metabolizáló képessége alapján történt, hanem a hagyományos klinikai protokoll szerint.

A és B betegnél, egy 38 és egy 50 éves férfinél hepatitis C indukálta májelégtelenség miatt volt szükség májtranszplantációra, bázis immunszuppresszív gyógyszerként ciklosporint kaptak (14/A. és 14/B. ábrák). A testsúlyukhoz igazított kezdeti ciklosporin dózis 800 mg/nap volt, ezt a kezdő dózist a reggeli gyógyszer bevétel után mért vérkoncentráció alapján szükség esetén módosították. Az első betegnél (14/A. ábra) a ciklosporin dózis folyamatos csökkentésére volt szükség, míg 300 mg/nap dózis mellett el nem ért egy stabil optimális vérszint értéket (a két vonal közötti tartomány). Az utólag meghatározásra került donor máj CYP3A-státusza alapján a beültetett máj funkcionális CYP3A5 enzimet nem expresszált (*CYP3A5*3/*3* genotípusú) és alacsony CYP3A4 expressziójú volt, amely magyarázatot ad arra, hogy az optimális vérkoncentráció eléréséhez miért volt szükség ciklosporin dózis csökkentésre. A második betegnél (14/B. ábra) a kezdeti ciklosporin dózist több alkalommal is módosították, végül a stabil optimális vérkoncentrációt 800 mg/nap dózis mellett sikerült beállítani, mely azonos volt a kiindulási dózissal (800 mg/nap). A CYP3A-státusz meghatározása alapján a donor máj CYP3A5 enzimet nem expresszáló (*CYP3A5*3/*3* genotípusú) normál CYP3A4 expressziójú volt.

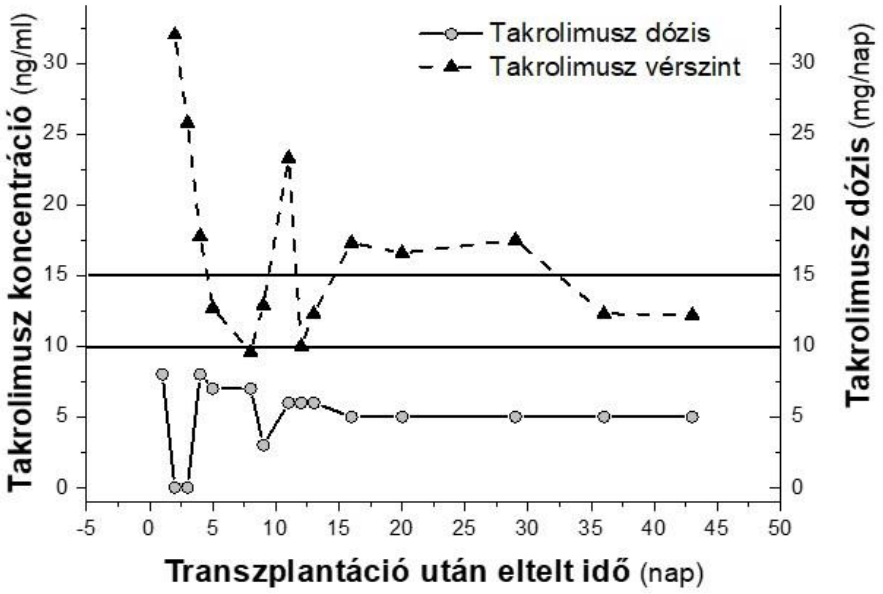


14/A. ábra: A ciklosporin C_0 vérkoncentrációjának változása egy *CYP3A5*3/*3* genotípusú alacsony CYP3A4 expressziót mutató májgrafttal transzplantált betegnél a korai posztoperatív időszakban.

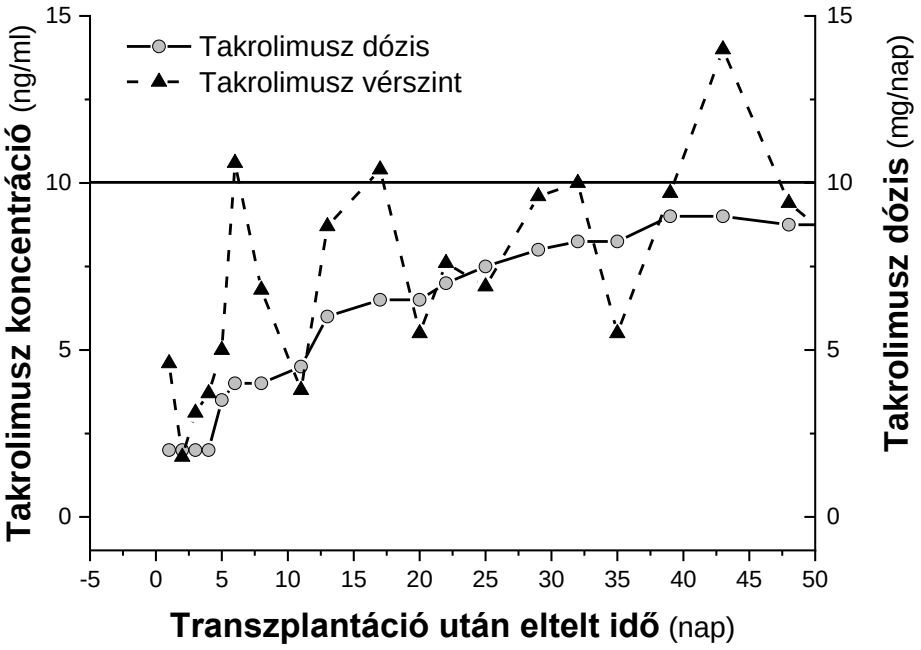


14/B. ábra: A ciklosporin reggeli C_0 vérkoncentrációjának változása egy *CYP3A5*3/*3* genotípusú normál CYP3A4 expressziójú májgrafttal transzplantált betegnél a korai posztoperatív időszakban.

A másik két beteg (C és D beteg), egy 50, illetve 22 éves nő takrolimusz kezelést kapott a májtranszplantációt követő korai posztoperatív időszakban. C betegnél autoimmun hepatitis, míg D betegnél congenitalis fibrosis miatt volt szükség a beavatkozásra. A hagyományos klinikai protokoll alapján a testsúlyuk alapján meghatározott kezdeti takrolimusz dózis esetükben 6 mg/nap volt. C beteg esetében (15/A. ábra) minimális dózismódosítás után sikerült beállítani az optimális takrolimusz dózist (6,5 mg/nap). A CYP3A-státusz analízis eredményei alapján megállapítottuk, hogy beültetett májgraft a CYP3A5 enzimet nem expresszálja és normál CYP3A4 expressziójú. D beteg (15/B. ábra) esetében a takrolimusz kezdő dózist 9 mg-ra kellett emelni, és még így sem sikerült elérni egy stabil terápiás takrolimusz vérszintet. Ebben az esetben a beültetett májgraft genotípusa *CYP3A5*1/*1*, ami a takrolimusz dózis emelését igényli legalább 12 mg/nap-ra. A CYP3A5 enzimet expresszáló (különösen a *CYP3A5*1/*1* genotípusú) májgraft rendkívül gyors takrolimusz metabolizmust eredményez a recipienseknél, tehát az optimális takrolimusz dózis beállítása nem könnyű feladat (Finnström és mtsai, 2001). A *CYP3A5* genotípus mind a ciklosporin, mind a takrolimusz metabolizmusában jelentős szerepet játszik, azonban a takrolimuszt a CYP3A5 még intenzívebben képes metabolizálni, mint a CYP3A4 (Monostory és Pascussi, 2008).



15/A. ábra: A takrolimusz C_0 vérkoncentrációjának változása egy CYP3A5 enzimet nem expresszáló normál CYP3A4 expressziójú májgrafttal transzplantált betegnél a korai posztoperatív időszakban.



15/B. ábra: A takrolimusz C_0 vérkoncentrációjának változása egy CYP3A5 homozigóta vad (*CYP3A5*1/*1*) genotípusú májgrafttal transzplantált betegnél a korai posztoperatív időszakban.

5. Megbeszélés

A beültetett májgraft gyógyszer-metabolizáló képessége nagyban befolyásolja a májtranszplantáción átesett betegek immunszuppresszív terápiára adott válaszát, illetve a nem-kívánt hatások előfordulását. A gyógyszerlebontásban meghatározó szerepet játszó CYP enzimek genetikai polimorfizmusai klinikailag jelentős különbségeket eredményez az egyes hatóanyagok pl. immunszuppresszív gyógyszerek farmakokinetikai viselkedésében. A farmakogenetikai vizsgálatok kizárólag azokat az egyéneket azonosítják, akiknél a genetikai variabilitásra vezethető vissza a megváltozott metabolizmus, így nem lehet pontos képet kapni a fenokonverziót is tükröző aktuális gyógyszer-lebontó képességről. Temesvári és munkatársai kidolgoztak egy kétlépcsős diagnosztikai eljárást, mely a DNS analízissel kimutatható genetikai variációk, valamint a perifériás vérből izolált fehérvérsejtek CYP mRNS expressziója alapján állapítja meg a máj CYP enzimaktivitását, így elsőként lehetővé vált a máj gyógyszer-metabolizáló képességének vérmintából történő meghatározása (Temesvári és mtsai, 2012).

A májtranszplantációt követő immunszuppresszív terápia bázis szerei a kalcineurin inhibitorok (ciklosporin, takrolimusz), melyek lebontásában a CYP3A4 és CYP3A5 enzimek vesznek részt. Számos vizsgálat foglalkozik a *CYP3A5*3* allél, valamint az utóbbi időszakban azonosított *CYP3A4*22* allél takrolimusz metabolizmusára gyakorolt hatásával (Kurzawski és Droździk, 2013; Elens és Haufroid, 2017; Abdel-Kahaar és mtsai, 2019). A *CYP3A5*3* a leggyakrabban előforduló allélvariáció a kaukázusi populációban (Zanger és mtsai, 2008). A *CYP3A5*3* allélban található 6986A>G mutáció teljes enzim hiányt idéz elő, amely a CYP3A szubsztrátok csökkent metabolizmusához vezet (Wang, 2009). Több szerző is mutatott összefüggést a kalcineurin inhibitorok szérumkoncentrációja, illetve a *CYP3A5* genotípus között (Elens és mtsai, 2012; Provenzani és mtsai, 2013; Hesselink és mtsai, 2014).

