

A SZERVÁTÜLTETÉST KÖVETŐ ROSSZINDULATÚ DAGANATOK  
PROBLÉMÁJA, KÜLÖNÖS TEKINTETTEL A LYMPHOMÁBAN  
SZENVEDŐ, TRANSZPLANTÁLT BETEGEKNÉL VÁLASZTANDÓ  
IMMUNSZUNSZUPRESSZÍV KEZELÉSRE.  
A MYCOPHENOLSAV, MINT LEHETŐSÉG.

Doktori értekezés

**Dr. VÉGSŐ GYULA**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:	Dr. Kopper László egyetemi tanár, az orvostudományok doktora
Hivatalos Bírálók:	Dr. Reusz György egyetemi tanár, az orvostudományok doktora Dr. Polgár Csaba Főorvos, PhD
Szigorlati bizottság elnöke:	Dr. Faller József egyetemi tanár, az orvostudományok doktora
Szigorlati bizottság tagjai:	ifj. Dr. Sótonyi Péter egyetemi adjunktus, PhD Dr. Takácsi - Nagy Zoltán Főorvos, PhD

**Budapest  
2008**

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE</b>	<b>4</b>
<b>1 BEVEZETÉS</b>	<b>5</b>
<b>2 IRODALMI HÁTTÉR</b>	<b>8</b>
<b>2.1 Történeti bevezetés, visszatekintés</b>	<b>8</b>
2.1.1 Nemzetközi visszatekintés	8
2.1.2 Magyarországi visszatekintés	12
<b>2.2 A szervátültetést követő rosszindulatú daganatok</b>	<b>14</b>
2.2.1 A szervátültetést követő daganatok eredete	14
2.2.1.1 Donor eredetű daganatok.	14
2.2.1.2 Recipiens eredetű, „hozott” daganatok.	15
2.2.1.3 Recipiens eredetű, „de novo” daganatok	16
2.2.2 A szervátültetést követő „de novo” daganatok fajtái és gyakoriságuk	16
2.2.3 A szervátültetést követő „de novo” daganatok etiológiája, patogenezise	18
<b>2.3 Az immunuszuppresszív vegyületek</b>	<b>20</b>
2.3.1 Az immunuszuppresszív vegyületek hatásmechanizmusa	20
2.3.1.1 Kortikoszteroidok (prednisolone, prednisone, methyl-prednisolone)	20
2.3.1.2 Calcineurin gátló szerek/inhibitorok (cyclosporine, tacrolimus)	21
2.3.1.3 Lymphocyta proliferációt gátló szerek	21
2.3.1.3.1 Azathioprine	21
2.3.1.3.2 Mycophenolic acid / mycophenolsav	21
2.3.1.3.3 Rapamycin (sirolimus, everolimus)	22
2.3.1.4 Mono- és poliklonális lymphocyta ellenes ellenanyagok	22
2.3.1.4.1 Monoklonális ellenanyagok	23
2.3.1.4.2 Poliklonális ellenanyagok	23
2.3.2 Az immunuszuppresszív vegyületek szerepe a szervátültetést követő daganatok kialakulásában	24
<b>2.4 A szervátültetést követő gyakoribb „de novo” daganatok jellemzése</b>	<b>25</b>
2.4.1 Bőrdaganatok	25
2.4.2 Kaposi sarcoma	26
2.4.3 Egyéb solid daganatok	27
2.4.4 Posttransplant lymphoproliferative disorders (PTLD)	27
<b>2.5 A szervátültetést követő rosszindulatú daganatok kezelése</b>	<b>31</b>
<b>2.6 A szervátültetést követő rosszindulatú daganatok jelentősége</b>	<b>32</b>
<b>3 CÉLKITŰZÉS</b>	<b>35</b>
<b>3.1 A budapesti transzplantációs munkacsoport által 1973. és 2007. között végzett veseátültetések után észlelt rosszindulatú daganatok adatainak elemzése</b>	<b>35</b>
<b>3.2 A mycophenolsav, mint immunuszuppresszív szer humán, non-Hodgkin lymphomákra gyakorolt hatásának in vitro és állatkísérletes vizsgálata</b>	<b>36</b>
<b>4 MÓDSZEREK</b>	<b>38</b>
<b>4.1 Betegek és módszerek a veseátültetések után észlelt rosszindulatú daganatok adatainak elemzésekor</b>	<b>38</b>
<b>4.2 Módszerek a mycophenolsav, mint immunuszuppresszív szer humán, non-Hodgkin lymphomákra gyakorolt hatásának in vitro és állatkísérletes vizsgálatakor</b>	<b>40</b>
4.2.1 Sejtenyésztés	40
4.2.2 Áramlási citometriai vizsgálatok	40

4.2.3	Kaspáz2 és kaspáz3 aktiváció vizsgálata	41
4.2.4	Western blot	41
4.2.5	Állatkísérletek: xenograft tumorok létrehozása és vizsgálata	42
4.2.6	Morfológiai és immunhisztokémiai vizsgálatok	43
4.2.7	Lymphomasejtek izolálása xenograf tumorokból és in vitro tenyésztésük	44
4.2.8	Statisztikai analízis	44
<b>5</b>	<b>EREDMÉNYEK</b>	<b>45</b>
<b>5.1</b>	<b>Eredmények a veseátültetések után észlelt rosszindulatú daganatok adatainak elemzésekor</b>	<b>45</b>
5.1.1	A veseátültetést követően észlelt rosszindulatú daganatok fajtái, incidenciája	45
5.1.2	A veseátültetés és a daganatok felismerése között eltelt idő	49
5.1.3	A különböző immunuszuppresszív kezelésben részesült, daganatos vesetranszplantált betegek életkor szerinti összehasonlítása	51
5.1.4	A daganatos vesetranszplantált betegek halálozási adatai	52
5.1.5	A daganatos vesetranszplantált betegek túlélési adatai	53
<b>5.2</b>	<b>Eredmények a mycophenolsav, mint immunuszuppresszív szer humán, non-Hodgkin lymphomákra gyakorolt hatásának in vitro és állatkísérletes vizsgálatakor</b>	<b>55</b>
5.2.1	Az in vitro vizsgálatok eredményei	55
5.2.1.1	A mycophenolsav sejtproliferációt gátló és apoptózist indukáló hatása	55
5.2.1.2	A mycophenolsav sejtproliferációt gátló és apoptózist indukáló hatásának vizsgálata guanozin jelenlétében	57
5.2.1.3	A mycophenolsav indukálta apoptózis mechanizmusának vizsgálata	58
5.2.2	Az állatkísérletes vizsgálatok eredményei	60
5.2.2.1	A mycophenolsav lymphoma xenograftok növekedését gátló hatása	60
5.2.2.2	A xenograft tumorokból végzett szövettani, immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei	64
5.2.2.3	A mycophenolsav hatása a xenograft tumorokból in vitro tenyészetbe visszavitt lymphomasejtekre	66
<b>6</b>	<b>MEGBESZÉLÉS</b>	<b>68</b>
<b>7</b>	<b>KÖVETKEZTETÉSEK</b>	<b>85</b>
7.1	A veseátültetést követően észlelt rosszindulatú daganatok adatainak elemzéséből levonható következtetések, megállapítások	85
7.2	A mycophenolsav, mint immunuszuppresszív szer humán, non-Hodgkin lymphomákra gyakorolt hatásának vizsgálati eredményei alapján levonható következtetések, megállapítások	86
<b>8</b>	<b>ÖSSZEFOGLALÁS</b>	<b>88</b>
<b>9</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>89</b>
<b>10</b>	<b>IRODALOMJEGYZÉK</b>	<b>90</b>
<b>11</b>	<b>SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE</b>	<b>115</b>
11.1	A Doktori értekezéshez kapcsolódó közlemények	115
11.2	A Doktori értekezéstől független közlemények	116
<b>12</b>	<b>KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS</b>	<b>118</b>

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AIDS	acquired immune deficiency syndrome
ALG	anti-lymphocya globulin
ANZTR	Australia/New Zealand Transplant Registry
ATG	anti-thymocya globulin
BCC	basocellularis carcinoma
BrdU	brómdezoxiuridin
CTL	cytotoxicus T-lymphocya
CTTR	Cincinnati Transplant Tumor Registry
DLBCL	diffuse large B-cell lymphoma
DMSO	dimethyl-sulfoxide
DNS	dezoxiribonukleinsav
DTT	dithio-treitol
EBV	Epstein-Barr vírus
FKBP-12	FK506-binding protein-12
HCC	hepatocellularis carcinoma
HHV-8	humán herpeszvírus-8
HKTR	Human Kidney Transplant Registry
HLA	humán leukocyaantigén
HPV	humán papilloma vírus
HTLV	humán T-sejtes leukaemia vírus
IFN	interferon
IgG	immunglobulin-G
IL	interleukin
IMPDH	inosine monophosphate dehydrogenase
IPITTR	Israel Penn International Transplant Tumor Registry
MFU	measured fluorescent unit
MHC	major histocompatibility complex
MMF	mycophenolate mofetil
MPA	mycophenolic acid
MPS	mycophenolate sodium
mTOR	mammalian target of rapamycin
NK	natural killer
OKT3	muromonab-CD3 (egér anti-humán CD3 monoklonális ellenanyag)
OPTN/UNOS	Organ Procurement and Transplantation Network/United Network for Organ Sharing
PBS	foszfát puffer oldat
PMSF	fenil metil sulfonil fluorid
PTLD	posttransplant lymphoproliferative disorder/disease
RNS	ribonukleinsav
SCC	spinocellularis carcinoma
SCID	severe combined immune deficiency
SDS	sodium dodecil sulfát
TBR	total body radiation
TGF	transforming growth factor
TNF	tumor necrosis factor
TNM	Tumor Nodus Metastasis
VEGF	vascular endothelial growth factor
WHO	World Health Organisation

## 1 BEVEZETÉS

A több mint 50 éves múlta visszatekintő szervátültetés ma világszerte olyan kezelési lehetőséget jelent a rásszoruló betegeknek, mely nemcsak reményt, de reális esélyt is nyújt életminőségük javulására, és a hosszú távú túlélésre. A transzplantáció eredményessége sok tényező együttes hatásának köszönhető. A szervdonorok kezelésének javulása, alkalmasságuk precízebb megítélése, a szervkonzerválás és a sebészi technika finomodása, a transzplantációs szövődmények ismerete és kialakult kezelési módjai, a diagnosztikus lehetőségek bővülése, a transzplantációval foglalkozó szakemberek képzése és továbbképzése, és egyéb, nem kevésbé fontos összetevők mellett a siker egyik legfontosabb meghatározója az egyre korszerűbb immunszuppresszív kezelés. Az immunszuppresszió a biztosítéka az átültetett szerv tartós védelmének, alkalmazására a szervátültetést követően folyamatosan szükség van, elhagyása heveny kilökődési reakciót, a graft károsodását eredményezheti. A szervátültetés olyan szükségszerű velejárója, mely előnyeinek túl azonban számos, nem kívánt, hátrányos következménnyel is járhat. Az immunszuppresszív gyógyszerek okozta közvetlen mellékhatások ismeretesekek. Az általuk létrehozott immunhiányos állapot kedvez az átültetett szervnek, ugyanakkor fogékonyá teszi a betegeket a fertőzésekkel szemben. Sajnos nemcsak a fertőző ágensek, hanem a daganatsejtek felismerésének és eliminálásának funkciója is károsodik. Már a szervátültetés történetének korai időszakában észlelték, később pedig egyértelművé vált, hogy a rosszindulatú daganatok a transzplantált betegek körében gyakoribbak, mint az adott ország, régió nem transzplantált lakosságában.

A megnövekedett daganatgyakoriságért alapvetően az immunrendszer antitumorális és antivirális szerepének károsodása a felelős. Nem egyszerűen arról van azonban szó, hogy az adott népesség körében egyébként is gyakori daganatok, például Magyarországon a tüdő-, colorectalis-, emlő-, szájüregi-, prostata- vagy gyomorrák válnak még gyakoribbá. A poszttranszplantációs tumorok összetétele a lakosságétól eltérő. A szervátültetés után elsősorban azok a daganatok a jellemzőek, melyek kialakulásában komoly szerepet tulajdonítunk az onkogén vírusoknak, így a bőrrák, a lymphomák, a Kaposi sarcoma, szájüregi tumorok, méhnyakrák és egyéb anogenitalis

tumorok. A szervátültetést követő daganatos kockázat átlagosan 2-4-szeres a nem transzplantált populációhoz képest, bizonyos daganatok, például a Kaposi sarcoma esetében azonban akár 100-szoros is lehet. Minél hosszabb a graft és a betegek túlélése, vagyis minél hosszabb az immunuszupprimált állapot ideje, annál nagyobb a valószínűsége a malignus daganatok kialakulásának. Kumulatív incidenciájuk 10 év után 20 % körüli, 20 évvel a transzplantáció után viszont 30-40% is lehet.

Az átültetett szervvel élő betegek túlélését több tényező befolyásolja. Az 1980-as évekig, a cyclosporine klinikai bevezetéséig elsősorban az elégtelen immunuszuppresszió miatt bekövetkezett graftvesztés volt az egyik meghatározó. A fertőzések, bár gyakoriak, a korszerű antibakteriális, antivirális, gomba és protozoon ellenes gyógyszereknek köszönhetően, egyre inkább sikerrel kezelhetők, a halálzásra gyakorolt hatásuk mérséklődött. A betegek sorsa szempontjából fontos cardiovascularis szövődmények ellátásában, a magas vérnyomást és a zsíryanycserét kedvezően befolyásoló szerek alkalmazásával, és a sürgősségi állapotok kezelésének javulásával szintén kedvező változás tapasztalható. A transzplantált betegek a korszerű immunuszuppresszióknak és a sorsukat befolyásoló szövődmények javuló kezelési eredményeinek köszönhetően tehát egyre hosszabb ideig élnek. Ezzel arányosan növekszik azonban az immunuszupprimált állapot ideje is, melynek következménye a rosszindulatú daganatok kialakulásának növekvő kockázata. A poszttranszplantációs tumorok az oncológiai kezelésre rosszabbul reagálnak és a prognózisuk is rosszabb, mint a lakosság hasonló daganataié. Az oncotherapia eredményét rontja, hogy a transzplantált betegek általános állapotuk, társbetegségeik miatt gyakran nincsenek a műtétre, chemo-radiotherapiára alkalmas állapotban, nem kaphatják meg a szükséges kezelést.

A tumoros, transzplantált betegek kezelésének sajátos problémája az immunuszuppresszió, melynek alkalmazása e helyzetben ellentmondásos. Szükséges azon átültetett szervek védelme érdekében, melyek funkciója más módon nem pótolható (szív, tüdő, máj), és károsodásuk a beteg életének veszélyeztetésével jár, ugyanakkor rontja az oncológiai kezelés eredményességét, segíti a daganatos progressziót. Az ideális az olyan immunuszuppresszív szer alkalmazása lenne, mely hatásmechanizmusa révén fel tudja oldani ezt az ellentmondást, vagyis hatékonyan védi a graftot, de nem rontja az oncológiai kezelés határfokát, esetleg még segítséget is jelenthet a számára. A

sejtproliferáció gátlásával ható vegyületek alkalmasak lehetnek e feladatra. Közülük a rapamycin az, amely ma a daganatos, transzplantált betegek esetében ajánlott immunszuppresszív szer. Önmagában azonban a rapamycin sem elegendő erre a célra, szükség van tehát további, vele kombinálható, hasonlóan kedvező tulajdonsággal rendelkező immunszuppresszív gyógyszerekre.

A nemzetközi adatok és a kérdéssel foglalkozó szakemberek véleménye alapján úgy látszik, hogy a poszttranszplantációs daganatok a morbiditás és a mortalitás szempontjából is, a szervátültetett betegek sorsának, túlélésének egyik legfontosabb meghatározó tényezőjévé kezdenek válni. A daganatok várható, nem kívánt előretörésre fel kell készülnünk. Ehhez természetesen ismerni kell a múltat és a jelen helyzetet, a poszttranszplantációs daganatok adott földrajzi területre, országra, országrészre jellemző sajátosságait. Legfontosabb feladatunk a transzplantált betegek daganatos kockázatának csökkentése. Ennek lehetséges eszköze a karcinogén hatások elkerülésére (primer prevenció) vonatkozó betegtájékoztatás, a gyakori poszttranszplantációs tumorok ismeretében, a rákelőtti állapotok és a daganatok korai felismerését szolgáló, rendszeres oncológiai szemléletű ellenőrzés (secunder prevenció), mely nemcsak a szervátültetést követően, de már a transzplantációs várólistán lévő betegek esetében is fontos, a felismerhető daganattal történő szervátültetés elkerülésére érdekében. A tumoros kockázatot csökkentő immunszuppresszív szerek alkalmazása, és az alacsony dózisú immunszuppresszió lehet még további segítségünkre.

A szervátültetést követő rosszindulatú daganatok száma a budapesti transzplantációs központhoz tartozó vesetranszplantált betegek körében is gyarapodik. A poszttranszplantációs tumorok régiónkra jellemző sajátosságainak megismerésén, és a betegellátást segítő következtetések megfogalmazásán túl, célunk volt megoldást keresni olyan általánosabb problémára is, mint amit az immunszuppresszió megválasztása jelent az egyik leggyakoribb és talán legfontosabb poszttranszplantációs daganat, a lymphoma kezelése esetén.

## **2 IRODALMI HÁTTÉR**

A szervátültetés a különböző, végstádiumú szervi elégtelenségben szenvedő betegek világszerte elfogadott, és - az erre a célra létrehozott központokban - rutinszerűen végzett kezelési lehetőségét jelenti. A transzplantáció mára mindennapi gyakorlattá vált. Hosszú, és kudarcoktól sem mentes út vezetett idáig.

### **2.1 Történeti bevezetés, visszatekintés**

#### **2.1.1 Nemzetközi visszatekintés**

Az első sikeres veseátültetésre egypetjű ikerpár tagjai között 1954-ben, Bostonban került sor (Merrill, Murray, Harrison). Az első májátültetést Starzl, az első tüdőátültetést Hardy végezte 1963-ban. 1966-ban történt az első vese és hasnyálmirigy együttes átültetés (Kelly, Lillihei) és az első vékonybélátültetés is. Az első szívtranszplantációt Barnard végezte 1967-ben. Az első hasnyálmirigy-szigetsejt átültetés Najarian nevéhez fűződik (1974) [1,2,3,4,5]. A kezdeti, részben technikai, részben immunológiai okokra visszavezethető nehézségek, sikertelenségek óta eltelt több mint öt évtized munkájának eredményeként a szervátültetések száma napjainkra elérte a több százezret a világban. Létjogosultságát többek között a kedvező, és egyre javuló beteg- és grafttúlélési adatok igazolják, a transzplantált betegek életminőségének változása szembetűnő. Abban, hogy a szervátültetés eredményei révén ilyen mértékben elterjedhetett, komoly szerepe volt a hatékony immunszuppresszív gyógyszerek felfedezésének és széles körű alkalmazásának.

A szervátültetések száma a kezdeteket követő években csak lassan emelkedett. Murray 1963-ban Európa, Anglia és az Amerikai Egyesült Államok összesített adatai alapján 244 emberi veseátültetésről számol be (Conference on Human Kidney Transplants) [6]. 1964-ben, 10 évvel az első sikeres veseátültetés után a Second Human Kidney Registry 374 veseátültetést foglal össze a világ 30, különböző transzplantációs központját egyesítve [7]. (Összehasonlításként, Magyarországon az elmúlt évtizedet figyelembe véve mintegy 300 veseátültetés történik évente). Hasonlóan lassú volt a



kibontakozás a többi szerv transzplantációja esetében is. 1967 és 1977 között például 10-70 szívatültetést végeztek egy-egy évben [1,4].

A sikertelenség sebészi és technikai nehézségek mellett elsősorban immunológiai okokra volt visszavezethető. A legfőbb gondot a transzplantált szerv kilökődése jelentette. A szervdonor (cadaver, vagy élő személy) és a recipiens immunológiai különbözősége, a humán leukocytantigén (HLA) A, B, Dr típusának eltérései, a befogadó szervezet immunrendszerének aktiválódása, és a kialakuló immunválasz révén ugyanis a transzplantált szerv (graft) károsodását, kilökődési reakcióját eredményezi. E károsodás megelőzését, a graft védelmét szolgálja az immunválasz elnyomása, az immunszuppresszió.

Owen és Medawar munkásságának köszönhetően a transzplantációval kapcsolatos immunológiai ismeretek egyre inkább gyarapodtak, hiányzott azonban a szervátültetés tartós eredményét biztosító immunszuppresszív kezelés [8,9]. Az immunhiányos állapotot próbálták például az egész test besugárzásával (total body radiation – TBR) elérni. 1959-ben Murray és munkatársai ennek segítségével végeztek veseátültetést immunológiailag nem identikus iker testvérpár tagjai között [10]. 1962-1963-ban egy-egy közlemény számol be a TBR eredményeként esetenként javuló beteg túlélésről, olykor azonban fatális kimeneteléről. [11,12,13]. Az egész test besugárzása és az egyéb, az immunszuppressziót célzó beavatkozások, mint a thymus és a lép műtéti eltávolítása, a ductus thoracicus drenázsa azonban nem váltották be a hozzájuk fűzött reményeket [14]. A tartós immunszuppresszív hatás elérése még hiányzott.

Az áttörés, az eredmények javulása és a szervátültetés tértnyerése - többek között - a hatékony immunszuppresszív gyógyszerek felfedezésének és klinikai bevezetésének volt köszönhető. A *6-mercaptopurine* volt az első vegyület, mely kísérletes körülmények között immunszuppresszív hatásúnak bizonyult [15,16,17]. 1960-ban Calne és Zukoski is igazolták, hogy a *6-mercaptopurine* javítja a grafftúlélést kutyákban végzett veseátültetés után. A szer azonban toxicus volt [18,19]. További kutatómunka eredményeként került felfedezésre a szintén immunszuppresszív hatású, de a *6-mercaptopurine*-nál lényegesen kevésbé toxicus *azathioprine* (Elion, Hitchings, Calne) [20,21,22]. Klinikai alkalmazása során, bár a teljes test besugárzásánál jobbnak mutatkozott, önállóan mégsem tudott tartós graft védelmet biztosítani [23]. Az 1950-es években Franciaországban, Rene Kuss a *kortikoszteroidok* alkalmazásával próbálta meg

javítani a transzplantált vese túlélését [14]. A két vegyület kedvező kísérletes eredményei alapján Starzl kombinálta egymással az azathioprine-t és a kortikoszteroidokat [24]. E kombináció klinikai alkalmazásával született meg az első, hatékony gyógyszeres immunszuppresszió, az ún. konvencionális terapia, mely az 1960-as évektől két évtizeden keresztül lett meghatározója a szervátültetés sikerének. A javuló eredmények ellenére azonban, az 1970-es évek végén a vesegraftok 1 éves túlélése még csak 50% körüli volt [14].

A lóban vagy nyúlban, humán lymphocyták ellen termeltetett *anti-lymphocytoglobulin* (ALG) alkalmazásáról 1967-ben, Starzl számolt be először [25]. Kedvezőnek bizonyult mind az acut rejectiók kezelésében, mind indukciós szerként, az azathioprine és szteroid kombináció kiegészítéseként.

A konvencionális terapia azonban kevésbé volt hatékony a máj- és szívátültetés esetén. Az igazi áttörést a *cyclosporine* felfedezése jelentette (Borel, 1976). A Sandoz laboratóriumában dolgozó Borel a cyclosporine immunszuppresszív hatását egér bőrgraftok javuló túlélésével igazolta, majd kutyákban, az átültetett vesék esetében is hasonlóan kedvező eredmények születtek.[26,27]. A klinikai kipróbálás Calne vezetésével Cambridge-ben kezdődött meg. Az Európára is kiterjesztett multicentrikus vizsgálatok eredményei alapján a cyclosporine az 1980-as években kerülhetett széles körben klinikai bevezetésre, javítva nemcsak a vese-, de a máj-, a szív- és a tüdőtranszplantáció eredményeit is [14,28]. Kezdetben önállóan alkalmazva, majd szteroiddal, vagy azathioprine-nel kombinálva, a cyclosporine alapú immunszuppresszió eredményeként a vesegraftok 1 éves túlélése 85% fölé emelkedett [14,29,30].

A javuló graft- és betegtúlélési adatok mellett tovább folyt a kutatás a még hatékonyabb immunszuppresszív szerek iránt. Ennek köszönhetően jelent meg az 1980-as években az *OKT3* (muromonab-CD3, egér anti-humán CD3 monoklonális ellenanyag), melyet az ALG-hoz hasonlóan az acut (szteroid rezisztens) kilökődési reakciók kezelésére, vagy indukciós szerként használnak azóta is [14,31,32].

Az 1980-as évek végén került a klinikumba a *tacrolimus* (FK506), melyet Starzl kezdetben májtranszplantált beteg rejectiojához használt „rescue” terapiaként, majd a cyclosporine-hoz hasonló hatása révén fokozatosan nyert teret első vonalbeli immunszuppresszív szerként is [33,34,35].

Az 1990-es évektől további gyógyszerek jelentek meg és váltak a kezelés részévé, így a *mycophenolate mofetil* és a *rapamycin* (sirolimus, everolimus), az évezred fordulójára pedig az *anti-humán CD25 monoklonális ellenanyagok* (daclizumab, basiliximab). A kutatás az új szerek után természetesen továbbra is folyik [14].

A hatékony immunszuppresszió eredményeként válhatott tehát a szervátültetés elfogadottá és világszerte elterjedtté. Gyarapodott a transzplantációk száma, javult a betegek és az átültetett szervek túlélési ideje, aránya is. Az idő múltával és az esetszámok gyarapodásával párhuzamosan gyűltek és fogalmazódtak meg a tapasztalatok az immunszuppresszív kezeléssel kapcsolatban is.

Az immunszuppresszió ugyanis a transzplantáció, a graft védelme szempontjából kedvező hatása mellett számos, nem kívánt mellékhatással is rendelkezik. A mellékhatások részint az immunszuppresszív gyógyszerek okozta közvetlen toxicus hatásnak, részint az általuk létrehozott immunhiányos állapotnak a következményei. A toxicus mellékhatások jól ismertek. Az azathioprine csontvelőt károsító, a szteroidok cukorbetegségre, elhízásra, magas vérnyomásra, csontritkulásra hajlamosítanak, a cyclosporine nephrotoxicus, a tacrolimus neurotoxicus, a példákat sorolhatnánk tovább [14]. Az immunhiányos állapot két legfontosabb hátrányos következménye a betegek fertőzésekkel szembeni fogékonysága, és a rosszindulatú daganatok kialakulásának növekvő kockázata [36].

A szervátültetés utáni daganatokról szóló első közlemény 1965-ben látott napvilágot (The Fourth Report of the Human Kidney Transplant Registry - HKTR), mely az addigi 672 veseátültetés adatai alapján számol be az első két, donorból átvitt, a betegek halálát okozó malignus tumorról [37]. 1969-ben a HKTR 13 daganatos esetet közöl hét transzplantációs központból. Mindegyik beteg meghalt, a kalkulált tumor incidencia 4,6-8-szoros volt a nem transzplantált népességhez viszonyítva [38]. 1971-ben Penn 40 poszttranszplantációs daganatot gyűjt össze, majd 1972-ben Penn és Starzl 75 esetet vizsgál [39,40]. Penn és a HKTR beszámolóiból már ekkor kitűnik, hogy a daganatok között gyakoriak a lymphomák, a bőrtumorok és a sarcomák.

Penn az 1960-es évek végén a daganatos betegek adatainak gyűjtésébe kezdett. Munkatársaival együtt egy önálló adatbázist hozott létre, mely a Denver, később a Cincinnati Transplant Tumor Registry (CTTR), halálát követően pedig az Israel Penn International Transplant Tumor Registry (IPITTR) nevet kapta [36]. 1974-ben, mintegy

15.000 transzplantációt követve a CTTR már 241 daganatot elemez. A gyakori lymphomáról megállapítja, hogy a többi daganathoz képest korábban jelentkezik, a lymphomás betegek gyakrabban kaptak ALG kezelést, és a túlélésük rosszabb, mint az egyéb tumorok esetében tapasztalható [41].

Az egyes transzplantációs központok és a létrehozott regionális adatbázisok (Australia/New Zealand Transplant Registry, European Dialysis and Transplant Association, Scandia-Transplant, Organ Procurement and Transplantation Network / United Network for Organ Sharing, stb.) az 1970-es évektől sorra számolnak be saját, poszttranszplantációs daganatokra vonatkozó tapasztalataikról, adataikról. A beszámolókból kitűnik, hogy ha eltérő mértékben is, de a rosszindulatú tumorok gyakorisága minden centrumban magasabb arányt mutat az adott régió nem transzplantált lakosságához viszonyítva [42,43,44,45].

A szervátültetések számával és a betegkövetési idő növekedésével párhuzamosan egyre nagyobb esetszámról, egyre több közlemény született és születik napjainkban is. A szervátültetés utáni daganatok problémája foglalkoztatja mind a klinikusokat, mind a kutatókat. Ha a „világhálón” érdeklődünk a téma után, bőséggel találunk hozzá anyagot. A PubMed (Entrez Pumed – Microsoft Internet Explorer, [www.pubmed.gov](http://www.pubmed.gov)) adatbázisában keresve, 2007 végén a „tumor after kidney transplantation” szavakat használva 1600, a „tumor after organ transplantation” esetén 4800, a „tumor after transplantation” után pedig több mint 33400 közleményre találhatunk. Hasonló számokat kapunk, ha a „tumor” helyett a „malignancy/malignancies” kifejezéseket használjuk.

### **2.1.2 Magyarországi visszatekintés**

Visszatérve a szervátültetés történetéhez, a magyar vonatkozásokról is érdemes megemlékezni. Mindenekelőtt Ullmann Imre (1861-1937) nevét kell megemlítenünk, aki a szervtranszplantáció egyik úttörője volt. Pécssett született, Bécsben dolgozott. 1902. március 7-n kutya nyaki ereire átültetett vesével hívta fel magára a figyelmet és szerzett nemzetközi elismerést. Magyarországon az első veseátültetést Németh András végezte 1962-ben, Szegeden. 1973-ban Pintér József ültetett át néhány alkalommal vesét Miskolcon, a szervezett keretek között zajló, rendszeres vesetranszplantáció azonban Budapesten, 1973. november 16-n indult el, Perner Ferenc vezetésével. 1979-

ben Szeged, 1991-ben Debrecen, 1993-tól Pécs is csatlakozott a magyarországi veseátültetési programhoz. Az első hazai májátültetés 1983-ban (Szécsény Andor), az első szívátültetés 1992-ben (Szabó Zoltán), az első vese-hasnyálmirigy együttes átültetés 1998-ban (Kalmár Nagy Károly), az első hasnyálmirigy-szigetsejt átültetés 2004-ben (budapesti munkacsoport) történt. 1995-től zajlik rendszeres májtranszplantáció, 2002-től pedig vese- és hasnyálmirigy egyidejű átültetése Budapesten.

A poszttranszplantációs daganatokkal kapcsolatos budapesti tapasztalatok a legrégebben működő, veseátültetési program esetében gyűltek össze. Más centrumokhoz hasonlóan, az indulást követően a veseátültetések száma Budapesten is alacsony volt, évi 20-40, és csak 1992-ben érte el és haladta meg először a 100-t. Ennek megfelelően csak lassan gyűlt össze az értékelésre is elegendő számú beteg. Tóth 1993-ban 570 veseátültetést követően 15 daganatos esetről számol be. 5 bőrrák (laphámrák), 3 veserák, 2 Kaposi sarcoma, valamint 1-1 gége-, tüdő-, májrák, 1 thymus daganat és 1 lymphoma fordult elő. Összefoglalójában a veseátültetés utáni daganatok gyakoriságát 20-30-szorosra becsüli a magyar lakossághoz képest. Hazai rákregiszter ekkor még nem állt rendelkezésre [46,47]. 1997-ben már 1009 vesetranszplantált beteg adatát elemezve Tóth 34 tumoros esetet említ. Az irodalmi adatokkal megegyezően a leggyakoribb a bőrrák (11 beteg). Meglepően magas volt a Kaposi sarcoma gyakorisága. A nyolcból három esetben vizsgálni és igazolni is tudták az etiológiai szereppel bíró humán herpeszvírus- 8 (HHV-8) jelenlétét a daganatokban. Az irodalmi beszámolókkal szemben ugyanakkor alacsonynak bizonyult a lymphomák aránya [48,49]. Tóth a Kaposi sarcoma disszeminált, viscerális formáját mutatja be 2 eset kapcsán egy másik közleményében. Véleménye szerint a klasszikus, alsó végtagi cutan megjelenési formához képest rövidebb a megjelenési ideje, agresszívabb és rosszabb a prognózisa [50,51].

A veseátültetést követő daganatok budapesti tapasztalatairól további közlemények számolnak be egészen napjainkig esetismertetés, retrospektív feldolgozás, valamint összefoglaló formájában, kiemelve a téma klinikai jelentőségét [52,53,54,55].

## 2.2 A szervátültetést követő rosszindulatú daganatok

### 2.2.1 A szervátültetést követő daganatok eredete

Eredetét tekintve a daganat származhat a szervdonorból és képződhet a transzplantált betegben is. Az első esetben a daganat az átültetett szervvel, észrevétlenül kerül átvitelre. A gyakoribb, hogy a recipiens szervezetében keletkezik, és már a szervátültetés idején - még fel nem ismerhetően, vagy fel nem ismertén – jelen van, vagy az akkor még „daganatmentes” betegben, „de novo”, a későbbiekben alakul ki, valódi poszttranszplantációs tumorként [<sup>36,54,56</sup>].

#### 2.2.1.1 Donor eredetű daganatok.

A vesetranszplantáció történetének már a korai szakaszában észlelték, hogy ha tumoros donorból történt „ép” vese átültetése, akkor később, a recipiensek közel felében kialakult a daganat. Penn 1997-ben közölt cikkében 270, daganatos donorból transzplantált betegről számol be, ahol a betegek 43%-ában vagy a vesegraftban, vagy disszemináltan jelent meg az átvitt tumor [<sup>57,58</sup>].

Természetes, hogy a transzplantált szervvel történő daganat átvitelt el kell kerülni. Az agyhalott kórelőzményében szereplő rosszindulatú tumor a donációt ellenjavallja, ez alól csak néhány extracranialis metastasist nem adó, központi idegrendszeri daganat jelent kivételt. A szerveltávolítás során a sebész feladata a gondos műtéti feltárás, a daganatos betegség kizárása. Ezt a célt szolgálja a donáció után, még a szervek beültetése előtt elvégzett részletes boncolás is, daganat gyanújakor pedig a sürgős szövettani vizsgálat. Egyértelmű tumor esetén, vagy ha annak kizárására, a gyors vizsgálatra nincsenek meg a feltételek, a szervátültetés kontraindikált.

Veseátültetés megfelelő feltételek, normális vesefunkciós értékek esetén idősebb, 60 év feletti agyhalottakból is történik. A népesség átlagéletkorának növekedésével párhuzamosan egyre több a donációra alkalmas, idős donor. Arányuk Spanyolországban közel 30%, de Magyarországon is 10% feletti [<sup>59</sup>]. Az idős életkorral összefüggő daganatos kockázat az átültetett szervvel történő tumor átvitel lehetőségét is növeli, ennek megfelelően, az idős donorok kapcsán még inkább körültekintőnek kell lennünk [<sup>58</sup>].

### 2.2.1.2 Recipiens eredetű, „hozott” daganatok.

A donor eredetű daganatok aránya rendkívül alacsony. A poszttranszplantációs tumorok alapvetően recipiens eredetűek, a transzplantált betegben keletkeznek. Fontos kérdés azonban, hogy mikor. A transzplantáció előtt, vagy azt követően? Az elméletinek tűnő kérdésnek komoly gyakorlati jelentősége van. Az immunszuppresszió elősegíti a betegben már meglévő tumor progresszióját, tehát kifejezetten káros következményekkel járhat. A szervátültetés és az immunszuppresszió ilyen esetben nem javítja a beteg életének minőségét, túlélési esélyeit. Különösen hangsúlyos ez a veseelégtelenségben szenvedő, vagy insulin dependens cukorbetegség esetében, ahol a vese-, hasnyálmirigytranszplantáció nem életmentő beavatkozás, hanem alternatív kezelési mód, a művesekezelés, az insulin terápia a daganattal bíró betegeknél tovább folytatható. Igazolt daganattal az ő esetükben a szervátültetés aktuálisan kontraindikált. A transzplantációra leghamarabb 3-5 év elteltével, „tumormentesnek” ítélt állapotban kerülhet sor.