A *CYP3A4*22* allél csökkent mRNS expressziót, ezáltal csökkent enzimaktivitást eredményez (Elens és mtsai, 2013; Gijsen és mtsai, 2013). Jelenleg is vizsgálatok tárgya, hogy a *CYP3A4*22* allél jelent-e klinikailag szignifikáns változást és szükséges-e figyelembe kell-e venni a kalcineurin inhibitorok kezdeti dozírozásakor (Elens és Haufroid, 2017). Azonban a *CYP3A5*3* és *CYP3A4*22* allélok azonosítása a kalcineurin inhibitor dózismódosítások kevesebb, mint 20%-ára ad magyarázatot, valószínűleg a

*CYP3A5*1* és *CYP3A4*22* kaukázusi populációban való alacsony előfordulási gyakorisága miatt (Elens és mtsai, 2011; Bruckmueller és mtsai, 2015).

A betegek aktuális gyógyszer-metabolizáló képességére lehet következtetni a genetikai polimorfizmusok azonosításával, azonban a nem-genetikai tényezők figyelembevétele még a nem indukálható enzimek (CYP2D6) esetében is javíthatja a máj CYP enzimaktivitásának becslését (Hicks és mtsai, 2014; Kiss és mtsai, 2018; Kiss és mtsai, 2020). Temesvári és munkatársai 100-szoros különbséget találtak a különböző betegek májszövet CYP3A4 mRNS szintjeiben, vagyis átmeneti gyenge metabolizáló fenotípusú (poor metabolizer) egyének is vannak a *CYP3A4*1/*1* homozigóta vad genotípusú betegek között. Mindezekből arra lehet következtetni, hogy nem elegendő a genetikai háttér tisztázása, szükség van az aktuális génexpresszió feltérképezésére is, ha az aktuális kalcineurin inhibitor metabolizmusra vagyunk kíváncsiak és az alul- vagy túldozírozás kockázatát csökkenteni szeretnénk. A *CYP3A5* genotípus és a CYP3A4 expresszió meghatározásával racionalizálni tudjuk az immunszuppresszív terápiát a korai posztoperatív időszakban, amellyel javítható a májgraft és a recipiens túlélése. A CYPtest™ vizsgálat iránymutatást ad a kezelőorvosnak, ugyanakkor a kalcineurin inhibitor vérszint monitorizálás nem hagyható el.

5.1 Személyre szabott kalcineurin inhibitor terápia

Az átültetett májgraft CYP3A-státusza (*CYP3A5* genotípus és CYP3A4 expresszió) és a kalcineurin inhibitorok farmakokinetikai viselkedésében mutatkozó jelentős inter-individuális különbségek közötti összefüggésekre elsőként világítottunk rá. Ezért a recipiensek a donor máj kalcineurin inhibitor metabolizáló képességétől függően különböző gyógyszerdózisokat igényelnek. A *CYP3A5*3/*3* genotípusú normál CYP3A4 expressziójú donor májjal transzplantált betegeknél többé-kevésbé alkalmazható volt a konvencionális terápia által javasolt, testtömeg alapján kalkulált kezdő dózis (ciklosporin: 9,1 mg/kg; takrolimusz: 0,1 mg/kg), azonban ahhoz, hogy optimális terápiás vérszint alakuljon ki, a betegek körülbelül 60 %-ánál kellett módosítani a kezdeti terápián (alacsony és magas expressziójú, valamint a *CYP3A5*1* allélt hordozó májgraft átültetése esetén). Jól ismert, hogy a donor máj *CYP3A5* genotípusának meghatározó szerepe van a takrolimusz eliminációjában, ezért a kezdeti takrolimusz dózis

megállapításához javasolt a donor *CYP3A5* genotípus vizsgálata (Provenzani és mtsai, 2009; Provenzani és mtsai, 2011). Eredményeink azt bizonyították, hogy amennyiben a beültetett májgraft funkcionáló CYP3A5 enzimet hordoz, mind a takrolimusz, mind a ciklosporin clearance-e emelkedett és a terápiás vérszinthez szükséges kezdő dózist módosítani kell. A legalább egy funkcionáló *CYP3A5*1* allélt hordozó graftok esetében a ciklosporin kezdő dózisát 30%-kal szükséges megemelni, míg a takrolimusz dózisának kétszeresére van szükség az optimális terápiás vérszint eléréséhez a hagyományos klinikai gyakorlatban alkalmazott terápiához (ciklosporin: 10 mg/kg; takrolimusz: 0,1 mg/kg) képest. Ezek a megállapítások összhangban vannak a korábbi tanulmányokkal, melyek szerint a májtranszplantáción átesett betegeknél a donor szerv *CYP3A5* genotípusa a takrolimusz farmakokinetikai viselkedésére szignifikáns hatással van, míg a ciklosporin kinetikát kisebb mértékben befolyásolja (Kurzawski és Droździk, 2013; Hesselink és mtsai, 2014; Salvadori és Tsalouchos, 2020). Azonban az átültetett májgraft *CYP3A5* genotípusához igazított kalcineurin inhibitor terápia a helytelen dozírozások csupán 30%-át képes kivédeni (25/82). Ugyanakkor számos, májtranszplantáción átesett beteg bevonásával készült vizsgálat beszámolt arról, hogy a recipiens *CYP3A5* genotípusa is hatással lehet a takrolimusz clearance-re, valamint hozzájárulhat a recipiensnél kialakuló takrolimusz vérkoncentrációra (Uesugi és mtsai, 2006; Muraki és mtsai, 2011; Ji és mtsai, 2012; Nakatani, 2013; Liu és mtsai, 2018; Berger és mtsai, 2019). A korai posztoperatív időszakban (az operációt követő 1. hónapban) a recipiens *CYP3A5*1* allél jelenlétét a takrolimusz metabolizmusában meghatározónak tekintik, azonban szerepét fokozatosan a donor máj *CYP3A5*1* veszi át (Fukudo és mtsai, 2008; Ji és mtsai, 2012; Buendia és mtsai, 2014). Egyes tanulmányok szerint azonban a donor *CYP3A5* genotípusa nagyobb hatással van a takrolimusz farmakokinetikájára, mint a recipiensé, vagy éppen semmilyen összefüggést nem találtak a recipiens *CYP3A5* genotípusa és a takrolimusz clearance között (Yu és mtsai, 2006; Wei-lin és mtsai, 2006). Nehézséget jelent, hogy a kaukázusi populációban a *CYP3A5*1* allél előfordulási gyakorisága alacsony, emiatt nehezebb statisztikailag szignifikáns hatását kimutatni, így továbbra is kérdéses, hogy a recipiens genotípusát figyelembe kell-e venni a személyre szabott takrolimusz terápia során (Yu és mtsai, 2006; Wei-lin és mtsai, 2006; Provenzani és mtsai, 2011). Gyermekek esetében további tényező, hogy a testtömeghez viszonyított

relatív nagyobb graft méret is csökkentheti a recipiens *CYP3A5* genotípusának szerepét (Fukudo és mtsai, 2008).

A CYP3A5 enzimet nem expresszáló májgraftokban a CYP3A4 expressziója nem feltétlenül tükrözi a *CYP3A4* genotípusból becsülhető fenotípust, emiatt a donor CYP3A4 mRNS expressziójának vizsgálata elősegítheti a kalcineurin inhibitorok terápiájának racionalizálását. Újabb kutatások folynak a *CYP3A4*1B* és a *CYP3A4*22* allélokkal kapcsolatban. A *CYP3A4*1B* allél esetében megnövekedett promoter aktivitást mutattak ki, mely megnövekedett transzkripcióval jár, míg a *CYP3A4*22* allél esetében a CYP3A4 mRNS szintjének csökkenését írták le. Azonban a CYP3A4 expresszióját a genetikai tényezőkön kívül nem-genetikai tényezők is módosítják. Mindez azt is jelenti, hogy a megemelkedett CYP3A4 mRNS expresszió egyfelől a *CYP3A4*1B* allélnak köszönhető, másfelől a fokozott transzkripciót eredményező CYP3A4 indukciónak (Garcia-Martin és mtsai, 2002; Amirimani és mtsai, 2003; Lolodi és mtsai, 2017). Tovább színesíti a képet, hogy *CYP3A4*1B* a *CYP3A5*1* vad alléllal kapcsoltan öröklődik, így nehéz meghatározni, hogy milyen mértékben járul hozzá a *CYP3A4*1B* a takrolimusz metabolizmusához (Wang és mtsai, 2011). A CYP3A4 expresszió csökkenése hasonlóan bekövetkezhet a *CYP3A4*22* allél vagy gén expresszió szuppressziója miatt. A Metabolikus Gyógyszer-kölcsönhatások Kutatócsoport munkatársai korábbi vizsgálat-sorozatukban igazolták, hogy a perifériás vérből izolált fehérvérsejtekben mérhető CYP3A4 mRNS expresszió tükrözi a máj CYP3A4 enzim aktivitását *CYP3A5*3/*3* genotípusú egyéneknél (Temesvári és mtsai, 2012). Ennek megfelelően a beültetett májgraft gyógyszer-lebontó képességét a *CYP3A5*3/*3* genotípusú a donorok leukocitáiban a CYP3A4 mRNS expresszió alapján becsültük meg a szervkivétel időpontjában. Azonban a beültetett májgraft CYP3A4 aktivitása, illetve kalcineurin inhibitor metabolizáló aktivitása módosulhat a posztoperatív időszakban. A ciklosporin és a takrolimusz vérszintjeit a műtéti beavatkozás után még 4 hétig követtük. Betegeink a stabil terápiás vérszinteket 8-12 napon belül elérték, melyet követően a beállított kalcineurin inhibitor terápián ritkán kellett módosítani. A CYP3A4 mRNS expresszió alapján különböző csoportokba sorolt májgraftok eltérő, de stabil kalcineurin inhibitor vérszinteket mutattak, amely alapján feltételezhetjük, hogy a májgraft becsült CYP3A4 aktivitása a májtranszplantációt követően még 4 hétig megmaradhatott. A magas CYP3A4 mRNS expressziót mutató *CYP3A5*3/*3* genotípusú májgraftok esetében

többé-kevésbé ugyanakkora ciklosporin, illetve takrolimusz dózis volt szükséges a stabil terápiás vérszint eléréséhez, mint a legalább egy *CYP3A5*1* allélt hordozó májgraftok esetében. Másrészt a *CYP3A5*3/*3* genotípusú alacsony CYP3A4 expressziójú májgraftok esetén, 50%-kal alacsonyabb dózis szükséges, mint normál CYP3A4 expressziójú májgrafttal transzplantált betegek esetén.