Ismert, hogy az immunrendszer működésének zavarára visszavezethetően a chronicus veseelégtelen betegek daganatos kockázata egyébként is magasabb [60,61,62,63]. Ráadásul a művesekezelésre szoruló betegek átlagéletkora az idős kor felé tolódott el, ami tovább növeli a tumorok kialakulásának kockázatát. Az pedig, hogy egyre idősebb betegek részesülnek veseátültetésben, a „hozott” daganattal történő transzplantáció kockázatának növekedését is eredményezi.

A szervátültetés időpontjában még fel nem ismerhető daganatok ellen nem tudunk védekezni. Arra viszont törekednünk kell, hogy a felismerhető tumorokat még a transzplantáció előtt felismerjük, elkerülve a „hozott” daganattal történő szervátültetést és az immunszuppresszió említett, hátrányos oncológiai következményeit. A veseelégtelenségben szenvedő betegeket tehát nephrológiai és oncológiai szempontból egyaránt ellenőrizni kell. A rendszeres vizsgálatok jelentősége abból is adódik, hogy a veseátültetés előtti, előre nem tervezhető, sürgetően rövid idejű „veseriadó” alatt ezek elvégzésére nincs lehetőség.

A fentieknek látszólag ellentmondóan, rosszindulatú daganat mégis lehet szervátültetés indikációja. Igaz ez a májtumorok esetén, melyek javallatával azonban a májtranszplantációk alig 10%-a történik a világban. Az indikáció természetesen

feltételekhez kötött és csak bizonyos daganattípusokra érvényes. A májátültetés egyértelműen indokolt lehet gyermekkorban a resectioval el nem távolítható hepatoblastoma, felnőttkorban pedig hepatocellularis rák (HCC) esetén. A HCC a betegek döntő hányadánál májbetegség, májcirrhosis talaján alakul ki. A daganat mérete, májon belüli lokalizációja és a májbetegség, májelégtelenség mértéke meghatározója a HCC resecabilitásának. A cirrhotikus máj gyakran akadály a daganat miatti resectionak. A HCC és a májcirrhosis együttesen lehet indoka a májátültetésnek. Kedvező, hosszú távú túlélési eredményekre azonban csak az ún. Milánói feltételek meglétekor lehet számítani. Eszerint HCC miatt májátültetés akkor indokolt, ha a daganat solitaer, 5 cm-nél kisebb, vagy legfeljebb 3 gócú, de a legnagyobb tumor átmérője sem éri el a 3 cm-t, továbbá nincs jele a májon belüli erek tumoros érintettségének, regionális nyirokcsomó, vagy távoli metastasisnak. Összehasonlítva a HCC miatt végzett májresectio és a (Milánói kritériumok betartásával végzett) májátültetés eredményeit májcirrhosisban szenvedő betegek esetén, az irodalmi közlések alapján a 3 éves túlélés aránya 5,9-33 % közöttinek bizonyult a resectio és 42,9-76 %-nak a májtranszplantáció esetén [64,65].

### 2.2.1.3 Recipiens eredetű, „de novo” daganatok

Eredete alapján a poszttranszplantációs daganatok harmadik típusa az ún. „de novo” tumor, mely a szervátültetés idején még „tumormentes” betegben, a chronicus immunszupprimált állapotban alakul ki. Szorosabb értelemben véve, ezeket tekintjük poszttranszplantációs daganatoknak.

### 2.2.2 A szervátültetést követő “de novo” daganatok fajtái és gyakoriságuk

Első megközelítésben azt gondolhatnánk, hogy a szervátültetéssel együtt járó immunszuppresszió mellett a daganatos kockázat növekedése a lakosságra jellemző tumorok gyakoribb megjelenését jelenti. A valós kép ettől eltérő, a poszttranszplantációs daganatok összetétele különbözik az adott népességben (nem transzplantált populációban) előforduló daganatokétól [36,56]. Természetesen az összehasonlítás annál pontosabb képet mutat, minél nagyobb számú beteg adatainak összevetésére van lehetőség. Erre a világ egy-egy régiójának adatait összegyűjtő tumor regiszterek a legalkalmasabbak.



Az Israel Penn által vezetett, az USA adatait összefoglaló Cincinnati Transplant Tumor Registry alapján felnőttkorban, a szervátültetés utáni daganatok között a leggyakoribb a bőrrák és a PTLD (posttransplant lymphoproliferative disorder/disease) csoportba tartozó lymphoma. (Gyermekekben a lymphoma áll az első helyen.) A gyakorisági sorban ezt követi a Kaposi sarcoma, az ajakrák, az in situ méhnyakrák, az anogenitalis régió (anus, gáttájék, vulva, penis, scrotum) daganatai, majd a hepatobiliaris (döntően a májrák) tumorok, a veserák és a sarcomák következnek. Összehasonlítva az Amerikai Egyesült Államok lakosságának daganataival, a lymphomák aránya a transzplantált betegek között 24%, míg a népességben 6% volt. Ezek az adatok a Kaposi sarcoma esetén 6%, szemben az alig regisztrálható aránnyal, az ajakráknál 6% vs. 0,2 %, a veseráknál 5% vs. 2%, a vulva- és gáttáji rákoknál 3% vs. 0,7%, a hepatobiliaris daganatok esetén 2,3% vs. 1,7%, a sarcomák (Kaposi sarcoma nélkül) kapcsán pedig 1,8% vs 0,5%. Ugyanakkor az USA lakosságra jellemző daganatok (tüdő-, emlő-, prostata-, vastagbél, invazív méhnyakrák) a szervátültetett betegek között nem, vagy alig mutattak magasabb gyakoriságot, vagy éppen ellenkezőleg, ritkábban fordultak elő [66,67].

Australia/New Zealand Transplant Registry az 1980 és 2003 között végzett 13.000 veseátültetés után előforduló daganatokat összehasonlítva a népesség adataival, magasabb arányról számol be a vulva (45,6-szeres), a hüvely (36-szoros), a Kaposi sarcoma (26,4-szeres), a férfi nemi szervek (17,8-szeres), a vese és a húgyútak (8,5-szeres), a méhnyak (6,6-szeres), az orrüreg (5,4-szeres), a húgyhólyag (5,1-szeres), a máj (4,8-szeres), a nyelőcső (4,7-szeres), a pajzsmirigy (4,5-szeres) rosszindulatú tumorai, és a lymphomák (10,1-szeres) esetében. A lakosság körében gyakori daganatok, a bőrrák kivételével, itt sem mutattak érdemi gyarapodást a transzplantációt követően (pl. az emlőrák esetén 1,3-szeres, a vastagbélráknál 1,9-szeres, a tüdőráknál 2,0-szeres volt a növekedés mértéke) [36,68].

Kasiske 1995-2001 között, az USA-ban végzett 35.765 veseátültetést elemezve, az USA lakosság jellemző daganatait (tüdő, prostata, vastagbél, emlő, gyomor, nyelőcső, hasnyálmirigy, petefészkek) hozzávetőleg csak kétszer találta gyakoribbnak a transzplantált betegek körében. A melanoma malignum, leukaemia, a hepatobiliaris tumorok, a méhnyak, vulvovaginalis daganatok esetén ez az arány mintegy ötszörös, a

veseráknál már tizenötszörös, a bőrrák, a lymphoma, és a Kaposi sarcoma kapcsán pedig már több mint húszszorosnak bizonyult [69].

Az irodalmi adatok alapján a szervátültetést követő daganatok kialakulásának kockázata a nem transzplantált populációhoz képest átlagosan 2-4-szeres, bizonyos tumorok esetén azonban ez az arány 100-szoros is lehet. A chronicus immunszuppresszív kezelés mellett a rosszindulatú daganatok gyakorisága 10 év után elérheti a 20%-t, 20 év után a kumulatív incidencia 30-40% is lehet [36,56,66,69,70,71,72,73].

### **2.2.3 A szervátültetést követő „de novo”daganatok etiológiája, patogenezeise**

A transzplantált betegek a graft védelme érdekében folyamatos immunszuppresszív kezelésben részesülnek. Kézenfekvő, hogy a tumoros kockázat növekedésének elsődleges magyarázatát a betegek immunszupprimált állapotában, a szervezet daganatellenes védekező mechanizmusainak károsodásában keressük. Feltevésünk nemcsak teoretikus, de igazolásul indirekt és direkt bizonyítékok is szolgálnak. Indirekt igazolása lehet az a tény, hogy a veleszületett (pl. ataxia-teleangiectasia, Wiskott-Aldrich szindróma), vagy szerzett immunhiányos állapotokban (pl. acquired immune deficiency syndrome –AIDS betegség) szenvedő betegekben is magasabb a rosszindulatú daganatok előfordulási aránya. A veleszületett immunhiányos állapotban mintegy 100-szoros a daganatos kockázat, a tumorok fele non-Hodgkin lymphoma. Az AIDS betegek között a Kaposi sarcoma (100-szoros kockázattal) és a non-Hodgkin lymphoma (104-szeres kockázattal) a leggyakoribb tumor [36,66,74,75,76].

Az immunszuppresszióknak a daganatok kialakulásában játszott szerepére irányította a figyelmet az a korai megfigyelés, amikor a donorból a recipiensbe, a grafttal átvitt daganatok regresszióját észlelték az immunszuppresszió felfüggesztése után [77,78]. Az immunszuppresszív kezelés redukciójának, módosításának vagy felfüggesztésének eredményeként más tumorok, így lymphoma, Kaposi sarcoma, Merkel-sejtes-, bőr-, májrák esetében is figyeltek meg részleges, vagy teljes regressziót [79,80,81,82,83,84].

A poszttranszplantációs daganatok kialakulásában szerepet játszó tényezők közül tehát az első, és legfontosabb a tartósan immunszupprimált állapot, az immunrendszer tumorelles, és antivirális szerepének károsodása. Károsodik a daganatsejtek korai felismerése és eltávolítása, a natural killer (NK) sejtek funkciója,

vagy pl. az Epstein-Barr vírus (EBV) fertőzött B-sejtek eliminációjában szerepet játszó, EBV-specifikus citotoxicus T-lymphocita funkció, mely poszttranszplantációs lymphoproliferatív betegség (PTLD) kialakulását eredményezheti [36,85,86,87]. Mint később látni fogjuk, a tumoros kockázat mértékét az immunszupprimált állapoton túl annak „mélysége” és időtartama is befolyásolja.

Az ismételt fertőzések, a vér és vérképzőanyagok adása, de főként az átültetett szerv, chronicus antigén ingerként hatva, a részlegesen elnyomott immunrendszerben lymphomák kialakulását eredményezheti [36].

Az immunrendszer antivirális funkciójának zavara kedvező helyzetet teremt az onkogén vírusoknak. Jelentőséget kell tulajdonítanunk szerepüknek a karcinogenezisben, hiszen a gyakoribb poszttranszplantációs daganatok összefüggésbe hozhatók velük. Így a humán papilloma vírus (HPV) egyes típusainak szerepe lehet a bőr, a gáttájék (anus, vulva), a méhnyak, és az ajak hámjának malignus transzformációjában [88,89]. További lehetséges kapcsolat van az Epstein-Barr vírus (EBV), humán T-sejtes leukaemia vírus (HTLV-1) és a lymphomák, a hepatitis C vírus és a lép B-sejtes, non-Hodgkin lymphomája, a humán herpeszvírus-8 (HHV-8) és a Kaposi sarcoma, valamint a hepatitis B, C vírus és a májrák (HCC) kialakulása között [87,90,91,92,93,94,95,96,97,98].

Az ismert egyéb, fizikai, kémiai és biológiai karcinogén hatások, mint például a napfény (ultraibolya sugárzás), vagy a dohányzás szintén növelik a daganatos kockázatot [36].

Egyes immunszuppresszív gyógyszerek (pl. azathioprine, cyclophosphamid, cyclosporine) immunszuppresszív hatásuktól függetlenül is karcinogének. Összefüggés látható bizonyos mono-és poliklonális anti-lymphocita globulinok, elsősorban az anti-CD3 monoklonális ellenanyag (OKT-3) és az anti-thymocita globulin (ATG) alkalmazása és a lymphomák kialakulása között [36,87,99,100,101].

A poszttranszplantációs daganatok kockázatát növelő tényezők közé tartozik az idős életkor, a férfi nem, a chronicus veseelégtelenség, a művesekezelt időtartama, a polycystás vesebetegség, a beteg kórtörténetében szereplő rosszindulatú daganat is [36,56,69,102,103]. Ugyanakkor számos közlemény szerint a cukorbetegség csökkenti a rizikót [104,105,106].

A malignus daganatok gyakoribb megjelenéséért felelőssé tehető, legkézenfekvőbb tényező tehát a transzplantált szerv védelmét, a kilökődési reakciót, a graft károsodását kivédeni szándékozó immunszuppresszív therápia. A beteg számára a legfontosabb, hogy az átültetett szerv sokáig és jól működjék. Ennek biztosításához megfelelően beállított, hatékony immunszuppresszióra van szükség. Ugyanakkor minél hosszabb a graft és a beteg túlélése, annál hosszabb az immunszupprimált állapot ideje is, ami növeli a daganatok kialakulásának kockázatát [<sup>36,56</sup>].

A kockázat növekedéséért az immunszuppresszív gyógyszerek kettős hatással járulnak hozzá, az immundefektus létrehozásával, és bizonyos vegyületek direkt karcinogén hatásukkal is.

## **2.3 Az immunszuppresszív vegyületek**

### **2.3.1 Az immunszuppresszív vegyületek hatásmechanizmusa**

A szervátültetés kapcsán használt immunszuppresszív vegyületeket hatásmechanizmusuk alapján 4 csoportba oszthatjuk. 1. kortikoszteroidok, 2. calcineurin gátló szerek, 3. lymphocita proliferációt gátló szerek, 4. mono-és poliklonális lymphocita ellenes ellenanyagok [<sup>14</sup>]. Az egyes csoportokba tartozó gyógyszereket egymással kombinálva, 2 vagy 3 szert együtt adva alkalmazzuk. E kombinációk egyik tagja általában szteroid. Az immunszuppresszív gyógyszereket a betegek folyamatosan szedik, elhagyásuk kilökődési reakciót indukál, és a graft károsodását eredményezheti.

#### **2.3.1.1 Kortikoszteroidok (prednisolone, prednisone, methyl-prednisolone)**

Összetett, gyulladáscsökkentő és immunmoduláló hatásukat citoplazmatikus receptorukhoz kötődve, majd a sejtmagba jutva, a gén transzkripció befolyásolásával fejtik ki. Hatásukra csökken az interleukin (IL)-1, IL-2, IL-6, az interferon (IFN)- $\gamma$  és a tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  szintézise, de csökkentik a prostaglandinok képzését, a histamin és a bradykinin felszabadulást is. Gátolják a monocyta, macrophag funkciót, csökkentik a keringő CD4<sup>+</sup> T-lymphocyták számát. A kortikoszteroid az immunszuppressziós gyógyszerkombinációk egyik alapvető összetevője. Nagy dózisban alkalmazva hatékony gyógyszer a kilökődési reakció kezelésekor [<sup>14,107,108</sup>].

### 2.3.1.2 Calcineurin gátló szerek/inhibitorok (cyclosporine, tacrolimus)

Gátolják az antigén indukálta T-lymphocyta aktivációt és proliferációt, ezzel megakadályozzák az immunválasz kialakulását. Normál körülmények között a T-sejt receptor és a donor MHC (major histocompatibility complex) antigén kötődés kalcium-függő jelátviteli utat, a calcineurint, egy kalcium/kalmodulin-függő foszfatázt aktivál. Az aktivált calcineurin defoszforilálja az NF-AT transzkripciós faktort, mely a sejtmagba jutva fokozza bizonyos citokinek (IL-2, IL-3, IL-4, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) genetikai átírását. Az IL-2-nek fontos szerepe van az antigén kiváltotta immunválasz elindításában. A cyclosporine a cyclophilinhez, a tacrolimus az FKBP-12 fehérjéhez (12 kDa FK506-binding protein) kötődik a citoplazmában. Az így létrejött komplexek gátolják a calcineurint, az antigén kiváltotta jelátvitelt, a citokinek, így elsősorban az IL-2 szintézisét, ezzel a T-lymphocyták aktiválódását, proliferációját, és az immunválasz kialakulását [14,109].

### 2.3.1.3 Lymphocyta proliferációt gátló szerek

#### 2.3.1.3.1 Azathioprine

Antimetabolit, mely a szervezetben 6-mercaptopurinná, majd több lépésen keresztül 6-thioguaninná alakul, végül ez épül be a replikálódó DNS molekulába, megállítva ezzel a DNS további replikációt, és a sejtproliferációt. Gátolja a "de novo" purin nukleotid szintézist is, hatása tehát több ponton érvényesül [14].

#### 2.3.1.3.2 Mycophenolic acid / mycophenolsav

A mycophenolsav (MPA) szintén antimetabolit vegyület, számos *Penicillium* species fermentációs terméke. Hatását a lymphocyták „de novo” guanin nukleotid szintézisének gátlásával fejt ki. Célenzime az inozin 5'-monofoszfát dehidrogenáz (IMPDH), melyet nem kompetitív, szelektív, reverzibilis módon tud blokkolni. A nukleozid analóg IMPDH gátló vegyületek (mizoribine, ribavirin) a DNS - repair enzimeket is gátolják, és töréseket okozhatnak a kromoszómákban, ami fokozza a lymphomák kialakulásának kockázatát. Az MPA ilyen mellékhatással nem rendelkezik [110].

Az IMPDH az inozin monofoszfát (IMP), xanhozin monofoszfát (XMP) átalakulást katalizálja. A XMP guanozin monofoszfáttá (GMP) alakul tovább. Az MPA tehát az IMPDH gátlásán keresztül a guanin nukleotid szintézis zavarát eredményezi, a sejtekben csökken a GMP, GDP, GTP és a dGTP készlet, gátlódik a DNS szintézis és a sejtproliferáció. Az MPA lymphocytákra gyakorolt hatása azért szelektív, mert a lymphocyták „de novo” purin nukleotid szintézisre szorulnak, ellentétben más sejtekkel, bennük a salvage mechanizmus nem működik [111,112,113,114,115].

A humán IMPDH két különböző gén által kódolt izoform típusal rendelkezik. Az I. típus a nyugalomban lévő T-és B lymphocytákban expresszálódik, a II. típus pedig akkor, ha a sejt antigén stimulusra aktiválódik. A II. típus mintegy ötször érzékenyebb az MPA iránt, mint az I. típus, fokozva ezzel az aktivált lymphocytákban a mycophenolsav hatékonyságát. Lényeges, hogy a daganatsejtekben az IMPDH II. típusa expresszálódik [110].

A mycophenolsav gyógyszerként használt formája a mycophenolate sodium (MPS) és a mycophenolate mofetil (MMF)[116]. Imunszuppresszív hatása alapján a szervátültetésben, és bizonyos autoimmun betegségek kezelésében alkalmazzuk [117].

#### 2.3.1.3.3 Rapamycin (*sirolimus, everolimus*)

A sirolimus, és a rapamycin szerkezetileg módosított formája, az everolimus a mammalian target of rapamycin-t (mTOR) gátló vegyületek közé tartoznak. A sirolimus és az everolimus is az FKBP12 fehérjéhez kötődik a sejtben, szemben a tacrolimus-szal, azonban nem gátolják a calcineurint. Gátolják viszont az mTOR-t. Az mTOR egy szerin/treonin kináz, számos növekedési faktor és citokin jelátviteli útvonalának fontos fehérjéje, a sejtciklus szabályozásában játszik szerepet. Gátlására a sejtciklus megáll a G1/S fázis átmenetben, ami a T-sejtek aktivációjának és proliferációjának gátlását eredményezi [118,119].

#### 2.3.1.4 Mono- és poliklonális lymphocytá ellenes ellenanyagok

A különböző lymphocytá antigének ellen állatban termeltetett ellenanyagok alkalmazásának indikációja kettős: 1. a szervátültetés utáni közvetlen, indukciós terapia, 2. szteroid kezelésre rezisztens acut rejectio kezelése [120,121,122,123].

#### 2.3.1.4.1 *Monoklonális ellenanyagok*

##### 1. OKT3 (muromonab-CD3)

Az OKT3 a T-lymphocyták CD3 antigénjéhez kötődik, hatására a sejtek lízisének eredményeként a T-lymphocyták percekben belül eltűnnek a keringésből. A sejtszétesés jelentős citokin kiáramlással (leginkább TNF- $\alpha$ ), következményes tünetekkel, lázzal, légzési nehézséggel, tüdőödémával, ARDS-szerű (acut respiratory distress) képpel járhat. A „cytokine release syndrome” megelőzése érdekében a betegek az OKT3 alkalmazása előtt szteroid és antihisztamin gyógyszeres előkészítésben részesülnek. Az OKT3 adását követően három, öt nappal, a T lymphocyták ismét megjelennek a vérkeringésben, de nem expresszálják a CD3 antigént, immunológiailag inkompetensek [124,125,126].

##### 2. Basiliximab, daclizumab (anti-CD25 monoklonális ellenanyag)

A CD25 az aktivált T-lymphocyták által expresszált IL-2 receptor alpha lánc. E gyógyszerek hatásukat a receptorhoz kötődve, kompetitív antagonistaként fejtik ki, megakadályozva ezzel a T-lymphocyták aktiválódását. Citokin kiáramlási reakcióval alkalmazásuk nem jár. Egyetlen adag ellenanyag heteken át kimutatható a vérkeringésben, függően attól, hogy a beteg milyen egyéb immunszuppresszív gyógyszerkombinációban részesül. Szteroid és cyclosporine adása mellett hatástartamuk kb. 7 hét [127].

#### 2.3.1.4.2 *Poliklonális ellenanyagok*

##### Anti-thymocyt globulin (ATG), anti-lymphocyt globulin (ALG)

Humán thymocytákkal vagy lymphocytákkal beoltott nyúlban, vagy lóban termeltetett, IgG típusú ellenanyagok, melyek a T-és B-lymphocyták, NK sejtek, macrophagok különböző sejtfelszíni receptoraihoz kötődnek. Hatásukra az OKT3-hoz hasonló lymphocytá depléció következik be. A komplement mediált citolízis, citokin felszabadulás lázat, bőrpírt, viszketést, ritkán anafilaxiás shockot okozhat („first dose reaction”). A mellékhatások a betegek kötelező gyógyszeres előkészítésével mérsékelhetők [128,129].

### 2.3.2 Az immunszuppresszív vegyületek szerepe a szervátültetést követő daganatok kialakulásában

Bizonyos immunszuppresszív gyógyszerek növelik, mások nem befolyásolják, vagy éppen csökkentik a tumorok kialakulásának kockázatát.

A *kortikoszteroidoknak* a poszttranszplantációs daganatok keletkezésében játszott szerepéről nem rendelkezünk adatokkal. Megítélését az nehezíti, hogy a szteroidok csaknem mindig részesei az immunszuppresszív gyógyszerkombinációknak, önállóan azonban erre a célra nem használatosak. Nem-transzplantált beteg esetén figyeltek meg tartós kortikoszteroid kezelés mellett magasabb bőrrák és non-Hodgkin lymphoma előfordulási arányt [<sup>130,131</sup>].

A *calcineurin inhibitorok* növelik a lymphomák és a solid tumorok kialakulásának kockázatát. Ebben szerepet játszhat, hogy fokozzák néhány, a daganatok keletkezése, progressziója szempontjából fontos citokin, mint pl. a transforming growth factor (TGF)-beta, és a vascular endothelial growth factor (VEGF) szintézisét [<sup>36,132,133</sup>].

Prospektív vizsgálatok egyértelmű összefüggést mutattak a cyclosporine adagja és a tumorok kialakulásának gyakorisága között. Összehasonlítva az alacsony és a standard dózisban adott cyclosporine kezelés eredményeit, 66 hónapos követés során az alacsony adaggal kezelt transzplantált betegek között magasabb volt az acut kilökődési reakció aránya, nem volt különbség a graft- és a betegtúlélésben, viszont szignifikánsan alacsonyabb volt a daganatok gyakorisága [<sup>134</sup>]. Retrospektív elemzés szerint a cyclosporine napi és összdózisa azokban a betegeknél, akikben daganat alakult ki a szervátültetés után, szignifikánsan magasabb volt, mint azokban, akik daganatmentesek maradtak [<sup>135</sup>].

Multicentrikus európai és amerikai riportok nem találtak különbséget a daganat incidencia tekintetében a cyclosporine és a tacrolimus között, ugyanakkor az OPTN/UNOS adatai szerint a legtöbb daganat, a lymphomáktól eltekintve, a tacrolimus mellett szignifikánsan alacsonyabb gyakoriságban fordult elő [<sup>136,137,138,139</sup>].

Az *azathioprine* DNS károsító, a DNS hibáinak kijavítását gátló, a DNS mikroszatellita instabilitást fokozó hatásainak lehet szerepe a karcinogenezisben [<sup>14</sup>]. Az azathioprine alapú és a cyclosporine alapú immunszuppresszív kezelést azonos követési idő mellett összehasonlítva, észak-ír, francia és spanyol közlemények magasabb daganatos incidenciáról számolnak be a cyclosporine therapia mellett [<sup>135,140,141</sup>].



A *mycophenolsav* a guanin nukleotid szintézis gátlása révén antiproliferatív hatású. Ez a hatása kedvezően érvényesül a szervátültetést követően is, mert alkalmazása csökkenti a daganatok kialakulásának kockázatát. A szintén antimetabolit azathioprine-nel összehasonlítva, az OPTN/UNOS adatai szerint a bőrrák, a PTLD és az egyéb solid tumorok a mycophenolsavval kezelt betegek körében szignifikánsan ritkábban fordultak elő [<sup>56,142</sup>].

A *rapamycin* daganatellenes hatású, részint direkt gátolja a tumorsejtek proliferációját, részint apoptózist indukál, gátolja az IL-10 szintézisét, valamint az angiogenezist a VEGF- termelés csökkentése révén. Klinikai beszámolók alapján a rapamycin csökkenti a poszttranszplantációs tumorok kialakulásának kockázatát [<sup>119,143,144,145</sup>].

Az *anti-lymphocytoglobulinok* közül az OKT3 és az ATG indukcióra, vagy a szteroid rezisztens kilökődési reakció kezelésekor alkalmazva, növelik a solid daganatok, de még inkább a PTLD keletkezésének rizikóját. Az anti-CD25 monoklonális ellenanyagok (basiliximab, daclizumab) használata eddigi ismereteink szerint ilyen hátránnyal nem jár [<sup>36,56,87</sup>].

## **2.4 A szervátültetést követő gyakoribb „de novo” daganatok jellemzése**

### **2.4.1 Bőrdaganatok**

#### *Bőrrák*

Felnőttkorban a leggyakoribb poszttranszplantációs daganat, az összes daganat közel felét teszi ki. Gyakorisága a chronicus immunszuppresszió mellett az idővel arányosan növekszik, 10 év után incidenciája 10-15 %. Kialakulásában az immunszuppresszió összetételén és kumulatív dóziséban túl környezeti tényezőknek, elsősorban a napsugárzásnak (pl. Ausztráliában, ahol egyébként is magas a bőrrák előfordulási aránya), és a karcinogén humán papilloma vírusoknak lehet szerepe. Az azathioprine gátolja az ultraibolya sugárzás okozta DNS károsodás kijavítását, elősegítve ezzel a bőrrák keletkezését.

A nem transzplantált lakosság körében a bőrrák két típusa, a basocellularis (BCC) és spinocellularis (SCC) carcinoma közül általában a BCC a gyakoribb, Penn adatai szerint arányuk 5:1. Ez az arány a szervátültetés utáni bőrrákok esetében fordított

(1,8:1), a SCC a gyakoribb. Amíg a SCC a népesség körében az idősebbeket, a hatodik, hetedik életévizedben érinti, addig a transzplantált betegek között jóval fiatalabb, átlagosan harminc, negyven éves korban fordul elő. A poszttranszplantációs SCC agresszívabb, gyakran többszörös lokalizációjú, recidivára hajlamos, és gyakrabban ad regionális nyirokcsomó-áttétet, mint az általános lakosság körében előforduló SCC [36,71, 146,147].

#### *Merkel-sejtes carcinoma*

A bőrrákok egy ritka, neuroendocrin eredetű fajtája. Elsősorban a fejen és a nyakon, ritkábban a végtagokon és a törzsön fordul elő. A BCC-hez és a SCC-hez hasonlóan a szervátültetett beteg között ez is a fiatalabb korban jelenik meg, az esetek közel felében az előzőek valamelyikével társulva. Szintén agresszív viselkedésű [36,148].

#### *Melanoma malignum*

A festékes bőrdaganat a bőrrákokhoz képest kevésbé gyakori a szervátültetés után, a népességhez viszonyítva azonban előfordulása 2-5-szörös. A „ritkább” megjelenés az immunhiányos állapotban azért is meglepő, mert a melanoma malignum általános kezelésében éppen e daganat immunogén jellegét igyekszünk kihasználni, az immunrendszert segítő, erősítő, biológiai válaszmódosító eljárásokat (gamma-IFN, IL-2 terapia, vaccinálás) alkalmazva, így azt várhatnánk, hogy az immunszuppresszió mellett az immunválasz híján, gyakrabban fordul elő. Rizikótényezője a beteg bőrtípusa, a napsugárzás, az immunszuppresszió, és a beteg kórtörténetében szereplő melanoma malignum [36,149,150].

### **2.4.2 Kaposi sarcoma**

A Kaposi Mór által 1872-ben leírt daganat eltérő gyakoriságot mutat a világ különböző pontjain élő populációkban. Genetikai predispositiora utal halmozódó megjelenése Afrika egyes területein, Szaúd-Arábiában és más arab országokban, valamint a zsidó, olasz és görög származásúak között. Ugyanakkor ritkának számít Európában, Észak-Amerikában, vagy Japánban.

Gyakori AIDS betegekben és a szervátültetést követő daganatok között. Aránya elsősorban a veseátültetett betegek esetében magas, incidenciája 400-500-szorosa is lehet az adott ország nem transzplantált népességének. Egyik etiológiai tényezője a HHV8. Cutan formája érintheti a bőrt, főként az alsó végtagokon, a conjunctivát és a garat

nyálkahártyáját is. A visceralis Kaposi sarcoma a gastro-intestinalis traktusban és a tüdőben a leggyakoribb, de egyéb szervben is kialakulhat. Társulhat más daganattal, az AIDS-betegekhez hasonlóan például non-Hodgkin lymphomával. Átlagos megjelenési ideje a transzplantáció után 21 hónap, de az esetek közel fele az első évben fordul elő. Az időben felfedezett és kezelt esetekben van lehetőség a remissiora, a későn felismert, főként visceralis Kaposi-sarcoma azonban a kezelés ellenére magas halálozási aránnyal jár [71,146,151].

### **2.4.3 Egyéb solid daganatok**

A chronicus veseelégtelenségben szenvedő betegekben a húgyúti daganatok kialakulásának kockázata fokozott. A recipiens saját, nem működő, végállapotú veséjében a vesesejtes rák keletkezésének rizikófaktora a polycystas vesebetegség (acquired cystic kidney disease) és az analgeticum okozta nephropathia. A veserák kockázata 30-40-szerese a nem transzplantált lakosságénak [71,152,153].

A lágyszöveti sarcomák (a Kaposi sarcomát nem sorolva ide) szintén gyakoribbak a szervátültetést követően. Prognózisukat biológiai viselkedésük határozza meg. A high grade típusúak gyakran előrehaladott stádiumban kerülnek felismerésre, kiújulásra hajlamosak, az 5 éves betegtúlélés 25 % körüli [154].

Amint az már említésre került, a populáció körében gyakori daganatok (tüdő, vastagbél, emlő, prostata, stb.) nem, vagy csak alig gyakoribbak, sőt, bizonyos esetekben még ritkébbek is a szervátültetést követően. Ettől természetesen nem csökken a jelentőségük, részletes ismertetésüktől azonban eltekintek.

### **2.4.4 Posttransplant lymphoproliferative disorders (PTLD)**

*Jelentősége miatt, továbbá mert a poszttranszplantációs lymphoma a doktori értekezés egyik, kérdést felvető témája, részletesebben foglalkozom vele.*

A szervátültetést követő, „de novo” rosszindulatú daganatok közül a posttransplant lymphoproliferative disorders (PTLD) néven összefoglalt csoportba tartozó lymphoma gyermekkorban az első, felnőtteknél a bőrrák után a második leggyakoribb daganat. A poszttranszplantációs lymphomák első leírója Doak (1968), míg a PTLD kifejezés Starzl-tól származik (1984) [155,156].

A PTLD különböző benignus és malignus lymphoproliferatív folyamatok összefoglaló neve, a mononucleosis infectiosától, lymphoid hyperplasiától egészen a magas malignitású invazív lymphomáig bezárólag [87]. A WHO osztályozás a PTLD-t 3 csoportra osztja [157,158].

I. *Korai elváltozások (Early lesions):*

1. Reaktív plazmasejtes hyperplasia (diffúz B-sejtes hyperplasia).
2. Mononucleosis infectiosa
3. Atípusos lymphoid hyperplasia

Gyermek- és fiatal felnőttkorban fordulnak elő leggyakrabban, a transzplantációt követő korai elváltozások, melyek az immunosuppresszió adagjának csökkentésére jól reagálnak.

II. *Polymorph PTLD:*

1. poliklonális
2. monoklonális

III. *Monomorph PTLD:*

1. B-sejtes lymphomák – Diffúz nagy B-sejtes lymphoma, Burkitt/Burkitt-szerű lymphoma, Plazmasejtes myeloma
2. T -sejtes lymphomák – Perifériás T-sejtes lymphoma, Ritka típusok (gammadelta, hepatosplenic, T/NK sejt)
3. Egyéb típusok – Hodgkin lymphoma-szerű, Plasmocytoma-szerű elváltozások B és T sejtes, high-grade, invazív lymphomák tartoznak a III. csoportba, melyek a nem transzplantált populációban előforduló non-Hodgkin lymphomáknak felelnek meg.

A betegek sorsa szempontjából kiemelt jelentőségű lymphomák kialakulásának kockázata veseátültetés után 20-szoros, szív-tüdőtranszplantáció után mintegy 120-szoros a nem transzplantált populációhoz képest [159]. A PTLD incidenciája eltérő felnőtt- és gyermekkorban, de eltérő a különböző átültetett szervek esetében is. Gyakorisága felnőttkorban veseátültetés után 1-2,3%, májátültetés után 1-2,8%, szívtranszplantáltakban 1-6,3%, szív-tüdőtranszplantáltakban 2,4-5,8%, tüdőtranszplantáltakban már 4,2%-10%, vékonybélátültetés után pedig gyakorisága elérheti a 20%-t is [87,160,161,162]. A PTLD incidenciája lényegesen magasabb gyermekkorban. Vesetranszplantáltakban 1,2-10,1%, májtranszplantáltakban 4-15%, szív-, tüdő-, szív-tüdőtranszplantáltakban pedig 6,4-19,5%. A szív- és tüdőátültetés után

azért gyakoribb a PTLD, mert ezen szervek esetén erélyesebb az alkalmazott immunszuppresszió [87,163,164].

A PTLD szervátültetést követően csaknem mindig a recipiens lymphoid sejtjeiből ered, míg csontvelő- és őssejtátültetés után a donorból is származhat.

A keletkezésükben feltételezett etiológiai tényezők között szerepel maga az átültetett szerv, mint chronicus antigénstimulus, továbbá az „agresszív” immunszuppresszió, a többes gyógyszerkombináció, különösen, ha annak részeként a beteg akár indukciós kezelésként, akár acut rejectio miatt OKT-3, vagy ATG terapiában is részesült [36,66,100,101,159]. A vírusok közül az Epstein-Barr vírus daganatkeltő szerepe igazoltnak látszik. A recipiens EBV seronegativitása, mely gyermekkorban gyakori, azért fontos kockázati tényező, mert PTLD kialakulása lehet a primer EBV fertőzés következménye. Elsősorban ezzel magyarázható a PTLD gyakoribb előfordulása gyermekkorban [163,165]. A tüdőtranszplantáltak magasabb PTLD incidenciájának magyarázata lehet az EBV seronegativ betegek EBV infectioja az átültetett tüdő bronchus asszociált lymphoid szöveteivel átvitt, nagyszámú, EBV fertőzött lymphocytája révén [87]. A PTLD kockázatának 10-50-szeres növekedését jelenti, ha EBV seronegativ recipiens EBV seropositiv donortól kap szervet [166,167]. A cytomegalovírus és a hepatitis C vírus, az EBV kofaktoraként néhány szerző szerint szintén növeli a PTLD kockázatát [36,91,94,168,169].