A CYP3A-státusz meghatározása bár nem helyettesíti a kalcineurin inhibitorok folyamatos monitorizálását, viszont eszköz lehet a beültetett májgraftok gyógyszer-metabolizáló képességének gyors és pontosabb meghatározásához. A perifériás vérből izolált fehérvérsejt megfelelő biológiai minta a CYP3A-státusz meghatározásához. A donor máj CYP3A-státuszának vizsgálata nemcsak optimalizálhatja a kezdeti takrolimusz és ciklosporin terápiát, hanem segítségével elkerülhetőek a helytelen dozírozásból fakadó májgraft károsodások a korai posztoperatív időszakban.

5.2 CYP3A-státusz alapú takrolimusz terápia klinikai jelentősége

A májtranszplantációt követő, élethosszig tartó immunszuppresszív terápia alapeleme ma már leginkább a takrolimusz. A szűk terápiás tartomány és a jelentős interindividuális farmakokinetikai variabilitás miatt lényeges a takrolimusz vérszintjének és a beültetett májgraft funkciójának folyamatos monitorizálása, amellyel visszaszorítható a kezeléshez köthető nem-kívánt hatások megjelenése (Moini és mtsai, 2015; Wong és mtsai, 2017; Brunet és mtsai, 2019). A CYP3A5 enzim takrolimusz metabolizmusában betöltött szerepe miatt a (Hesselink és mtsai, 2003; Nair és mtsai, 2015; Kato és mtsai, 2016) Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium 2015-ben ajánlást fogalmazott meg, miszerint a működőképes CYP3A5 enzimet expresszáló (*CYP3A5*1* allélt hordozó) májgrafttal transzplantált beteg kétszerannyi takrolimusz dózist igényel (0,2 mg/kg), mint a hagyományos klinikai protokoll alapján kalkulált dózis (0,1 mg/kg) (Birdwell és mtsai, 2015). A *CYP3A5* genotípus meghatározása egyrészt elősegíti a kezdeti takrolimusz dózisigények pontos meghatározását, másrészt lehetővé teszi a terápiás vérszint gyors kialakulását (Rong és mtsai, 2010; Bezerra és mtsai, 2020; Allegri és mtsai, 2021). Vizsgálatunk során a CYPtest csoportban a *CYP3A5*1* allélt hordozó (*CYP3A5*1/*3* vagy *CYP3A5*1/*1* genotípusú) graftok esetében a recipiensek kétszeres takrolimusz dózist kaptak összhangban a Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium

ajánlásával. Számos tanulmány javasolja továbbá a *CYP3A5* genotípus mellett a csökkent CYP3A4 expressziót eredményező *CYP3A4*22* allél azonosítását és kombinált értékelését a *CYP3A5* genotípussal (Lloberas és mtsai, 2017; Mulder és mtsai, 2021). Azonban a takrolimusz dózisigényben mutatkozó nagyfokú eltéréseknek csak egy kis része, nem egész 20%-a magyarázható a *CYP3A5*1* és *CYP3A4*22* allélokkal (Bruckmueller és mtsai, 2015). Egyéb genetikai polimorfizmusok hatása nehézkesen azonosítható, mivel a nem-genetikai tényezők elfedhetik a genetikai tényezőknek tulajdonítható CYP3A4 expresszió és aktivitás variabilitását (Werk és Cascorbi, 2014; Brunet és mtsai, 2019). Az általunk alkalmazott megközelítés alapján a fehérvérsejtekből meghatározott CYP3A4 expresszió mértéke képet ad a *CYP3A5*3/*3* genotípusú májgraft takrolimusz-metabolizáló képességéről. Tehát a donor CYP3A-státusza (*CYP3A5* genotípus és CYP3A4 expresszió) prognosztikai információkkal szolgál a recipiens kezdeti takrolimusz dózisigényével kapcsolatban. A CYPtest csoportban a takrolimusz terápiás vérszint eléréséhez szükséges idő szignifikánsan lecsökkent (CYPtest csoport: 4 nap, kontroll csoport: 8 nap).

Nem genetikai faktoroknak köszönhetően, mint a májátültetést követő, CYP3A induktor vagy gátló hatású gyógyszeres kezelés hatására átmenetileg megváltozhat a takrolimusz metabolizáló enzimek transzkripciója. A kezdeti magas dózisú metilprednizolon terápia (kezdetben 1000 mg/nap intravénásan, majd fokozatosan napi 32 mg/nap-ra, végül 20 mg/nap-ra csökkentve) indukálja a CYP3A expressziót, amely a takrolimusz clearance emelkedését vonja maga után (Monostory, 2018). Mivel minden betegnél ugyanazt a szteroid adagolási protokollt alkalmaztuk, azt feltételezhetjük, hogy hasonló mértékű CYP3A indukció alakult ki a kontroll és a CYPtest betegcsoportokban. Az antifungális flukonazol gyenge gátló hatást fejt ki a CYP3A enzimek működésére, amely csökkentheti a takrolimusz clearance-t (Zhang és mtsai, 2012). Flukonazolt a két csoport egy-egy betegénél alkalmaztuk, azonban takrolimuszhoz köthető mellékhatás nem jelentkezett egyik betegben sem.

A takrolimusz terápia gyors, személyre szabott beállítása hozzájárulhat a nem megfelelő dozírozásból fakadó nem-kívánt hatások (akut rejekció, fertőzések, akut vesekárosodás) számának csökkenéséhez, melyek hosszú távon javíthatják a beültetett graft és a beteg életminőségét. Az összehasonlító vizsgálat során szignifikáns különbség mutatkozott az akut rejekció előfordulásában a kontroll és a CYP3A-státuszhoz igazított takrolimusz

terápián lévő (CYPtest) betegcsoport között. Az akut rejekció kialakulása összefüggésbe hozható az alacsony takrolimusz vérszinttel (<10 ng/ml) mind a vese-, mind a májátültetésen átesett betegeknél (Staatz és mtsai, 2001; Masuda és Inui, 2006). A kontroll csoportban akut rejekciót muató betegek 83%-ánál szubterápiás takrolimusz vérszintet mértünk az első héten, amely rávilágít a donor CYP3A-státusz meghatározásának és a vérszint szigorú ellenőrzésének jelentőségére. Azt feltételezzük, hogy a rejektáló kontroll betegek 71%-ánál olyan májgraftok kerültek beültetésre, melyek aktív CYP3A5 enzimet expresszáltak, vagy *CYP3A5*3/*3* genotípusú, magas CYP3A4 expressziót mutató donorokból származtak. A korai akut rejekciók a takrolimusz dózis emelésével vagy magas dózisú szteroid lökésterápiával visszafordíthatók, mely nem jelent hosszútávon kihatást a beültetett graftra. A rejekciós események javarészt elkerülhetőek a donor CYP3A-státusza alapján kialakított takrolimusz terápiával. A CYPtest csoportban 4 betegnél regisztráltunk akut rejekciót, közülük 2 esetben igazoltunk alacsony takrolimusz szintet (<10 ng/ml) annak ellenére, hogy normál CYP3A4 expressziót mutató, *CYP3A5*3/*3* genotípusú graftok kerültek beültetésre, melyből következik, hogy fontos a takrolimusz vérszintjének folyamatos monitorizálása, és nem elegendő a CYP3A-státusz meghatározása.

A májtranszplantáció „Achilles-sarkának" nevezett akut veseelégtelenség szintén gyakori kalcineurin inhibitor okozta nem-kívánt hatás a korai posztoperatív időszakban, előfordulása meghaladja a 40%-ot (Gijsen és mtsai, 2012; Zhu és mtsai, 2010). Bár kevésbé nephrotoxikus a takrolimusz a ciklosporinhoz képest, a nem megfelelő dozírozás miatt ugyanúgy jelentkezhet akut vesekárosodás (Nankivell és mtsai, 2016). Mivel az akut vesekárosodáshoz magas mortalitás kapcsolható (Ojo, 2007), egyes tanulmányok felvetették a kalcineurin inhibitor alkalmazásának mellőzését, azonban kalcineurin inhibitor mentes terápia kockázatosnak bizonyult az elégtelen immunszuppresszió, és a szteroid rezisztens akut kilökődés előfordulásának növekedése miatt (Azzi és mtsai, 2013; Karpe és mtsai, 2017; Zhang és mtsai, 2017). A vesekárosodás előfordulásának tekintetében a kontroll és a CYPtest csoportok között szignifikáns különbség mutatkozott. A kontroll csoport betegeinél gyakrabban rögzítettünk akut veseelégtelenséghez vezető magas takrolimusz vérszint értéket (> 20 ng/ml) a transzplantációt követő első héten. Mindezek alapján egyértelmű, hogy a donor CYP3A-státusza kihatással volt a recipiensek szisztémás takrolimusz expozíciójára, azonban nem zárható ki, hogy a

recipiens intrarenalis takrolimusz metabolizmusa és a vesében kialakuló takrolimusz koncentráció is hozzájárulhat a vesetoxicitás kialakulásához (Zhang és mtsai, 2020; Sallustio és mtsai, 2021). A vesekárosodás fokozott kockázata és a magas szisztémás takrolimusz koncentráció között egyértelmű összefüggést találtak (Bentata, 2020).

Az immunszuppresszív terápia következtében fellépő fertőzések a beavatkozást követő időszakban gyakran előfordulnak (van Hoek és mtsai, 2012), azonban a megfelelő antibiotikum, antivirális, illetve antifungális profilaxis csökkentheti a fertőzéses esetek számát. A rejekciós kockázat csökkentése miatt javasolt magas takrolimusz dózis kimutathatóan növeli a fertőzések kockázatát (Nacif és mtsai, 2014). Fertőzések előfordulásában nem mutatkozott szignifikáns különbség a két betegcsoport között, mely alapján feltételezhető, hogy egyéb immunszuppresszióhoz nem köthető tényezők, mint az Intenzív Osztályon eltöltött idő, vagy a gépi lélegeztetés hossza is szerepet játszhat előfordulásában (Damaskos és mtsai, 2019).

A donor CYP3A-státuszához igazított takrolimusz-terápia alkalmazásának előnyei számos ponton kimutathatóak: gyors terápiás takrolimusz vérszint beállítás, illetve a nem-kívánt hatások (akut vesekárosodás, akut kilökődés) előfordulásának szignifikáns csökkenése, amely a késői szövődmények kialakulását is csökkentheti. A CYP3A-státusz ismerete a kezelés kezdetekor segít az optimális dózis meghatározásában, segít lecsökkenteni a dózis módosítások számát, semmiképp sem helyettesíti a rendszeres vérszint monitorizálását. A donor szerv CYP3A-státuszához igazított takrolimusz terápia klinikai gyakorlatba történő beépítése javíthatja a beültetett májgraft és a beteg túlélését.

6. Következtetések

A májtranszplantációt követően a betegek immunszuppresszív terápiája fontos a májgraft és a recipiens védelmében. Az alkalmazott szűk terápiás indexű kalcineurin inhibitorok, mint bázis szerek meghatározzák a kezelést, közülük mára a takrolimusz került előtérbe a ciklosporinnal szemben.

A kalcineurin inhibitorok vérkoncentrációját nagyban befolyásolja a transzplantált májgraft gyógyszer-lebontó képessége, mely a korai posztoperatív időszakban rendkívül fontos, hiszen a beültetett szerv ilyenkor a legsérülékenyebb. A májgraft CYP3A-státuszának (*CYP3A5* genotípus és CYP3A4 expresszió) meghatározása segíti a kalcineurin inhibitor metabolizáló képesség megállapítását és a kezdeti ciklosporin, illetve takrolimusz terápia optimalizálását, azonban nem helyettesíti a folyamatos vérszint monitorozást.

A terápiás vérszint gyors kialakulása csökkenti a toxikus nem-kívánt hatások (pl. vesekárosodás, fertőzés, graftkárosodás) kialakulásának kockázatát és növeli a májgraft és a beteg túlélését.

Eredményeink alapján az alábbi új megállapításokat tesszük:

- A beültetett májgraft CYP3A-státusza (donor *CYP3A5* genotípus és CYP3A4 expresszió) szignifikánsan befolyásolta a recipiensek kalcineurin inhibitor (ciklosporin, takrolimusz) vérszintjét.

- A donor máj CYP3A-státusza előre jelezte a terápiás vérszinthez szükséges kalcineurin inhibitor dózis-szükségletet májtranszplantált recipienseknél a korai posztoperatív időszakban, amely alapján javaslatokat fogalmaztunk meg a kezdeti ciklosporin, illetve takrolimusz dozírozással kapcsolatban (ciklosporin: *CYP3A5*1* 13 mg/kg; *CYP3A5*3/*3* magas CYP3A4 expresszió 13 mg/kg; normál CYP3A4 expresszió 9 mg/kg; alacsony CYP3A4 expresszió 4 mg/kg; takrolimusz: *CYP3A5*1* 0,2 mg/kg; *CYP3A5*3/*3* magas CYP3A4 expresszió 0,2 mg/kg; normál CYP3A4 expresszió 0,1 mg/kg; alacsony CYP3A4 expresszió 0,05 mg/kg).

- Májtranszplantált betegeknél a donor máj CYP3A-státusza alapján kialakított személyre szabott takrolimusz kezelés segítségével gyorsabban érhető el a stabil terápiás gyógyszerszint, mint a hagyományos klinikai gyakorlat alapján történő gyógyszerbeállítással (testtömeg alapján számított kezdő dózis, majd a takrolimusz vérszint alapján módosított dozírozás).

- A donor CYP3A-státuszához igazított takrolimusz terápia szignifikánsan csökkentette a terápiás takrolimusz vérszint-tartománytól jelentősen eltérő koncentrációk, valamint a takrolimusz okozta nem-kívánt hatások (vesekárosodás, májgraft kilökődés) kialakulásának kockázatát, mely jelentősen javítja a betegek életminőségét és túlélési esélyeit.

7. Összefoglalás

A májtranszplantációt követően bevezetett immunszuppresszív terápia bázis szerei a szűk terápiás tartományú kalcineurin inhibitorok, melyek adagolása a klinikai gyakorlatban kezdetben a testtömeg, majd a vérszint alapján történik. Túladagolásuk esetén vesekárosodás, fertőzések léphetnek fel, aluldozírozásuk pedig a beültetett májgraft kilökődését okozhatja. Metabolizmusukban a CYP3A4 és CYP3A5 enzimek vesznek részt, melyek genetikai polimorfizmusa magyarázatot adhat a betegeknél tapasztalható eltérő gyógyszer metabolizmusra, de figyelembe kell venni a CYP3A expresszió mértékét is, mely különböző behatásokra változhat. Temesvári és munkatársai korábban megállapították, hogy a máj CYP3A4 enzim aktivitásai és a fehérvérsejtekben mérhető CYP3A4 mRNS expresszió között szoros korreláció van, mely a beteg gyógyszer-lebontó képességének becslésére alapul szolgálhat, így a vizsgálatokat perifériás vérmintából el lehet végezni. A donor CYP3A-státusza (*CYP3A5* genotípus és CYP3A4 mRNS expresszió) előre jelezheti a recipiens aktuális kalcineurin inhibitor szükségletét.

Kutatómunkánk során 131 májtranszplantáción átesett betegnél becsültük a beültetett májgraft CYP3A-státuszát real-time PCR technikával a donor perifériás véréből izolált fehérvérsejtek felhasználásával. Összefüggést állapítottunk meg a recipiensek kalcineurin inhibitor vérszintje és a donor máj CYP3A-státusza között, mely alapján ajánlásokat fogalmaztunk meg a kezdeti gyógyszer beállításhoz. A *CYP3A5*3/*3* genotípusú, normál CYP3A4 expressziójú májgrafttal transzplantált betegekben megfelelő a hagyományos testtömeg alapján alkalmazott kezdeti gyógyszerdozírozás (9,1 mg/kg ciklosporin és 0,1 mg/kg takrolimusz), azonban alacsony CYP3A4 expressziójú graft beültetése esetén feleannyi napi dózis ajánlható. Ha a donornál magas CYP3A4 expresszió mutatkozik vagy legalább egy *CYP3A5*1* allélt hordoz, 30 %-kal magasabb dózis ajánlott ciklosporin és kétszerannyi takrolimusz esetén. A donor CYP3A-státuszához igazított és a klasszikus takrolimusz terápia összehasonlítása alapján megállapítottuk, hogy a CYP3A-státusz alapján beállított takrolimusz kezelés előnyösebb, mert az optimális terápiás vérszint szignifikánsan rövidebb idő alatt érhető el és a takrolimusz nem megfelelő dozírozásából fakadó nem-kívánt hatások (vesekárosodás, májgraft akut kilökődése) előfordulása is szignifikánsan csökken. Összességében a donor CYP3A-státusza alapján kialakított kalcineurin inhibitor terápia javíthatja a beültetett graft és a recipiens túlélését.

8. Summary

The mainstay of immunsuppressive therapy in liver transplantation is calcineurin inhibitors, which have a narrow therapeutic index. The clinical strategy for treatment is initially based on dosage adjusted to bodyweight, and then blood concentration. Overdosing leads to nephrotoxicity and risk of infections, underdosing can lead to rejection of liver graft. Calcineurin inhibitors are substrates of CYP3A4 and CYP3A5 enzymes. Although the genetic polymorphisms of these enzymes may explain the interindividual variations in drug metabolism, the CYP3A4 expression must also be considered, which may change for different effects. Temesvári and her colleagues have previously found that hepatic CYP3A mRNA activities correlate with CYP3A4 expression in peripheral leukocytes. This correlation is the basis for estimation of patient's drug-metabolizing capacity, thus the peripherial blood is an appropriate tissue for the test. Donor's CYP3A-status (*CYP3A5* genotype and CYP3A4 expression) provides prognostic information regarding the patient's calcineurin inhibitor requirement.

Adult patients (n=131) who underwent liver transplantation were enrolled in our study. The estimation of CYP3A-status of the liver grafts carried out by real-time PCR from donor's leukocytes isolated from peripheral blood samples. An association between calcineurin inhibitor blood concentrations in recipients and CYP3A-status of liver graft was demonstrated, and recommendations for initial drug therapy were proposed. The patients transplanted with normal CYP3A4 expresser grafts carrying *CYP3A5*3/*3* required calcineurin inhibitor maintenance doses more or less similar to the conventional bodyweight-controlled starting doses (9.1 mg kg^{-1} of ciclosporin and 0.1 mg kg^{-1} of tacrolimus), while those transplanted with low CYP3A4 expresser graft required substantial reduction by about 50%. In case of high CYP3A4 expresser grafts or *CYP3A5*1* carriers, the recipients required an increase by about 30% for ciclosporin and 100% for tacrolimus. Comparing CYP3A-status guided tacrolimus therapy and conventional therapy, the CYP3A-status guided strategy is more beneficial, because the optimal therapeutic blood concentration can be achieved significantly faster, and the risk of undesired effects could be reduced (nephrotoxicity and acute rejection of transplanted liver graft). In conclusion, the CYP3A-status guided calcineurin inhibitor therapy can ameliorate survival of both the liver graft and the patient.

9. Irodalomjegyzék

Abbouid H, MacPhee IA. (2012) Individualized immunsuppression in transplant patients: potential role of pharmacogenetics. Pharmgenomics Pers Med, 5: 63-72.