További rizikótényező a recipiens 20 év alatti kora, az anamnézisében szereplő malignus daganat, a HLA egyezés mértéke, és az ezzel összefüggő, acut rejectio előfordulása a transzplantáció utáni első évben [170,171]. Kockázati tényező maga az immunszupprimált állapot, melynek következménye az EBV fertőzött B-sejtek elpusztítását végző, EBV-specifikus cytotoxicus T- lymphocyták (CTL) funkciójának zavara. Az immunszuppresszió mértékének csökkentése a CTL funkció helyreállítása révén lehet eredményes a korai PTLD kezelésében [87,172].

Retrospektív tanulmányok alapján úgy tűnik, a calcineurint gátló vegyületek (cyclosporine, tacrolimus), az OKT3 és az ATG növelik a PTLD kockázatát. Az IL-2 receptor gátló ellenanyagok (daclizumab, basiliximab), a rapamycin, az azathioprine, a mycophenolate mofetil viszont nem növelik, vagy akár csökkenthetik is a PTLD rizikóját [14,36,87,144,145,173].

Európában és az USA-ban a poszttranszplantációs lymphomák kb. 85%-a B-sejt eredetű, melynek mintegy 80% EBV-asszociált. A T-sejt eredetű PTLD aránya 10-15%, ugyanakkor a Távol-Keleten a HTLV vírus elterjedtségének köszönhetően aránya magasabb, 40% körüli. Az NK-sejtből származó forma rendkívül ritka [<sup>87,174,175</sup>].

A PTLD a szervátültetést követően bármely időben előfordulhat, mégis, kialakulásának legnagyobb a kockázata az első évben. Ennek megfelelően kell megkülönböztetnünk korai (early PTLD) és késői (late PTLD) formát, melyek a kezelésre adott válaszkészségük, prognózisuk szempontjából is különböznek, a késői PTLD a rosszabb prognózisú. Az első év után a PTLD kockázata az idővel arányosan csökken. A PTLD korai megjelenése elsősorban a szív-és tüdőtranszplantáció után jellemző, az esetek közel fele az első évben jelenik meg. A veseátültetett betegeknél a PTLD-nek csak 20 %-a korai manifesztációjú. A különbség oka a szív-és tüdőátültetett recipiensknél alkalmazott nagyobb dózisú immunszuppresszió és indukciós kezelés [<sup>159,176</sup>]. A Transplant Collaborative Study adatai alapján 100.000 recipiensre vonatkoztatva az első évben 224, a második évben 54, a hatodik évben 31 eset várható [<sup>87,159,177</sup>].

Klinikai megjelenésében a PTLD változatos tünetekkel jelentkezik, így gyakori a láz, a lymphadenomegalia, a fogyás, de előfordulhat bélperforatio és septicus shock képe is. Gyakori az extranodalis manifesztáció (máj, tüdő, bél, vese, tonsilla, csontvelő, bőr). A központi idegrendszeri érintettség elérheti a 30%-t is, amely lényegesen magasabb, mint a nem transzplantált populációban észlelt 1%-os előfordulási arány non-Hodgkin lymphoma esetén [<sup>87,178</sup>].

A PTLD megjelenhet az átültetett szervben is. A graftban való megjelenés valószínűsége összefügg a transzplantációtól eltelt idővel. Tüdőtranszplantált betegek esetén az első évben kialakuló PTLD több mint 50 %-ban az átültetett graftban jelenik meg. Egy év után azonban a tüdőben már egyre ritkábban, kevesebb, mint 15%-ban alakul ki lymphoma [<sup>159,161,179</sup>].

A betegség prognózisa kedvezőtlen, a daganat a kezelésre rosszul reagál, a betegek fele a daganat felismerését követően egy éven belül meghal, az 5 éves túlélés 30 % körüli [<sup>36,87,159</sup>].

## 2.5 A szervátültetést követő rosszindulatú daganatok kezelése

A poszttranszplantációs rosszindulatú daganatok kezelése, lényegét tekintve nem tér el a hagyományos onkoterapiától. A daganat típusa, stádiuma, a beteg általános állapota, teherbíró képessége (műtétre, chemo-radiotherapiára való alkalmassága), társbetegségei határozzák meg a választható kezelési módot. A rossz cardiovascularis, pulmonalis status, a cukorbetegség szövődményei, stb. olykor nem is teszik lehetővé a korrekt daganatellenes kezelést. A betegek és daganataik rosszabbul reagálnak a kezelésre, mint az a nem transzplantált populációban tapasztalható, összességében rosszabb a betegek túlélése, a betegség prognózisa.

A poszttranszplantációs daganatok kezelésében sajátos probléma maga az immunszuppresszió. Alkalmazására szükség van a transzplantált szerv védelme érdekében, oncológiai szempontból viszont egyértelműen hátrányos. A kérdés tehát, hogy mi történjék az immunszuppresszióval. A lehetőségek: 1. változatlanul hagyjuk, 2. csökkentjük az adagját, 3. teljesen elhagyjuk, 4. más gyógyszerkombinációra váltjuk át. A döntés nem könnyű, mindig egyénre szabottan kell azt meghozni.

Választásunk alapvetően attól függ, hogy milyen szerv átültetése történt. Az immunszuppresszió adagjának csökkentése, vagy elhagyása a graft károsodásának, funkció romlásának veszélyével járhat. A szív, tüdő, máj esetében ez a beteg életének közvetlen fenyegetője lehet, a kieső szervi funkció itt nem pótolható, immunszuppresszióra a graft működése és a beteg élete szempontjából valamilyen formában szükség van. A vese és hasnyálmirigy esetében a graftvesztés művesekezeléssel, insulintherapiával pótolható, ám ez a beteg életminőségének rosszabbodását eredményezi.

Döntésünk további meghatározója a daganat stádiuma. Az előrehaladott betegség esetén, ahol tudjuk, hogy nincs mód érdemi kezelésre, a beteg életminőségét kell inkább szem előtt tartanunk, nem kényszerítve őt például az immunszuppresszió elhagyásával a sorsát tovább nehezítő művesekezésre. A beteg megfelelő tájékoztatás után hozott döntését, kérését, pl., hogy nem szeretne a dialysisre visszakerülni, tiszteletben kell tartanunk. Vesebetegek esetén gyakorlati nehézséget jelenthet a betegek és orvosainak a másodnapokénti haemodialysist (mely az utazással együtt a nap jelentős részét is kitöltheti) az esetleg egészen máshol zajló cytostaticus, vagy sugárkezeléssel összeegyeztetni, és megvalósítani.

Figyelembe kell vennünk azt is, hogy ha a beteg kezelésének részeként chemoterapiában is részesül, annak is van átmeneti immunszuppresszív hatása.

A poszttranszplantációs daganatok kezelésében és az immunszuppresszió megválasztásában segítséget jelent, hogy az immunszuppresszív gyógyszerek között cytostaticus hatású vegyületek is vannak. Adottnak látszik a lehetőség, hogy a daganatos, transzplantált betegek immunszuppresszióját ne hagyjuk el, hanem rapamycinre konvertáljuk, megőrizve ezzel a transzplantált szervet, ugyanakkor segédkezet nyújtva a daganat ellenes kezeléshez is [<sup>14,36,56,180,181</sup>].

## **2.6 A szervátültetést követő rosszindulatú daganatok jelentősége**

A poszttranszplantációs daganatok kialakulásának fokozott rizikóját a transzplantáció történetének már a kezdeti időszakában észlelték, ebben a periódusban azonban a tumorspecifikus morbiditás és mortalitás problémája még kisebb jelentőséggel bírt. A beteg- és grafttúlélést elsősorban immunológiai és egyéb, például sebésztechnikai tényezők határozták meg. A gyakorlattal párhuzamosan finomodott a műtéti technika, csökkent a vascularis szövődmények gyakorisága, és javult az immunszuppresszió határfoka is, ezzel csökkent az acut rejectiók aránya. Mindezek a szervátültetés egyre javuló túlélési mutatóit eredményezték. A szövődmények között a hangsúly a fertőzésekre, a cardiovascularis komplikációkra és a rosszindulatú daganatokra tevődött át. Az immunszuppresszív protokollok változása, és a bakteriális, virális és gombás fertőzések megelőzése és kezelési eredményeinek javulása csökkentette az életveszélyes infectiók gyakoriságát. A cardiovascularis szövődmények főleg a vese-és szívtranszplantált betegek esetében jelentik ma a legfontosabb rizikót, ezt azonban csökkenteni lehet a hipertonia, hyperlipidaemia hatékony kezelésével és a megfelelő immunszuppresszív gyógyszerkombinációk alkalmazásával [<sup>182,183,184</sup>].

A szervátültetést követő daganatok aránya világszerte, drámaian növekszik. A tumorok a transzplantált betegek sorsának egyik meghatározó tényezőjévé váltak. Kialakulásuk növekvő kockázata alapvetően két okra vezethető vissza. Az egyik a hatékony immunszuppresszió is köszönhető, hosszú távú graft- és betegtúlélés, ami a daganatok kialakulása szempontjából lényeges, hosszabb immunszupprimált állapotot is jelenti. Az eltelt idővel párhuzamosan növekszik a tumorok gyakorisága, a kumulatív



incidencia 10 év után 20 %. A másik tényező a recipiensek átlagéletkorának növekedése. Részint egyre idősebb betegek kerülnek transzplantációra, részint a recipiensek az átültetett szerv révén egyre magasabb életkort érnek meg. Az idős életkor növeli a daganatos kockázatot. Buell úgy értékeli, hogy a következő években a szervátültetést követő rosszindulatú daganatok mortalitása meg fogja haladni a cardiovascularis eredetűt [<sup>36,56,185</sup>].

Egy adott betegség népegészségügyi jelentőségét az adott populációt érintő megbetegedések között, az előfordulási gyakoriságán túl, a halálzásra gyakorolt hatása is meghatározza. A különböző transzplantációs központok adataiból kiderül, hogy a poszttranszplantációs daganatokból származó halálzás aránya magas, és a transzplantációtól elelt idővel párhuzamosan, egyre növekszik. Az ANZTR szerint 10 évvel a veseátültetés után a betegek halálzásában a nem bőr eredetű daganatok aránya 26 % [<sup>186</sup>]. A North Italian Transplant Program szerint a veseátültetett betegek 10 éves túlélési aránya daganatmentesen 92,8%, míg a tumoros betegeké 56,6%. A bőrrák és a Kaposi sarcoma esetén a 10 éves túlélés 82,2%, a solid tumorok esetében 54,4%, míg PTLD-nél 46,4% [<sup>187</sup>]. A University of Florida különböző transzplantációs időszakokat hasonlít össze. Eszerint a tumoros eredetű halálzás aránya 1970-1979 között 1,2 %, 1980-1989 között 5,2%, 1990-1999 között pedig 13,3% volt. A növekvő arányt a hosszabb graft-és beteg túléléssel, a betegek átlagéletkorának növekedésével és az újabb immunszuppresszív vegyületek alkalmazásával magyarázzák [<sup>188</sup>]. Az OPTN/UNOS adatai szerint a daganatos mortalitás a szervátültetés utáni 5-10 év között, veseátültetés esetén 14,5%, májátültetésnél 18,7%, szívtranszplantáció után pedig 21,5% [<sup>189</sup>].

A daganatos betegek túlélését, halálzását több tényező befolyásolja. A daganat típusa, differenciáltsága, stádiuma, kezelhetősége, a beteg általános állapota, kezelhetősége, a kezelésre adott válasz, mind meghatározói a prognózisnak. A tumor már önmagában fontos tényező. Májtranszplantált betegekben például 3 éves daganatos követés mellett, bőrrák esetén 15%, genito-urinalis rákok esetén 40%, gastro-intestinalis daganatok kapcsán 60%, légúti tumoroknál 62,5%, oropharyngealis rák esetén 71,4% volt a halálzás arány [<sup>190</sup>]. A poszttranszplantációs daganatok között gyakori PTLD halálzása átlagosan 50 %, a korai típusé 30%, míg a késői típusé magasabb, 70% körüli, tehát a rossz prognózisú tumorok közé tartozik [<sup>87,159,191,192</sup>].

A transzplantált betegek túlélésének, halálozásának a tumor csak az egyik, bár kétségtelenül fontos meghatározó tényezője. Legalább ennyire lényeges azonban az átültetett szerv működésnek a megőrzése is. A funkciójukban más módon nem pótolható transzplantált szervek, a máj, szív, tüdő esetében, a graft, és ezzel a beteg élete védelmében, valamilyen immunszuppresszióra szükség van. A daganatos transzplantált betegek esetében az ideális immunszuppresszív szer az lenne, amely védelmet biztosít a kilökődési reakció ellen, ugyanakkor nem rontja az oncológiai terapia eredményét. Bár e kérdés kapcsán számos közlemény a rapamycin immunológiai és oncológiai szempontból egyaránt kedvező hatásáról számol be, a probléma korántsem megoldott, hisz a rapamycin sem mellékhatásoktól mentes (gyakori pulmonális szövődmények), másrészt önmagában, egyedül alkalmazva nem elegendő a hatékony immunszuppresszió biztosításához [<sup>118,119,124,144,145,173,193</sup>]. Szükség van tehát további, a daganatos transzplantált betegek kezelésében használható immunszuppresszív vegyületre.

*Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy a szervátültetést követően kialakult rosszindulatú daganatok növekvő gyakoriságuk és kedvezőtlen prognózisuk miatt a betegek sorsa szempontjából egyre nagyobb jelentőségűek, a betegek túlélésének egyik legfontosabb meghatározó tényezőjévé kezdenek válni. A tumorok lehetőség szerinti megelőzése, korai felismerése és kezelése mellett külön hangsúlyt kap e speciális helyzetben a daganatban szenvedő, transzplantált betegek túlélését segítő immunszuppresszió alkalmazása.*

### 3 CÉLKITŰZÉS

A kutatói munka fő témájaként a szervátültetést követő rosszindulatú daganatok problémáját választottam. A bevezetésből és az irodalmi háttér bemutatásából is kiderül a téma klinikai jelentősége, fontossága. Célkitűzésem a munka során kettős volt.

#### **3.1 A budapesti transzplantációs munkacsoport által 1973. és 2007. között végzett veseátültetések után észlelt rosszindulatú daganatok adatainak elemzése**

A mindennapi munka során a budapesti Transzplantációs és Sebészeti Klinikán is egyre több poszttranszplantációs daganatot észlelünk, egyre több daganatos beteget kell kezelnünk. A szervátültetés e súlyos, a betegek sorsát meghatározó szövődményével csak akkor tudunk reális eséllyel szembe nézni, ha a betegek gondozása során gondolunk a lehetőségére, törekszünk a megelőzésére, kockázatának csökkentésére, ha megpróbáljuk a daganatokat még „időben” felismerni és kezelni. Ehhez azonban az irodalmi adatokon túl ismernünk kell itthoni jellegzetességeit, képet kell formálnunk róla. Természetesen a poszttranszplantációs tumorok hazai megismerésére eddig is törekedtünk. Az eltelt idő, és az 1994-től jelentősen megszorodott számú veseátültetések következtében azonban mára lényegesen nagyobb számú daganatos beteg adatának elemzésére van lehetőség, mint korábban.

Nem volt mód mind a négy, magyarországi transzplantációs centrum (Szeged, Debrecen, Pécs, Budapest) anyagát feldolgozni. *A Budapesten 33 év alatt végzett, közel 2900 veseátültetés alapján azonban lehetőség kínálkozik a poszttranszplantációs tumorok „hazai” sajátosságainak megismerésére, és a betegellátást segítő következtetések megfogalmazására. Munkám egyik célkitűzése ennek az elemzésnek az elvégzése volt.*

### **3.2 A mycophenolsav, mint immunszuppresszív szer humán, non-Hodgkin lymphomákra gyakorolt hatásának in vitro és állatkísérletes vizsgálata**

A poszttranszplantációs daganatok közül gyakoriságuk és kedvezőtlen prognózisuk miatt, a PTLD csoportba tartozó lymphomák jelentik az egyik legnagyobb klinikai problémát (2.4.4. alfejezet). Kezelési lehetőségeik érdemben nem különböznek a „hagyományos” lymphomákétól. A terapia egyik fontos kérdése, hogy mi történjék az immunszuppresszióval. A kezelés kezdetkor ajánlott az adagját csökkenteni, vagy azt el is hagyni. A kezelés eredményeként remisszióba került betegeknél azonban a transzplantált szerv védelme érdekében, valamilyen immunszuppresszív kezelésre szükség van. A kérdés, hogy mit adjunk. A 2.6 alfejezetben megfogalmazottak szerint az „ideális” immunszuppresszív vegyület az lenne, mely szolgálja a graft védelmét, ugyanakkor oncológiai szempontból is kedvező a hatása. E feladatra leginkább a sejtproliferációt gátló szerek csoportjába tartozó vegyületek (2.3.1.3 alfejezet) látszanak alkalmasnak. In vitro és in vivo vizsgálatok eredménye alapján erre a célra, az e témával foglalkozó közlemények a rapamycint ajánlják [36,56,87,194]. Egyetlen vegyület azonban az immunszuppresszió biztosításához nem elegendő, a rapamycint is kombinálni kell más szerrel, toxicus mellékhatásai esetén pedig más immunszuppresszív gyógyszerre van helyette szükség. A célra alkalmasnak ítélt, további vegyületekre vonatkozó irodalmi ajánlás egyelőre azonban nincs.

*A lymphomában szenvedő transzplantált betegek immunszuppressziójának kérdése tehát nem megoldott, a rapamycin mellett szükség van további, alkalmazható vegyületekre.* A klinikum felvetette problémán elgondolkodva, az immunszuppresszív gyógyszerek hatásmechanizmusának ismeretében kézenfekvőnek tűnt, hogy ezt a további, alkalmas vegyületet a sejtproliferáció gátlásával ható csoportban keressük. Így került figyelmünk középpontjába a mycophenolsav, mely immunszuppresszív hatását az aktivált T-lymphocyták „de novo” purin nukleotid szintézisének gátlásával fejtí ki, sejtproliferációt gátló, antimetabolit vegyület (2.3.1.3.2. alfejezet). Antiproliferatív hatását hasnyálmirigyrák, nem kissejtes tüdőrák, vastagbél adenocarcinoma és néhány haematológiai (főként T-sejtes, és egér eredetű) daganat (K562 humán erythroleukaemia, L1210 egér leukaemia, Molt-4 T sejtes leukaemia, S-49 egér T-sejtes lymphoma, A3.01 T-lymphoblast, Daudi lymphoma, myeloma multiplex) esetében írták le [195,196,197,198,199,200].

*A lymphomában szenvedő transzplantált betegek immunszuppressziójának problémája és a mycophenolsav aktivált lymphocytákban észlelt, proliferációt gátló hatásának ismerete alapján munkám másik célkitűzése a mycophenolsav különböző, EBV pozitív és negatív, humán, B-sejtes non-Hodgkin lymphomákra gyakorolt hatásának in vitro és állatkísérletes vizsgálata volt.*

Proliferációt gátló tulajdonságának jelentősége lehetne a poszttranszplantációs lymphomában szenvedő betegek kezelésében és immunszuppressziójának kiválasztásakor, valamint, szélesebb körben, a terapia bővülését jelenthetné a nem transzplantált betegek lymphomáinak chemoterapiájában is.

## 4 MÓDSZEREK

### 4.1 Betegek és módszerek a veseátültetések után észlelt rosszindulatú daganatok adatainak elemzésekor

A vizsgált időszak az első budapesti veseátültetés napjától, 1973. november 16.-tól 2006. december 31. terjed. A Semmelweis Egyetem I.sz. Sebészeti Klinikáján, majd 1994-től a Transzplantációs és Sebészeti Klinikán működő transzplantációs munkacsoport ezidő alatt 2852 veseátültetést végzett. 2535 beteg részesült először, 294 másodsor, 23 pedig harmadszor vesetranszplantációban.

A veseátültetést követően a betegeket az erre a célra kialakított ambulancián ellenőrizzük mindaddig, míg a betegek vesegraftja működik és nem szorulnak reguláris művesekezelésre. Kórházi ellátást igénylő szövődmény esetén a betegeket nephrologiai-transzplantációs osztályunkra tudjuk felvenni, vagy ha szükséges, más speciális osztályra helyezük. A betegekkel kapcsolatos adatokat, beleértve a rosszindulatú daganatokra vonatkozóakat is, számítógépes adatbázisban rögzítjük. Retrospektív feldolgozásunk is erre az adatbázisra épül. Az ellenőrzött járóbetegek száma aktuálisan változó, 2007 januárjában 1300 beteget kontrolláltunk működő grafftal. Az összes vesetranszplantált beteg 2%-a esett ki a követésből. A daganatos betegek esetén az átlagos követési idő 94,1 hónap volt.

188 betegben észleltük rosszindulatú daganat kialakulását. A férfi nő arány 2,19:1 (129/59) volt. A betegek átlagéletkora  $53,1 \pm 10,1$  év nek bizonyult, a férfiak idősebbek voltak ( $54,3 \pm 10,0$  év), mint a nők ( $51,4 \pm 9,9$  év), a különbség szignifikáns ( $p=0,017$ ). 170 beteg részesült először, 18 pedig másodsor veseátültetésben. A donor és recipiens közötti HLA eltérés átlagosan  $2,83 \pm 0,6$  volt.

A veseátültetés utáni, és a magyar lakosság körében előforduló rosszindulatú daganatok incidenciáját a Magyar Nemzeti Rákregiszter adatai alapján hasonlítottuk össze [201]. A Nemzeti Rákregiszter 2000-től működik, ennek az évnek az adatai azonban még nem teljeseek. Ottó és Kásler 2001-2004 évi adatokat közöl, ezért az összehasonlításban ennek a 4 évnek a kumulatív adatait vetettük össze a szervátültetést követő első 4 évben megjelent daganatokkal ( $n= 101$ ). A daganatok incidenciáját 100

ezer lakosra vonatkoztatva, a Központi Statisztikai Hivatal számítógépes honlapján ([www.ksh.hu](http://www.ksh.hu)) szereplő, 2001-2004 évi, magyarországi lakossági adatokat (összes lakos, férfiak és nők száma) felhasználva adtuk meg. A poszttranszplantációs tumorok incidenciájának korcsoport és nemek szerinti meghatározására az alacsony esetszám miatt nem volt lehetőség. Az egyes daganatok TNM – stádiumának meghatározásához szükséges betegadatok nem voltak teljeskörűek, ezért a besorolást nem tudtuk elvégezni.

A daganatos betegek az alkalmazott immunszuppresszív kezelés alapján 4 csoportba oszthatók.

I.csoport: Azathioprine + szteroid (n=16), (8,5%)

II.csoport: Cyclosporine + szteroid (n=111), (59,0%)

III.csoport: Cyclosporine + mycophenolate mofetil + szteroid (n=50), (26,6%)

IV.csoport. Tacrolimus + mycophenolate mofetil + szteroid (n=11), (5,9%)

A 4 különböző immunszuppresszív gyógyszerkombinációt nem egyidejűleg, egymás mellett, hanem időben egymást követve, az új gyógyszerek hazai megjelenésének és bevezetésének megfelelően alkalmaztuk. Az I.csoport betegek 1973-tól, az úgynevezett konvencionális immunszuppresszióban részesültek. Ezt váltotta fel a cyclosporine 1984-ben (II.csoport), majd 1997-ben egészült ki a cyclosporine + szteroid kombináció a mycophenolate mofetil-lel (III.csoport). 2000-től használjuk a vesetranszplantált betegek esetében is a tacrolimust (IV.csoport). Indukciós kezelést, immunoterápiát (OKT3, ATG, anti-CD25 monoklonális ellenanyagok) a második, vagy harmadik veseátültetésben részesülő betegek esetében végeztünk.

Az adatok elemzéséhez leíró statisztikát (n, átlag, szórás/ $\pm$ SD) alkalmaztunk. Az egyes csoportok adatainak összehasonlításához a Fischer t-tesztet, a variancia analízishez az egyszempontú ANOVA módszert használtuk. A szignifikanciát a Student *t*-teszt segítségével határoztuk meg. Szignifikáns eltérésnek a  $p < 0.05$  értéket tekintettük. A túlélésanalízis Kaplan-Meier módszerrel, a betegcsoportok túlélésének összehasonlítása a long-rank teszt segítségével történt. A statisztikai analízist a SAS version 8.2 for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) programcsomag felhasználásával végeztük.

## 4.2 Módszerek a mycophenolsav, mint immunszuppresszív szer humán, non-Hodgkin lymphomákra gyakorolt hatásának *in vitro* és állatkísérletes vizsgálatakor

### 4.2.1 Sejttenyésztés

A munkánk során használt sejtvonalak:

1. **HT58** (EBV negatív),
2. **BL41** (EBV negatív, ATCCszám: CRL-2323),
3. **BL41/95** (EBV transzfektált variáns) humán, Burkitt-típusú, B-sejtes non-Hodgkin lymphoma sejtvonalak,
4. **MED-B1** humán, diffúz, nagy B-sejtes non-Hodgkin lymphoma (DLBCL) sejtvonala,
5. **U266** myeloma sejtvonala (TIB-196) [<sup>202,203,204</sup>].

A HT58, BL41, BL41/95 és U266 sejteket RPMI-1640 médiumban (Sigma), a MED-B1 sejteket RPMI-1640 és ISCOVE's médium (1:4) keverékében, 10% FCS (Sigma) és penicillin-streptomycin (100 U/ml-100 µg/ml, Sigma) jelenlétében, 37 °C-on, 5% Co2 koncentráció mellett tenyésztettük.

A 0-72 órás, *in vitro* kezelésekhez Mycophenolic acid (MPA) (Sigma, 500 mM, DMSO-ban oldva), valamint guanozin (Sigma, 4 mM – H<sub>2</sub>O-ban oldva) törzsoldatokat használtunk, ezeket –20 °C-on tároltuk. Kísérleteink során az MPA (0,05-50 µM) és a guanozin (0,1-100 µM) koncentráció és időfüggő hatásait 1-2x10<sup>5</sup> sejt/ml induló sejtszám mellett 24-es sejttenyésztő tálcán és T25-ös tenyésztő flakóban vizsgáltuk. Minden esetben legalább három független kísérletsorozatot végeztünk, minimum 3 párhuzamos vizsgálattal.

### 4.2.2 Áramlási citometriai vizsgálatok

Kísérleteinkben a sejtciklus változásait és az apoptózis mértékét áramlási citometriával (FACS) detektáltuk [<sup>205</sup>]. A méréshez minden mintából 2-3x10<sup>5</sup> sejtet, centrifugálás (10 perc, 1000 rpm) után fixáltunk (–20 °C-os 70%-os etanol). Inkubáció (20 perc szobahőmérsékleten, minimum 30 perc –20 °C-on), centrifugálás (10perc, 1000 rpm) után lúgos extrakció (200 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7,4, 1µg/ml RN-ázA, 15 perc szobahőmérsékleten) és ezeket követő ethidium-bromid festés (15 perc inkubáció szobahőmérsékleten) segítségével készítettük elő a mintákat a méréshez [<sup>206</sup>]. Az



etidium-bromid fluoreszcencia intenzitása jelentősen megnő DNS-hez kötődve, így a sejtekben levő DNS tartalom, illetve apoptotikus sejtek esetében ennek csökkent mértéke (lúgos hidrolízis során a fragmentált DNS „kioldódik” az apoptotikus sejtekből, ezek DNS tartalma csökken) jól detektálható.

A mitochondrium depolarizáció mértékének meghatározásakor  $5 \times 10^5$  natív sejt DiOC6 (10 nM, Molecular Probes) és propidium iodide (5  $\mu\text{g/ml}$ ) festését (15 perc) követően, a mérhető fluoreszcencia intenzitásbeli változás detektálását 530-620 nm-en, szintén flow cytometria segítségével végeztük el [<sup>207</sup>].

A mintákat FACScan és FACSCalibur (Becton Dickinson) áramlási citométerrel mértük (6000-10000 sejt/ mérés), az eredmények kiértékelését WinList (Verity Software House) programmal végeztük.

#### **4.2.3 Kaszpáz2 és kaszpáz3 aktiváció vizsgálata**

$0,5 \times 10^6$  sejtet centrifugálás (2perc, 1200 rpm) és mosás (PBS) után kaszpáz puffer oldatban (50 mM HEPES, 100 mM NaCl, 0,1 % (w/v) CHAPS, 10 % (w/v) sucrose +10 mM DTT ) vettük fel. A sejteket 96-os ELISA lemezekben, azonos térfogatú puffer (0,2 % Triton X-100) és pipettázás segítségével lizáltuk. A kaszpáz2 aktivitást 0-200-1000 nM zVAD-fmk (Sigma) kaszpáz inhibitor jelenlétében (gátolja a nem specifikus kaszpáz aktivitások hatását a szubsztráton) Ac-VDVAD-afc (50  $\mu\text{M}$ , Bachem) szubsztrát segítségével határoztuk meg. Ac-DEVD-amc, kaszpáz3 szubsztrát (50  $\mu\text{M}$ , Bachem) hozzáadásával a kaszpáz3 aktivitásokat mértük. A felszabaduló fluoreszcencia intenzitásokat fluorescence plate reader (Fluorocan Ascent Fluorimeter) segítségével 15 és 20 perces inkubációs idővel 390/460 nm-en és 400/505 nm-en detektáltuk. Pozitív kontroll vizsgálatként a staurosporin (6h, 1  $\mu\text{M}$ , Sigma) HL60 sejtekben indukálta apoptózist, kaszpáz aktivitás meghatározása szolgált. Az eredmények és a kalibrációs görbe értékelése Microcal Origin Software segítségével történt [<sup>208</sup>].

#### **4.2.4 Western blot**

$2 \times 10^6$  sejtet jégen, 100  $\mu\text{l}$  SDS pufferben lizáltunk (50 mM Tris-HCl, pH 7,5, 150 mM NaCl, 1% NP40, 1 mM PMSF, 10 mM NaF, 0,5 mM sodium vanadate, 10  $\mu\text{g/mL}$  leupeptide and 10% glycerol). A sejtlyizátumot (10 perc, jégen) centrifugálással

tisztítottuk (15000 g, 20perc). A felülúszó fehérje koncentrációját Bradford assay-val határoztuk meg. Egyenlő mennyiségű fehérjét kétszeres mennyiségű SDS minta pufferrel (60 mM Tris-HCl, 2% SDS, 20% glycerol, 2%  $\beta$ -mercaptoethanol, bromophenolblue) hígítottuk, a fehérje mintát 12,5% SDS-PAGE gélben futtattuk, majd PVDF membránra blottoltuk (BioRad, Herentes, CA,USA) semi-dry blottoló segítségével. A membránokat anti-humán Bcl-2, Bax, Bcl-x<sub>L</sub> (Cell Signaling) és a megfelelő másodlagos ellenanyagok (HRP conjugated anti-mouse, HRP conjugated anti-rabbit, Santa Cruz), valamint ECL (Pierce, Rochford, IL, USA) hívtuk elő. A megfelelő membránokon a futtatott minták egyforma fehérje tartalmát PonceauS (Sigma) festéssel, és a levetkőztetett membránok, anti-actin antitesttel (Sigma) újrahidizált eredményeivel igazoltuk.

#### **4.2.5 Állatkísérletek: xenograft tumorok létrehozása és vizsgálata**

Xenograft tumorokat immunhiányos SCID (severe combined immune deficiency) egerekben hoztuk létre. Röviden:  $2 \times 10^7$  tumor sejtet 8-10 hetes SCID egerek (20-23 g) hátának bőre alá (subcutan - sc.) oltottuk be. A kontroll állatokban az oltást követő 10-13 napon váltak a tumorok tapinthatóvá, majd láthatóvá. In vivo kísérleteinkben a kezeléshez mycophenolate mofetil-t (MMF) (Cellcept 250 mg capsule, Roche, Basel, Switzerland) alkalmaztunk, 100 mg/testsúlykg, napi egyszeri adagban, per os, szonda segítségével, fiziológias sóoldatban beadva (200 $\mu$ l) [<sup>112</sup>]. (Az állatkísérletekhez a humán gyógyászatban használt vegyületet használtuk. A mycophenolate mofetilből enzimatis bontás révén, a szervezetben keletkezik az aktív metabolit, a mycophenolsav.) A kontroll állatok 200  $\mu$ l fiziológias sóoldatot kaptak szondán keresztül, naponta egyszer. A kontroll és MMF kezelt állatok száma kísérletenként 10-10 volt.

Az állatok testtömegének és a tumorok átmérőinek mérése és regisztrálása a beoltott tumorok tapinthatóvá válásától kezdve, másnaponként történt. A tumorok térfogata a tumorok átmérői alapján, a következő képlet segítségével került kiszámolásra:  $\pi/6 \times (2 \times \text{rövid átmérő} + \text{hosszú átmérő})/3)^3$  [<sup>209</sup>]. A kísérletek végén, az állatok túlaltatása után, a tumorokat eltávolítottuk és tömegüket megmértük.

Az MMF hatásának vizsgálata kétféle kezelési protokoll szerint történt.

1. A kezelést az oltást követően 24 órával kezdtük el és végeztük naponta, folyamatosan, a kísérlet végéig .
2. A kezelést a sc. tumorok tapinthatóvá válása után a 13. napon kezdtük el és végeztük naponta, folyamatosan, a kísérlet végéig. Ekkor arra voltunk kíváncsiak, hogy hatással van-e az MMF a már kialakult tumorok növekedésére is.

Az állatokat az állattartási és kísérleti törvényeknek megfelelően, légkondicionált állatházban tartottuk (55% relatív páratartalom, 25 °C, 12/12 órás sötét/világos ciklusok). Minden vizsgálatot az állatház hivatalos engedélyének megfelelően végeztünk (eng. szám: 399/003/2005).

#### **4.2.6 Morfológiai és immunhisztokémiai vizsgálatok**

Az in vitro kísérletekben megfigyelhető apoptózis morfológiai vizsgálatát, kiértékelését (100-200 µl-t sejtszuszpenzió) citospin segítségével, tárgylemezen, 5 perces metanol fixálás, és hematoxin eosin (H&E) festés után végeztük el.

A kontroll és MMF kezelt állatokból eltávolított tumorokból és különböző szervekből (metastasisok keresése májban, tüdőben, vesében), 4%-os pufferolt formalin fixálás után paraffinos blokkokat készítettünk. A xenograft tumorszövetekben a lymphomasejtek proliferációs és apoptotikus aktivitását vizsgáltuk. H&E festés mellett immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk monoklonális anti-Ki67 (Dako, Glostrup, Denmark), anti-cleaved caspase3 (Cell Signaling) elsődleges ellenanyagok, és streptavidin-biotin peroxidase system (Dako) segítségével Ventana ES automatában. A kontroll és MMF kezelt állatok egy részének hasüregébe 100 mg/testsúlykg bróm-dezoxiuridint (BrdU) (Sigma) fecskendeztünk a kísérlet befejezése előtt egy órával. Ezekből az állatokból az eltávolított tumorokat 60% ethanol + 10% formaldehide oldatban fixáltuk a paraffinba ágyazás előtt. A metszeteken monoklonális anti-BrdU ellenanyag (Becton-Dickinson), Vector Elite ABC kit festéseket végeztünk. Chromogénként minden esetben Diaminobenzidinet (DAB) használtunk.

A mitotikus, proliferáló és apoptotikus sejtek arányát a Ki67, a BrdU és aktív kaszpáz3 (cleaved caspase3) pozitív tumorsejtek számolásával, és a H&E metszetek kiértékelésével (X400) határoztuk meg, metszetenként 1000-1000 sejten. Csak a tumorszövetek olyan részleteit vizsgáltuk, amelyekben stroma elemek és necroticus területek nem voltak. Az értékelést két független vizsgáló végezte.

#### **4.2.7 Lymphomasejtek izolálása xenograf tumorokból és in vitro tenyésztésük**

A kontroll és MMF kezelt állatokból eltávolított tumorokból a lymphomasejteket MACS Columns technika segítségével izoláltuk (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany). Az eljárás lényege röviden: óvatos macerálás, pipettázás után a mononukleáris sejtek szuszpenzióját Ficoll gradiens centrifugálással (Histopaque 1077, Sigma) tisztítottuk. A lymphomasejtekben feldúsult sejtuszuszpenziót anti-humán CD19-MACS microbeads (Miltenyi) ellenanyaggal jelöltük, majd ezt követően MACS Columns (Miltenyi) oszlopok segítségével elválasztottuk a nem lymphomasejtektől. A CD19 humán ellenanyag jelölt sejteket eluálásukat követően 2 hétig in vitro tenyésztettük a fent leírt körülmények között, majd ezt követően teszteltük MPA érzékenységüket in vitro. Minden, az izolálás során leírt lépésben alacsony hőmérsékleten (4 °C), óvatosan, steril körülmények között dolgoztunk, hogy elkerüljük a sejtek lizálását és az esetleges fertőződést. A xenograftumorokból izolált, in vitro tovább tenyésztett lymphomasejtvonalakat vHT58, vBL41, vBL41/95 névvel jelöltük.