Abdel-Kahaar E, Winter S, Tremmel R, Schaeffeler E, Olbricht CJ, Wieland E, Schwab M, Shipkova M, Jaeger SU. (2019) The impact of *CYP3A4*22* on tacrolimus pharmacokinetics and outcome in clinical practice at a single kidney transplant center. Front Genet, 10: 871.

Abradelo M, Sanabria R, Caso O, Álvaro E, Moreno E, Jiménez C. (2012) Split liver transplantation: where? when? how? Transplant Proc, 44: 1513-1516.

Allegri L, Capriglione F, Maggisano V, Damante G, Baldan F. (2021) Effects of dihydrotanshinone I on proliferation and invasiveness of paclitaxel-resistant anaplastic thyroid cancer cells. Int J Mol Sci, 22: 8083.

Amirimani B, Ning B, Deitz AC, Weber BL, Kadlubar FF, Rebbeck TR. (2003) Increased transcriptional activity of the CYP3A4*1B promoter variant. Environ Mol Mutagen, 42: 299-305.

Anglicheau D, Legendre C, Beaune P, Thervet E. (2007) Cytochrome P450 3A polymorphisms and immunosuppressive drugs: an update. Pharmacogenomics, 8: 835-849.

Azzi JR, Sayegh MH, Mallat SG. (2013) Calcineurin inhibitors: 40 years later, can't live without. J Immunol, 191: 5785-5791.

Badawy A, Kaido T, Uemoto S. (2020) Current status of liver transplantation using marginal grafts. J Invest Surg, 33: 553-564.

Barbarino JM, Staatz CE, Venkataramanan R, Klein TE, Altman RB. (2013) PharmGKB summary: cyclosporine and tacrolimus pathways. Pharmacogenet Genomics, 23: 563-585.

Barri YM, Sanchez EQ, Jennings LW, Melton LB, Hays S, Levy MF, Klintmalm GB. (2009) Acute kidney injury following liver transplantation: definition and outcome. Liver Transpl, 15: 475-483.

Barshes NR, Horwitz IB, Franzini L, Vierling JM, Goss JA. (2007) Waitlist mortality decreases with increased use of extended criteria donor liver grafts at adult liver transplant centers. Am J Transplant, 7: 1265-1270.

Bentata Y. (2020) Tacrolimus: 20 years of use in adult kidney transplantation. What we should know about its nephrotoxicity. Artif Organs, 44: 140-152.

Berger FA, Mulder MB, Ten Bosch-Dijksman W, van Schaik RHN, Coenen S, de Winter BCM. (2019) Differences in CYP3A genotypes of a liver transplant recipient and the donor liver graft and adjustment of tacrolimus dose. Br J Clin Pharmacol, 85: 1852-1854.

Bezerra LS, Santos-Veloso MAO, Oliveira SBL, Dias AAP, Carvalho-Filho ÂT, Gonzaga-Neto PP, Melo PSV. (2020) Tacrolimus therapeutic efficacy in post-liver transplant patients with Cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) genetic polymorphisms. Rev Col Bras Cir, 47: e20202384.

Bihari L, Piros L, Szabó J, Gerlei Zs, Sandil A, Rózsa B, Mándli T, Fazakas J, Doros A, Kóbori L. (2021) Májátültetés. Cent Eur j gastroenterol hepatol, 7: 43-46.

Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, Peterson JF, Stein CM, Sadee W, Wang D, Vinks AA, He Y, Swen JJ, Leeder JS, van Schaik R, Thummel KE, Klein TE, Caudle KE, MacPhee IA. (2015) Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 genotype and tacrolimus dosing. Clin Pharmacol Ther, 98: 19-24.

Bolondi G, Mocchegiani F, Montalti R, Nicolini D, Vivarelli M, De Pietri L. (2016) Predictive factors of short term outcome after liver transplantation: a review. World J Gastroenterol, 22: 5936-5949.

Bram RJ, Hung DT, Martin PK, Schreiber SL, Crabtree GR. (1993) Identification of the immunophilins capable of mediating inhibition of signal transduction by cyclosporin A and FK506: roles of calcineurin binding and cellular location. Mol Cell Biol, (8): 4760-4769.

Brockmüller J, Kirchheiner J, Meisel C, Roots I. (2000) Pharmacogenetic diagnostics of cytochrome P450 polymorphisms in clinical drug development and in drug treatment. Pharmacogenomics, 1: 125-151.

Bruckmueller H, Werk AN, Renders L, Feldkamp T, Tepel M, Borst C, Caliebe A, Kunzendorf U, Cascorbi I. (2015) Which genetic determinants should be considered for tacrolimus dose optimization in kidney transplantation? A combined analysis of genes affecting the CYP3A locus. Ther Drug Monit, 37: 288-295.

Brunet M, van Gelder T, Åsberg A, Haufroid V, Hesselink DA, Langman L, Lemaitre F, Marquet P, Seger C, Shipkova M, Vinks A, Wallemacq P, Wieland E, Woillard JB, Barten MJ, Budde K, Colom H, Dieterlen MT, Elens L, Johnson-Davis KL, Kunicki PK, MacPhee I, Masuda S, Mathew BS, Millán O, Mizuno T, Moes DAR, Monchaud C, Noceti O, Pawinski T, Picard N, van Schaik R, Sommerer C, Vethe NT, de Winter B, Christians U, Bergan S. (2019) Therapeutic drug monitoring of tacrolimus-personalized therapy: second consensus report. Ther Drug Monit, 41: 261-307.

Brunton L, Lazo J, Parker K. (2005) Goodman et Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics. McGraw Hill Professional, New York, 1-3. fejezet.

Buendia JA, Bramuglia G, Staatz CE. (2014) Effects of combinational CYP3A5 6986A>G polymorphism in graft liver and native intestine on the pharmacokinetics of tacrolimus in liver transplant patients: a meta-analysis. Ther Drug Monit, 36: 442-447.

Busuttil RW, Holt CD. (1998) Tacrolimus is superior to cyclosporine in liver transplantation. Transplant Proc, 30: 2174-2178.

Choudhary NS, Saigal S, Bansal RK, Saraf N, Gautam D, Soin AS. (2017) Acute and chronic rejection after liver transplantation: what a clinician needs to know. J Clin Exp Hepatol, 7: 358-366.

Craig EV, Heller MT. (2021) Complications of liver transplant. Abdom Radiol (NY), 46: 43-67.

Csikány N, Kiss Á, Déri M, Fekete F, Minus A, Tóth K, Temesvári M, Sárváry E, Bihari L, Gerlei Zs, Kóbori L, Monostory K. (2021) Clinical significance of personalized tacrolimus dosing by adjusting to donor CYP3A-status in liver transplant recipients. Br J Clin Pharmacol, 87: 1790-1800.

Dai Y, Hebert MF, Isoherranen N, Davis CL, Marsh C, Shen DD, Thummel KE. (2006) Effect of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus metabolic clearance in vitro. Drug Metab Dispos, 34: 836-847.

Daly AK. (2006) Significance of the minor cytochrome P450 3A isoforms. Clin Pharmacokinet, 45: 13-31.

Damaskos C, Kaskantamis A, Garmpis N, Dimitroulis D, Mantas D, Garmpi A, Sakellariou S, Angelou A, Syllaios A, Kostakis A, Lampadariou E, Floros I, Revenas K, Antoniou EA. (2019) Intensive care unit outcomes following orthotopic liver transplantation: single-center experience and review of the literature. G Chir, 40: 463-480.

Davis EG, Florman SS. Primary non-function. In: Ahmad J, Friedman SL, Dancygier H, eds. Mount Sinai Expert Guides: Hepatology. John Wiley & Sons, New York, 2014: 462-468.

Déri M, Szakál-Tóth Z, Fekete F, Mangó K, Incze E, Minus A, Merkely B, Sax B, Monostory K. (2021) CYP3A-status is associated with blood concentration and dose-requirement of tacrolimus in heart transplant recipients. Sci Rep, 11: 21389.

Di Maira T, Little EC, Berenguer M. (2020) Immunosuppression in liver transplant. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 46-47: 101681.

Döring B, Petzinger E. (2014) Phase 0 and phase III transport in various organs: combined concept of phases in xenobiotic transport and metabolism. Drug Metab Rev, 46: 261-282.

Elens L, Bouamar R, Shuker N, Hesselink DA, van Gelder T, van Schaik RH. (2014) Clinical implementation of pharmacogenetics in kidney transplantation: calcineurin inhibitors in the starting blocks. Br J Clin Pharmacol, 77: 715-728.

Elens L, Haufroid V. (2017) Genotype-based tacrolimus dosing guidelines: with or without CYP3A4*22? Pharmacogenomics, 18: 1473-1480.

Elens L, Hesselink DA, van Schaik RH, van Gelder T. (2012) Pharmacogenetics in kidney transplantation: recent updates and potential clinical applications. Mol Diagn Ther, 16: 331-345.

Elens L, van Gelder T, Hesselink DA, Haufroid V, van Schaik RH. (2013) CYP3A4*22: promising newly identified CYP3A4 variant allele for personalizing pharmacotherapy. Pharmacogenomics, 14: 47-62.

Elens L, van Schaik RH, Panin N, de Meyer M, Wallemacq P, Lison D, Mourad M, Haufroid V. (2011) Effect of a new functional CYP3A4 polymorphism on calcineurin inhibitors' dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. Pharmacogenomics, 12: 1383-1396.

Farouk SS, Rein JL. (2020) The many faces of calcineurin inhibitor toxicity - What the FK? Adv Chronic Kidney Dis, 27: 56-66.

Feng S, Goodrich NP, Bragg-Gresham JL, Dykstra DM, Punch JD, DebRoy MA, Greenstein SM, Merion RM. (2006) Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. Am J Transplant, 6: 783-790.

Finnström N, Thörn M, Lööf L, Rane A. (2001) Independent patterns of cytochrome P450 gene expression in liver and blood in patients with suspected liver disease. Eur J Clin Pharmacol, 57: 403-409.

Ford NF. (2016) The metabolism of clopidogrel: CYP2C19 is a minor pathway. J Clin Pharmacol, 56: 1474-1483.

Fukudo M, Yano I, Yoshimura A, Masuda S, Uesugi M, Hosohata K, Katsura T, Ogura Y, Oike F, Takada Y, Uemoto S, Inui K. (2008) Impact of MDR1 and CYP3A5 on the oral clearance of tacrolimus and tacrolimus-related renal dysfunction in adult living-donor liver transplant patients. Pharmacogenet Genomics, 18: 413.

Garcia-Martin E, Martinez C, Pizarro RM, García-Gamito FJ, Gullsten H, Raunio H, Agúndez JA. (2002) CYP3A4 variant alleles in white individuals with low CYP3A4 enzyme activity. Clin Pharmacol Ther, 71: 196-204.

Ghinolfi D, Melandro F, Torri F, Martinelli C, Cappello V, Babboni S, Silvestrini B, De Simone P, Basta G, Del Turco S. (2021) Extended criteria grafts and emerging therapeutics strategy in liver transplantation. The unstable balance between damage and repair. Transplant Rev (Orlando), 35: 100639.

Gijsen VM, Madadi P, Dube MP, Hesselink DA, Koren G, de Wildt SN. (2012) Tacrolimus-induced nephrotoxicity and genetic variability: a review. Ann Transplant, 17: 111-121.

Gijsen VM, van Schaik RH, Elens L, Soldin OP, Soldin SJ, Koren G, de Wildt SN. (2013) CYP3A4*22 and CYP3A combined genotypes both correlate with tacrolimus disposition in pediatric heart transplant recipients. Pharmacogenomics, 14: 1027-1036.

Grant DM. (1991) Detoxification pathways int the liver. J Inherit Metab Dis, 14: 421-430.

Haddad EM, McAlister VC, Renouf E, Malthaner R, Kjaer MS, Gluud LL. (2006) Cyclosporin versus tacrolimus for liver transplanted patients. Cochrane Database Syst Rev, 18: CD005161.

Hamawy MM. (2003) Molecular actions of calcineurin inhibitors. Drug News Perspect, 16: 277-282.

Hesselink DA, Bouamar R, Elens L, van Schaik RH, van Gelder T. (2014) The role of pharmacogenetics in the disposition of and response to tacrolimus in solid organ transplantation. Clin Pharmacokinet, 53: 123-139.

Hesselink DA, van Schaik RH, van der Heiden IP, van der Werf M, Gregoor PJ, Lindemans J, Weimar W, van Gelder T. (2003) Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. Clin Pharmacol Ther, 74: 245-254.

Hicks JK, Swen JJ, Gaedigk A. (2014) Challenges in CYP2D6 phenotype assignment from genotype data: a critical assessment and call for standardization. Curr. Drug Metab, 15: 218-232.

van Hoek B, de Rooij BJ, Verspaget HW. (2012) Risk factors for infection after liver transplantation. Best pract Res Clin Gastroenterol, 26: 61-72.

Honkakoski P, Negishi M. (2000) Regulation of cytochrome P450 (CYP) genes by nuclear receptors. Biochem J, 347: 321-337.

Jain A, Pokharna R, Eghtesad B, Potdar S, Kashyap R, Kingery L, Fung J. (2002) Steroid withdrawal under tacrolimus for primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis and autoimmune hepatitis after liver transplantation and long-term survival. Transplant Proc, 34: 1524-1525.

Jakoby WB, Arias IM, Boyer JL, Fausto N, Schachter DA, Shafritz DA. Detoxication: Conjugation and hydrolysis, In: Arias IM (ed), The liver: Biology and Pathobiology. Raven Press, New York, 1994: 429-442.

Ji E, Choi L, Suh KS, Cho JY, Han N, Oh JM. (2012) Combinational effect of intestinal and hepatic CYP3A5 genotypes on tacrolimus pharmacokinetics in recipients of living donor liver transplantation. Transplantation, 94: 866-872.

Kabanova S, Kleinbongard P, Volkmer J, Andrée B, Kelm M, Jax TW. (2009) Gene expression analysis of human red blood cells. Int J Med Sci, 6: 156-159.

Kaltenborn A, Schrem H. (2013) Mycophenolate mofetil in liver transplantation: A review. Ann Transplant, 18: 685-696.

Karpe KM, Talaulikar GS, Walters GD. (2017) Calcineurin inhibitor withdrawal or tapering for kidney transplant recipients. Cochrane Database Syst Rev, 7: CD006750.

Kato H, Usui M, Muraki Y, Tanemura A, Murata Y, Kuriyama N, Azumi Y, Kishiwada M, Mizuno S, Sakurai H, Okuda M, Nakatani K, Isaji S. (2016) Long-Term Influence of CYP3A5 Gene Polymorphism on Pharmacokinetics of Tacrolimus and Patient Outcome After Living Donor Liver Transplantation. Transplant Proc, 48: 1087-1094.

Kiss Á, Menus Á, Tóth K, Déri M, Sirok D, Gabri E, Belic A, Csukly G, Bitter I, Monostory K. (2020) Phenoconversion of CYP2D6 by inhibitors modifies aripiprazole exposure. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 270: 71-82.

Kiss Á, Tóth K, Juhász C, Temesvári M, Paulik J, Hirka G, Monostory K. (2018) Is CYP2D6 phenotype predictable from CYP2D6 genotype? Microchemical Journal, 136: 209-214.

Kóbori L, Görög D, Fehérvári I, Nemes B, Fazakas J, Sárváry E, Varga M, Gerlei Zs, Doros A, Monostory K, Perner F. (2013) A hazai májátültetési program fejlődése. Orv Hetil, 154: 858-862.

Kóbori L, Görög D, Fehérvári I, Nemes B, Piros L, Fazakas J, Tóth Sz, Doros A, Gerlei Zs, Sárváry E, Varga M, Mocsári D, Langer R, Monostory K. (2012) Fel a Himalájára! Gondolatok a szervátültetett emberek életéről. Budapest (Szakmai konferencia) (https://adoc.pub/kiadja-magyar-szervatltetettek-szvetsege-felels-kiado-szekel.html)

Kóbori L, Kőhalmy K, Porrogi P, Sárváry E, Gerlei Zs, Fazakas J, Nagy P, Járay J, Monostory K. (2008) Drug-induced liver graft toxicity caused by cytochrome P450 poor metabolism. Br J Clin Pharmacol, 65: 428-436.

Krawczyk M, Grąt M, Adam R, Polak WG, Klempnauer J, Pinna A, Di Benedetto F, Filipponi F, Senninger N, Foss A, Rufián-Peña S, Bennet W, Pratschke J, Paul A, Settmacher U, Rossi G, Salizzoni M, Fernandez-Selles C, Martínez de Rituerto ST, Gómez-Bravo MA, Pirenne J, Detry O, Majno PE, Nemec P, Bechstein WO, Bartels M, Nadalin S, Pruvot FR, Mirza DF, Lupo L, Colledan M, Tisone G, Ringers J, Daniel J, Charco Torra R, Moreno González E, Bañares Cañizares R, Cuervas-Mons Martinez V, San Juan Rodríguez F, Yilmaz S, Remiszewski P European Liver and Intestine Transplant Association (ELITA). (2016) Liver Transplantation for Hepatic Trauma: A Study From the European Liver Transplant Registry. Transplantation. 100: 2372-2381.

Kurose K, Sugiyama E, Saito Y. (2012) Population differences in major functional polymorphisms of pharmacokinetics/pharmacodynamics-related genes in Eastern Asians and Europeans: implications in the clinical trials for novel drug development. Drug Metab Pharmacokinet, 27: 9-54.

Kurzawski M, Droździk M. (2013) Pharmacogenetics in solid organ transplantation: genes involved in mechanism of action and pharmacokinetics of immunosuppressive drugs. Pharmacogenomics, 14: 1099-1118.

Küss R, Bourget P. (1992) An illustrated history of organ transplantation. 8th ed. Sandoz, 8.

Langer R. (2018) The first five years of Hungary's Eurotransplant membership. Orv Hetil, 159: 1695-1699.

Liu J, Ouyang Y, Chen D, Yao B, Lin D, Li Z, Zang Y, Liu H, Fu X. (2018) Donor and recipient P450 gene polymorphisms influence individual pharmacological effects of tacrolimus in Chinese liver transplantation patients. Int Immunopharmacol, 57: 18-24.

Lloberas N, Elens L, Llaudó I, Padullés A, van Gelder T, Hesselink DA, Colom H, Andreu F, Torras J, Bestard O, Cruzado JM, Gil-Vernet S, van Schaik R, Grinyó JM. (2017) The combination of CYP3A4*22 and CYP3A5*3 single-nucleotide polymorphisms determines tacrolimus dose requirement after kidney transplantation. Pharmacogenet Genomics, 27: 313-322.

Lolodi O, Wang YM, Wright WC, Chen T. (2017) Differential regulation of CYP3A4 and CYP3A5 and its implication in drug discovery. Curr Drug Metab, 18: 1095-1105.

Lynch T, Price A. (2008) A citokróm P450 metabolizmus összefüggése a gyógyszerek terápiás hatásával, kölcsönhatásaival és mellékhatásaival. Orvostovábbképző Szle, 16: 47-53.

Manikandan P, Nagini S. (2018) Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: A Review. Curr Drug Targets, 19: 38-54.

Masuda S, Inui K. (2006) An up-date review on individualized dosage adjustment of calcineurin inhibitors in organ transplant patients. Pharmacol Ther, 112: 184-198.

Matsunami H, Shimizu Y, Shimizu A, Horita K, Yamakita N, Ikeda T. (2000) Management of post liver transplantation complications. Rinsho Byori, 48: 993-1005.

Moini M, Schilsky ML, Tichy EM. (2015) Review on immunosuppression in liver transplantation. World J Hepatol, 7: 1355-1368.

Monostory K. (2018) Metabolic drug interactions with immunosuppressants. In: Tsoulfas G (ed), Organ Donation and Transplantation - Current Status and Future Challenges. IntechOpen, Rijeka, 2018: 409-440.

Monostory K, Pascussi JM. (2008) Regulation of drug-metabolizing human cytochrome P450s, Acta Chimica Slovenica, 55: 20-37.