#### **4.2.8 Statisztikai analízis**

Az adatok elemzéséhez leíró statisztikát (n, átlag, szórás/±SD) alkalmaztunk. A szignifikanciát a Student *t*-teszt segítségével határoztuk meg. Szignifikáns eltérésnek a  $p < 0.05$  értéket tekintettük. A statisztikai analízist a SAS version 8.2 for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) programcsomag felhasználásával végeztük.

## 5 EREDMÉNYEK

### 5.1 Eredmények a veseátültetések után észlelt rosszindulatú daganatok adatainak elemzésekor

#### 5.1.1 A veseátültetést követően észlelt rosszindulatú daganatok fajtái, incidenciája

Az 1973. november 16. és 2006. december 31. között, veseátültetésben részesült 2535 betegből 188-ban észleltünk összesen 193 rosszindulatú daganatot. A tumorok gyakorisága 7,6% volt. Az előfordult tumorok típusai, gyakorisága és a nemek szerinti megoszlása az **1. számú táblázatban** látható.

**1. sz. táblázat** A veseátültetés után észlelt rosszindulatú daganatok

A daganat típusa	Esetszám	Nemek szerinti megoszlás		A 2535 betegre vonatkozó tumor arány
	n (%)	(n=férfi)	(n=nő)	(%)
Bőrrák	51 (26,4 %)	36	15	2,00
- basocelluláris	33 (17,1 %)	23	10	1,3
- spinocelluláris	18 (9,3 %)	13	5	0,7
Veserák (saját vese)	26 (13,5%)	20	6	1,02
Tüdőrák	15 (7,7%)	14	1	0,60
Kaposi sarcoma	12 (6,2%)	10	2	0,47
Emlőrák	12 (6,2%)	0	12	0,47
Non-Hodgkin lymphoma	10 (5,2%)	8	2	0,39
Májrák	7 (3,6%)	6	1	0,27

A daganat típusa	Esetszám	Nemek szerinti megoszlás		A 2535 betegre vonatkozó tumor arány
	n (%)	(n=férfi)	(n=nő)	(%)
Pajzsmirigyrák	6 (3,1%)	2	4	0,23
Vastagbél-, végbélrák	6 (3,1%)	4	2	0,23
Melanoma malignum	6 (3,1%)	5	1	0,23
Szájüregi rák	5 (2,5%)	2	3	0,19
Gyomorrák	4 (2,0%)	3	1	0,15
Gégerák	3 (1,5%)	3	0	0,12
Méhnyakrák	3 (1,5%)	0	3	0,12
Malignus agydaganat	3 (1,5%)	2	1	0,12
Prostatarák	3 (1,5%)	3	0	0,12
Húgyhólyagrák	3 (1,5%)	3	0	0,12
Hodgkin lymphoma	2 (1,0%)	2	0	0,08
Myeloma multiplex	2 (1,0%)	2	0	0,08
Veserák (graftvese)	1 (0,5%)	0	1	0,04
Acut myeloid leukaemia	1 (0,5%)	0	1	0,04
Hererák	1 (0,5%)	1	0	0,04
Parotisrák	1 (0,5%)	1	0	0,04
Occult daganat	5 (2,5%)	4	1	0,19
Egyéb daganat	5 (2,5%)	2	3	0,19
Összes daganat	193 (100%)	133	60	7,6

A veseátültetést követően kialakult gyakoribb daganatok incidenciáját összehasonlítottam a magyar lakosság daganatainak incidenciájával. Ehhez a Módszerek 4.1 alfejezetben leírt okok miatt, a 4 éves kumulatív incidenciát használtam fel. A két populációban elforduló tumorok gyakorisági sorrendje a **2. sz. táblázatban** látható (a két nem összesítve, férfiak és nők külön-külön) [201].

**2.sz. táblázat** A daganatok gyakorisági sorrendje a veseátültetett betegek és magyar lakosság körében

A daganat lokalizációja/típusa						
Összesített		Férfiak		Nők		
Transzplantált betegek	Magyar lakosság	Transzplantált betegek	Magyar lakosság	Transzplantált betegek	Magyar lakosság	
1. Bőr	Tüdő	Bőr	Tüdő	Bőr	Emlő	
2. Vese	Bőr	Vese	Vastagbél	Emlő	Bőr	
3. Tüdő	Vastagbél	Tüdő	Bőr	Vese	Vastagbél	
4. Kaposi sarcoma	Emlő	Kaposi sarcoma	Prostata	Pajzsmirigy	Tüdő	
5. Emlő	Szájüreg	Non-Hodgkin lymphoma	Szájüreg	Szájüreg	Vérképző-szervi	
6. Non-Hodgkin lymphoma	Prostata	Máj	Húgyhólyag	Méhnyak	Méhtest	
7. Máj	Vérképző-szervi	Melanoma malignum	Vérképző-szervi	Non-Hodgkin lymphoma	Petefészek	
8. Pajzsmirigy	Húgyhólyag	Vastagbél	Gyomor	Vastagbél	Méhnyak	
9. Vastagbél	Gyomor	Gyomor	Vese	Tüdő	Gyomor	
10. Melanoma malignum	Vese	Gége	Gége	Máj	Vese	

A **3. számú táblázat** a 4 év összesítésében mutatja a 100 ezer lakosra jutó, különböző daganatok számát a transzplantált betegek és a magyar lakosság körében. A táblázatban tüntettem fel a két csoport daganatos incidenciájában mutatkozó különbség mértékét is.

**3.sz. táblázat** A veseátültetés utáni és a magyar lakosság körében előforduló rosszindulatú daganatok 4 éves, kumulatív incidenciájának összehasonlítása

<b>A daganat típusa</b>	<b>Daganatok száma/ 100.000 lakos</b>		<b>Incidencia aránya</b>
	<b>Transzplantált betegek</b>	<b>Magyar lakosság</b>	
Az összes daganat	3984,2	2985,9	1,33 x
Bőrrák	986,2	382,2	2,58 x
Veserák (saját vese)	591,8	87,3	6,77 x
Tüdőrák	276,1	426,3	0,65 x
Kaposi sarcoma	433,9	Nincs adat	-
Emlőrák	501,5	584,5	0,86 x
Non-Hodgkin lymphoma	39,4	29,8	1,32 x
Májrák	157,8	48,5	3,25 x
Pajzsmirigyrák	197,2	22,0	8,95 x
Vastagbél-, végbélrák	118,3	346,1	0,34 x
Melanoma malignum	39,4	69,3	0,57 x
Szájüregi rák	78,9	148,7	0,53 x
Gyomorrák	157,8	97,7	1,61 x
Prostatarák	195,0	297,6	0,65 x
Húgyhólyagrák	78,9	99,3	0,79 x

Az adatokból kitűnik, hogy a magyar lakosságra jellemző, gyakori daganatok közül csak a bőr-és gyomorrák mutat magasabb arányt a vesetranszplantált betegek körében, ugyanakkor a tüdő-, a vastagbél-, a szájüregi- és prostatarák incidenciája



alacsonyabb, mint a nem transzplantált populációban. A veseátültetés után lényegesen magasabbnak bizonyult a máj-, vese-, pajzsmirigyrák gyakorisága. A lymphomák esetében az összehasonlítás azért nem teljesen informatív, mert a lymphomák 1 kivételével a veseátültetés után, több mint 5 évvel jelentek meg, tehát nem estek bele a vizsgált, első 4 évre vonatkozó időszakba. A Kaposi sarcoma gyakori volt a transzplantált betegek daganatai között (6,2%), a Nemzeti Rákregiszter azonban erről a daganatról nem közöl adatot, ezért incidenciá arányát nem volt mi alapján meghatározni.

### 5.1.2 A veseátültetés és a daganatok felismerése között eltelt idő

A veseátültetés és a daganatok felismerése között átlagosan 58,5±44,8 hónap telt el. A **4. számú táblázat** mutatja a gyakoribb daganatok megjelenéséig eltelt idő átlagait.

**4.sz.táblázat** A veseátültetés és a daganatok felismerése között eltelt átlagidő

<b>A veseátültetés és a daganat felismerése között eltelt idő</b>	
<b>A daganat típusa</b>	<b>Hónap (átlag±SD)</b>
Bőrrák	55,0±43,6
Veserák (saját vese)	49,8±44,9
Tüdőrák	45,8±38,6
Kaposi sarcoma	19,6±22,7
Emlőrák	74,1±56,9
Non-Hodgkin lymphoma	120,0±52,0
Májrák	58,1±42,2
Pajzsmirigyrák	29,9±28,2
Vastagbél-, végbélrák	42,4±23,8
Melanoma malignum	75,2±25,6
Összes daganat	58,5±44,8

Ez az idő a pajzsmirigyrák és a Kaposi sarcoma esetében volt a legrövidebb, legkésőbb pedig a lymphomák jelentkeztek. Az összes daganatot figyelembe véve a tumorok 11,4%-a (n=22) a vesetranszplantációt követően 6 hónapon, 20,2%-a (n=39) 1 éven belül került felismerésre. A daganatok 35,2%-a (n=68) jelent meg 2 éven, 93,3%-a (n=180) 10 éven belül, 6,7%-a (n=13) pedig 10 év után. Ha a Kaposi sarcomát és lymphomát, melyeket az irodalom szerint a korai, gyors megjelenés jellemezhet, nem vesszük figyelembe, és ezen eseteink (n=22) nélkül számoljuk ki a transzplantáció után eltelt idő függvényében a daganatok megjelenésének arányait, akkor azt találjuk, hogy a tumorok 12,9%-a (n=22) jelent meg 6 hónapon, 18,7%-a (n=32) 1 éven, 34,5%-a (n=59) 2 éven, 92,4%-a (n=158) 10 éven belül, 7,6%-a pedig 10 év után.

A gyakoribb daganatok közül a veserák 38,4%-a, a tüdőrák 20,0%-a, az emlőrák 33,4%-a, a Kaposi sarcoma 58,3%-a jelent meg a veseátültetés utáni első évben. Ugyanakkor lymphomát nem észleltünk ilyen rövid idő elteltével.

Az **5. számú táblázatban** az egyes immunszuppresszív csoportok eseteiben tüntettem fel a daganatok felismeréséig eltelt átlagidőket.

**5.sz.táblázat** A veseátültetés és a daganatok felismerése között eltelt átlagidő az immunszuppresszió szerint különböző betegcsoportokban

	Az immunszuppresszió szerinti betegcsoportok			
	I (n=16)	II (n=111)	III (n=50)	IV (n=11)
Az immunszuppresszió összetétele	Aza-Szter	CyA-Szter	CyA-MMF-Szter	Tacr-MMF-Szter
A veseátültetés és a daganat felismerése között eltelt idő átlaga (hónap ± SD)	<b>107,3</b> ± 74,2	<b>61,2</b> ± 39,2	<b>41,4</b> ±28,2	<b>27,5</b> ± 44,8

*I. Aza-Szter: azathioprine-szteroid, II. CyA-Szter: cyclosporine-szteroid, III. CyA-MMF-Szter: cyclosporine-mycophenolate mofetil-szteroid, IV. Tacr-MMF-Szter: tacrolimus-mycophenolate mofetil-szteroid*

Az egyes csoportokban mutatkozó értékek között szignifikáns a különbség ( $p < 0.0001$ ), az átlagidő egyre rövidebb. Az I.-IV. betegcsoportok ANOVA analízise alapján a daganatok megjelenési idejének rövidülése nem mutat szignifikáns összefüggést a betegek növekvő átlagéletkorával ( $p < 0.14$ ), viszont statisztikailag szignifikáns a kapcsolat az alkalmazott immunszuppresszió változásával ( $p < 0.0001$ ).

A veseátültetést követő első évben megjelent daganatok aránya a különböző immunszuppresszió szerinti csoportokban: I. csoport 12,5% ( $n=2/16$ ), II.csoport 18,9% ( $n=21/111$ ), III.csoport 22,0% ( $n=11/50$ ), IV.csoport pedig 45,5% ( $n=5/11$ ).

### **5.1.3 A különböző immunszuppresszív kezelésben részesült, daganatos vesetranszplantált betegek életkor szerinti összehasonlítása**

A **6. számú táblázat** az alkalmazott immunszuppresszió alapján I.-IV. csoportba sorolt, daganatos betegek átlagéletkorát mutatja a veseátültetés idejében és a daganatok felismerésének időpontjában. Az ANOVA analízis alapján az egyes csoportok szignifikáns különbséget mutatnak a betegek átlagéletkorát tekintve ( $p < 0.003$ ). Az 1973.-tól kronológiailag egymást követő csoportokba tartozó betegek átlagéletkora mind a vesetranszplantáció, mind a daganat felfedezésének időpontjában, a kezdetektől (I. csoport) napjainkig (IV. csoport) folyamatosan növekszik. A IV.csoport betegei átlagosan 19 évvel idősebbek, mint az I. csoportba tartozók.

**6.sz.táblázat** A betegek átlagéletkora az egyes immunszuppresszív csoportokban, a veseátültetés időpontjában és a daganatok felismerésekor

	<b>Az immunszuppresszió szerinti betegcsoportok</b>			
	<b>I</b> (n=16)	<b>II</b> (n=111)	<b>III</b> (n=50)	<b>IV</b> (n=11)
Az immunszuppresszió összetétele	Aza-Szter	CyA-Szter	CyA-MMF-Szter	Tacr-MMF-Szter
A recipiensek átlagéletkora a veseátültetés időpontjában (év ± SD)	<b>37,1</b> ± 7,4	<b>48,7</b> ± 10,4	<b>52,5</b> ± 9,8	<b>56,0</b> ± 8,3
A recipiensek átlagéletkora a daganatok felismerésekor (év ± SD)	<b>47,3</b> ± 9,0	<b>53,5</b> ± 10,0	<b>55,5</b> ± 9,7	<b>58,1</b> ± 7,9

*I. Aza-Szter: azathioprine-szteroid, II. CyA-Szter: cyclosporine-szteroid, III. CyA-MMF-Szter: cyclosporine-mycophenolate mofetil-szteroid, Tacr-MMF-Szter cyclosporine-mycophenolate mofetil-szteroid*

#### **5.1.4 A daganatos vesetranszplantált betegek halálozási adatai**

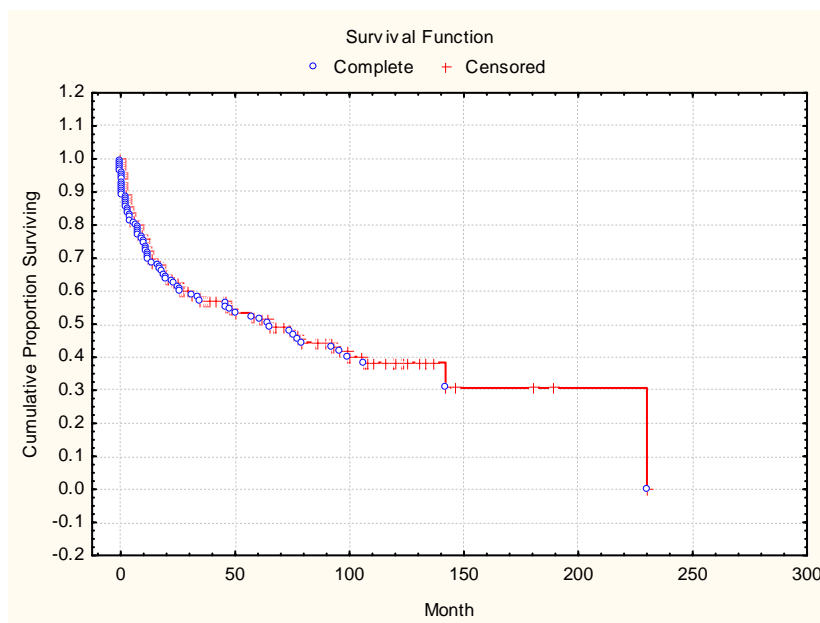
A 188 daganatos betegből 92 halt meg a vizsgált időszakban (48,9%). Az elhunyt betegek átlagéletkora  $54,8 \pm 10,4$  év, átlagos túlélési idejük a daganat felismerését követően  $25,8 \pm 39,4$  hónap volt. 36,9% -uk (n=34) hunyt el a tumor diagnosztizálását követő 6 hónapon belül, 55,4%-uk (n=51) az első évben, 70,6%-uk (n=65) két éven belül, 84,7%-uk (n=78) pedig öt éven belül.

A halálok a betegek 32,6%-ban (n=30) daganatos progresszió, 30,4%-nál (n=28) fertőzőes szövődmény (pneumonia, sepsis) volt. A többi 34 elhunyt beteg (37%) esetében cardialis, cerebrovascularis szövődmény, tüdőembolia, májcirrhosis, májelégtelenség, acut pancreatitis, tuberculosis volt a halál kiváltó oka.

A vizsgált időszak végén életben lévő, 96 daganatos beteg átlagos követési ideje  $65,7 \pm 46,6$  hónap.

### 5.1.5 A daganatos vesetranszplantált betegek túlélési adatai

Kaplan-Meier módszerrel meghatározva a 188 beteg túlélési arányait, az 1 éves túlélés 69,5%, a 2 éves 61,8%, a 3 éves 57,3%, az 5 éves túlélés pedig 52% (**1.ábra**).



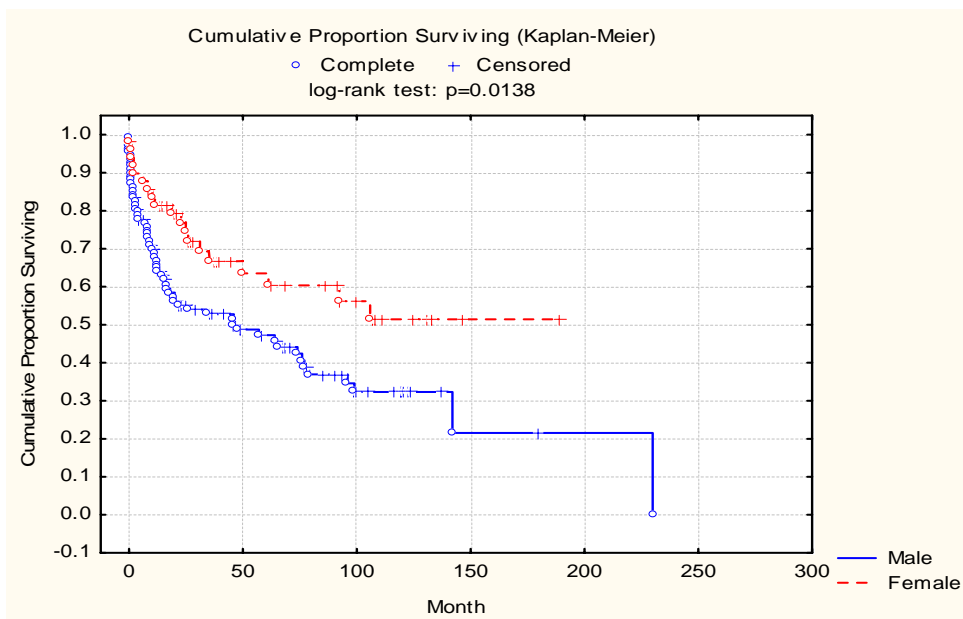
**1.ábra** A daganatos vesetranszplantált betegek (n=188) kumulatív túlélési aránya Kaplan-Meier módszere szerint (*statisztikai program nyomtatási képe*)

A különböző daganatok prognózisa eltérő. A **7.sz. táblázat** a gyakoribb daganatok eseteiben mutatja betegek túlélési adatait.

**7.sz.táblázat** A Kaplan-Meier szerinti betegtúlélési adatok a gyakoribb daganatok eseteiben

A daganat típusa	Esetszám	Betegek átlagéletkora	1-éves túlélés	5-éves túlélés	Átlagos túlélési idő
	(n)	év ± SD	%	%	hónap ± SD
Bőrrák	51	53,5 ± 6,8	90,2	75,9	116,8 ± 11,9
Veserák (saját vese)	26	53,0 ± 12,2	73,4	51,4	126,6 ± 35,2
Tüdőrák	15	55,5 ± 7,0	42,4	20,4	9,6 ± 2,0
Kaposi sarcoma	12	52,6 ± 12,1	25,0	16,0	14,7 ± 5,6
Emlőrák	12	57,1 ± 6,1	100,0	31,0	42,4 ± 5,5
Non-Hodgkin lymphoma	10	48,6 ± 12,0	28,6	14,3 (48 hónapnál)	11,9 ± 5,2
Májrák	7	48,2 ± 7,8	16,7 (4 hónapnál)	-	1,8 ± 0,8
Pajzsmirigyrák	6	50,9 ± 7,3	83,3	83,3	111,0 ± 10,3
Vastagbél- végbélrák	6	56,6 ± 3,8	62,0	23,0 (42 hónapnál)	14,4 ± 3,8
Összes daganat	193	53,1 ± 10,1	69,5	52,0	99,9 ± 10,5

A két nemet összehasonlítva, a férfiak 1 éves túlélése 63,8%, az 5 éves 46,3 %, míg ugyanez a nők esetében 81,3% és 60,4%. A nők túlélési aránya szignifikánsan magasabb, mint a férfiaké (p=0.0138) (**2.ábra**).



**2.ábra** A daganatos vesetranszplantált férfiak (n=129) és nők (n=59) kumulatív túlélési aránya Kaplan-Meier módszere szerint (*statisztikai program nyomtatási képe*)

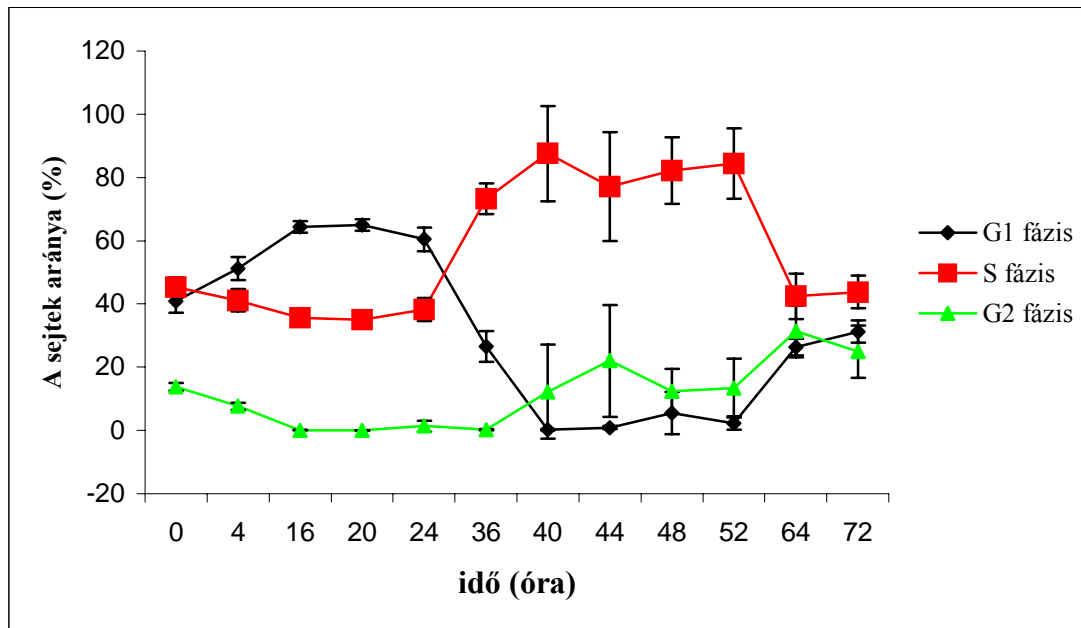
## 5.2 Eredmények a mycophenolsav, mint immunszuppresszív szer humán, non-Hodgkin lymphomákra gyakorolt hatásának in vitro és állatkísérletes vizsgálatakor

A vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetében végeztük el.

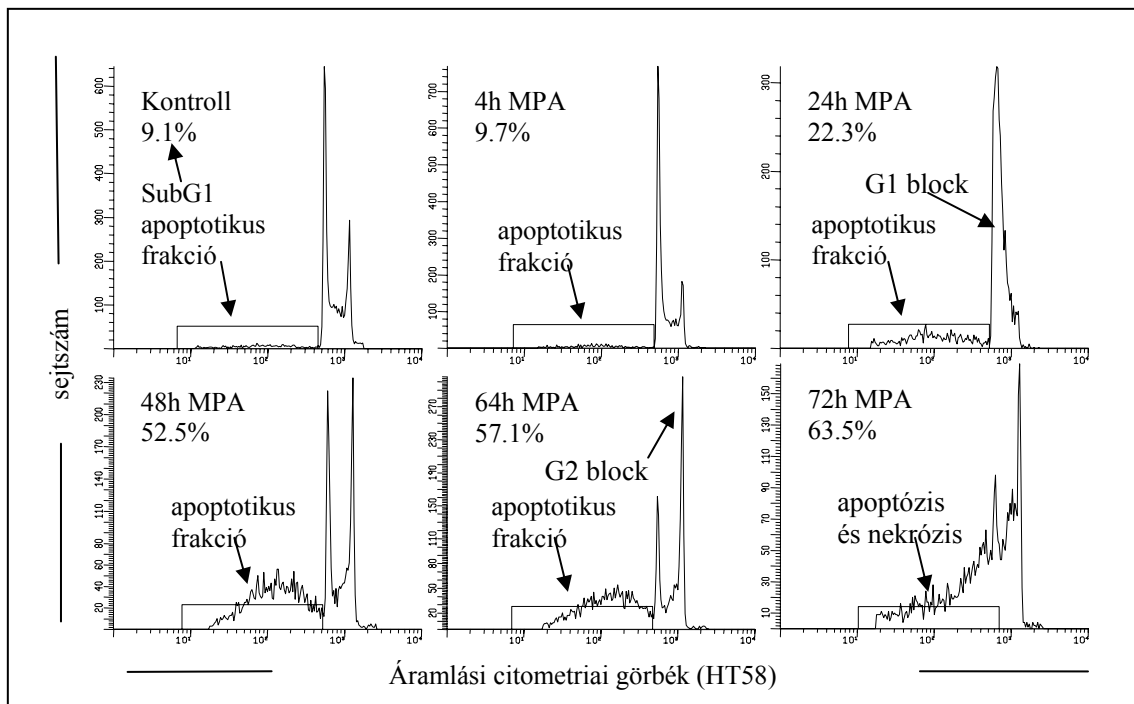
### 5.2.1 Az in vitro vizsgálatok eredményei

#### 5.2.1.1 A mycophenolsav sejtproliferációt gátló és apoptózist indukáló hatása

A mycophenolsav az idő és a koncentráció függvényében, valamennyi vizsgált sejtvonal esetében gátolta a sejtproliferációt és apoptózist indukált. A **HT58**, **BL41**, **BL41/95** Burkitt-lymphomasejtvonalak esetében a proliferációt gátló hatás a kezelést követően 24 órával már észlelhető volt, a sejtek a sejtciklus G1/S fázisának átmenetében halmozódtak fel. A ciklusban tovább lépő sejtek 64 óra elteltével az S/G2 fázis határán blokkolódtak. 72 óra után apoptotikus katasztrófa/sejtpusztulás volt megfigyelhető. A mycophenolsav iránti érzékenységben az EBV-pozitív és EBV-negatív Burkitt-lymphomák között nem volt különbség (**3.**, **4.**, **5.ábra**).

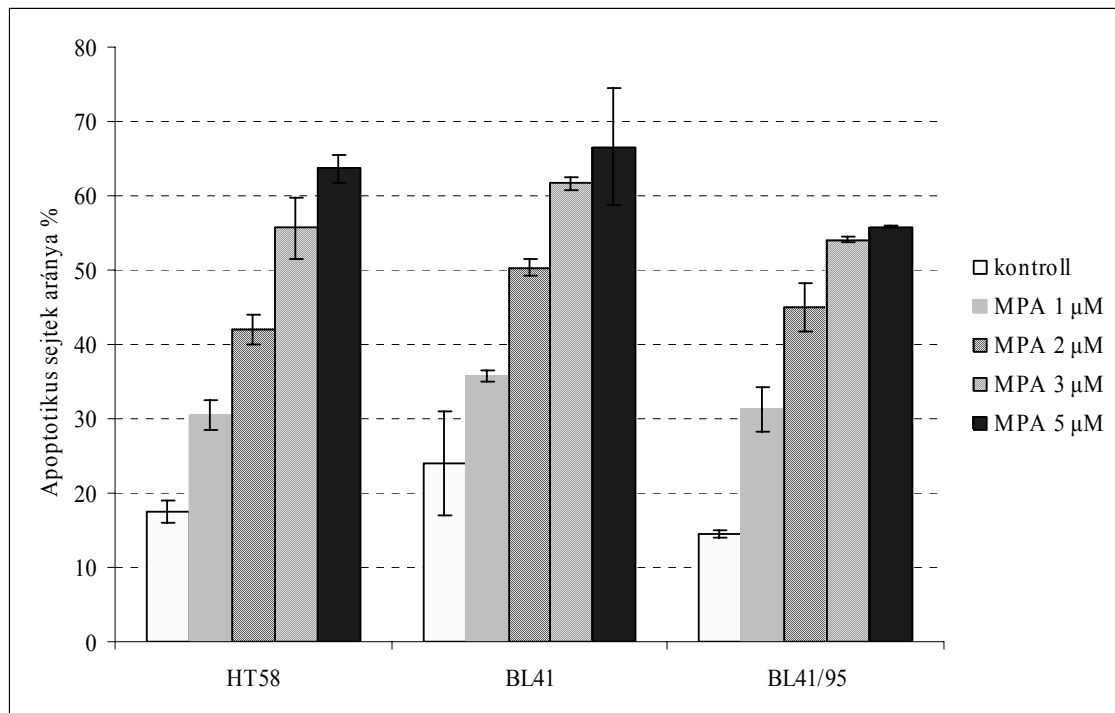


**3.ábra** A mycophenolsav gátolja a lymphomasejtek proliferációját in vitro. HT58 lymphomasejtek MPA (5  $\mu$ M) 72 órás kezelésnek eredménye (áramlási citometriai analízis, grafikus összesítés).



**4.ábra** A mycophenolsav apoptotikus hatása az idő függvényében. HT58 lymphomasejtek MPA (5  $\mu$ M) 72 órás kezelésnek eredménye (áramlási citometriai analízis). A G1 blokkot G2 blokk követi. Az apoptotikus sejtek (subG1) aránya növekszik.





**5.ábra** A mycophenolsav dózis-függő apoptotikus hatása HT58, BL41, BL41/95 lymphomasejteken in vitro (72 órás kezelés)

A **MED-B1** DLBCL lymphomasejtvonal esetében az MPA sejtproliferációt gátló hatása még kifejezettebb volt, a blokk a sejtciklus G2 fázisa előtt érvényesült, de az apoptózis indukciójához hosszabb kezelési időre volt szükség. 96 óra elteltével az apoptózis aránya a kontroll sejtekben  $2 \pm 0,5\%$ , az  $5\mu\text{M}$  koncentrációjú MPA mellett pedig  $21 \pm 1\%$  volt.

A mycophenolsav **U266** myeloma sejtvonal esetében is gátolta a sejtproliferációt. 72 óra kezelési idő után az apoptotikus sejtek aránya a kontroll sejtekben  $9 \pm 2\%$ , az MPA kezelés ( $5\mu\text{M}$ ) mellett pedig  $65 \pm 4\%$  volt.

#### 5.2.1.2 A mycophenolsav sejtproliferációt gátló és apoptózist indukáló hatásának vizsgálata guanozin jelenlétében

A mycophenolsav lymphocytá proliferációt gátló hatása azért szelektív, mert a lymphocyták „de novo” purin nukleotid szintézisre szorulnak, más sejtekkel szemben bennük az un. salvage mechanizmus nem működik (2.3.1.3.2 alfejezet). Az MPA lymphoma sejtvonalakra gyakorolt hatását ezért guanozin jelenlétében is vizsgáltuk. A guanozin  $0,1\text{-}100\mu\text{M}$ -os koncentrációban alkalmazva nem függesztette fel a

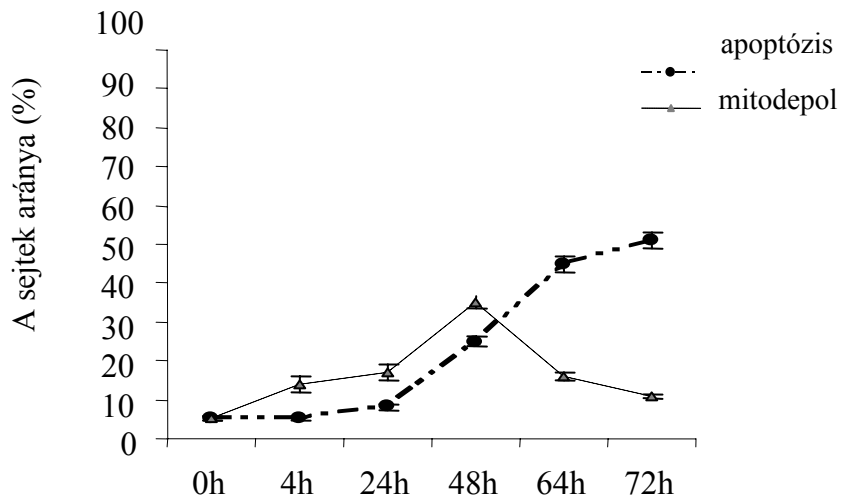
mycophenolsav (5 $\mu$ M) lymhomasejtekre gyakorolt antiproliferatív és apoptotikus hatását (8.sz.táblázat).

**8.sz.táblázat** A mycophenolsav (5 $\mu$ M) indukálta apoptózis aránya HT58 lymhomasejtekben, guanozin (0,1-100 $\mu$ M) jelenlétében, in vitro (72 órás kezelés).

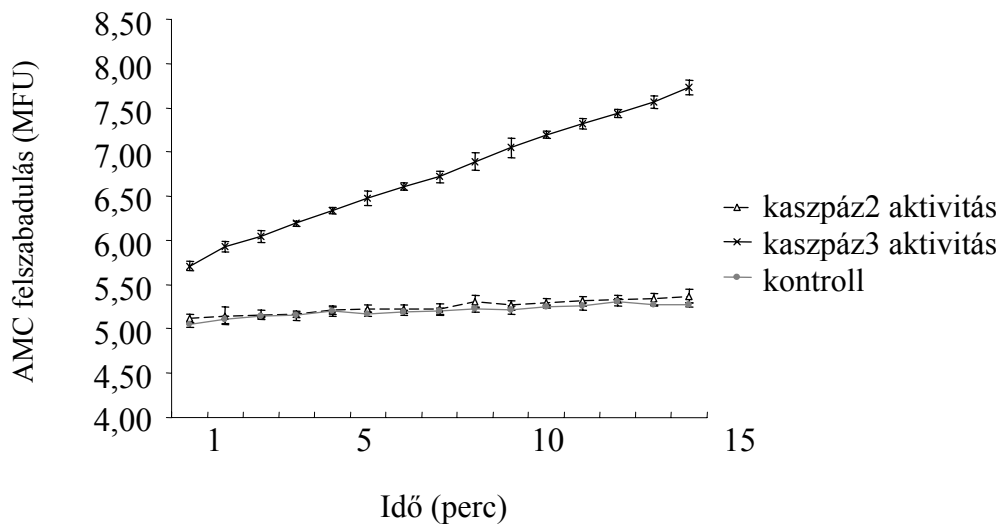
	Guanozin koncentráció				
	0 $\mu$ M	0,1 $\mu$ M	1,0 $\mu$ M	10,0 $\mu$ M	100,0 $\mu$ M
<b>Kontroll %</b> (átlag $\pm$ SD)	10,9 $\pm$ 1,34	7,3 $\pm$ 0,42	7,5 $\pm$ 1,06	8,2 $\pm$ 0,28	8,6 $\pm$ 0,35
<b>MPA kezelt %</b> (átlag $\pm$ SD)	75,6 $\pm$ 0,14	75,8 $\pm$ 0,62	75,7 $\pm$ 0,35	76,4 $\pm$ 0,84	66,6 $\pm$ 1,90

### 5.2.1.3 A mycophenolsav indukálta apoptózis mechanizmusának vizsgálata

Az MPA indukálta apoptózis mechanizmusának vizsgálatokor a mitochondrium membrán depolarizációt, a kaspáz2 és kaspáz3 enzimek aktiválódását, és a bcl-2, bax fehérje szintjének változását mértük. A mitochondrialis depolarizáció megjelenése időben (24 órával a mycophenolsav kezelés kezdete után) egybe esett az apoptózis indukálódásával, majd maximumát 48 óra elteltével érte el. Az apoptózis aktiválódásában a mitochondrialis út szerepe mellett szól az anti-apoptotikus hatású, bcl-2 fehérje szintjének egyidejű csökkenése is. A bax fehérje esetében nem észleltünk változást. Az apoptózist iniciáló kaspáz enzimek közül a kaspáz2 aktiválódása, szemben az irodalomban olvasható, más sejtvonalra vonatkozó közléssel, nem volt kimutatható [<sup>210</sup>]. Az apoptózist végrehajtó, effektor kaspázok közé tartozó kaspáz3 enzim aktiválódását a mitochondrialis indukció után, a MPA kezelés 40. órájában észleltük (6.a,b, 7.ábra).



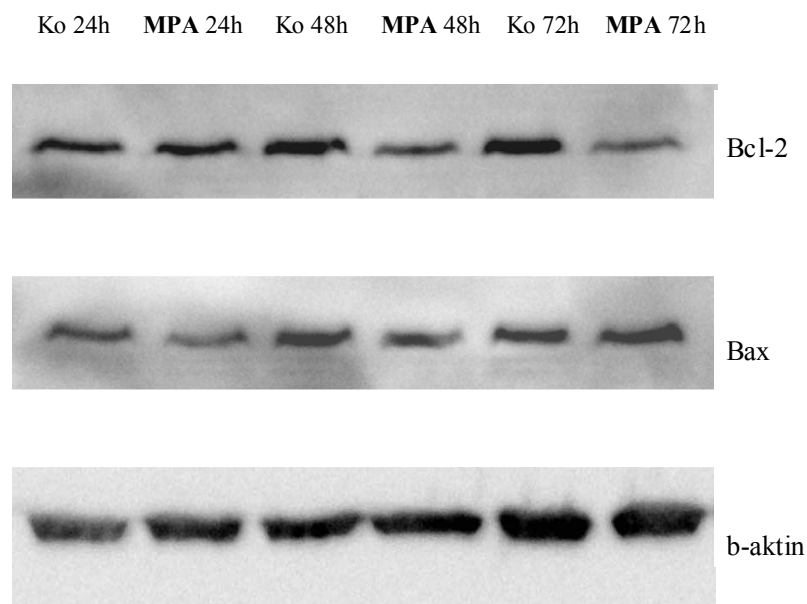
a.



b.

**6.ábra** A mycophenolsav indukálta apoptózis mechanizmusa

**(a.)** A MPA (5 $\mu$ M) indukálta mitochondrium membrán depolarizáció (mitodepol) és apoptózis az idő függvényében (HT58 lymphomasejtek) **(b.)** Kaspáz2 és kaspáz3 aktivitás meghatározás. HT58 lymphomasejtek, 5 $\mu$ M MPA, 40 órás kezelése. (A meghatározás a DEVD-amc szubsztrát felszabadulás fluorimetriás mérésével történt)



**7.ábra** A bcl-2, bax fehérje mennyiségi változása kontroll (Ko) és mycophenolsavval (MPA, 5 $\mu$ M) kezelt, HT58 lymphoma sejtvonal 72 órás kezelése során (Western blot vizsgálat). A bcl2 fehérje mennyisége csökken, a bax fehérje mennyisége nem változik. (A b-aktin mennyiségi állandósága jelzi, hogy a kontroll és MPA kezelés eredménye összehasonlítható.)

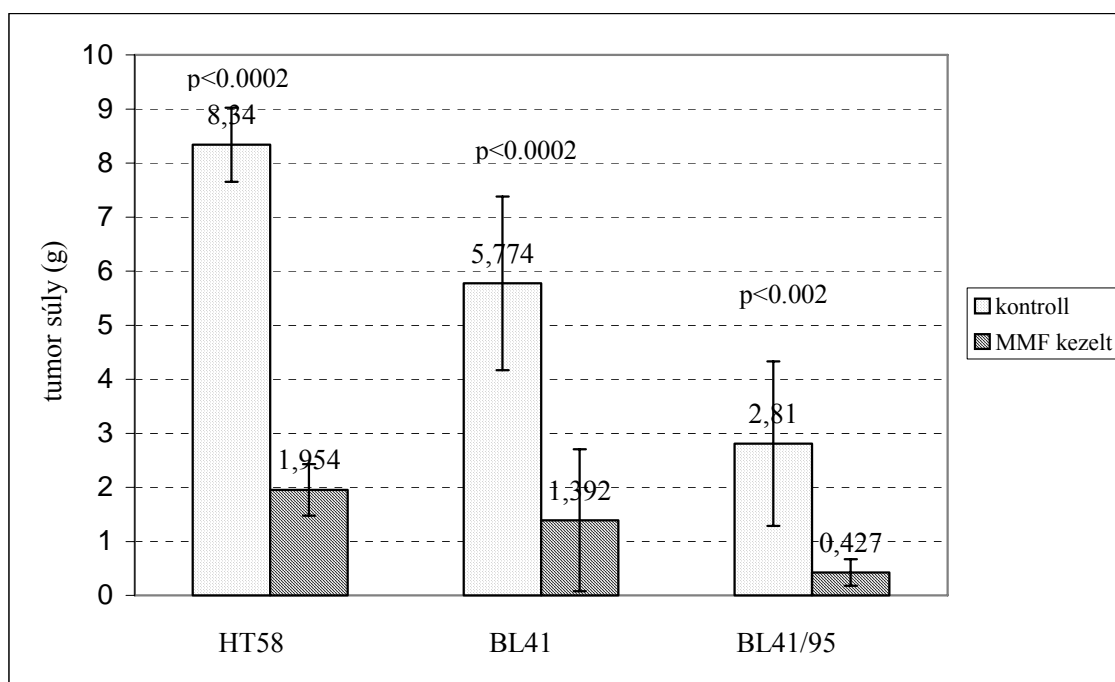
## 5.2.2 Az állatkísérletes vizsgálatok eredményei

### 5.2.2.1 A mycophenolsav lymphoma xenograftok növekedését gátló hatása

A **HT58**, **BL41**, **BL41/95** lymphomasejteket SCID egerek hátbőre alá oltottuk, egyedenként  $2 \times 10^7$  sejtet. A beoltott sejtek a proliferáció eredményeként az oltás után a 10-13. napon váltak tapinthatóvá, majd körülírt, „solid” daganatként növekedtek tovább. A kontroll (kezelésben nem részesült) állatokban a lymphomák minden esetben megeredtek és növekedésnek indultak. A **MED-B1** sejteket hasonló adagban és módon beoltva, a lymphoma megtapadását és növekedését egyetlen esetben sem észleltük, a MED-B1 sejtvonalból xenograft tumort nem tudtunk létrehozni. Az **U226** myeloma sejtvonalat in vivo nem vizsgáltuk.

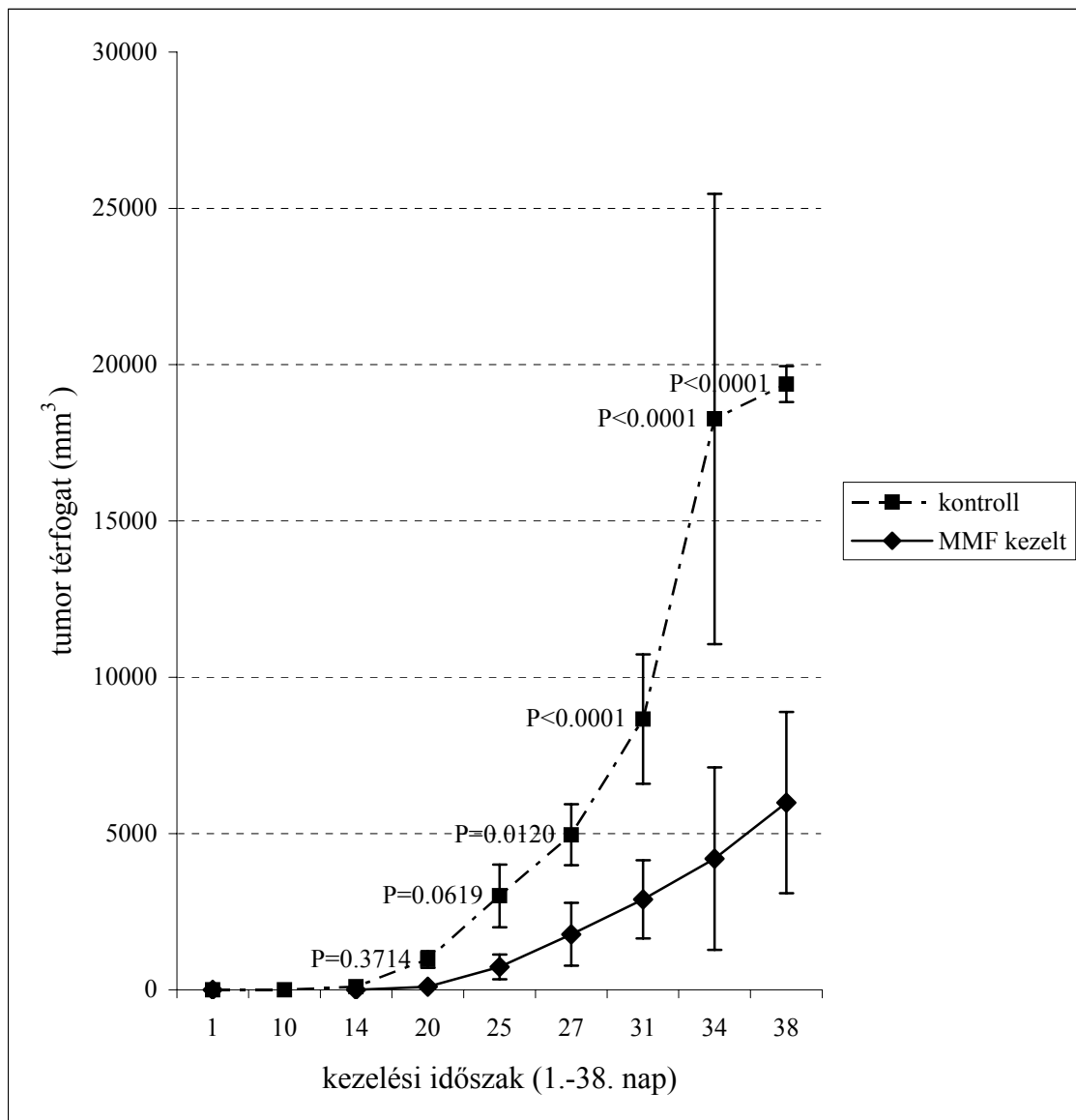
Az állatokat mycophenolate mofetil (MMF) kezeltük. A kezeléseket kétféle módon végeztük, az oltást követő első naptól kezdve, illetve a tumorok tapinthatóvá válását követő 13. naptól. A kísérleteket az oltást követő 29. napon fejeztük be. (4.2.5 alfejezet).

Az oltást követő első naptól alkalmazott MMF kezelés eredményeként a tumor növekedés a HT58, BL41, BL41/95 lymphomák esetében egyaránt, jelentősen elmaradt a kontrollokhoz képest. A kísérletek végén eltávolított, MMF kezelt tumorok átlagsúlya szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a kontroll tumoroké, azok 15-24%-a (8.ábra).



**8.ábra** Kontroll és MMF kezelt (100 mg/tskg/nap) tumorok átlagsúlyai (HT58, BL41, BL41/95 lymphoma). A kezelés időtartama a lymphomasejtek oltása után 1.-29. nap.

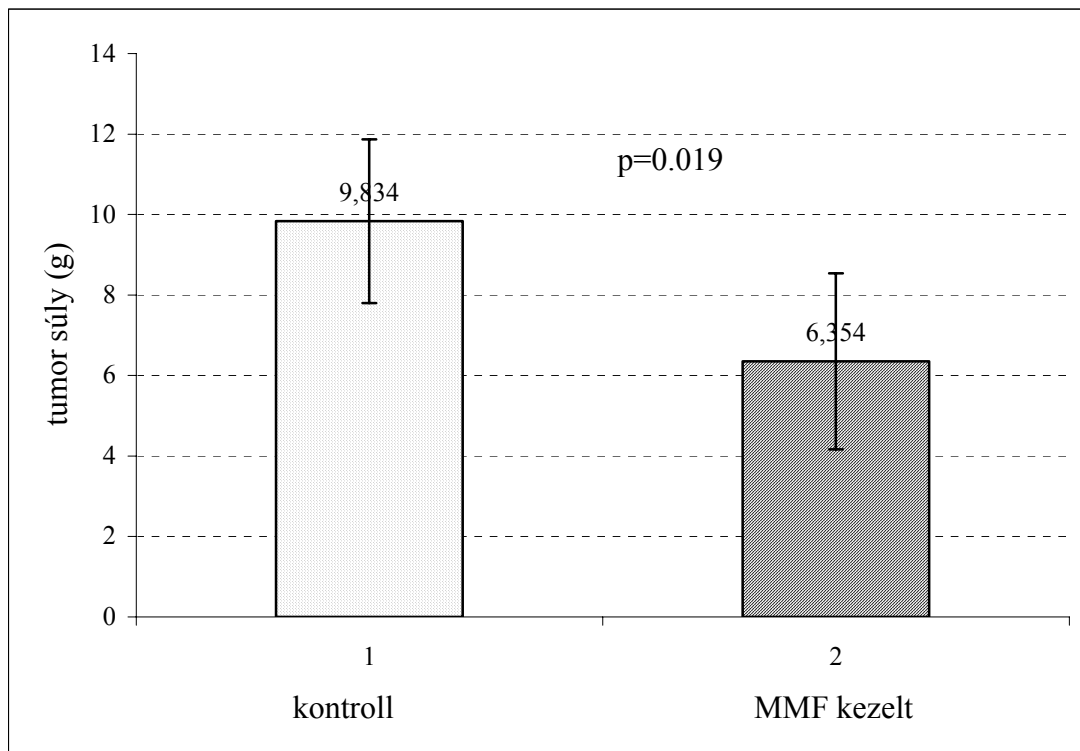
Hasonlóan szignifikáns különbség mutatkozott a kontroll és az MMF kezelt tumorok idő függvényében meghatározott, kalkulált térfogatai között. Az oltást követő 3. hét után a tumortérfogatok drámai növekedését észleltük a kontroll állatokban, ami az MMF kezelt csoportban nem volt megfigyelhető (9.ábra).



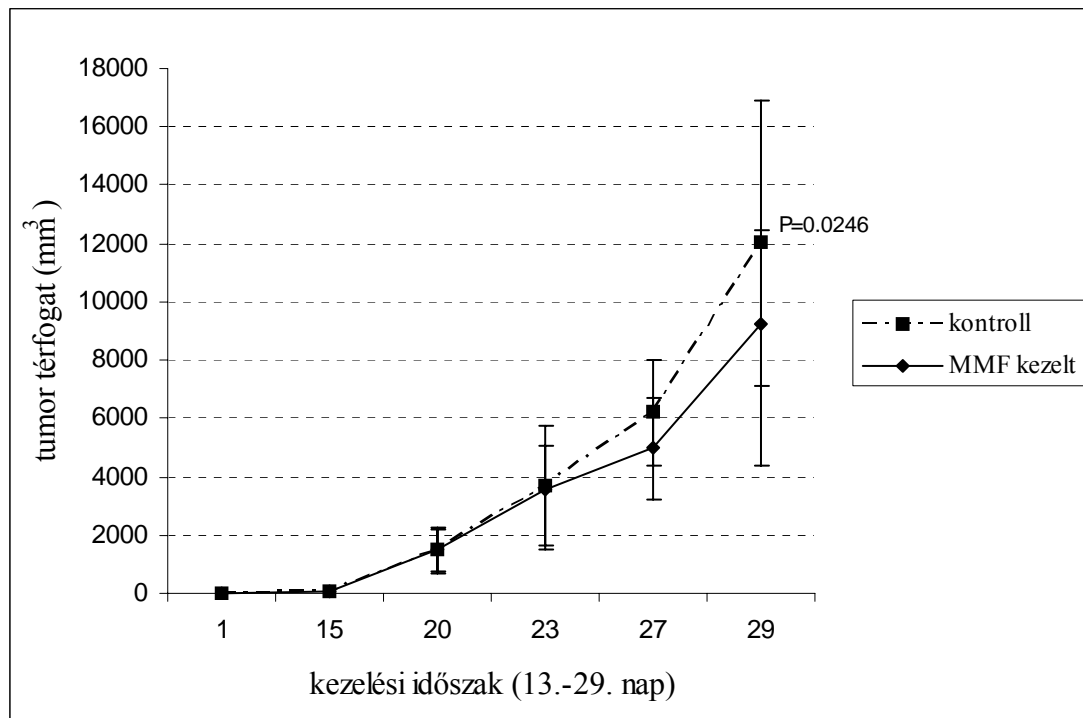
**9.ábra** Kontroll és MMF kezelt (100 mg/tskg/nap), HT58 lymphoma xenograft tumorok térfogatváltozási görbéi. A kezelés időtartama a lymphomasejtek oltása utáni 1.-38. nap.

Az MMF tumornövekedést gátló hatását észleltük akkor is, amikor a kezelést a lymphomasejtek oltását követően csak később, a tumorok tapinthatóvá válása utáni 13. naptól kezdtük alkalmazni.

A kísérletek végén meghatározva az eltávolított tumorok súlyainak és térfogatainak átlagát, az MMF kezelt csoportban szignifikánsan alacsonyabb értékeket kaptunk (10.ábra, 11.ábra).



**10.ábra** Kontroll és MMF kezelt (100 mg/tskg/nap) tumorok átlagsúlyai (HT58 lymphoma). A kezelés időtartama a lymhomasejtek oltása utáni 13.-29. nap.



**11.ábra** Kontroll és MMF kezelt (100 mg/tskg/nap), HT58 lymphoma xenograft tumorok térfogatváltozási görbéi. A kezelés időtartama a lymphomasejtek oltása utáni 13.-29.nap.

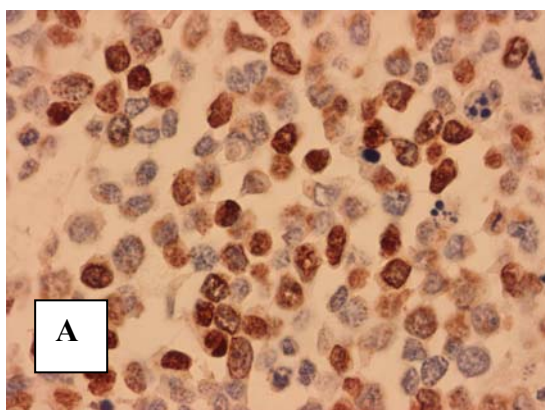
#### 5.2.2.2 A xenograft tumorokból végzett szövettani, immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei

A HT58, BL41, BL41/95 lymphomákból SCID egerekben kialakult, kontroll és MMF kezelt xenograft tumorokat a kísérletek végén (29. nap) eltávolítottuk. A fixálás és paraffinba történt beágyazást követően készített szövettani metszeteken a sejtproliferáció aktivitásának és az apoptózis mértékének meghatározásához hematoxilin-eosin festést és immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk. A sejtproliferációs aktivitást a BrdU és Ki67 pozitív sejtek arányával, az apoptózis mértékét pedig az aktív kaszpáz3 pozitív (a hematoxilin-eosin festés alapján apoptotikus morfológiát mutató) sejtek arányával jellemeztük. Az MMF kezelt tumorokban szignifikánsan alacsonyabb proliferációs és szignifikánsan magasabb apoptotikus aktivitást észleltünk (9.sz.táblázat, 12.,13.ábra).

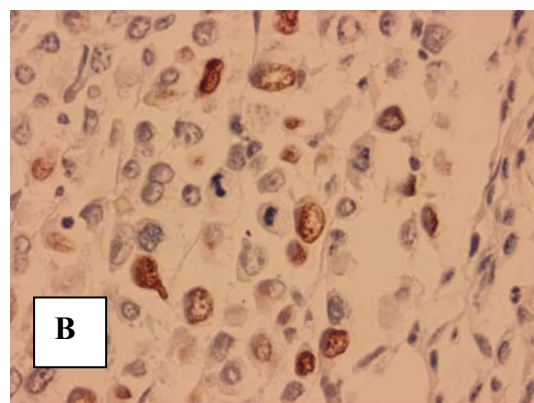


**9.sz.táblázat** A proliferáló és az apoptotikus sejtek arányának meghatározása immunhisztokémiai vizsgálatokkal, kontroll és MMF kezelt (100 mg/tskg/nap) HT58, BL41, BL41/95 lymphoma xenograft tumorokban.

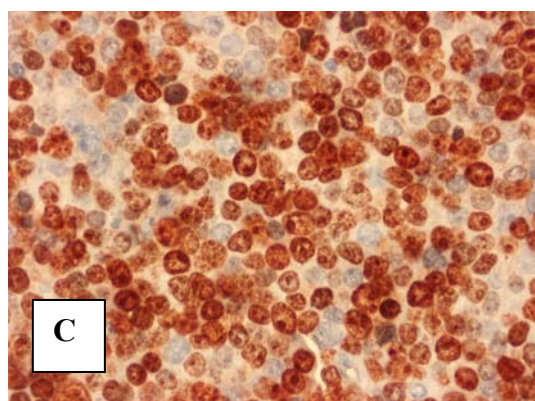
Lymphoma		BrdU pozitív sejtek (%)	Ki-67 pozitív sejtek (%)	Aktív kaszpáz3 pozitív sejtek (%)	p érték
HT58	kontroll	37,6	80,0	3,8	< 0.0001
	MMF kezelt	23,9	51,7	16,1	
BL41	kontroll	35,7	72,1	3,5	< 0.0001
	MMF kezelt	22,2	47,0	18,3	
BL41/95	kontroll	43,5	73,6	3,7	< 0.0001
	MMF kezelt	26,5	51,4	18,1	



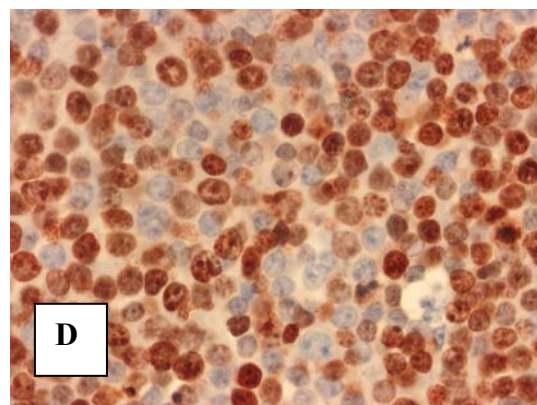
A: BrdU pozitív sejtek (kontroll)



B: BrdU pozitív sejtek (MMF kezelt)

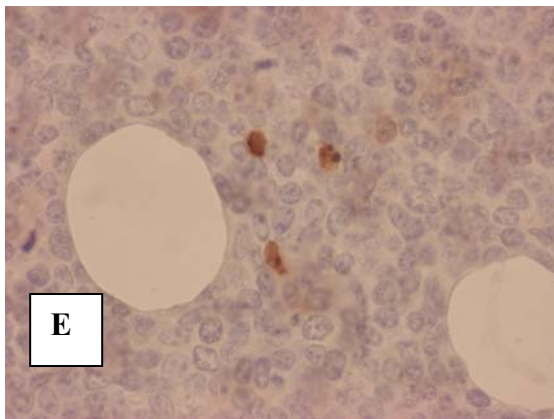


C: Ki67 pozitív sejtek (kontroll)

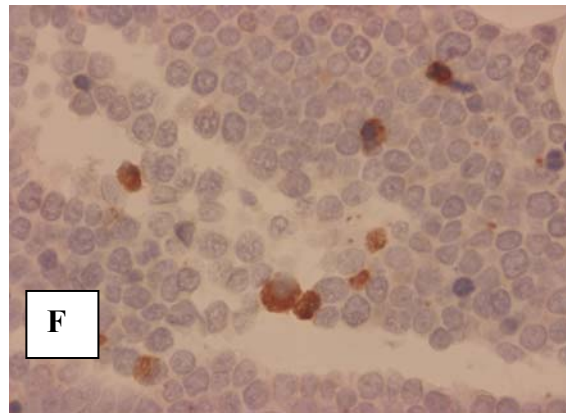


D: Ki67 pozitív sejtek (MMF kezelt)

**12.ábra** A sejtproliferáció aktivitásának immunhisztokémiai vizsgálata kontroll és MMF kezelt (100 mg/tskg/nap) HT58 lymphoma xenograft tumorok szövettani metszetein (X400) **A,B:** BrdU pozitív sejtek, **C,D:** Ki67 pozitív sejtek



E: Aktív kaszpáz3 pozitív sejtek (kontroll)



F: Aktív kaszpáz3 pozitív sejtek (MMF kezelt)

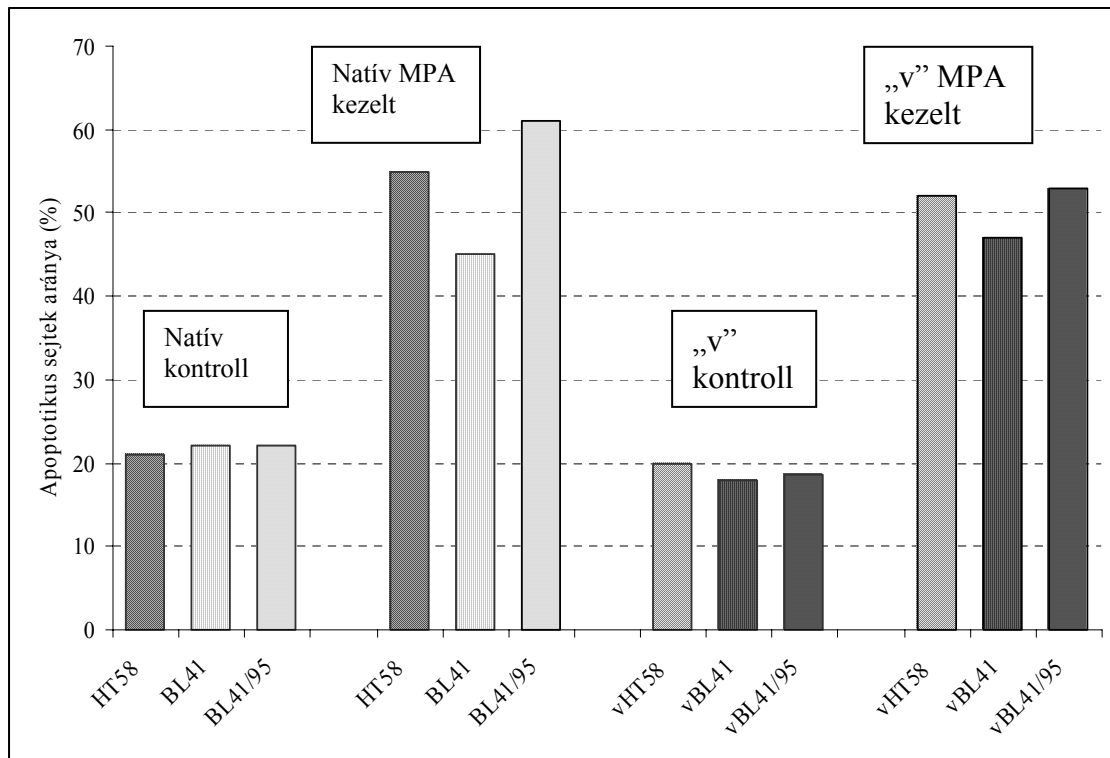
**13.ábra** Az apoptotikus sejtek immunhisztokémiai vizsgálata, kontroll és MMF kezelt (100 mg/tskg/nap) HT58 lymphoma xenograft tumorok szövettani metszetein (X400) E,F: Aktív kaszpáz3 pozitív sejtek

#### 5.2.2.3 A mycophenolsav hatása a xenograft tumorokból in vitro tenyészetbe visszavitt lymphomasejtekre

28 napos MMF kezelést követően a HT58, BL41, BL41/95 lymphoma xenograft (kontroll és MMF kezelt) tumorokból a 4.2.7. alfejezetben leírt, több lépcsős izolálási eljárás révén a lymphomasejteket in vitro tenyészetbe vittük vissza. Az így nyert „új” sejtvonalakat (vHT58, vBL41, vBL41/95) tovább tenyésztettük, majd mycophenolsavval kezeltük. Arra kerestük a választ, hogy az in vivo MMF kezelés mellett túlélő lymphomasejtek elvesztették-e a mycophenolsav iránti érzékenységüket.

72 órás MPA (5 $\mu$ M) kezelés után a mycophenolsav sejtproliferációt gátló és apoptózist indukáló hatását észleltük mind a három „új”, „v” sejtvonal esetében. Az apoptotikus sejtek aránya 45-60% közötti volt (**14.ábra**).

A HT58, BL41, BL41/95 lymphomasejtek in vitro vizsgálva, megőrizték a mycophenolsav iránti érzékenységüket az in vivo MMF kezelést követően.



**14.ábra** Az apoptotikus sejtek aránya a natív (SCID egérbe nem oltott), és a xenograft tumorokból in vitro tenyésztetbe visszavitt („v”) HT58, BL41, BL41/95 lymphoma sejtvonalak MPA (5 $\mu$ M) 72 órás kezelésekor.

## 6 MEGBESZÉLÉS

A korszerű immunszuppresszióknak is köszönhetően a szervátültetés eredményei javulnak, a recipiensek túlélési ideje növekszik. Ez természetesen a betegek egyre hosszabb immunszupprimált állapotát is jelenti, melynek következménye a rosszindulatú daganatok kialakulásának növekvő kockázata. Mindennek eredményeként a poszttranszplantációs tumorok a betegek sorsának egyre fontosabb, befolyásoló, meghatározó tényezőjévé kezdenek válni [36]. A mind gyakoribb daganatok problémájával minden szervátültetéssel foglalkozó központnak nap mint nap szembe kell néznie. A 2.2.2. alfejezetben már említettem, hogy a szervátültetést követően nem egyszerűen az adott népességre jellemző daganatok számszerű gyarapodásáról van szó, a poszttranszplantációs tumorok profilja attól eltérő. Ahogy azonban a világ különböző területein is más és más a „hagyományos” daganatok összetétele, úgy az egyes országok, centrumok szervátültetést követően észlelt tumorai esetében is mutatkozhatnak az irodalom, nagy betegszámon alapuló, gyűjtő statisztikai adataitól eltérő jellegzetességek. A helyi sajátosságok ismerete nélkül nehéz a poszttranszplantációs tumorok okozta kihívásra hatékonyan felkészülni, a rosszindulatú daganatok ellen megfelelő stratégiát kidolgozni. Éppen ezért volt célkitűzésem a daganatokkal kapcsolatos „hazai” teendőink meghatározásához segítségül szolgáló kiindulási alapként, a budapesti transzplantációs központ által 1973-2007 között veseátültett, tumoros betegeinkre vonatkozó „jellegzetességek” megismerése.

Egy adott transzplantációs centrum egyik sajátossága lehet az ott előforduló daganatok összetétele. A vesetranszplantált betegeink körében kialakult rosszindulatú daganatokat előfordulási gyakoriságuk alapján, két szempontból is érdemes értékelni. Egyrészt, hogy az adott tumor incidenciája hogyan viszonyul a magyar, nem transzplantált lakosság hasonló daganatának gyakoriságához, másrészt, hogy a daganat mennyire gyakori a poszttranszplantációs tumorok között. Az előbbi kérdésre a választ a Nemzeti Rákregiszter 2001-2004 évi adatait felhasználva, a daganatok négy éves kumulatív incidenciáinak összevetésével adtuk meg. A Magyarországon gyakori daganatok közül csak a bőrrák (2,58-x), és a gyomorrák (1,61-x) mutatott magasabb előfordulási arányt a szervátültetett beteg között, ugyanakkor a tüdő-, vastagbél-,

végbél-, emlő-, szájüregi- és prosztaták gyakorisága 14-66%-kal alacsonyabbnak bizonyult. Magasabb volt viszont a májrák (3,25-x), a veserák (6,77-x) és a pajzsmirigyák (8,95-x) incidenciája. A poszttranszplantációs daganatok között gyakori Kaposi sarcoma és a lymphomák esetében ez az összehasonlítás nehézkes. A Kaposi sarcomára vonatkozó adat a Nemzeti Rákregiszter közleményében nem szerepel. A lymphomák kapcsán azért kétes az összevetés, mert a transzplantáció utáni első négy évben csak 1 eset fordult elő, a további 9 lymphoma lényegesen később, átlagosan a tizedik év körül jelent meg. Tíz éves kumulatív incidencia meghatározásához pedig nincs még hazai, lakossági adat. A daganatok incidenciájának korcsoportok és nemek szerinti elemzéséhez esetszámunk nem volt elegendő.

A szervátültetés utáni és a nem transzplantált lakosság körében előforduló daganatok incidenciájának magyarországi összehasonlítása és az eredmények közlése most történt meg először [<sup>214</sup>]. Annak, hogy erre eddig nem került sor egyik oka az, hogy tumoros incidenciára vonatkozó (teljesnek ítélt) hazai számadatok, csak 2001-től, a Nemzeti Rákregiszter révén állnak rendelkezésünkre [<sup>201</sup>]. Az összehasonlításból származó adatokat azonban kritikával kell értékelnünk. Az elemzett poszttranszplantációs daganatok egy centrumból származnak, szemben a több transzplantációs központ adatait összegző gyűjtő statisztikával, az esetszám a lakossági adatokkal való összevetéshez, nagyságrendjét tekintve alacsony. A kumulatív incidencia meghatározásához csak négy év magyarországi adata állt rendelkezésünkre. A dialysisre visszakerült vesetranszplantált betegek további sorsáról, így a bennük esetleg kialakult daganatokról pedig többnyire nincs információnk. Az eredmények megítélésének problémája természetesen másokat is ugyanígy érint. Kasiske arra hívja fel a figyelmet, hogy az egy, kis centrumból származó adatok alapján, a legtöbb daganat esetében nehéz precízen meghatározni annak incidenciáját és azt összehasonlítani a nem transzplantált lakosságéval [<sup>69</sup>]. Pontosabb adatokat szolgáltathatnak a nagy transzplantációs regiszterek, azonban az ezekből származó, a tumoros incidenciára vonatkozó beszámolóik száma viszonylag kevés. A regiszterek felé történő adatközlés hiányosságai miatt ezek sem mentesek a hibaforrásoktól [<sup>68,69,70,72,211,212,213</sup>]. Kasiske megállapításával egyet kell érteni, mégis úgy vélem, a hazai helyzet megítéléséhez, a szervátültetés utáni daganatok incidenciájára vonatkozó, általunk most először megadott adatok mindenképp hasznos tájékoztatásul szolgálnak.

Logikusan adódó, következő lépés lenne eredményeinket párhuzamba vonni az irodalomban elérhető adatokkal. Jelen helyzetünk első meghatározásánál egyelőre azonban megálltunk és ezt a lépést még nem tettük meg. Ennek nem a kíváncsiság hiánya a magyarázata. Úgy vélem, a daganatos incidenciára vonatkozó, első, „friss” adataink, részint a tumoros eseteink számának növekedésével, részint a Nemzeti Rákregiszter adatbázisának bővülésével egy későbbi, újabb elemzés révén, megerősítésre várnak. A nemzetközi adatokkal való összevetés alapvető kérdése pedig, hogy kihez is mérjük magunkat. Leginkább az amerikai (USA), ausztráliai, skandináv országok nagy regiszterereiből származó adatokat tudnánk ehhez felhasználni, melyek a magyarországitól eltérő környezet oncológiai sajátosságait tükrözik vissza. Ha a továbblépést a későbbiekben megtesszük, akkor a daganatos incidenciára vonatkozó összehasonlítást elsősorban a környező országok transzplantációs centrumaiból származó, egyelőre még alig elérhető adatok alapján kell megtennünk [<sup>187</sup>].

Visszatérve eredményeink értékeléséhez, a veseátültetést követő gyakoribb daganatok közül a pajzsmirigyrák incidenciája aránya volt a legmagasabb (8,95-szoros a magyar lakosságéhoz képest). (Ha lenne hazai adatunk az összehasonlításhoz, feltehetően a Kaposi sarcoma mutatná a legmagasabb arányt.) Ez azonban nem jelenti azt, hogy a poszttranszplantációs tumorok között a pajzsmirigyrák volt a leggyakoribb. A daganatok magyar populációval összevetett incidenciája aránya és a daganatok gyakorisági sorrendje a veseátültetést követően egyenként fontos, de eltérő információt hordoznak. A bőr- és veserák előfordulási aránya a transzplantált betegek körében a magasabb, egyben ez a két leggyakoribb poszttranszplantációs daganat is. A tüdőrák incidenciája lényegesen alacsonyabb, mint a hazai lakosságé, mégis, esetszámát tekintve, a harmadik a vesetranszplantált betegek daganatai között, tehát gyakori. Az említett pajzsmirigyrák incidenciája aránya a legmagasabb, a poszttranszplantációs tumorok sorában azonban csak a 8.-10. helyen szerepel, tehát ritkábban fordult elő. A példák alapján, amelyik daganat populációval összevetett incidenciája magas, az nem feltétlenül jelenti azt, hogy az adott daganat egyben gyakori is a vesetranszplantált betegek körében, és fordítva, az alacsony incidenciája arány nem jelenti egyben a tumor ritka előfordulását. Mindezzel arra szeretnék utalni, hogy a vesetranszplantált betegek számára a poszttranszplantációs daganatok gyakorisági sorrendje, vagyis annak ismerete szolgál több gyakorlati haszonnal, hogy mely daganat (bőr-, vese-, tüdőrák, Kaposi

sarcoma, emlőrák, lymphoma) megjelenésére kell elsősorban számítanunk és felkészülnünk a veseátültetés utáni időszakban.