Monostory K, Tóth K, Kiss Á, Háfra E, Csikány N, Paulik J, Kóbori L. (2015) Personalizing initial calcineurin inhibitor dosing by adjusting to donor CYP3A-status in liver transplant patients. Br J Clin Pharmacol, 80: 1429-1437.

Mulder TAM, van Eerden RAG, With M, Elens L, Hesselink DA, Matic M, Bins, S, Mathijssen RHJ, van Schaik RHN. (2021) *CYP3A4 * 22* genotyping in clinical practice: Ready for implementation? Front Genet, 12: 711943.

Muraki Y, Usui M, Isaji S, Mizuno S, Nakatani K, Yamada T, Iwamoto T, Uemoto S, Nobori T, Okuda M. (2011) Impact of CYP3A5 genotype of recipients as well as donors on the tacrolimus pharmacokinetics and infectious complications after living-donor liver transplantation for Japanese adult recipients. Ann Transplant, 16: 55-62.

Nacif LS, David Al, Pinheiro RS, Diniz MA, Andraus W, Cruz RJ Jr, D'Albuquerque LA. (2014) An analysis of tacrolimus-related complications in the first 30 days after liver transplantation. Clinics (Sao Paulo), 69: 745-749.

Naggie S. (2019) Treating HCV infection: it doesn't get much better than this. Top Antivir Med, 26: 104-108.

Nair SS, Sarasamma S, Gracious N, George J, Anish TS, Radhakrishnan R. (2015) Polymorphism of the CYP3A5 gene and its effect on tacrolimus blood level. Exp Clin Transplant, Suppl 1: 197-200.

Nakatani K. (2013) [Personalized medicine in transplantation therapy]. Rinsho Byori, 61: 428-433.

Nankivell BJ, P'Ng CH, O'Connell PJ, Chapman JR. (2016) Calcineurin inhibitor nephrotoxicity through the lens of longitudinal histology: comparison of cyclosporine and tacrolimus eras. Transplantation, 100: 1723-1731.

Nebert DW, Russell DW. (2002) Clinical importance of the cytochromes P450. Lancet, 360: 1155-1162.

Nelson DR. (2006) Cytochrome P450 nomenclature, 2004. Methods Mol Biol, 320: 1-10.

Nemes B, Kóbori L, Fehérvári I, Fazakas J, Gerlei Zs, Ther G, Görög D, Perner F, Doros A, Sárváry E, Járay J. (2005) Hagyományos „crossclamp" és „piggyback" technikával végzett májátültetések eredményeinek összehasonlítása. Magy Seb, 58: 155-161.

Nemes B, Szederkényi E, Nagy KK, Hartyánszky I, Ablonczy L, Vámos FR, Mihály S, Máthé Z. (2019) A summary of transplantation activity in Hungary. Transplant Proc, 51: 1202-1208.

Ojo AO. (2007) Renal disease in recipients of nonrenal solid organ transplantation. Semin Nephrol, 27: 498-507.

Okubo M, Murayama N, Shimizu M, Shimada T, Guengerich FP, Yamazaki H. (2013) CYP3A4 intron 6 C > T polymorphism (CYP3A4*22) is associated with reduced CYP3A4 protein level and function in human liver microsomes. J Toxicol Sci, 38: 349-354.

Olivo R, Guarrera JV, Pyrsopoulos NT. (2018) Liver transplantation for acute liver failure. Clin Liver Dis, 22: 409-417.

Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J, Shaked A, Christie JD. (2010) Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. Liver Transpl, 16: 943-949.

Omura T, Sato R. (1964) The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. J Biol Chem, 239: 2379-2385.

Ormonde DG, de Boer WB, Kierath A, Bell R, Shilkin KB, House AK, Jeffrey GP, Reed WD. (1999) Banff schema for grading liver allograft rejection: utility in clinical practice. Liver Transpl Surg, 5: 261-268.

Perner F, Megyaszai S, Járay J, Faller J, Szécsény A. (1974) Sikeres veseátültetés hazánkban. Orv Hetil, 115: 2067-2068.

Perumpail BJ, Khan MA, Yoo ER, Cholankeril G, Kim D, Ahmed A. (2017) Clinical epidemiology and disease burden of nonalcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol, 23: 8263-8276.

Pillai AA, Levitsky J. (2009) Overview of immunosuppression in liver transplantation. World J Gastroenterol, 15: 4225-4233.

Pokorny H, Gruenberger T, Soliman T, Rockenschaub S, Längle F, Steininger R. (2000) Organ survival after primary dysfunction of liver grafts in clinical orthotopic liver transplantation. Transpl Int, 13: S154-S157.

Provenzani A, Notarbartolo M, Labbozzetta M, Poma P, Biondi F, Sanguedolce R, Vizzini G, Palazzo U, Polidori P, Triolo F, Gridelli B, D'Alessandro N. (2009) The effect of CYP3A5 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on tacrolimus dose requirements in Caucasian liver transplant patients. Ann Transplant, 14: 23-31.

Provenzani A, Notarbartolo M, Labbozzetta M, Poma P, Vizzini G, Salis P, Caccamo C, Bertani T, Palazzo U, Polidori P, Gridelli B, D'Alessandro N. (2011) Influence of CYP3A5 and ABCB1 gene polymorphisms and other factors on tacrolimus dosing in Caucasian liver and kidney transplant patients. Int J Mol Med, 28: 1093-1102.

Provenzani A, Santeusanio A, Mathis E, Notarbartolo M, Labbozzetta M, Poma P, Provenzani A, Polidori C, Vizzini G, Polidori P, D'Alessandro N. (2013) Pharmacogenetic considerations for optimizing tacrolimus dosing in liver and kidney transplant patients. World J Gastroenterol, 19: 9156-9173.

Roberts AG. (2021) The structure and mechanism of drug transporters. Methods Mol Biol, 2342: 193-234.

Rodriguez-Antona C, Donato MT, Pareja E, Gomez-Lechon MJ, Castell JV. (2001) Cytochrome P-450 mRNA expression in human liver and its relationship with enzyme activity. Arch Biochem Biophys, 393: 308-315.

Rogers JF, Nafziger AN, Bertino JS, Jr. (2002) Pharmacogenetics affects dosing, efficacy, and toxicity of cytochrome P450-metabolized drugs. Am J Med, 113: 746-750.

Rong G, Jing L, Deng-Qing L, Hong-Shan Z, Shai-Hong Z, Xin-Min N. (2010) Influence of CYP3A5 and MDR1(ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese renal transplant recipients. Transplant Proc, 42: 3455-3458.

Saeki T, Ueda K, Tanigawara Y, Hori R, Komano T. (1993) Human P-glycoprotein transports cyclosporin A and FK506. J Biol Chem, 268: 6077-6080.

Sallustio BC, Noll BD, Hu R, Barratt DT, Tuke J, Coller JK, Russ GR, Somogyi AA. (2021) Tacrolimus dose, blood concentrations and acute nephrotoxicity, but not CYP3A5/ABCB1 genetics, are associated with allograft tacrolimus concentrations in renal transplant recipients. Br J Clin Pharmacol, 87: 3901-3909.

Salvadori M, Tsalouchos A. (2020) Pharmacogenetics of immunosuppressant drugs: A new aspect for individualized therapy. World J Transplant, 10: 90-103.

Shah RR, Smith RL. (2015) Addressing phenoconversion: the Achilles' heel of personalized medicine. Br J Clin Pharmacol, 79: 222-240.

Song JL, Li M, Yan LN, Yang JY, Yang J, Jiang L. (2018) Higher tacrolimus blood concentration is related to increased risk of post-transplantation diabetes mellitus after living donor liver transplantation. Int J Surg, 51: 17-23.

Srinivasan P, Vilca-Meloddez H, Muiesan P, Prachalias A, Heaton ND, Rela M. (1999) Liver transplantation with monosegments. Surgery, 126: 10-12.

Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. (2010) Effect of CYP3A and ABCB1 Single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. Clin Pharmacokinet, 49: 141-175.

Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. (2010) Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part II. Clin Pharmacokinet, 49: 207-221.

Staatz C, Taylor P, Tett S. (2001) Low tacrolimus concentrations and increased risk of early acute rejection in adult renal transplantation. Nephrol Dial Transplant, 16: 1905-1909.

Sumida A, Kinoshita K, Fukuda T, Matsuda H, Yamamoto I, Inaba T, Azuma J. (1999) Relationship between mRNA levels quantified by reverse transcription-competitive PCR and metabolic activity of CYP3A4 and CYP2E1 in human liver. Biochem Biophys Res Commun, 262: 499-503.

Tamási V, Monostory K. Citokróm P450 gének és azok variabilitása. A CYP1-4 enzimcsalád. In: Falus A (szerk,), Fejezetek a genomléptékű biológiából és orvostudományból. Semmelweis Kiadó és Multimédia Stúdió, Budapest, 2006: 43-58.

Tanaka K, Uemoto S, TokunagaY, Fujita S, Sano K, Nishizawa T, Sawada H, Shirahase I, Kim HJ, Yamaoka Y, Ozawa K. (1993) Surgical techniques and innovations in living related liver transplantation. Ann Surg, 217: 82-91.

Temesvári M. (2012) A személyre szabott gyógyszeres terápia kialakításához szükséges diagnosztikai eljárás kidolgozása. Doktori értekezés, Budapest

Temesvári M, Kóbori L, Paulik J, Sárváry E, Belic A, Monostory K. (2012) Estimation of drug-metabolizing capacity by cytochrome P450 genotyping and expression. J Pharmacol Exp Ther, 341: 294-305.

Thompson EE, Kuttab-Boulos H, Witonsky D, Yang L, Roe BA, Rienzo A Di. (2004) CYP3A variation and the evolution of salt-sensitivity variants. Am J Hum Genet, 75: 1059-1069.

Tron C, Lemaitre F, Verstuyft C, Petitcollin A, Verdier MC, Bellissant E. (2019) Pharmacogenetics of membrane transporters of tacrolimus in solid organ transplantation. Clin Pharmacokinet, 58: 593-613.