„Jellegzetességeinket” tovább elemezve, gyakorlati jelentősége nemcsak a gyakori daganataink ismeretének van, hanem annak is, hogy mennyi idővel kell a veseátültetést követően azok megjelenésére számítani. A 193 daganatot figyelembe véve, ez az idő átlagosan 58,5 ( $\pm 44,8$ ) hónapnak, közel 5 évnek bizonyult. Ez az adat azonban, önmagában még nem sok információval szolgál. Többet tudhatunk meg a részletekből. A gyakoribb tumorok esetében meghatározva a felismerésükig eltelt idők átlagát, a Kaposi sarcoma ( $19,6 \pm 22,7$  hó) és a pajzsmirigyrák ( $29,9 \pm 28,2$  hó) jelent meg a legkorábban, míg az emlőrák ( $74,1 \pm 56,9$  hó) és a melanoma malignum ( $75,2 \pm 25,6$  hó) az átlagnál később, a legkésőbb pedig, mitegy tíz év után, a non-Hodgkin-lymphoma ( $120,0 \pm 52,0$  hó). Ez utóbbi azért is érdekes és sajátos hazai jelenség, mert a non-Hodgkin lymphomák az irodalmi közlések alapján, elsősorban a korai időszakban jelennek meg, a transzplantáció idejétől távolodva, kialakulásukra egyre kevésbé kell számítani [<sup>159</sup>].

Ha a daganatok megjelenésének arányát a veseátültetés után eltelt idő függvényében vizsgáljuk, kiderül, hogy a tumorok 11,4%-a az első hat hónapban, 20,2%-a pedig az első évben, vagyis rendkívül rövid idővel a transzplantációt követően került felismerésre. A Kaposi sarcomát és a lymphomát a korai „de novo” megjelenés jellemezheti. Ha ezek nélkül határozzuk meg a korai tumoraink arányát, akkor azok 12,9%-a jelent meg fél éven, 18,7%-a pedig egy éven belül. (Kaposi sarcoma 7/12 esetben, non-Hodgkin lymphoma 0/10 esetben fordult elő az első poszttranszplantációs évben.) A szervátültetést követő korai időszakban (első hónapokban, évben) megjelenő tumorokról (a Kaposi sarcomától és a lymphomáktól eltekintve), még ha bizonyítékunk nincs is rá, fel kell tételeznünk, hogy már a transzplantáció időpontjában jelen voltak a recipiens szervezetében. Jelen voltak vagy még fel nem ismerhetően, vagy már felismerhetően, de fel nem ismertén. Összegezve tehát, ezeket a korai tumorokat nem „de novo”, hanem „hozott” daganatoknak kell tekintenünk.

Amikor a daganatok megjelenésének átlagidejét az alkalmazott immunszuppresszív kezelés összetételének függvényében vizsgáltuk, azt találtuk, hogy ez az idő az I. betegcsoportban a leghosszabb, majd a II., III. és IV. csoportban egyre rövidül. Ebből a megfigyelésből azt a következtetést vonhatnánk le, hogy a daganatok

megjelenésének ideje a kezdeti, konvencionális therapiához (azathioprine-szteroid) képest, az összetételében változó és bővülő (II.-IV. csoport) immunszuppresszió következményeként rövidült. Egyértelmű megállapítást azonban mégsem tehetünk, mert az egyes immunszuppresszív csoportok esetében az esetszámok különbözőek, és különbözik a betegek követési ideje is (a IV.csoportnál a legrövidebb). Megfigyelésünk tehát jelenthet valós helyzetet is, de valószínűbb, hogy a fenti hibalehetőségek miatt az egyes immunszuppresszív csoportok közötti, a daganatok megjelenési idejében mutatkozó különbség csak látszólagos. Nagyobb esetszámra és hosszabb betegkövetési időre van tehát szükség ahhoz, hogy eredményünket egyértelműen és helyesen értékelhessük.

Oncologiai szempontból kifejezetten lényeges a betegeink átlagéletkorában észlelt változás. Mint már említettem (4.1. alfejezet), az immunszuppresszió szerint elkülönülő I.-IV. csoport kronológiai sorrendben követi egymást, az I.csoport a kezdeti, a IV.csoport a közelmúltban transzplantált betegeket foglalja magába. A veserecipiensek átlagéletkora mind a veseátültetés időpontjában, mind pedig a daganatok felismerésének idejében nézve, a kezdetektől napjaink felé haladva, fokozatosan növekszik. A betegek egyre öregebbek. Átlagéletkorukat tekintve ma közel húsz évvel idősebb recipienseket részesítünk veseátültetésben, mint tettük azt az 1970-es években [214]. A betegek életkorának növekedése a „történeti” idő említett változásával áll összefüggésben. A magyarázat a hazai nephrologiai ellátás, gondozás és a művesekezelés elmúlt évtizedekben bekövetkezett minőségi javulásában rejlik. A vesebetegek később kerülnek végstádiumba, a dialysis kezelés javulásával a betegek egyre hosszabb ideig tarthatók életben. A műveseállomások száma jelentősen gyarapodott, a dialysis lehetősége ma már nem korlátozott. Ezek együttesének eredményeként egyre idősebb betegek kerülnek dialysisre, vagy válnak a dialysis mellett idős korúvá, olyannyira, hogy Magyarországon a dialysált betegek fele ma már 60 év feletti. Ennek következtében a vesetranszplantációra váró betegek is egyre idősebbek [59]. (A magyarországi vesetranszplantációs várólistán napjainkban 1000-1100 beteg szerepel, átlagéletkoruk 50,1 év, 20%-uk 60 évnél idősebb.) Az életkor növekedése pedig fokozza a daganat kialakulásának kockázatát. A vesebetegek öregedésének problémája nem hazai jelenség. Buell közlése szerint az USA-ban a recipiensek átlagéletkora 10 évvel lett magasabb az utóbbi évtizedben [36,185].



A szervátültetést követő rosszindulatú daganatok kezelése alapvetően nem különbözik a „hagyományos” tumorok oncológiai kezelésétől [36]. Betegeink is ennek megfelelően részesültek daganatuk típusának, stádiumának, továbbá az általános állapotuk, teherbíró képességük figyelembe vételével meghatározott, egyénre szabott oncológiai (műtét, chemo-, radiotherápia, stb.) ellátásban. Ennek megfelelően voltak olyan betegek is, akiknél rossz általános állapotuk miatt csak tüneti therápia jött szóba. Ugyancsak egyénileg döntöttünk az immunszuppresszív kezeléstről, annak változatlan, vagy csökkentett dózisu fenntartásáról, elhagyásáról, vagy összetételének változtatásáról. Részben elméleti megfontolások, részben az egyelőre még rövid betegkövetési idő alatt tett, oncológiai szempontból kedvező megfigyelések alapján, az irodalom a daganatos transzplantált betegek immunszuppressziójának rapamycinre történő konvertálását javasolja [14,36,69,144,145,215]. Antiproliferatív és a daganatok kialakulását csökkentő hatása munkacsoportunkat is arra ösztönözte, hogy daganatos betegeink immunszuppresszióját rapamycinre váltsuk. 63 esetben került erre sor, részben korábbi, a rapamycin bevezetése előtti, részben az azóta, frissen felfedezett tumoros betegeknél.

Minden törekvés és kezelés ellenére a poszttranszplantációs daganatok prognózisa kedvezőtlen [36,71,72]. A budapesti vesetranszplantált betegek haláloki sorrendjében a daganatok a fertőzések és a cardiovascularis okok után, a harmadik helyen szerepelnek. A 188 tumoros betegünk közel 50 %-a hunyt el. Közülük több mint 50% halt meg a daganat felismerését követő első évben. A tumorspecifikus 1-és 5 éves betegtúlélési adatok alapján a bőr- és pajzsmirigyrák lényegesen kedvezőbb prognózisúnak bizonyult, mint a Kaposi sarcoma, a tüdő- és májrák, valamint a non-Hodgkin lymphoma, melyek kifejezetten rossz prognózisúak.

A betegek túlélését több tényező befolyásolja, így a daganat típusán túl, annak differenciáltsági foka (grading), stádiuma, a therapiára adott válasza, a betegek részéről fontos az életkor, az általános állapot, a kezelhetőség, melyek mind szerepet játszanak benne. Ezeket a tényezőket a nagyszámú, de egyenként csak kevés esetszámot jelentő, különböző daganatok esetében lehetetlen egyenként értékelni és figyelembe venni. Megpróbálhatnánk ugyan a különböző típusú daganatokat TNM-rendszer szerinti (tumor, nodus, metastasis) stádiumba sorolni, majd meghatározni az egyes stádiumokba tartozó betegek túlélési adatait és a tumorokat ezek alapján összehasonlítani egymással.

Ehhez azonban a 33 év alatt összegyűlt daganatos esetszámunk rendkívül alacsony. Marad tehát az egyes tumorok eseteinek összesített értékelése. A nemzetközi irodalom is alapvetően ezt teszi, bár poszttranszplantációs daganatokra vonatkozó beteg túlélési adatokat nem könnyű találni. Az azokat is szerepeltető közleményekkel összevetve adatainkat, mi is hasonlóan ítéljük meg az egyes daganatfajták prognózisát. A Kaplan-Meier módszerrel számolt túlélési mutatóink azonban rosszabbak az irodalomban közöltekénél [<sup>186,187,188,189</sup>].

Nőbetegeink túlélési adatai szignifikánsan jobbak voltak, mint a férfiaké. A két nem túlélésében mutatkozó különbség lehetséges magyarázata, hogy a rosszabb prognózisú daganatok (Kaposi sarcoma, tüdőrák, non-Hodgkin lymphoma, májrák, melanoma malignum, gége-, vastagbél-, végbél- és gyomorrák) a nők körében lényegesen ritkábban fordultak elő, mint a férfiakban. A szervátültetést követően kialakult daganatokkal kapcsolatos, Magyarországról származó beteg túlélési adatok most kerültek először közlésre [<sup>214</sup>].

Célkitűzésünket is felidézve, a „hazai teendőink meghatározásához segítségül szolgáló kiindulási alapként”, az eddigiekben „a veseátültett, tumoros betegeinkre vonatkozó”, fontosabb „jellegzetességeket” foglaltam össze. Az alapok lerakása után következhet az építkezés, adataink alapján a teendőink meghatározása

Elsődleges célként a veseátültetést követő daganatok kockázatának és a betegek sorsára gyakorolt, kedvezőtlen hatásának csökkentését kell kitűznünk. Ennek eléréséhez a következők a lehetőségeink [55].

### *1. Elsődleges rákmegelőzés, beteg tájékoztatás*

A rák megelőzésének elsődleges módja a rákkeltő hatások elkerülése. A primer prevenció jelentősége részben elméleti. Környezetünk bőséggel szolgál számunkra olyan karcinogén hatásokkal, melyek jelenlétéről gyakran nem is tudunk, vagy ha igen, akkor sincs módunk kiiktatni azokat az életünkéből (pl. a levegőből, vagy a talajból, vizeinkből közvetlenül, vagy közvetve a szervezetbe kerülő karcinogének), ezek elkerülésére, vagy környezeti koncentrációjuk csökkentésére egyénileg nem, csak társadalmi szinten van (lenne) mód. Gyakorlati jelentőségűvé a rák megelőzése az egyén számára akkor válik, ha tudatosan törekszik az egyéneknél is elkerülhető karcinogén hatások, például a dohányzás, az ultraibolya sugárzás mérséklésére, vagy

elkerülésére. Ehhez természetesen megfelelő betegtájékoztatásra van szükség, melyre vesetranszplantált betegek esetében, a rendszeres orvos - beteg találkozások révén, bőséggel kínálkozik alkalom. Betegeinket az immunszuppresszió lehetséges szövődményeiről még a veseátültetés idejében tájékoztatjuk, ennek részeként kell szólnunk a daganatok kockázatáról, illetve a kockázat csökkentésének lehetőségeiről is. Ha a rák megelőzéséről szóló betegtájékoztatót egyszerűen, mint az egészséges életmódra való biztatást tekintjük, már tettünk valamit a betegek érdekében. Nem gondolhatjuk természetesen azt, hogy a rák keletkezése szempontjából a vesetranszplantáció kiinduló pontnak tekinthető, s ha ettől kezdve törekszünk a rák megelőzésére, akkor nyugodtan tekinthetünk a jövőbe. A betegeket addig ért karcinogén expozíció káros hatása megmaradt, a lehetőségünk tehát a további behatások mérséklése, vagy elhagyása lehet, például az utolsó szál cigaretta elnyomásával. A primer prevenció érdekében nemcsak megfelelő betegtájékoztatásra, hanem a betegek részéről megfelelő fogadó készségre is szükség van, ennek hiányában ugyanis a rák megelőzésére vonatkozó törekvésünk valóban, pusztán elméleti jelentőségű marad.

## *2. A rákmegelőző (rákelőtti) állapotok felismerése és kezelése*

A fakultatív és obligát rákelőtti állapotok időben történő felismerésével és kezelésével, ha más módon is, de az előzőekhez hasonlóan, szintén a rosszindulatú daganatok megelőzését szolgáljuk. A bőr, a szájüreg, a gyomor, a bélrendszer, a máj, a genitáliák, a pajzsmirigy, stb. rákelőtti elváltozásait természetesen csak tudatos kereséssel ismerhetjük fel. A részletes bemutatás helyett a veseelégtelen betegek egy speciális problémájára szeretnék kitérni, ez pedig a végstádiumú vesében gyakrabban kialakuló rák. Különösen a polycystas vesebetegség jelent fokozott kockázatot. Természetesen a polycystas vese, a szó patológiai értelmében véve, nem preblastoma. Gyakorlati szempontból azonban, a rákrizikó miatt, annak megfelelően is kezelhetjük és a tumor kialakulásának megelőzéseként, akár a veseátültetés előtt, akár után, indikációja lehet a már nem működő vesék eltávolításának, a bilaterális nephrectomiának. Ezzel a javallattal azonban lényegesen ritkábban kerül polycystas vese eltávolításra, saját gyakorlatunkban is gyakoribb oka a műtétnek a vese méretéből adódó térfoglalása, bevérzése, vagy fertőzőes szövődmény, tályog kialakulása [<sup>153,216</sup>].

### *3. Másodlagos rákmegelőzés, a betegek rendszeres, oncológiai szemléletű ellenőrzése a vesetranszplantációs várólistán és a veseátültetést követően*

A lakossághoz hasonlóan, a vesetranszplantált betegek esetében is az a szándék, hogy a daganatokat korán, még akkor ismerjük fel, amikor még kedvezőbbek a kezelés eredményei, a gyógyulás esélyei. A rendszeres oncológiai ellenőrzést azonban nemcsak a veseátültetést követően tartjuk szükségesnek, hanem már azt megelőzően, a vesetranszplantációs várólistán lévő betegek esetében is. Ismert, hogy a chronicus veseelégtelenség mellett gyakoribbak a daganatok, mint a népesség körében [60,61,62]. A daganatos kockázatot tovább növeli, hogy a vesére váró betegek átlagéletkora egyre növekszik, a vesebetegek egyre idősebbek. Az ő esetükben a tumor időben való felismerése a „hozott” daganattal történő veseátültetés elkerülését jelentheti. A rendszeres ellenőrzés szükségét támasztja alá az is, hogy anyagunkban a veseátültetés után észlelt korai, „hozottnak” véleményezhető tumorok aránya közel 20%.

Az egyes poszttranszplantációs daganatok hazai gyakoriságának ismeretében az oncológiai ellenőrzés a következők szerint javasolható. Szükségesnek tartjuk az évenkénti bőrgyógyászati konzíliumot, mellkas röntgen felvételel készítését, a hasi ultrahang vizsgálat elvégzését. A hasüregi, retroperitoneális képalkotás segíthet a végstádiumú vesékben gyakoribb veserák felismerésében, illetve, különösen a hepatitis B, vagy C vírus fertőzésben, májcirrhosisban szenvedő betegek esetén, a májrák diagnosztizálásában. A szájüreg vizsgálata, illetve a daganatszűrésre a lakosság körében is alkalmazott mammographia, nőgyógyászati vizsgálat, exfoliatív citológia, a székletben lévő occult vér kimutatása lehet még a segítségünkre. Pozitív lelet esetében részletes oncológiai kivizsgálás szükséges. Ezeket a vizsgálatokat a vesebetegek transzplantációs várólistára való helyezése előtt, majd évente megismételve tartjuk indokoltnak elvégezni. A vizsgálatok révén rákelőtti állapotokat (pl. leukoplakia vagy bélpolyposok) is felfedezhetünk, kezelésükkel megelőzhetjük a tumor kialakulását. Amennyiben rosszindulatú daganatra derül fény, az a veseátültetés aktuális ellenjavallatát jelenti. E betegek esetében a daganat kezelését követően legalább 3-5 év eltelte után, tumormentesnek ítélt állapotban jön csak szóba a vesetranszplantáció. A várólistán lévő, veseelégtelen betegek oncológiai szemléletű ellenőrzésére vonatkozó javaslatunkat nephrologus kollégáinkkal mind tudományos továbbképző előadásokon,

mind publikáció formájában ismertettük [<sup>54,214</sup>]. A rendszeres oncológiai ellenőrzés természetesen a vesetranszplantált betegek követésekor is elengedhetetlen.

Az általunk megfogalmazottak a lényegét tekintve megegyeznek az irodalmi ajánlásokkal, melyek a betegkövetéshez algoritmusokat, vezérfonalakat kidolgozva (guidelines of the American Society of Transplantation, European Best Practice Guidelines for Renal Transplantation) szintén a transzplantációt követő, rutin oncológiai kontroll fontosságát hangsúlyozzák [<sup>36,73,187,217,218,219,220,221</sup>].

#### *4. Az immunszuppresszió okozta daganatos kockázat csökkentése*

A poszttranszplantációs tumorok kockázatának csökkentését célzó törekvéseink közül talán ez az a terület, ahol a betegek érdekében a legtöbbet tudjuk tenni.

A transzplantációt követő kezdeti időszak erélyesebb immunszuppressziója után törekedni kell a fenntartó kezelés adagjának lehető legalacsonyabb szinten tartására. A graft védelmére és az immunszuppresszió nem kívánt mellékhatásainak (pl. a fertőzések, daganatok) csökkentésére egyszerre kell figyelnünk, ezért viszonylag keskeny a terapia számára járható út [<sup>36,56</sup>].

Az akut rejectio diagnózisát kellően alátámasztva szabad csak kimondanunk, hogy elkerülhessük a felesleges és oncológiai szempontból hátrányos rejectio elleni kezelést, a nagy dózisú szteroid terapiát vagy immuntherapiát. A klinikai kép, a laboratóriumi és az ultrahang vizsgálat eredményei mellett, különösen akkor, ha graftfunkció romlás okaként a fentiek nem utalnak egyértelműen kilökődési reakcióra, a diagnózishoz igénybe kell vennünk a transzplantált szervből vett minta (biopszia) gyors szövettani vizsgálatát is [<sup>36</sup>].

A poszttranszplantációs tumorok kialakulásában a különböző immunszuppresszív szerek eltérő kockázatot jelentenek. A kockázatot az olyan, oncológiai szempontból kedvezőbb hatású vegyületek alkalmazásával csökkenthetjük, melyek mellett a daganatok alacsonyabb arányban fordulnak elő. A többször idézett irodalmi adatok és ajánlások alapján ilyen szer, a sejtproliferáció gátlásával ható rapamycin, de a közelmúltban több olyan közlemény is napvilágot látott, mely a mycophenolsavat/mycophenolate mofetil is ide sorolja [<sup>14,36,69,144,145,215,222,223</sup>].

A mycophenolsav alkalmazása mellett észlelt alacsonyabb daganat előfordulási arányról szóló beszámolók kutató munkám számára is pozitív megerősítést jelentenek, hiszen másik célkitűzésem éppen a mycophenolsav daganatellenes hatásának vizsgálata volt, a poszttranszplantációs tumorok között gyakori non-Hodgkin lymphomák esetében. Arra a kérdésre kerestem a választ, vajon befolyásolja-e a mycophenolsav a lymphomák növekedését.

A kérdés megválaszolásához - lehetőségeinket is figyelembe véve - a humán non-Hodgkin lymphomák között gyakoribb, nagy malignitású, EBV pozitív és negatív altípusokat (DLBCL, Burkitt-típus) választottuk vizsgálataink tárgyául. Poszttranszplantációs lymphoma vizsgálatára nem volt lehetőségünk. Kísérleti munkánk ideje alatt 2 vesetranszplantált betegnél merült fel a klinikai kép alapján lymphoma gyanuja. Mindkét esetben megkíséreltük a diagnózis érdekében eltávolított nyirokcsomókból a sejtizolálást és az in vitro sejtenyésztést, a tumorokból SCID egerekbe is oltottunk. Próbálkozásunk azonban sikertelen volt. Egyik esetben igazolódott csak lymphoma, azonban sem a sejtenyésztés, sem az állatoltás során nem tudtuk a lymphomasejteket életben tartani és kezelni. A másik esetben gombás fertőzés volt a diagnózis. Sejtbankból származó poszttranszplantációs lymphoma sejtvonal (igen kevés helyen van ilyen) nem állt rendelkezésünkre.

Eredményeinket értékelve elmondható, hogy in vitro a MPA a dózis és az idő függvényében gátolta a vizsgált non-Hodgkin lymphomasejtek proliferációját, és azokban apoptózist indukált.

A lymphocyták, szemben más sejtekkel, önálló guanin nukleotid szintézisre szorúlnak, bennük a „salvage” mechanizmus nem működik. Az MPA ezért tud az IMPDH gátlásával, szelektív módon hatni a lymphocytákra. Guanozin egyidejű hozzáadásával végezve a lymphomák MPA kezelését, azt tapasztaltuk, hogy a guanozin nem tudta felfüggeszteni a MPA sejtproliferációt gátló és apoptózist indukáló hatását, tehát a „salvage pathway” a lymphomasejtekben sem működik. A lymphomák esetében is szelektív gátlás véleményezhető.

A mycophenolsav a SCID egerekben kialakított xenograft modellben is hatékonynak bizonyult. A MPA származéka, a mycophenolate mofetil (MMF) per os, naponta egyszer alkalmazva, mind a három vizsgált lymphoma (HT58, BL41, BL41/95) esetében, szignifikáns mértékben csökkentette a subcután oltott tumorok növekedését.

Az MMF hatása akkor is érvényesült, ha a kezelést nem a kísérlet első napjától, hanem csak később, a már kialakult tumorok esetén kezdtük. A szövettani, immunhisztokémia vizsgálatok az MMF kezelt tumorokban szignifikánsan alacsonyabb proliferációs aktivitást és magasabb apoptózis arányt igazoltak.

A mycophenolsav apoptózist indukáló hatását lymphomákban *in vitro* és *in vivo*, mi igazoltuk és írtuk le először. Ugyancsak mi vizsgáltuk elsőként, hogy milyen mechanizmussal, milyen útvonalon keresztül iniciálja a MPA a lymphomákban az apoptózist. Eszerint az MPA az *intrinsic*, *mitochondrialis* útvonalat aktiválva indítja el az apoptózis folyamatát.

Az *in vivo* tumorokból izolált és *in vitro* tenyészetbe visszavitt mindhárom lymphoma megőrizte a mycophenolsavval szembeni érzékenységét, *in vitro* nem észleltük rezisztencia kialakulását a szerrel szemben. Jogosan vetődik fel a kérdés, hogy az MMF kezelés mellett *in vivo* túlélő lymphomasejtek *in vitro* sejttenyészetben miért maradnak érzékenyek a mycophenolsav iránt, hiszen ennek éppen az ellenkezője lenne várható. Az *in vivo* tumoron belül a mycophenolsav koncentrációja feltehetően nem egyenletes, így a tumortérfogat és a vérellátás időbeni változásának eredményeként szintje a tumor adott területében olyan értékre csökkenhet le, amely, bár a sejtek érzékenyek az MPA iránt, már nem elegendő a proliferáció gátlásához. A hatása ugyanakkor reverzibilis, megfelelő gyógyszerkoncentráció esetén (mint amit az *in vitro* vizsgálatban újra létrehoztunk) ismét érvényesül.

Az immunszuppresszív gyógyszerként használt mycophenolsav mindezek alapján hatékony lehet a poszttranszplantációs lymphomák kezelésében. Fel kell vetnünk azonban azt a kérdést is, hogy mint immunszuppresszív vegyület, a MPA milyen rizikót jelent a PTLD kialakulása szempontjából.

A PTLD említett kockázati tényezői közül az egyik az immunszuppresszív kezelés. A kockázat mértéke azonban függ az alkalmazott immunszuppresszió összetételétől. Bizonyos gyógyszerek növelik, mások viszont csökkentik azt. Retrospektív tanulmányok alapján úgy tűnik, a calcineurin inhibitor vegyületek mellett növekszik a PTLD kockázata. A cyclosporine elsősorban magasabb dózisban (>6,6 mg/kg per day) adva rizikónövelő [224,225]. A tacrolimus a cyclosporine-nal összehasonlítva, kettő-öttszörösére fokozza a PTLD kialakulásának valószínűségét [159,226,227]. Több tanulmány is beszámol az OKT3 (anti-CD3 mAB) és az ATG (anti-thymocyta globulin) PTLD

incidenciát növelő hatásáról [87,100]. Swinnen szívtranszplantált betegeknél úgy találta, hogy a PTLD kialakulása szempontjából az OKT3 kumulatív dózisa a meghatározó, 75 mg összdózis felett növeli a kockázatot [228]. Opelz és Döhler szerint, a Collaborative Transplant Study adatbázisa, mintegy 200.000 szervtranszplantált beteg adatai alapján a PTLD kockázata 3-4-szeres, akár indukcióra, akár akut rejectio kezelésére használták a két szert [159]. Az IL-2 receptor gátló ellenanyagok (daclizumab, basiliximab) Opelz és Caillard szerint nem növelik a PTLD rizikóját [159,172]. A sejtproliferációt gátló immunszuppresszív vegyületek közül, a kezdeti megfigyelések alapján a rapamycin alkalmazása csökkenti a PTLD gyakoriságát [87,229]. Caillard szerint ennek igazolására azonban nagyobb beteganyag, hosszabb követési időre van még szükség [172]. Egyre több közlemény erősíti meg a kezdeti tapasztalatokat, az mTOR gátlók mellett lymphoma ritkábban fordul elő [144,145]. Az antimetabolit hatású vegyületek, az azathioprine, és a mycophenolate mofetil (MMF) szintén alacsonyabb rizikót jelentenek [172,230,231]. Funch és munkatársai case control tanulmányukban vizsgálták az MMF és a PTLD kapcsolatát, és az MMF-t nem találták rizikót növelő tényezőnek [170]. Caillard és mtsai a United States Renal Data System adatait elemezték. A 25127 vesetranszplantált betegnél 344 esetben észlelt PTLD multivariáns analízise alapján úgy találták, hogy az MMF 40 %-kal csökkentette a PTLD kialakulásának kockázatát [172].

*A mycophenolsav a PTLD szempontjából tehát kétszeresen is kedvező hatású. A nagy esetszámon alapuló klinikai megfigyelések és közlemények alapján alkalmazása csökkenti a PTLD kialakulásának valószínűségét. Másrészt, mint ahogy azt vizsgálati eredményeink igazolják, hatékony szer lehet a szervátültetést követően kialakult lymphomák kezelésében is.*

A PTLD kezelése összetett, speciális ismereteket igénylő feladat. A terapia meghatározása a lymphomák kezelésében jártas onko-haematologus, a transzplantált szervhez, az immunszuppresszióhoz értő transzplantációs szakember, belgyógyász (nephrologus, hepatologus, pulmonologus stb.), infectologus közös feladata. A döntést több tényező is befolyásolja, így a PTLD WHO klasszifikáció szerinti típusa, stádiuma, az EBV status, a beteg általános állapota, a transzplantált szerv, az alkalmazott immunszuppresszió összetétele. A kezelés tervezésekor egyidejűleg kell tekintettel lenni a transzplantált szervre és a lymphoproliferatív betegségre. Egyszerűbb a helyzet a vese- és hasnyálmirigy transzplantáció esetében, ahol az átültetett szerv esetleges elvesztése



nem veszélyezteti a beteg életét, a művesekezelés, insulin terapia pótolni tudja azt. Egészen más a helyzet a máj-, tüdő-, szívtranszplantált betegeknél, ahol a graft károsodása a beteg sorsának fontos meghatározója lehet. Ennek figyelembevételével kell egyénileg dönteni az immunszuppresszió adagjának csökkentéséről (átmeneti, vagy végleges elhagyásáról), mely a PTLD kezelésének első lépése, és amelyre a cytotoxicus T-lymphocyták (CTL) funkció helyreállítása révén kedvezően reagálhat az EBV pozitív PTLD (elsősorban a korai elváltozások és a poliklonális PTLD, különösen gyermekkorban) [232,233,234]. Az akut rejectio kialakulásának kockázatát napi 7,5 – 10 mg kortikoszteroid adásával csökkenthetjük [87]. A szteroid egyébként is gyakran része a lymphoma elleni chemoterapiának.

A PTLD morfológiai típusa, stádiuma, EBV statusa alapján lehet a terapia további része a sebészi resectio (lokalizált PTLD), a sugárkezelés (lokalizált és központi idegrendszeri PTLD), és a chemoterapia. Chemoterapia választandó az immunszuppresszió adagjának csökkentésére nem reagáló esetekben, illetve első terapiás lépésként a PTLD agresszív típusaiban. A leggyakrabban alkalmazott cytostaticum kombináció a CHOP (cyclophosphamide, adriamycin, vincristine, prednisone) és a VAPEC-B (adriamycin, etoposide, cyclophosphamide, methotrexate, bleomycin, vincristine) [87,235,236]. További lehetőség az ESHAP (etoposide, methylprednisolone, cytarabine, cisplatin), valamint a ProMACE CytaBOM (mechlorethamine, doxorubicin, cyclophosphamide, etoposide, vincristine, prednisone, procarbazine, methotrexate, cytarabine, bleomycin) gyógyszerkombináció [237]. A chemoterapia azonban súlyos, a halálozást növelő toxicus és szeptikus szövődménnyel járhat.

A PTLD kezelésében további lehetőség a rituximab (anti-CD20 mAb) alkalmazása. Mind a csökkentett adagú immunszuppresszióval, mind a csökkentett dózissal (a toxicus mellékhatások szempontjából kedvezőbb) chemoterapiával kombinálva, kedvezőek az első tapasztalatok [87,238,239].

Az interferon-alfa és interleukin-6 ellenes monoklonális ellenanyag, mint lehetőség szóba jön a PTLD kezelésében, egyelőre azonban nem áll rendelkezésre elegendő adat ahhoz, hogy egyértelműen ajánlani lehetne azokat [240,241,242].

A PTLD kialakulásában fontos szerepe van az EBV-specifikus, cytotoxicus T-lymphocyták (CTL) funkció zavarának. Az immunszuppresszió felfüggesztésének célja

éppen ennek a funkciónak a helyreállítása. Ugyanezt a célt szolgálhatja az úgynevezett adoptív T-sejt terapia, ami allogen, EBV-specifikus CTL sejt infúzió adását jelenti ( $10^6$  sejt másnaponta). Haque olyan sejtbankot hozott létre, mely 70 féle, különböző CTL sejt vonalat tartalmaz. Így lehetőség van a kezeléshez a legjobb HLA egyezésű CTL sejtek kiválasztására, ezzel a bevitelüket követő kilökődési reakció megelőzésére. A kezdeti eredmények biztatóak, ez a kezelési mód sem tartozik azonban még a rutin terapiához [243].

A vírus ellenes gyógyszerek is részesei lehetnek a PTLD kezelésének. In vitro vizsgálatok alapján a ganciclovir hatékonyabbnak bizonyult az EBV fertőzött sejtekkel szemben, mint az acyclovir és a valacyclovir. Alkalmazásuk azonban nem javítja a betegek kezelésének eredményeit. EBV seronegatív betegeknél, profilaktikus céllal adva az antivirális szereket kiderült, hogy nem tudják kivédeni a betegek EBV fertőzését, tehát az EBV infectio és a PTLD profilaxisára kevésbé alkalmasak. A ganciclovir a PTLD kialakulásában kofaktor szerepet betöltő cytomegalovirussal (CMV) szemben hatékony szer, alkalmazása tehát elméletileg csökkentheti a PTLD rizikóját [244,245,246]. Opelz multicentrikus, retrospektív analízise alapján azonban kiderült, hogy az antivirális gyógyszerek nem csökkentik a PTLD kockázatát, az anti-CMV immunglobulin is csak a korai poszttranszplantációs non-Hodgkin lymphomák megelőzésében bizonyult hatékonynak vesetranszplantált betegeknél, a késői típusúakat nem tudta kivédeni [247].

A PTLD megelőzésében nyújthat segítséget az EBV vaccinatio, elsősorban a fokozott rizikójú betegeknél, így az EBV seronegatív, szervtranszplantációra váró gyermekek esetében. Az oltáshoz a gp350 vírus membránfehérjét használják, az oltóanyag egészséges önkéntesekben vizsgálva kedvező immunválaszt váltott ki [248]. A transzplantációs gyakorlatban azonban az EBV vaccinatio még nem rutinszerű.

A lymphoma kezelésének eredményeként remissióba került szervtranszplantált betegek további terapiájában problémát jelenthet az immunszuppresszió, amelyre szükség van a transzplantált szerv védelme érdekében, ugyanakkor alkalmazása fokozhatja a lymphoma relapsus kockázatát. A helyzet ezért ellentmondásos. Ajánlott az immunszuppresszió adagját tartósan alacsony szinten tartani, fokozottan figyelve a heveny vagy chronicus rejectio tüneteire. Taylor és mtsai a PTLD-ről szóló átfogó, részletes tanulmányukban kitérnek a rapamycin PTLD-val kapcsolatos, terapiás

(immunszuppresszív és tumorellenes) szerepének értékelésére is. A rapamycint in vitro és xenogen SCID egér modellben is igazolt, EBV pozitív, B-sejtes lymphoma proliferációját gátló hatása alapján potenciális szernek ítélik a PTLD kezelésében. Ajánlásuk szerint, szervkilökődési reakció esetén, immunszuppresszióként alkalmazható a rapamycin, mely csökkentheti a lymphoma kiújulásának kockázatát is. [87,194].

A rapamycin mellett azonban további ajánlás is tehető. A mycophenolsav a szervátültetésben használt, hatékony immunszuppresszív vegyület. Kísérletes munkánkban igazoltuk, hogy a MPA in vitro és in vivo is lymphoma ellenes hatással rendelkezik. *Alkalmazása nemcsak csökkenti a PTLD kialakulásának kockázatát, de úgy véljük, immunszuppresszív és lymphoma proliferációt gátló hatása alapján a mycophenolsav is egyértelműen ajánlható szer a PTLD-ben szenvedő betegek kezelésében, immunszuppressziójuk kiválasztásakor* [249].

Vizsgálataink elindítója a lymphomában szenvedő, szervtranszplantált betegek immunszuppresszív kezelésének problémája volt. A mycophenolsav igazolt lymphoma ellenes tulajdonságát azonban nemcsak a PTLD, hanem tágabb értelemben véve, a nem transzplantált lakosság "hagyományos" lymphomáinak kezelésében is hasznosíthatjuk.

A lymphoma therapia eredményességének egyik fontos meghatározója a cytostaticus szerekkel szemben kialakuló rezisztencia. Az általunk is vizsgált, diffúz nagy B-sejtes lymphoma (DLBCL) a fejlett országokban az egyik leggyakoribb felnőttkori non-Hodgkin lymphoma típus [250]. A DLBCL agresszív lymphoma, a chemoterapia (CHOP, Rituximab) eredményeként, az előrehaladott állapotú betegeknél 30-50%-ban érhető el hosszú távú remissio. A rossz eredmény oka, hogy a kezelés nem mindig eredményez komplett remissiot, vagy korai a betegség kiújulása, a relapsus. Mindezek hátterében pedig a DLBCL sejtek chemoterapiával szembeni gyakori rezisztenciája áll. A cytostaticumok indukálta sejthalál többnyire az apoptózis aktiválódásának kövekezménye [251]. Az apoptózis folyamata számos ponton károsodhat a lymphomasejtekben. A TRAIL és FAS receptorok elvesztése, vagy mutációja, a nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) aktivációja, a c-FLIP, Bcl-2, XIAP, c-Myc gén expressziójának fokozódása, transzlokáció, amplifikáció, vagy mutáció eredményeként, az EBV-pozitív lymphomasejtekben a vírusfehérjék apoptózist gátló hatása lehet többek között magyarázata az apoptózissal szembeni rezisztencia kialakulásának [252]. Az apoptózis elmaradása tehát az oka a chemoterapia hatástalanságának.

A mycophenolsav gátolja a lymphomasejtek proliferációját. Apoptózist indukáló hatása önmagában is érvényesül, de kombinálva egyéb cytostaticus szerekkel, erősítheti azok apoptotikus effektusát is. *Lymphoma ellenes kettős hatása alapján ajánlva tehát, a mycophenolsav hasznos segítség lehet a "hagyományos" lymphomák kezelésében is* [249].

A mycophenolsav egyéb haematologiai betegségek therapiájában is lehetőséget jelenthet. In vitro és in vivo kísérleti eredmények alapján vizsgálják klinikai hatékonyságát myeloma multiplexben szenvedő betegnél [200,253].

A szervátültetést követő rosszindulatú daganatok kezelésének problémája is motiválja azokat a kísérleteket, melyek a mycophenolsav solid tumorokra (vastagbél adenocarcinoma, melanoma malignum, gyomor adenocarcinoma, hasnyálmirigyrák, kissejtes tüdőrák, stb.) gyakorolt antiproliferatív hatását vizsgálják [254,255].

A mycophenolsav immunszuppresszív szerként való elismerése és alkalmazása után úgy tűnik, „reneszánszát” éli és onkológia szempontból is érdeklődésre tarthat számot. Azt, hogy szerephez juthat-e a daganat elleni küzdelemben, további kísérletes és klinikai vizsgálatoknak kell eldönteniük, annyi azonban bizonyos, hogy a mycophenolsav a transzplantációs onkológia számára haszonnal szolgáló vegyület.

## 7 KÖVETKEZTETÉSEK

### 7.1 A veseátültetést követően észlelt rosszindulatú daganatok adatainak elemzéséből levonható következtetések, megállapítások

1. Igazoltuk, hogy veseátültetett betegeink körében a magyarországi, nem transzplantált lakossághoz képest, a rosszindulatú daganatok gyakrabban fordulnak elő. Eredményeink az irodalmi adatokat tükrözik.

2. Hazánkban elsőként végeztük el a veseátültetés utáni és a magyarországi, nem transzplantált lakosság körében előforduló, gyakoribb rosszindulatú daganatok incidenciájának meghatározását, azok összehasonlítását és az eredmények nemzetközi közlését.

3. Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a magyar lakosság gyakori tumorai közül a veseátültetés után csak a bőrrák és a gyomorrák mutatott - mérsékelten - magasabb előfordulási arányt, a tüdő-, vastagbél-, végbél-, emlő-, szájüregi és prosztaták incidenciája ugyanakkor alacsonyabb volt.

4. Az eltérő összetételű immunszuppresszív kezelésben részesült, kronológiailag egymást követő betegcsoportokban a daganatok megjelenésének átlagideje egyre rövidült. Ennek magyarázata lehet az immunszuppresszió különbözősége, az eltérő esetszám és betegkövetési idő miatt azonban egyértelmű megállapítás még nem tehető.

5. A veseátültetést követő első évben észleltük a daganatok közel 20%- át. Ennek azért kell jelentőséget tulajdonítanunk, mert a korai időszakban megjelenő daganatokról feltételezhető, hogy vagy még fel nem ismerhetően, vagy fel nem ismerten, de már a transzplantáció időpontjában jelen vannak a betegeknél.

6. Betegeink átlagéletkora a veseátültetés időpontjában és a daganatok felismerésekor, 1973-tól napjainkig követve, egyaránt, folyamatosan növekszik. A vesebetegek öregedése növeli a daganatok kialakulásának kockázatát.

7. Hazánkban elsőként határoztuk meg és közöltük nemzetközi folyóiratban a veseátültetett daganatos betegek összesített és tumorspecifikus, 1 és 5 éves túlélési

eredményeit. Ezek alapján a bőr-, és pajzsmirigy rák bizonyult a legkedvezőbb prognózisúnak, a Kaposi sarcoma, tüdő-, májrák és a non-Hodgkin lymphoma pedig a legrosszabbnak. A nők jobb túlélési eredményeit azzal magyarázhatjuk, hogy körükben a rossz prognózisú daganatok ritkábban fordultak elő.

8. A chronicus veseelégtelenség és a vesebetegek öregedése miatt fokozódó daganatos kockázat, valamint a veseátültetés után észlelt korai tumorok aránya alapján úgy ítéljük meg, hogy a daganattal történő veseátültetés elkerülése érdekében, a vesetranszplantációs várólistán lévő recipiens jelöltek rendszeres oncológiai ellenőrzése szükséges.

9. Javaslatot dolgoztunk ki a veseátültetésre váró és a már vesetranszplantált betegek rendszeres oncológiai ellenőrzésének módjára, melyet előadásokban, hazai és nemzetközi közleményekben tettünk közzé.

10. Eredményeink alapján határoztuk meg a szervátültetést követő rosszindulatú daganatok kockázatának csökkentését szolgáló feladatainkat. Kiemelkedő fontosságúnak tartjuk a karcinogén hatások elkerülését célzó beteg tájékoztatást, a rendszeres, oncológiai jellegű vizsgálatokat a rákelőtti állapotok és a daganatok korai felismerése és kezelése érdekében, valamint a chronicus immunszuppresszió okozta rizikó mérséklését a graft védelmét még biztosító, de alacsony gyógyszeradagok és az oncológiai szempontból kedvezőbb hatású vegyületek alkalmazásával.

## **7.2 A mycophenolsav, mint immunszuppresszív szer humán, non-Hodgkin lymphomákra gyakorolt hatásának vizsgálati eredményei alapján levonható következtetések, megállapítások**

1. Elsőként igazoltuk és közöltük, hogy a mycophenolsav in vitro gátolja az általunk vizsgált lymphomasejtek proliferációját.

2. Elsőként igazoltuk és közöltük, hogy a mycophenolsav in vitro a lymphomasejtekben apoptózist indukál.

3. Elsőként igazoltuk és közöltük, hogy a mycophenolsav a lymphomasejtekben az apoptózist az intrinsic (mitochondriális) útvonal aktiválásával indukálja.

4. Igazoltuk és közöltük, hogy a guanozin jelenléte nem függeszti fel a mycophenolsav proliferációt gátló és apoptózist indukáló hatását a lymphomasejtekben, a guanin nukleotid képzésben a salvage mechanizmus a lymphocytákhoz hasonlóan, a lymphomasejtekben sem működik.
5. Elsőként igazoltuk és közöltük, hogy a mycophenolsav in vivo, szignifikáns mértékben gátolja az általunk vizsgált lymphomák növekedést. Hatása akkor is érvényesül, ha a kezelést a már kialakult tumorok esetében kezdjük el.
6. Elsőként igazoltuk és közöltük, hogy a mycophenolsav in vivo is apoptózist indukál a lymphomasejtekben.
7. Elsőként igazoltuk és közöltük, hogy az in vivo tumorokból in vitro tenyészetbe visszavitt lymphomasejtekben nem alakult ki rezisztencia a mycophenolsavval szemben.
8. A mycophenolsavat az általunk igazolt, humán, B-sejtes non-Hodgkin lymphomákra gyakorolt, sejtproliferációt gátló és apoptózist indukáló hatása alapján ajánlhatjuk a nem transzplantált lakosság „hagyományos” lymphomáinak kezelésében és a szervátültetés után kialakult lymphomák esetén, a betegek therapiájának és immunszuppressziójuk megválasztásakor.

## 8 ÖSSZEFOGLALÁS

A chronicus immunszuppresszió mellett növekvő gyakorisággal kialakuló rosszindulatú daganatok a szervtranszplantált betegek hosszú távú túlélésének egyre fontosabb meghatározói. Hatékonyan szembeszállni e problémával csak akkor tudunk, ha ismerjük a betegeinkre vonatkozó jellegzetességeit. A veseátültetett recipienseink körében előforduló daganatok incidenciája és gyakorisági sorrendje eltér a magyarországi lakosságtól. A chronicus veseelégtelenség és a vesére váró hazai betegek öregedéséből adódó fokozott daganatos kockázat, valamint a szervátültetés utáni korai időszakban általunk észlelt tumorok aránya alapján úgy véljük, hogy a daganattal történő veseátültetés kockázatát csak a várólistán lévő vesebetegek rendszeres oncológiai szemléletű ellenőrzésével, a tumorok időben történő felismerésével lehet csökkenteni. A veseátültetés után a rákelőtti állapotok és a daganatok korai felfedezése és kezelése, az alacsony dóziszú és oncológiai szempontból kedvezőbb hatású immunszuppresszív vegyületek alkalmazása lehet az eszköze a daganatok okozta kockázat mérséklésének. A poszttranszplantációs tumorok prognózisa kedvezőtlen, a kezelésre rosszul reagálnak. Gyakoriságuk miatt kiemelt jelentőségűek a lymphomák. Kialakulásukban a különböző immunszuppresszív szerek eltérő kockázatot jelentenek. A mycophenolsav alkalmazása mellett ez a kockázat alacsonyabb. Kezelésének egyik fontos kérdése az immunszuppresszió összetétele. Az oncológiai szempontból is ideális vegyület véd a kilökődési reakció ellen, ugyanakkor nem rontja az onkoterápia hatását. Vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy a mycophenolsav *in vitro* és *in vivo* is gátolja a humán B-sejtes non-Hodgkin lymphomasejtek proliferációját, azokban az *intrinsic* út aktiválása révén apoptózist indukál. Kedvező tulajdonságai alapján úgy véljük, a mycophenolsav, mint immunszuppresszív szer hatékony védelmet nyújt a transzplantált szerv számára, ugyanakkor lymphoma elleni hatása révén segítséget jelenthet a lymphomában szenvedő betegek *therapiájában* is. Cytostaticus hatása alapján a nem transzplantált lakosság „hagyományos” lymphomáinak kezelésben is ajánlható, ahol a chemoterápia eredménytelenségének egyik legfőbb oka éppen az apoptózissal szembeni rezisztencia kialakulása. A mycophenolsav más chemoterapiás szerekkel kombinálva felerősítheti a lymphomasejtekben azok apoptózist indukáló hatását. Kedvező kísérleti eredményeink alapul szolgálhatnak a további, klinikai vizsgálatokhoz.



## 9 SUMMARY

The increasing frequency of malignant tumors developing during chronic immunosuppression is an important determinant of the long-term survival of organ transplanted patients. This problem can be solved only if we are aware of the special characteristics concerning our patients. The incidence and frequency of tumors occurring in kidney transplant recipients differ from those of the Hungarian population. The increased tumor risk resulting from chronic renal failure and the increasing age of prospective kidney recipients, and – in addition – the increasing frequency of tumors diagnosed in the early post-transplantation period emphasize the importance of regular oncological screening of patients on the waiting list. Early diagnosis and treatment of tumors and precancerous conditions are equally important in transplanted patients as well, and the tumor risk could be decreased by applying low dose immunosuppression and the preferential usage of immunosuppressive drugs with an oncologically favorable effect. The prognosis of post-transplantation tumors is poor, as they respond poorly to therapy. Lymphomas are of great importance because of their frequency. Different immunosuppressive regimens represent varying degrees of risk in lymphoma development. This risk is lower in the case of mycophenolic acid. A major factor in treatment is the composition of immunosuppression. An oncologically ideal compound would prevent organ rejection, and at the same time, would not counteract oncological therapy. We have shown that mycophenolic acid inhibits the proliferation of human B-cell non-Hodgkin lymphomas and induces apoptosis by activating the intrinsic pathway, both in vitro and in vivo. The favorable properties of mycophenolic acid suggest that it can provide the necessary immunoprotection for the transplanted organ, and, given its anti-lymphoma effects, it may also prove useful in the therapy of lymphoma patients. It may also be helpful in the treatment of "traditional" lymphomas of the non-transplanted population, where the major cause of therapeutical failure is the development of apoptosis resistance. Mycophenolic acid, combined with other chemotherapeutical drugs, may enhance apoptosis in lymphoma cells. Our promising experimental results provide a basis for further, clinical studies.

## 10 IRODALOMJEGYZÉK

1. Merrill JP, Murray JE, Harrison JH, Guild WR. Successful homotransplantation of the human kidney between identical twins. *J Am Med Assoc* 1956. 160:277-282.
2. Kelly WD, Lillihei RC, Merkel FK. Allograft transplantation of the pancreas and duodenum along with the kidney in diabetic nephropathy. *Surgery* 1967. 61:827-835.
3. Starzl TE. The birth of clinical organ transplantation. *J AM Coll Surg.* 2001. 192:431-446.
4. Starzl TE. History of clinical transplantation. *World J Surg.* 2000. 24:759-782.
5. Najarian JS, Sutherland DER, Matas AJ, Steffes MW, Simmons RL, Goetz FC. Human islet transplantation: A preliminary experience. *Transplant Proc* 1977. 9:233-236.
6. Murray JE. Human kidney transplant conference. *Transplantation* 1964. 2:147.
7. Murray JE, Gleason R, Bartholomay A. Second report of registry in human kidney transplantation. *Transplantation* 1964. 2:660-667.
8. Owen RD. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science* 1945. 102:400-401.
9. Medawar PB. The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J Anat* 1944. 78:176-199.
10. Merrill JP, Murray JE, Harrison JH, Friedman EA, Dealy JB, Dammin GJ. Successful homotransplantation of the kidney between nonidentical twins. *N Eng J Med* 1960. 262:1251.
11. Hamburger J, Vaysse J, Crosnier J, Auvert J, Dormont J. Kidney homotransplantation in man. *Ann N Y Acad Sci* 1962. 99:808-820.
12. Shackman R, Dempster WJ, Wrong OM. Kidney homotransplantation in the human. *Br J Urol* 1963. 35:222-255.
13. Kuss R, Legrain M, Mathe G, Nedey R, Camey M. Homologous human kidney transplantation: experience with six patients. *Postgrad Med J* 1962. 38:528-531.

14. Taylor AL, Watson CJE, Bradley JA. Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: mechanisms of action and therapeutic efficacy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005. 56:23-46.
15. Schwartz R, Stack J, Dameshek W. Effect of 6-mercaptopurine on antibody production. *Proc Soc Exp Biol Med* 1958. 99:164-167.
16. Schwartz R, Dameshek W. Drug-induced immunological tolerance. *Nature* 1959. 183:1682-1683.
17. Schwartz R, Dameshek W. The effects of 6-mercaptopurine on homograft reactions. *J Clin Invest* 1960. 39:952-958.
18. Calne RY. The rejection of renal homografts: inhibition in dogs by 6-mercaptopurine. *Lancet* 1960. 1:417-418.
19. Zukoski CF, Lee HM, Hume DM. The prolongation of functional survival of canine renal homografts by 6-mercaptopurine. *Surg Forum* 1960. 11:470-472.
20. Elion GB, Hitchings GH, Vanderwerff H. Antagonists of nucleic acid derivatives. VI. Purines. *J Biol Chem* 1951. 192:505-518.
21. Calne RY, Murray JE. Inhibition of the rejection of renal homografts in dogs by Burroughs Wellcome 57-322. *Surgical Forum* 1961. 12:118-120.
22. Calne RY. Inhibition of the rejection of renal homografts in dogs by purine analogues. *Transplant Bull* 1961. 28:445-461.
23. Murray JE, Merrill JP, Harrison JH, Wilson RE, Dammin GJ. Prolonged survival of human-kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. *N Engl J Med* 1963. 268:1315-1323.
24. Starzl TE, Marchioro TL, Waddel WR. The reversal of rejection in human renal homografts with subsequent development of homograft tolerance. *Surg Gynecol Obstet* 1963. 117:385-395.
25. Starzl TE, Marchioro TL, Hutchinson DE, Porter KA, Cerilli GJ, Brettschneider L. The clinical use of antilymphocyte globulin in renal transplantation. *Transplantation* 1967. 5:1100-1105.Suppl.
26. Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stahelin H. Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions* 1976. 6:468-475.
27. Calne RY, White DJG. Cyclosporin A – a powerful immunosuppressant in dogs with renal allografts. *IRCS Med Sci* 1977. 5:595.

28. No authors listed. Cyclosporin A as sole immunosuppressive agent in recipients of kidney allografts from cadaver donors. Preliminary results of a European multicentre trial. *Lancet* 1982. 2(8289):57-60.
29. No authors listed. Cyclosporin in cadaveric renal transplantation: one-year follow-up of a multicentre trial. *Lancet* 1983. 2(8357):986-989.
30. Hardie IR, Tiller DJ, Mahony JF, Miach PJ, Thomson NM, Thatcher GN, Rigby RJ, Menzies BL. Optimal combination of immunosuppressive agents for renal transplantation: first report of a multicentre, randomised trial comparing cyclosporine + prednisolone with cyclosporine + azathioprine and with triple therapy in cadaver renal transplantation. The Australian Collaborative Trials Committee. *Transplant Proc* 1993. 25:583-584.
31. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of pre-defined specificity. *Nature* 1975. 256:495-497.
32. Cosimi AB, Burton RC, Colvin RB, Goldstein G, Delmonico FL, LaQuaglia MP, Tolkoff-Rubin N, Rubin RH, Herrin JT, Russell PS. Treatment of acute renal allograft rejection with OKT3 monoclonal antibody. *Transplantation* 1981. 32:535-539.
33. Sarzl TE, Todo S, Fung J, Demetris AJ, Venkataramman R, Jain A. FK 506 for liver, kidney, and pancreas transplantation. *Lancet* 1989. 2(8670):1000-1004.
34. Bismuth H, Samuel D, Neuhaus P, McMaster P, Calne R, Pichlmayr R, Otto G, Williams R, Groth C. Focus on intractable rejection: 6-months results of the European multicentre liver study of FK 506 and cyclosporin A. *Transpl Int* 1994.7:S3-6.
35. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1997. 63:977-983.
36. Buell JF, Gross TG, Woodle ES. Malignancy after transplantation. *Transplantation* 2005. 80:S254-264.
37. Murray JE, Gleason R, Bartholomay A. Fourth report of the Human Kidney Transplant Registry: 16 September 1964 to 15 March 1965. *Transplantation* 1965. 3:684.

38. McKhann CF. Primary malignancy in patients undergoing immunosuppression for renal transplantation. *Transplantation* 1969. 8:209-212.
39. Penn I, Halgrimson CG, Starzl TE. De novo malignant tumors in organ transplant recipients. *Transplant Proc* 1971. 3:773-778.
40. Penn I, Starzl TE. Malignant tumors arising de novo in immunosuppressed organ transplant recipients. *Transplantation* 1972. 14:407.
41. Penn I. The incidence of malignancies in transplant recipients. *Transplant Proc* 1975. 7:323-326.
42. Sheil AG. Cancer in renal allograft recipients in Australia and New Zealand. *Transplant Proc* 1977. 9:1133-1136.
43. Sheil AG, Mahony JF, Horvath JS, Johnson JR, Tiller DJ, Stewart JH, May J. Cancer following successful cadaveric donor renal transplantation. *Transplant Proc* 1981. 13:733-735.
44. Jacobs C, Brunner FP, Brynner H, Chantler C, Donckelworcke RA, Hathway RA, Kramer P, Selwood NH, Wing AJ. Malignant diseases in patients treated by dialysis and transplantation in Europe. *Transplant Proc* 1981. 13:729-732.
45. Birkeland SA. Malignant tumors in renal transplant patients. The Scandia transplant material. *Cancer* 1983. 51:1571-1575.
46. Tóth A, Alföldy F, Járny J, Hídvégi M, Perner F. Malignus daganatok vesetranszplantáció után. *Magyar Onkológia* 1993. 37:3-8.
47. Tóth A, Alföldy F, Járny J, Hídvégi M, Perner F. Malignant tumours after renal transplantation. *Acta Chir Hung* 1992/93. 33:211-216.
48. Tóth A, Görög D, Podder H, Dallos G, Sasvári I, Borka P, Réti V, Sótonyi P. Malignus daganatok vesetranszplantáció után. *Magyar Sebészet* 1997. 50:299-301.
49. Szende B, Tóth A, Perner F, Nagy K, Takács K. Clinicopathologic aspects of 8 Kaposi's sarcomas among 1009 renal transplant patients. *Gen Diagn Pathol* 1997.143:209-213.
50. Tóth A, Alföldy F, Járny J, Nádor R, Hubay M, Perner F. Disseminated visceralis Kaposi sarcoma immunosupprimált betegekben. *Magyar Onkológia* 1996. 40:105-108.

51. Tóth A, Alföldy F, Járay J, Görög D, Borka P, Fehérvári I, Perner F. Disseminated Kaposi sarcoma in immunosuppressed patients. *Acta Chir Hung* 1995/96. 35:53-62.
52. Végső Gy, Németh Zs, Péter A, Perner F, Barabás J, Szabó Gy.: Rosszindulatú szájüregi daganat megjelenése 19 évvel veseátültetést követően. *Magyar Onkológia* 1997. 41:180-183.
53. Langer RM, Járay J, Tóth A, Hidvégi M, Végső G, Perner F. De novo tumors after kidney transplantation: The Budapest experience. *Transplant Proc* 2003. 35.:1396-1398.
54. Végső Gy, Sebestyén A, Járay J, Kopper L.: Rosszindulatú daganatok a szervátültetést követő immunszupprimált állapotban. *Orvosképzés* 2006. 3:137-244.
55. Végső Gy, Járay J. A veseátültetést követően kialakuló rosszindulatú daganatok. *Orv Hetil* 2007. 148:2115-2113.
56. Kauffman HM, Cherikh WS, McBride MA, Cheng Y, Hanto DW. Post-transplant de novo malignancies in renal transplant recipients: the past and present. *Transpl Int* 2006. 19:607-620.
57. Penn I. Transmission of cancer from organ donors. *Ann Transplant.* 1997. 2:7-12.
58. Buell JF, Beebe TM, Trofe J, Gross TG, Alloway RR, Hanaway MJ, Woodle ES. Donor transmitted malignancies. *Ann Transplant* 2004. 9:53-56.
59. Vegso G, Mathe Z, Peter A, Perner F, Jaray J, Langer RM.. Improving results of renal transplantation with the use of elderly donors: The Budapest experience. *Transplant Proc.* 2005. 37:4225-4227.
60. Kinlen LJ, Eastwood JB, Kerr DN, Moorhead JF, Oliver DO, Robinson BH, deWardener HE, Wing AJ. Cancer in patients receiving dialysis. *Br Med J.* 1980. 14:1401-1403.
61. Fischereder M, Jauch KW. Prevalence of cancer history prior to renal transplantation. *Transpl Int.* 2005. 18:779-784.
62. Maisonneuve P, Agodoa L, Gellert R, Stewart JH, Bucciante G, Lowenfels AB, Wolfe RA, Jones E, Disney AP, Briggs D, McCredie M, Boyle P. Cancer in patients on dialysis for end-stage renal disease: an international collaborative study. *Lancet* 1999. 354:93-99.

63. Peces R. Malignancy and chronic renal failure. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2003. 14:5-14.
64. Hertl M, Cosimi AB. Liver transplantation for malignancy. *Oncologist*. 2005. 10:269-81.
65. Sauer P, Kraus TW, Schemmer P, Mehrabi A, Stremmel W, Buechler MW, Encke J. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Is there evidence for expanding the selection criteria ? *Transplantation* 2005. 80:S105-108.
66. Penn I. Posttransplant malignancies. *Transplant Proc* 1999. 31:1260-1262.
67. Penn I. Cancers in renal transplant recipients. *Adv Ren Replace Ther* 2000. 7:147-156.
68. Chapman J, Webster AC. Cancer report: ANZDATA Registry 2004 report. 2004:99.
69. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson DT, Wang C. Cancer after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2004. 4:905-913.
70. Adami J, Gabel H, Lindelof B, Ekstrom K, Rydh B, Glimelius B, Ekblom A, Adami HO, Granath F. Cancer risk following organ transplantation: a nationwide cohort study in Sweden. *Br J Cancer* 2003. 89:1221-1227.
71. Lutz J, Heemann U. Tumours after kidney transplantation. *Curr Opin Urol* 2003. 13:105-109.
72. Montagnino G, Lorca E, Tarantino A, Bencini P, Aroldi A, Cesana B, Braga M, Lonati F, Ponticelli C. Cancer incidence in 854 kidney transplant recipients from a single institution: comparison with normal population and with patients under dialytic treatment. *Clin Transpl* 1996. 10: 461-469.
73. Kessler M, Jay N, Molle R, Guillemin F. Excess risk of cancer in renal transplant patients. *Transpl Int* 2006. 19:908-914.
74. Diehl V, Hauch P, Harris N. Hodgkin's Disease. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: Principles and practice of oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001:1204.
75. Yarchoan R, Little RF. Immunosuppression-related malignancies. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: Principles and practice of oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001:2575.

76. Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet* 2007. 370(9581):59-67.
77. Matter B, Zukoski CF, Killen DA, Ginn E. Transplanted carcinoma in an immunosuppressed patient. *Transplantation* 1970. 9:71-74.
78. Wilson RE, Hager EB, Hampers CL, Corson JM, Merrill JP, Murray JE. Immunologic rejection of human cancer transplanted with a renal allograft. *N Engl J Med* 1968. 278:479-483.
79. Starzl TE, Nalesnik MA, Porter KA, Ho M, Iwatsuki S, Griffith BP, Rosenthal JT, Hakala TR, Shaw BW Jr, Hardesty RL. Reversibility of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporin-steroid therapy. *Lancet* 1984. 1(8377):583-587.
80. Wijnveen AC, Persson H, Bjorck S, Blohme I. Disseminated Kaposi's sarcoma – full regression after withdrawal of immunosuppressive therapy: report of a case. *Transplant Proc* 1987. 19:3735-3736.
81. Duman S, Toz H, Asci G, Alper S, Ozkahya M, Unal I, Celik A, Ok E, Basci A. Successful treatment of post-transplant Kaposi's sarcoma by reduction of immunosuppression. *Nephrol Dial Transplant* 2002. 17:892-896.
82. Friedlaender MM, Rubinger D, Rosenbaum E, Amir G, Siguencia E. Temporary regression of Merkel cell carcinoma metastases after cessation of cyclosporine. *Transplantation* 2002. 73:1849-1850.
83. Otley CC, Coldiron BM, Stasko T, Goldman GD. Decreased skin cancer after cessation of therapy with transplant-associated immunosuppressants. *Arch Dermatol* 2001. 137:459-463.
84. Chuang FR, Hsieh H, Hsu KT, Huang HF. Increasing transplant cancer patient survival by conversion of immunosuppressive agents. *Transplant Proc* 1996. 28:1346-1347.
85. Alamartine E, Sabido O, Berthoux F. In-vitro effects of cyclosporin A, FK506, 6-mercaptopurine, and prednisolone on lymphokine-activated killer cells. *Nephrol Dial Transplant* 1994. 9:1456-1461.



86. Tamura F, Masuhara A, Sakaida I, Fukumoto E, Nakamura T, Okita K. FK506 promotes liver regeneration by suppressing natural killer cell activity. *J Gastroenterol Hepatol* 1998. 13:703-708.
87. Taylor AL., Marcus R., Bradley JA. Post-transplant lymphoproliferative disorders (PTLD) after solid organ transplantation. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2005. 56: 155-167.
88. Meyer T, Arndt R, Nindl I, Ulrich C, Christophers E, Stockfleth E. Association of human papillomavirus infections with cutaneous tumors in immunosuppressed patients. *Transpl Int* 2003. 16:146-153.
89. Euvrard S, Chardonnet Y, Pouteil-Noble C, Kanitakis J, Chignol MC, Thivolet J, Touraine JL. Association of skin malignancies with various and multiple carcinogenic and noncarcinogenic human papillomaviruses in renal transplant recipients. *Cancer* 1993. 72:2198-2206.
90. Muller AM, Ihorst G, Mertelsmann R, Engelhardt M. Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): trends, geographic distribution, and etiology. *Ann Hematol* 2005. 84:1-12.
91. Capello D, Rossi D, Gaidano G. Post-transplant lymphoproliferative disorders: molecular basis of disease histogenesis and pathogenesis. *Hematol Oncol*. 2005. 23:61-67.
92. Snow AL, Martinez OM. Epstein-Barr virus: evasive maneuvers in the development of PTLD. *Am J Transplant* 2007. 7:271-277.
93. Fourcade C, Jarry L, Mechler C, Lionnet F, Dardel P. Association of B-cell lymphoma and T-cell lymphoma in HTLV1 infection. *Ann Biol Clin* 1997. 55: 491-493.
94. Lizardi-Cervera J, Poo JL, Romero-Mora K, Castaneda B, Pichardo-Bahena R, Moran S, uribe M. Hepatitis C virus infection and non-Hodgkin's lymphoma: a review and case report of nine patients. *Ann Hepatol* 2006. 5:257-262.
95. Lupberger J, Hildt E. Hepatitis B virus-induced oncogenesis. *World J Gastroenterol* 2007. 13:74-81.
96. Stankovic-Djordjevic D, Djordjevic N, Tasic G, Dinic M, Karanikolic A, Pesic M. Hepatitis C virus genotypes and the development of hepatocellular carcinoma. *Chin J Dig Dis* 2007. 8:42-47.

97. Moore PS, Gao SJ, Dominguez G, Cesarman E, Lungu O, Knowles DM, Garber R, Pellett PE, McGeoch DJ, Chang Y. Primary characterization of a herpesvirus agent associated with Kaposi's sarcoma. *J Virol* 1996. 70:549-558.
98. Mbulaiteye SM, Engels EA. Kaposi's sarcoma risk among transplant recipients in the United States (1991-2003). *Int J Cancer* 2006. 119:2685-2691.
99. Desoize B. Immunosuppressive agents are also carcinogens. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005. 56: 1-4.
100. Cockfield SM, Preiksaitis J, Harvey E, Jones C, Hebert D, Keown P, Halloran PF. Is sequential use of ALG and OKT3 in renal transplants associated with an increased incidence of fulminant posttransplant lymphoproliferative disorder? *Transplant Proc* 1991. 23:1106-1107.
101. Hibberd AD, Trevillian PR, Wlodarczyk JH, Gillies AH, Stein AM, Sheil AG, Disney AP. Cancer risk associated with ATG/OKT3 in renal transplantation. *Transplant Proc* 1999. 31:1271-1272.
102. Kauffman HM, Cherikh WS, McBride MA, Cheng YA, Delmonico FL, Hanto DW. Transplant recipients with a history of a malignancy: risk of recurrent and de novo cancers. *Transplant Rev* 2005. 19:55.
103. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson DT, Wang C. Cancer after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2004. 4:905-913.
104. Danpanich E, Kasiske BL. Risk factors for cancer in renal transplant recipients. *Transplantation* 1999. 68:1859-1864.
105. Bustami RT, Ojo AO, Wolfe RA, Merion RM, Bennett WM, McDiarmid SV, Leichtman AB, Held PJ, Port FK. Immunosuppression and the risk of post-transplant malignancy among cadaveric first transplant recipients. *Am J Transplant* 2004. 4:87-93.
106. Kasiske BL, Klinger D. Cigarette smoking in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2000. 11:753-759.
107. Adcock IM, Ito K. Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Monaldi Arch Chest Dis* 2000. 55:256-266.
108. Frey BM, Frey FJ. Clinical pharmacokinetics of prednisone and prednisolone. *Clin Pharmacokinet* 1990. 19:126-146.

109. Shibasaki F, Hallin U, Uchino H. Calcineurin as a multifunctional regulator. *J Biochem* 2002. 131:1-15.
110. Franchetti P, Grifantini M. Nucleoside and non-nucleoside IMP dehydrogenase inhibitors as antitumor and antiviral agents. *Curr Med Chem*. 1999. 6:599-614.
111. Allison AC, Eugui EM. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil in preventing acute and chronic allograft rejection. *Transplantation* 2005. 80:S181-190.
112. Allison AC, Eugui EM. Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF). *Clin Transplant* 1996. 10:77-84.
113. Eugui EM, Almquist SJ, Muller CD, Allison AC. Lymphocyte-selective cytostatic and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in vitro: role of deoxyguanosin nucleotide depletion. *Scand J Immunol*. 1991. 33:161-173.
114. Eugui EM, Mirkovich A, Allison AC. Lymphocyte-selective antiproliferative and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in mice. *Scand J Immunol*. 1991. 33:175-183.
115. Sollinger HW. From mice to man: the preclinical history of mycophenolate mofetil. *Clin Transplant* 1996. 10:85-92.
116. Allison AC, Eugui EM. Inhibitors of de novo purine and pyrimidine synthesis as immunosuppressive drugs. *Transplant Proc* 1993. 25:8-18.
117. Appel GB, Radhakrishnan J, Ginzler EM. Use of mycophenolate mofetil in autoimmune and renal diseases. *Transplantation*. 2005. 80:S265-271.
118. Mita MM, Mita A, Rowinsky EK. The molecular target of rapamycin (mTOR) as a therapeutic target against cancer. *Cancer Biol Ther* 2003. 2:S169-177.
119. Bjelogrić SK, Srđić T, Radulović S. Mammalian target of rapamycin is a promising target for novel therapeutic strategy against cancer. *J BUON* 2006. 11:267-276.
120. Mochon M, Kaiser B, Palmer JA, Polinsky M, Flynn JT, Caputo GC, Baluarte HJ. Evaluation of OKT3 monoclonal antibody and anti-thymocyte globulin in the treatment of steroid-resistant acute allograft rejection in pediatric renal transplants. *Pediatr Nephrol* 1993. 7:259-262.
121. Midtvedt K, Fauchald P, Lien B, Hartmann A, Albrechtsen D, Bjerkely BL, Leivestad T, Brekke IB. Individualized T cell monitored administration of ATG

- versus OKT3 in steroid-resistant kidney graft rejection. *Clin Transplant* 2003. 17:69-74.
122. Matas AJ, Tellis VA, Quinn T, Glichlick D, Soberman R, Weiss R, Karwa G, Veith FJ. ALG treatment of steroid-resistant rejection in patients receiving cyclosporine. *Transplantation* 1986. 41:579-583.
  123. Kahan BD, Rajagopalan PR, Hall M. Reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treated with basiliximab, a chimeric anti-interleukin-2-receptor monoclonal antibody. United States Simulect Renal Study Group. *Lancet* 1997. 350(9086):1193-1198.
  124. Hong JC, Kahan BD. Immunosuppressive agents in organ transplantation: past, present, and future. *Semin Nephrol* 2000. 20:108-125.
  125. Caillat-Zucman S, Blumenfeld N, Legendre C, Noel LH, Bach JF, Kreis H, Chatenoud L. The OKT3 immunosuppressive effect. In situ antigenic modulation of human graft-infiltrating T cells. *Transplantation* 1990. 49:156-160.
  126. Wilde MI, Goa KL. Muromonab CD3: a reappraisal of its pharmacology and use as prophylaxis of solid organ transplant rejection. *Drugs* 1996. 51:865-894.
  127. Kovarik JM, Kahan BD, Rajagopalan PR, Bennett W, Mulloy LL, Gerbeau C, Hall ML. Population pharmacokinetics and exposure-response relationships for basiliximab in kidney transplantation. The U.S. Simulect Renal Transplant Study group. *Transplantation* 1999. 68:1288-1294.
  128. Bourdage JS, Hamlin DM. Comparative polyclonal antithymocyte globulin and antilymphocyte/antilymphoblast globulin anti-CD antigen analysis by flow cytometry. *Transplantation* 1995. 59:1194-1200.
  129. Taniguchi Y, Frickhofen N, Raghavachar A, Digel W, Heimpel H. Antilymphocyte immunoglobulins stimulate peripheral blood lymphocytes to proliferate and release lymphokines. *Eur J Haematol* 1990. 44:244-251.
  130. Karagas MR, Cushing GL, Greenberg ER, Mott LA, Spencer SK, Nierenberg DW. Non-melanoma skin cancers and glucocorticoid therapy. *Br J Cancer* 2001. 85:683-686.
  131. Sorenson HT, Mellekjaer L, Nielson GL, Baron JA, Olsen JH, Karagas MR. Skin cancers and non-Hodgkin lymphoma among users of systemic

- glucocorticoids: a population-based Cohort Study. *J Natl Cancer Inst* 2004. 96:709.
132. Hojo M, Morimoto T, Maluccio M, Asano T, Morimoto K, Lagman M, Shimbo T, Suthanthiran M. Cyclosporine induces cancer progression by a cell-autonomous mechanism. *Nature* 1999. 397(6719):530-534.
  133. Shihab FS, Bennett WM, Isaac J, Yi H, Andoh TF. Nitric oxide modulates vascular endothelial growth factor and receptors in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 2003. 63:522-533.
  134. Dantal J, Hourtman M, Cantarovich D, Giral M, Blancho G, Dreno B, Souillou JP. Effect of long-term immunosuppression in kidney-graft recipients on cancer incidence: randomised comparison of two cyclosporin regimens. *Lancet* 1998. 351(9103):623-628.
  135. McGeown MG, Douglas JF, Middleton D. One thousand renal transplants at Belfast City Hospital: post-graft neoplasia 1968-1999, comparing azathioprine only with cyclosporine-based regimes in a single center. In: Cecka JM, Terasari PI, et al. *Clinical Transplants*, 2000. Los Angeles: UCLA Immunogenetics Center, 2000: p.193.
  136. Mayer AD, Dmitrewski J, Squifflet J-P, Besse T, Grabensee B, Klein B, Eigler FW, Heemann U, Pichlmayr R, Behrend M, Vanrenterghem Y, Donck J, van Hooff J, Christiaans M, Morales JM, Andres A, Johnson RW, Short C, Buchholz B, Rehmert N, Land W, Schleibner S, Forsythe JL, Talbot D, Pohanka E. Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group. *Transplantation* 1997. 64:436-443.
  137. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1997. 63:977-983.
  138. Wiesner RH. A long-term comparison of tacrolimus (FK506) versus cyclosporine in liver transplantation. A report of the United States FK506 Study Group. *Transplantation* 1998. 66:493-499.