Tustumi F, Miranda Neto AA, Silveira Júnior S, Fernandes FA, Silva MBBE, Ernani L, Nacif LS, Coelho FF, Andraus W, Bernardo WM, Herman P, Carneiro-D'Albuquerque LA. (2021) Safety and effectiveness of mycophenolate mofetil associated with tacrolimus for liver transplantation immunosuppression: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Clinics (Sao Paulo), 76: e2597.

Uesugi M, Masuda S, Katsura T, Oike F, Takada Y, Inui K. (2006) Effect of intestinal CYP3A5 on postoperative tacrolimus trough levels in living-donor liver transplant recipients. Pharmacogenet Genomics, 16: 119-127.

Ullmann E. Tissue and Organ Transplantation. Ann Surg, 1914, 60: 195-219.

Venkataramanan R, Shaw LM, Sarkozi L, Mullins R, Pirsch J, MacFarlane G, Scheller D, Ersfeld D, Frick M, Fitzsimmons WE, Virji M, Jain A, Brayman KL, Shaked A. (2001) Clinical utility of monitoring tacrolimus blood concentrations in liver transplant patients. J Clin Pharmacol, 41: 542-551.

Vereczkey L, Jemnitz K, Monostory K, Veres Zs, Kóbori L. (2005) A gyógyszer-metabolizáló enzimrendszerek szerepe a gyógyszerek hatásában, illetve mellékhatásában. Orv Hetil, 146: 947-952.

Végső Gy. (2008) A szervátültetést követő rosszindulatú daganatok problémája, különös tekintettel a lymphomában szenvedő, transzplantált betegeknél választandó immunszuppresszív kezelésre. A mycophenolsav, mint lehetőség. Doktori értekezés, Budapest

Wang J. (2009) CYP3A polymorphisms and immunosuppressive drugs in solid-organ transplantation. Expert Rev Mol Diagn, 9: 383-390.

Wang D, Guo Y, Wrighton SA, Cooke GE, Sadee W. (2011) Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. Pharmacogenomics J, 11: 274-286.

Wei-lin W, Jing J, Shu-sen Z, Li-hua W, Ting-bo L, Song-feng Y, Sheng Y. (2006) Tacrolimus dose requirement in relation to donor and recipient ABCB1 and CYP3A5 gene polymorphisms in Chinese liver transplant patients. Liver Transpl, 12: 775-780.

Werk AN, Cascorbi I. (2014) Functional gene variants of CYP3A4. Clin Pharmacol Ther, 96: 340-348.

Wettstein D, Tóth SJ, Máthé Z. (2019) New challenges of liver transplantation. Orv Hetil, 160: 1127-1135.

Wiesner RH, Fung JJ. (2011) Present state of immunosuppressive therapy in liver transplant recipients. Liver Transpl, 17: S1-9.

Wilke RA, Musana AK, Weber WW. (2005) Cytochrome P450 gene-based drug prescribing and factors impacting translation into routine clinical practice. Per Med, 2: 213-224.

Wilkinson GR. (2005) Drug metabolism and variability among patients in drug response. N Engl J Med, 352: 2211-2221.

Wong TC, Lo CM, Fung JY. (2017) Emerging drugs for prevention of T-cell mediated rejection in liver and kidney transplantation. Expert Opin Emerg Drugs, 22: 123-136.

Yu M, Liu M, Zhang W, Ming Y. (2018) Pharmacokinetics, pharmacodynamics and pharmacogenetics of tacrolimus in kidney transplantation. Curr Drug Metab, 19: 513-522.

Yu S, Wu L, Jin J, Yan S, Jiang G, Xie H, Zheng S. (2006) Influence of CYP3A5 gene polymorphisms of donor rather than recipient to tacrolimus individual dose requirement in liver transplantation. Transplantation, 81: 46-51.

Zanger UM, Schwab M. (2013) Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. Pharmacol Ther, 138: 103-141.

Zhang M, Tajima S, Shigematsu T, Fu R, Noguchi H, Kaku K, Tsuchimoto A, Okabe Y, Egashira N, Masuda S. (2020) Donor *CYP3A5* Gene Polymorphism Alone Cannot Predict Tacrolimus Intrarenal Concentration in Renal Transplant Recipients. Int J Mol Sci, 21: 2976.

Zhang S, Pillai VC, Mada SR, Strom S, Venkataramanan R. (2012): Effect of voriconazole and other azole antifungal agents on CYP3A activity and metabolism of tacrolimus in human liver microsomes. Xenobiotica, 42: 409-416.

Zhang W, Fung J. (2017) Limitations of current liver transplant immunosuppressive regimens: renal considerations. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 16: 27-32.

Zhou SF. (2008) Drugs behave as substrates, inhibitors, and inducers of human cytochrome P450 3A4. Curr Drug Metab, 9: 310-322.

Zhou S, Yung Chan S, Cher Goh B, Chan E, Duan W, Huang M, McLeod HL. (2005) Mechanism-based inhibition of cytochrome P450 3A4 by therapeutic drugs. Clin Pharmacokinet, 44: 279-304.

Zhu M, Li Y, Xia Q, Wang S, Qiu Y, Che M, Dai H, Qian J, Ni Z, Axelsson J, Yan Y. (2010) Strong impact of acute kidney injury on survival after liver transplantation. Transplant Proc, 42: 3634-3638.

Ziegler DM, Boyer JL, Fausto N, Jakoby WB, Schachter DA, Shafritz DA. Detoxication: oxidation and reduction. In: Arias IM (ed), The liver: Biology and Pathobiology. Raven Press, New York, 1994: 415-427.

10. Saját publikációk jegyzéke

10.1 Disszertációhoz kötődő közlemények

Monostory K, Tóth K, Kiss Á, Háfra E, **Csikány N**, Paulik J, Kóbori L. (2015) Personalizing initial calcineurin inhibitor dosing by adjusting to donor CYP3A-status in liver transplant patients. Br J Clin Pharmacol, 80(6): 1429-1437.

doi: 10.1111/bcp.12747 **IF: 3,830**

Csikány N, Kiss Á, Déri M, Fekete F, Minus A, Tóth K, Temesvári M, Sárváry E, Bihari L, Gerlei Zs, Kóbori L, Monostory K. (2021) Clinical significance of personalized tacrolimus dosing by adjusting to donor CYP3A-status in liver transplant recipients. Br J Clin Pharmacol, 87(4): 1790-1800.

doi: 10.1111/bcp.14566 **IF: 4,340****

** Várható IF érték.

A disszertációhoz kapcsolódó publikációk összesített impakt faktora: **8,17**

11. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Dr. Monostory Katalinnak és Prof. Dr. Kóbori Lászlónak, hogy szakmai tudásukkal és tapasztalatukkal segítették doktorandusz éveimet, valamint támogattak eredményeink prezentálásában és publikálásában.

Köszönet illeti Dr. Temesvári Mannát, aki az adatok gyűjtésében és feldolgozásában nyújtott segítséget.

Köszönöm a Metabolikus Gyógyszer-kölcsönhatások Kutatócsoport volt és jelenlegi tagjainak, különösen Dr. Tóth Katalinnak és Déri Máténak, hogy segítettek tanácsaikkal, ötleteikkel, és biztosították a jó hangulatot a közös munkával eltöltött mindennapokban.

Köszönöm Dr. Varga Marinának, hogy elvállalta disszertációm bírálatát a munkahelyi vitához.

Köszönet illeti a tanulmányaimat támogató kollégákat, Prof. Dr. Szijártó Attilát, Prof. Dr. Rosivall Lászlót, Prof. Dr. Máthé Zoltánt, Dr. Kovács János Balázst, Dr. Sárváry Enikőt, Dr. Bihari Lászlót és Dr. Bodrogi Pétert.

Az irodalomkutatásban és a dolgozat szerkesztésében nyújtott segítségéért köszönettel tartozom Bérczy Ildikónak.

Külön köszönet illeti Mérey Máriát, Incze Olivér Antalnét, Marosfalvi Anitát, Besze Erzsébetet és Kovács Ildikót segítség nyújtásukért, lelki támogatásukért.

Köszönettel tartozom a Jahn Ferenc Dél-pesti Kórház, Sebészeti Osztályán dolgozó orvos és asszisztens kollégáimnak, akik végig türelmesek voltak hozzám.

Köszönettel tartozom családomnak, akik nagy megértéssel és türelemmel kísérték végig tanulmányaimat és támogattak.

Páromnak, Horváth Adriánnak, hogy folyamatosan támogatott, nyugodt hátteret biztosított tanulmányaimhoz és szeretett.

Édesapámnak, Csikány Lászlónak, hogy nem hagyott békén, folyamatosan biztatott, és hitt bennem.

Függelék

8. táblázat: A leggyakoribb CYP3A polimorfizmusok detektálásához alkalmazott oligonukleotidok szekvenciái

	Szekvencia 5'→3'	Cv (nM)	Ta (ºC)
CYP3A4*1B F	TCT GTA GGT GTG GCT TGT TG	300	62
CYP3A4*1B R	AAG GGT TCT GGG TTC TTA TCA G	300	
CYP3A4*1B W	HEX-TCG CCT CTC TCT TGC CCT TGT-BHQ1	200	
CYP3A4*1B M	FAM-TCG CCT CTC TCC TGC CCT TG-BHQ1	100	
CYP3A4*22 F	CAG AGG TAG GTC TAA TTC AGT TCA	400	62
CYP3A4*22 R	AGA TCA CCT TCT ATC ACA CTC C	400	
CYP3A4*22 W	FAM-ATC ACA CCC AGC GTA GGG C-BHQ1	200	
CYP3A4*22 M	HEX-ATC ACA CCC AGT GTA GGG CC-BHQ1	50	
CYP3A5*3 F	GAG AGT GGC ATA GGA GAT ACC	300	60,5
CYP3A5*3 R	TGT ACG ACA CAC AGC AAC C	300	
CYP3A5*3 W	FAM-TTT GTC TTT CAA TAT CTC TTC CCT GT-BHQ1	100	
CYP3A5*3 M	HEX-TTT GTC TTT CAG TAT CTC TTC CCT GT-BHQ1	200	
F: forward primer; R: reverz primer; W: vad próba; M: mutáns próba; Cv: végkoncentráció; Ta: primer bekötési hőmérséklet			