139. Cherikh WS, Kauffman HM, Shames BD, Cheng Y, Hanto DW. Association of different immunosuppressive regimens with posttransplant de novo malignancies in liver recipients. *Am J Transplant* 2005. 5:392.
140. Marcen R, Pascual J, Tato AM, Teruel JL, Villafruela JJ, Fernandez M, Tenorio M, Burgos FJ, Ortuno J. Influence of immunosuppression on the prevalence of cancer after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2003. 35:1714-1716.
141. Hiesse C, Rieu P, Kriaa F, Laure JR, Groupy C, Neyrat N, Charpentier B. Malignancy after renal transplantation: analysis of incidence and risk factors in 1700 patients followed during a 25-year period. *Transplant Proc* 1997. 29:831-833.
142. Cherikh WS, Kauffman HM, McBride MA, Maghirang J, Swinnen LJ, Hanto DW. Association of the type of induction immunosuppression with post-transplant lymphoproliferative disorder, graft survival, and patient survival after primary kidney transplantation. *Transplantation* 2003. 76:1289-1293.
143. Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, Bruns CJ, Zuelke C, Farkas S, Anthuber M, Jauch KW, Geissler EK. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2002. 8:128-135.
144. Kahan BD, Knight R, Schoenberg L, Pobielski J, Kerman RH, Mahalati K, Yakupoglu Y, Aki FT, Katz S, Van Buren CT. Ten years of sirolimus therapy for human renal transplantation: the University of Texas at Houston experience. *Transplant Proc*. 2003. 35:25S-34S.
145. Yakupoglu YK, Buell JF, Woodle S, Kahan BD. Individualization of immunosuppressive therapy. III. Sirolimus associated with a reduced incidence of malignancy. *Transplant Proc*. 2006. 38:358-361.
146. Penn I. The changing pattern of posttransplant malignancies. *Transplant Proc* 1991. 23:1101-1103.
147. Euvrard S, Kanitakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation. *N Engl J Med* 2003. 348:1681-1691.
148. Buell JF, Trofe J, Hanaway MJ, Beebe TM, Gross TG, Alloway RR, Woodle ES. Immunosuppression and Merkel cell cancer. *Transplant Proc* 2002. 34:1780-1781.

149. Laing ME, Moloney FJ, Comber H, Conlon P, Murphy GM. Malignant melanoma in renal transplant recipients. *Br J Dermatol* 2006. 155:857.
150. Leveque L, Dalac S, Domp Martin A, Louvet S, Euvrard S, Catteau B, Hazan M, Schollhamer M, Aubin F, Dreno B, Daguin P, Chevrant-Breton J, Frances C, Bismuth MJ, Tanter Y, Lambert D. Melanoma in organ transplant patients. *Ann Dermatol Vereneol* 2000. 127:160-165.
151. Penn I. Kaposi's sarcoma in transplant recipients. *Transplantation* 1997. 64:669-673.
152. Wunderlich H, Wilhelm S, Reichelt O, Zerman DH, Borner R, Schubert J. Renal cell carcinoma in renal graft recipients and donors: incidence and consequence. *Urol Int* 2001. 67:24-27.
153. Matson MA, Cohen EP. Acquired cystic kidney disease: occurrence, prevalence, and renal cancers. *Medicine (Baltimore)* 1990. 69:217-226.
154. Husted TL, Buell JF, Hanaway MJ, Trofe J, Beebe T, Gross T, First MR, Woodle ES. De novo sarcomas in solid organ transplant recipients. *Transplant Proc* 2002. 34:1786-1787.
155. Doak PB, Montgomerie JZ, North JD, Smith F. Reticulum cell sarcoma after renal homotransplantation and azathioprine and prednisone therapy. *Br Med J* 1968. 4:746-748.
156. Starzl TE, Nalesnik MA, Porter KA, Ho M, Iwatsuki S, Griffith BP, Rosenthal JT, Hakala TR, Shaw BW Jr, Hardesty RL. Reversibility of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporin-steroid therapy. *Lancet* 1984. 1(8377):583-587.
157. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, Lister TA, Bloomfield CD. The World Health Organization classification of neoplastic diseases of the haematopoietic and lymphoid tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting. Airlie House, Virginia, November 1997. *Histopathology* 2000. 36:69-86.
158. Harris NL, Ferry JA, Swerdlow SH. Posttransplant lymphoproliferative disorders: summary of society for hematopathology workshop. *Semin Diagn Pathol* 1997. 14:8-14.

159. Opelz G, Dohler B. Lymphomas after solid organ transplantation: a collaborative transplant study report. *Am J Transplant* 2004. 4:222-230.
160. Libertiny G, Watson CJ, Gray DW, Welsh KI, Morris PJ. Rising incidence of post-transplant lymphoproliferative disease in kidney transplant recipients. *Br J Surg* 2001. 88:1330-1334.
161. Paranjothi S, Yusen RD, Kraus MD, Lynch JP, Patterson GA, Trulock EP. Lymphoproliferative disease after lung transplantation: comparison of presentation and outcome of early and late cases. *J Heart Lung Transplant* 2001. 20:1054-1063.
162. Gao SZ, Chaparro SV, Perloth M, Montoya JG, Miller JL, DiMiceli S, Hastie T, Oyer PE, Schroeder J. Post-transplantation lymphoproliferative disease in heart and heart-lung transplant recipients: 30-year experience at Stanford University. *J Heart Lung Transplant* 2003. 22:505-514.
163. Shapiro R, Nalesnik M, McCauley J, Fedorek S, Jordan ML, Scantlebury VP, Jain A, Vivas C, Ellis D, Lombardozzi-Lane S, Randhawa P, Johnston J, Hakala TR, Simmons RL, Fung JJ, Starzl TE. Posttransplant lymphoproliferative disorders in adult and pediatric renal transplant patients receiving tacrolimus-based immunosuppression. *Transplantation* 1999. 68:1851-1854.
164. Pickhardt PJ, Siegel MJ, Hayashi RJ, Kelly M. Posttransplantation lymphoproliferative disorders in children: clinical, histopathologic, and imaging features. *Radiology* 2000. 217:16-25.
165. Dror Y, Greenberg M, Taylor G, Superina R, Hebert D, West L, Conolly B, Sena L, Allen U, Weitzman S. Lymphoproliferative disorders after organ transplantation in children. *Transplantation* 1999. 67:990-998.
166. Walker RC, Paya CV, Marshall WF, Strickler JG, Wiesner RH, Velosa JA, Habermann TM, Daly RC, McGregor CG. Pretransplantation seronegative Epstein-Barr virus status is the primary risk factor for posttransplantation lymphoproliferative disorder in adult heart, lung, and other solid organ transplantations. *J Heart Lung Transplant* 1995. 14:214-221.
167. Shahinian VB, Muirhead N, Jevnikar AM, Leckie SH, Khakhar AK, Luke PP, Rizkalla KS, Hollomby DJ, House AA. Epstein-Barr virus seronegativity is a risk



- factor for late-onset posttransplant lymphoproliferative disorder in adult renal allograft recipients. *Transplantation* 2003. 75:851-856.
168. Fiorilli M, Mecucci C, Fraci P, Casato M. HCV-associated lymphomas. *Rev Clin Exp Hematol* 2003. 7:327-328.
169. Manez R, Breinig MK, Linden P, Kusne S, Torre-Cisneros J, Wilson J, Starzl TE, Ho M. Factors associated with the development of post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in Epstein-Barr virus (EBV)-seronegative adult liver transplant recipients. *Transpl Int* 1994. 7:S235-237.
170. Funch DP, Ko HH, Travasso J, Brady J, Kew CE 2nd, Nalesnik MA, Walker AM. Posttransplant lymphoproliferative disorder among renal transplant patients in relation to the use of mycophenolate mofetil. *Transplantation* 2005. 80:1174-1180.
171. Bakker NA, van Imhoff GW, Verschuuren EA, van Son WJ, van der Heide JJ, Lems SP, Veeger NJ, Kluin PM, Kluin-Nelemans HC, Hepkema BG. HLA antigens and post renal transplant lymphoproliferative disease: HLA-B matching is critical. *Transplantation* 2005. 80:595-599.
172. Caillard S, Dharnidharka V, Agodoa L, Bohlen E, Abbott K. Posttransplant lymphoproliferative disorders after renal transplantation in the United States in era of modern immunosuppression. *Transplantation* 2005. 80:1233-1243.
173. Majewski M, Korecka M, Joergensen J, Fields L, Kossev P, Schuler W, Shaw L, Wasik MA. Immunosuppressive TOR kinase inhibitor everolimus (RAD) suppresses growth of cells derived from posttransplant lymphoproliferative disorder at allograft protecting doses. *Transplantation* 2003. 75:1710-1717.
174. Hoshida Y, Li T, Dong Z, Tomita Y, Yamauchi A, Hanai J, Aozasa K. Lymphoproliferative disorders in renal transplant patients in Japan. *Int J Cancer* 2001. 91:869-875.
175. Kwong YL, Lam CC, Chan TM. Post-transplantation lymphoproliferative disease of natural killer cell lineage: a clinicopathological and molecular analysis. *Br J Haematol* 2000. 110:197-202.
176. Bakker NA, van Imhoff GW, Verschuuren EA, van Son WJ. Presentation and early detection of post-transplant lymphoproliferative disorder after solid organ transplantation. *Transpl Int* 2007. 20:207-218.

177. Kroes AC, van der Pijl JW, van Tol MJ, van Krieken JH, Falk KI, Gratama JW, van der Woude FJ. Rapid occurrence of lymphoproliferative disease after pancreas-kidney transplantation performed during acute primary Epstein-Barr virus infection. *Clin Infect Dis* 1997. 24:339-343.
178. Penn I, Porat G. Central nervous system lymphomas in organ allograft recipients. *Transplantation* 1995. 59:240-244.
179. Bakker NA, van Imhoff GW, Verschuuren EA, van Son WJ, Homan van der Heide JJ, Veeger NJ, Kluin PM, Kluin-Nelemans HC. Early onset post-transplant lymphoproliferative disease is associated with allograft localization. *Clin Transplant* 2005. 19:327-334.
180. Fernandez A, Marcen R, Pascual J, Galeano C, Ocana J, Arellano EM, Alfaro C, Villafruela JJ, Burgos FJ, Ortuno J. Conversion from calcineurin inhibitors to everolimus in kidney transplant recipients with malignant neoplasia. *Transplant Proc* 2006. 38:2453-2455.
181. Sanchez-Fructuoso A, Conesa J, Perez Flores I, Ridao N, Calvo N, Prats D, Rodriguez A, Barrientos A. Conversion to sirolimus in renal transplant patients with tumors. *Transplant Proc* 2006. 38:2451-2452.
182. Ojo AO, Hanson JA, Wolfe RA, Leichtman AB, Agodoa LY, Port FK. Long-term survival in renal transplant recipients with graft function. *Kidney Int* 2000. 57:307-313.
183. Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, Trulock EP, Keck BM, Hertz MI. The registry of the International Society for Heart et Lung Transplantation: Twenty-First Official Adult Heart Transplant report – 2004. *J Heart Lung Transplant* 2004. 23:796-803.
184. Rogers CC, Alloway RR, Boardman R, Trofe J, Hanaway MJ, Alexander JW, Roy-Chaudhury P, Buell JF, Thomas M, Susskind B, Woodle ES. Global cardiovascular risk under early corticosteroid cessation decreases progressively in the first year following renal transplantation. *Transplant Proc* 2005.37:812-813.
185. Gaston RS, Alveranga DY, Becker BN, Distant DA, Held PJ, Bragg-Gresham JL, Humar A, Ting A, Wynn JJ, Leichtman AB. Kidney and pancreas transplantation. *Am J Transplant* 2003. 3:64-77.

186. Sheil AG, Disney AP, Mathew TH, Amiss N. De novo malignancy emerges as a major cause of morbidity and late failure in renal transplantation. *Transplant Proc* 1993. 25:1383-1384.
187. Pedotti P, Cardillo M, Rossini G, Arcuri V, Boschiero L, Caldara R, Cannella G, Dissegna D, Gotti E, Marchini F, Maresca MC, Montagnino G, Montanaro D, Rigotti P, Sandrini S, Taioli E, Scalapogna M. Incidence of cancer after kidney transplant: results from the North Italy Transplant Program. *Transplantation* 2003. 76:1448-1451.
188. Howard RJ, Patton PR, Reed AI, Hemming AW, Van der Werf WJ, Pfaff WW, Srinivas TR, Scornik JC. The changing causes of graft loss and death after kidney transplantation. *Transplantation* 2002. 73:1923-1928.
189. Gallo P, Agozzino L, Angelini A, Arbustini E, Bartoloni G, Bernucci P, Bonacina E, Bosman C, Catani G, di Gioia C, Giordana C, Leone O, Motta T, Pucci A, Rocco M. Causes of late failure after heart transplantation: a ten year survey. *J Heart Lung Transplant* 1997. 16:1113-1121.
190. Jain AB, Yee LD, Nalesnik MA, Youk A, Marsh G, Reyes J, Zak M, Rakela J, Irish W, Fung JJ. Comparative incidence of de novo nonlymphoid malignancies after liver transplantation under tacrolimus using surveillance epidemiologic end result data. *Transplantation* 1998. 66:1193-1200.
191. Martin-Gomez MA, Pena M, Cabello M, Burgos D, Gutierrez C, Sola E, Acedo C, Bailen A, Gonzalez-Molina M. Posttransplant lymphoproliferative disease: a series of 23 cases. *Transplant Proc* 2006. 38:2448-2450.
192. Ghobrial IM, Habermann TM, Marcon WR, Ristow KM, Larson TS, Walker RC, Ansell SM, Gores GJ, Stegall MD, McGregor CG. Differences between early et late posttransplant lymphoproliferative disorders in solid organ transplant patients: are they two different disease ? *Transplantation* 2005. 79:244-247.
193. Sola E, Lopez V, Burgos D, Cabello M, Gutierrez C, Martin A, Pena M, Gonzalez-Molina M. Pulmonary toxicity associated with sirolimus treatment in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2006. 38:2438-2440.
194. Nepomuceno RR, Balatoni CE, Natkunam Y, Snow AL, Krams SM, Martinez OM. Rapamycin inhibits the interleukin 10 signal transduction pathway and the growth of Epstein Barr virus B-cell lymphomas. *Cancer Res* 2003. 63:4472-4480.

195. Tressler RJ, Garvin LJ, Slate DL. Anti-tumor activity of mycophenolate mofetil against human and mouse tumors in vivo. *Int J Cancer* 1994. 57:568-573.
196. Yu J, Lemas V, Page T, Connor JD, Yu AL. Induction of erythroid differentiation in K562 cells by inhibitors of inosine monophosphate dehydrogenase. *Cancer Res* 1989. 49:5555-5560.
197. Lee HJ, Pawlak K, Nguyen BT, Robins RK, Sadee W. Biochemical differences among four inosinate dehydrogenase inhibitors, mycophenolic acid, ribavirin, tiazofurin, and selenazofurin, studied in mouse lymphoma cell culture. *Cancer Res* 1985. 45:5512-5520.
198. Ohsugi Y, Suzuki S, Takagaki Y. Antitumor and immunosuppressive effects of mycophenolic acid derivatives. *Cancer Res* 1976. 36:2923-2927.
199. Carter SB, Franklin TJ, Jones DF, Leonard BJ, Mills SD, Turner RW, Turner WB. Mycophenolic acid: an anticancer compound with unusual properties. *Nature* 1969. 223: 848-850.
200. Takebe N, Cheng X, Fandy TE, Srivastava RK, Wu S, Shankar S, Bauer K, Shaughnessy J, Tricot G. IMP dehydrogenase inhibitor mycophenolate mofetil induces caspase-dependent apoptosis and cell cycle inhibition in multiple myeloma cells. *Mol Cancer Ther* 2006. 5:457-466.
201. Ottó S, Kásler M. A hazai és nemzetközi daganatos halálozási és megbetegedési mutatók alakulása. A népegészségügyi programok jellegzetességei és várható eredményei. *Magyar Onkológia* 2005. 49:99-107.
202. Kopper L, Bánkfalvi Á, Mihalik R, Nagy P, Fulop C, Sarmay G. New in vitro line from human (B) non-Hodgkin lymphoma. *Anticancer Res* 1991. 11:1645-1649.
203. Avila-Carino J, Torsteinsdottir S, Ehlin-Henriksson B, Lenoir G, Klein G, Klein E, Masucci MG Paired Epstein-Barr virus (EBV)-negative and EBV-converted Burkitt lymphoma lines: stimulatory capacity in allogeneic mixed lymphocyte cultures. *Int J Cancer* 1987. 40:691-697.
204. Ebeling O, Duczmal A, Aigner S, Geiger C, Schollhammer S, Kemshead JT, Moller P, Schwartz-Albiez R, Altevogt P. L1 adhesion molecule on human lymphocytes and monocytes: expression and involvement in binding to alpha v beta 3 integrin. *Eur J Immunol* 1996. 26:2508-2516.

205. Darzynkiewicz Z, Bruno S, Del Bino G, Gorczyca W, Hotz MA, Lassota P, Traganos F. Features of apoptotic cells measured by flow cytometry. *Cytometry* 1992. 13:795-808.
206. Mihalik R, Uher F, Pocsik J, Berczi L, Benczur M, Kopper L. Detection of drug-induced apoptosis by flow cytometry after alkaline extraction of ethanol fixed cells. *Pathol Oncol Res* 1996. 2:78-83.
207. Barna G, Sebestyén A, Chinopoulos CC, Nagy K, Mihalik R, Paku S, Kopper L. TGF beta 1 kills lymphoma cells using mitochondrial apoptotic pathway with the help of caspase-8. *Anticancer Res* 2002. 22: 3867-3872.
208. Kumar S. Measurement of caspase activity in cells undergoing apoptosis. *Methods Mol Biol* 2004. 282:19-30.
209. Kopper L, Steel GG. The therapeutic response of three human tumor lines maintained in immune-suppressed mice. *Cancer Res* 1975. 35:2704-2713.
210. Huo J, Luo RH, Metz SA, Li G. Activation of caspase-2 mediates the apoptosis induced by GTP-depletion in insulin-secreting (HIT-T15) cells. *Endocrinology* 2002. 143:1695-1704.
211. Brunner FP, Landais P, Selwood NH. Malignancies after renal transplantation: the EDTA-ERA registry experience. *European dialysis and transplantation association-European Renal Association. Nephrol Dial Transplant* 1995. 10:74-80.
212. Stewart T, Tsai S-CJ, Grayson H, Henderson R, Opelz G. Incidence of de-novo breast cancer in women chronically immunosuppressed after organ transplantation. *Lancet* 1995. 346:796-798.
213. Birkeland SA, Lokkegaard H, Storm HH. Cancer risk in patients on dialysis and after renal transplantation. *Lancet* 2000. 355:1886-1887.
214. Végső Gy, Tóth M, Hídvégi M, Toronyi É, Langer RM, Dinya E, Tóth A, Perner F, Járay J. Malignancies after renal transplantation during 33 years at a single center. *Pathol Oncol Res* 2007. 13:63-69.
215. Mathew T, Kreis H and Friend P. Two-year incidence of malignancy in sirolimus-treated renal transplant recipients: results from five multicenter studies. *Clin Transpl* 2004. 18:446-449.

216. Pope JC, Koch MO, Bluth RF. Renal cell carcinoma in patients with end stage renal disease: a comparison of clinical significance in patients receiving hemodialysis and those with renal transplant. *Urology* 1994. 44:497-501.
217. Kasiske BL, Vazquez MA, Harmon WE, Brown RS, Danovitch GM, Gaston RS, Roth D, Scandling JD, Singer GG. For the American Society of transplantation. Recommendations for the outpatient surveillance of renal transplant recipients. *J AM Soc Nephrol* 2000. 11:S1-S86.
218. No authors listed EBPG Expert on renal transplantation. European best practice guidelines for renal transplantation (part 2). *Nephrol Dial Transplant* 2002. 17:3-67.
219. Chertow GM, Paltiel AD, Owen WF Jr, Lazarus JM. Cost-effectiveness of cancer screening in end-stage renal disease population. *Arch intern Med* 1996. 156:1345-1350.
220. LeBrun CJ, Diehl LF, Abbott KC, Welch PG, Yuan CM. Life expectancy benefits of cancer screening in end-stage renal disease population. *Am J Kidney Dis* 2000. 35:237-243.
221. Ianhez LE, Lucon M, Nahas WC, Sabbaga E, Saldanha LB, Lucon AM, Srougi M. Renal cell carcinoma in renal transplant patients. *Urology* 2007. 69:462-464.
222. Wang K, Zhang H, Li Y, Wei Q, Li H, Yang Y, Lu Y. Safety of mycophenolate mofetil versus azathioprine in renal transplantation: a systemic review. *Transplant Proc* 2004. 36:2068-2070.
223. Kauffman HM, Cherikh WS, Cheng Y, Hanto DW, Kahan BD. Maintenance immunosuppression with target-of-rapamycin inhibitors is associated with a reduced incidence of de novo malignancies. *Transplantation* 2005. 80:883-889.
224. Boubenider S, Hiesse C, Groupy C, Kriaa F, Marchand S, Charpantier B. Incidence and consequences of post-transplantation lymphoproliferative disorders. *J Nephrol* 1997. 10:136-145.
225. Opelz G, Henderson R. Incidence of non-Hodgkin lymphoma in kidney and heart transplant recipients. *Lancet* 1993. 342(8886-8887):1514-1516.
226. Younes BS, McDiarmid SV, Martin MG, Vargas JH, Goss JA, Busuttil RW, Ament ME. The effect of immunosuppression on posttransplant

- lymphoproliferative disease in pediatric liver transplant patients. *Transplantation* 2000. 70:94-99.
227. Cao S, Cox KL, Berquist W, Hayashi M, Concepcion W, Hammes GB, Ojogho OK, So SK, Frerker M, Castillo RO, Monge H, Esquivel CO. Long-term outcomes in pediatric liver recipients: comparison between cyclosporin A and tacrolimus. *Pediatr Transplant* 1999. 3:22-26.
228. Swinnen LJ, Costanzo-Nordin MR, Fisher SG, O'Sullivan EJ, Johnson MR, Heroux AL, Dizikes GJ, Pifarre R, Fisher RI. Increased incidence of lymphoproliferative disorder after immunosuppression with the monoclonal antibody OKT3 in cardiac transplant recipients. *N Engl J Med* 1990. 323:1723-1728.
229. Kahan BD, Yakupoglu YK, Schoenberg L, Knight RJ, Katz SM, Lai D, Van Buren CT. Low incidence of malignancy among sirolimus/cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 2005. 80:749-758.
230. O'Neill JO, Edwards LB, Taylor DO. Mycophenolate mofetil and risk of developing malignancy after orthotopic heart transplantation: analysis of the transplant registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2006. 25:1186-1191.
231. Robson R, Cecka JM, Opelz G, Budde M, Sacks S. Prospective registry-based observational cohort study of the long-term risk of malignancies in renal transplant patients treated with mycophenolate mofetil. *Am J Transplant* 2005. 5:2954-2960.
232. Green M, Michaels MG, Webber SA, Rowe D, Reyes J. The management of Epstein-Barr virus associated post-transplant lymphoproliferative disorders in pediatric solid-organ transplant recipients. *Pediatr Transplant* 1999. 3:271-281.
233. Benkerrou M, Durandy A, Fischer A. Therapy for transplant-related lymphoproliferative diseases. *Hematol Oncol Clin North Am* 1993. 7:467-475.
234. Cacciarelli TV, Green M, Jaffe R, Mazariegos GV, Jain A, Fung JJ, Reyes J. Management of posttransplant lymphoproliferative disease in pediatric liver transplant recipients receiving primary tacrolimus (FK506) therapy. *Transplantation* 1998. 66:1047-1052.

235. Muti G, Cantoni S, Oreste P, Klersy C, Gini G, Rossi V, D'Avanzo G, Comoli P, Baldanti F, Montillo M, Nosari A, Morra E, Cooperative Study Group on PTLDs. Post-transplant lymphoproliferative disorders: improved outcome after clinico-pathologically tailored treatment. *Haematologica* 2002. 87:67-77.
236. McCarthy M, Ramage J, McNair A, Gane E, Portmann B, Pagliuca A, Rela M, Heaton N, Mufti GJ, Williams R. The clinical diversity and role of chemotherapy in lymphoproliferative disorder in liver transplant recipients. *J Hepatol* 1997. 27:1015-1021.
237. Elstrom RL, Andreadis C, Aqui NA, Ahya VN, Bloom RD, Brozena SC, Olthoff KM, Schuster SJ, Nasta SD, Stadtmauer EA, Tsai DE. Treatment of PTLT with rituximab or chemotherapy. *Am J Transplant* 2006. 6:569-576.
238. Milpied N, Vasseur B, Parquet N, Garnier JL, Antoine C, Quartier P, Carret AS, Bouscary D, Faye A, Bourbigot B, Reguerre Y, Stoppa AM, Bourquard P, Hurault de Ligny B, Dubief F, Mathieu-Boue A, Leblond V. Humanized anti-CD20 monoclonal antibody (Rituximab) in post transplant B-lymphoproliferative disorder: a retrospective analysis on 32 patients. *Ann Oncol* 2000. 11:113-116.
239. Ganne V, Siddiqi N, Kamalath B, Chang CC, Cohen EP, Bresnahan BA, Hariharan S. Humanized anti-CD20 monoclonal antibody (Rituximab) treatment for post-transplant lymphoproliferative disorder. *Clin Transplant* 2003. 17:417-422.
240. Davis CL, Wood BL, Sabath DE, Joseph JS, Stehman-Breen C, Broudy VC. Interferon-alpha treatment of posttransplant lymphoproliferative disorder in recipients of solid organ transplants. *Transplantation* 1998. 66:1770-1779.
241. Davis JE, Moss DJ. Treatment options for post-transplant lymphoproliferative disorder and other Epstein-Barr virus-associated malignancies. *Tissue Antigens* 2004. 63:285-292.
242. Haddad E, Paczesny S, Leblond V, Seigneurin JM, Stern M, Achkar A, Bauwens M, Delwail V, Debray D, Duvoux C, Hubert P, Hurault de Ligny B, Wijdenes J, Durandy A, Fischer A. Treatment of B-lymphoproliferative disorder with a monoclonal anti-interleukin-6 antibody in 12 patients: a multicenter phase 1-2 clinical trial. *Blood* 2001. 97:1590-1597.



243. Haque T, Wilkie GM, Taylor C, Amlot PL, Murad P, Iley A, Dombagoda D, Britton KM, Swerdlow AJ, Crawford DH. Treatment of Epstein-Barr-virus-positive post-transplantation lymphoproliferative disease with partly HLA-matched allogeneic cytotoxic T cells. *Lancet* 2002. 360(9331):436-442.
244. Paya CV, Fung JJ, Nalesnik MA, Kieff E, Green M, Gores G, Habermann TM, Wiesner PH, Swinnen JL, Woodle ES, Bromberg JS. Epstein-Barr virus-induced posttransplant lymphoproliferative disorders. ASTS/ASTP EBV-PTLD Task Force and The Mayo Clinic Organized International Consensus Development Meeting. *Transplantation* 1999. 68:1517-1525.
245. Preiksaitis JK. New developments in the diagnosis and management of posttransplantation lymphoproliferative disorders in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2004. 39:1016-1023.
246. Malouf MA, Chhajed PN, Hopkins P, Plit M, Turner J, Glanville AR. Anti-viral prophylaxis reduces the incidence of lymphoproliferative disease in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2002. 21:547-554.
247. Opelz G, Daniel V, Naujokat C, Fickenscher H, Döhler B. Effect of cytomegalovirus prophylaxis with immunoglobulin or with antiviral drugs on post-transplant non-Hodgkin lymphoma: a multicentre retrospective analysis. *Lancet Oncol* 2007. 8:212-218.
248. Gu SY, Huang TM, Ruan L, Miao YH, Lu H, Chu CM, Motz M, Wolf H. First EBV vaccine trial in humans using recombinant vaccinia virus expressing the major membrane antigen. *Dev Biol Stand* 1995. 84:171-177.
249. Vegso G, Sebestyen A, Paku S, Barna G, Hajdu M, Toth M, Jaray J, Kopper L. Antiproliferative and apoptotic effects of mycophenolic acid in human B-cell non-Hodgkin lymphomas. *Leuk Res* 2007. 31:1003-1008.
250. No authors listed A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Blood* 1997. 89:3909-3918.
251. Johnstone RW, Ruefli AA, Lowe SW. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy. *Cell* 2002. 108:153-164.

252. Muris JJ, Meijer CJ, Ossenkopelle GJ, Vos W, Oudejans JJ. Apoptosis resistance and response to chemotherapy in primary nodal diffuse large B-cell lymphoma. *Hematol Oncol* 2006. 24:97-104.
253. Takebe N, Cheng X, Wu S, Bauer K, Goloubeva OG, Fenton RG, Heyman M, Rapaport AP, Badros A, Shaughnessy J, Ross D, Meisenberg B, Tricot G. Phase I clinical trial of the inosine monophosphate dehydrogenase inhibitor mycophenolate mofetil (cellcept) in advanced multiple myeloma patients. *Clin Cancer Res* 2004. 10:8301-8308.
254. Koehl GE, Wagner F, Stoeltzing O, Lang SA, Steinbauer M, Schlitt HJ, Geissler EK. Mycophenolate mofetil inhibits tumor growth and angiogenesis in vitro but has variable antitumor effects in vivo, possibly related to bioavailability. *Transplantation* 2007. 83:607-614.
255. Stracke S, Ramudo L, Keller F, Henne-Bruns D, Mayer JM. Antiproliferative and overadditive effects of everolimus and mycophenolate mofetil in pancreas and lung cancer cells in vitro. *Transplant Proc* 2006. 38:766-770.

## 11 SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

### 11.1 A Doktori értekezéshez kapcsolódó közlemények

1. **Végső G**, Sebestyén A, Paku S, Barna G, Hajdu M, Tóth M, Járay J, Kopper L.: Antiproliferative and apoptotic effects of mycophenolic acid in human B-cell non-Hodgkin lymphomas. *Leuk Res* 2007. 31:1003-1008.  
IF: 2,483
2. **Végső G**, Tóth M, Hídvégi M, Toronyi É, Langer RM, Dinya E, Tóth A, Perner F, Járay J.: Malignancies after renal transplantation during 33 years at a single center. *Pathol Oncol Res* 2007. 13:63-69.  
IF: 1,241
3. Langer RM, Járay J, Tóth A, Hídvégi M, **Végső G** and Perner F.: De novo tumors after kidney transplantation: The Budapest experience. *Transplant Proc.* 2003. 35:1396-1398.  
IF: 0,588
4. **Végső Gy**, Járay J. A veseátültetést követően kialakuló rosszindulatú daganatok. *Orv Hetil* 2007. 148:2115-2113.
5. **Végső Gy**, Sebestyén A, Járay J, Kopper L.: Rosszindulatú daganatok a szervátültetést követő immunszupprimált állapotban. *Orvosképzés* 2006. 3.:137-244.
6. **Végső Gy**, Németh Zs, Péter A, Perner F, Barabás J, Szabó Gy.: Rosszindulatú szájüregi daganat megjelenése 19 évvel veseátültetést követően. *Magy Onkol* 1997. 41: 180-183.

## 11.2 A Doktori értekezéstől független közlemények

1. Tóth M, Drabant S, Varga B, **Végső G**, Cseh A, Szentpéteri I, Klebovich I. Tofisopam inhibits the pharmacokinetics of CYP3A substrate midazolam. Eur J Clin Pharmacol 2008. 64:93-94.  
**IF:** 2,029
2. **Végső G**, Máthé Z, Péter A, Perner F, Járny J and Langer RM.: Improving results of renal transplantation with use of elderly donors: The Budapest experience. Transplant Proc. 2005. 37:4225-4227.  
**IF:** 0,799
3. Szende B, Farid P, **Végső G**, Perner F, Kopper L.: Apoptosis and P53, Bcl-2 and Bax gene expression in parathyroid glands of patients with hyperparathyroidism. Pathology Oncology Research 2004. 10:98-103.
4. **Végső Gy**, Máthé Z, Péter A, Perner F, Járny J.: Az idős donorokból történt veseátültetés javuló eredményei Budapesten. Hypertonia és Nephrológiai 2004. 8.:186-192.
5. **Végső Gy**. Évszemle 2000. Sebészet: Daganatsebészet., Endocrin sebészet – mellékpajzsmirigy. Magyar Orvos 2001. 9: 37.
6. **Végső Gy**, Tóth M, Péter A, Járny J, Perner F.: A vesetranszplantáció eredménye 60 év feletti donorokból átültetett graftok esetén. Hypertonia és Nephrológia 2000. 4: 89-92.
7. **Végső Gy**, Péter A, Dabasi G, Görög D, Tóth M, Máthé Z, Földes K, Kovács J.:Az endocrinológia sebészi vonatkozásai: hyperparathyreosis miatt operált betegeink. Magyar Sebészet 1997. 50: 325-329.
8. **Végső Gy**, Péter A, Árkosy M, Kovács J, Nemes B. :Splenectomy,mint a gastrointestinalis vérzés ritka műtéti megoldása. Magyar Sebészet 1997. 50: 393-395.
9. Péter A, **Végső Gy**, Máthé Z, Alföldy F.: Az Algopyrin helye a mindennapi gyógyításban. Medicus Universalis 1997. 30:171-175.

10. Péter A, **Végső Gy**, Alföldy F, Görög D, Gáti Z, Langer R, Kóbori L.: Vesedaganat miatt végzett műtéteink. Magyar Sebészet 1997. 50:315-318.
11. Hutás G, Sárman B, Pusztai P, **Végső Gy**, Somogyi A.: Diabetesz mastopathia 1-es típusú, hosszú ideje fennálló diabetes mellitusban. Diabetologia Hungarica 2000. 8:177-182.
12. Szende B, Árvai K, Peták I, Nagy K, **Végső G**, Perner F.: Génexpresszió-változások a mellékpajzsmirigy proliferatív folyamata során. Magyar Onkológia 2006. 50:137-140.
13. Máthé Z, Görög D, Alföldy F, Járay J, **Végső Gy**, Péter A, Dabasi G, Weszelits V, Gláz E.: Az endocrinológia sebészi vonatkozásai: mellékvesedaganat miatt kezelt betegeink. Magyar Sebészet 1997. 50: 315-318.
14. Nemes B, Alföldy F, Péter A, Görög D, Árkosy M, **Végső G.**:Benefits of cell saver during the operation of gastric haemorrhage following repeated pancreatitis. Acta Chirurgica Hungarica 1997. 36:254-255.

## 12 KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, **dr. Kopper László** professzor Úrnak, amiért a Doktori Iskolában hallgatójának elfogadott, kutatói munkámat nyomon követte és azt hasznos tanácsaival, véleményével segítette. Köszönöm, hogy a vizsgálatokhoz szükséges tárgyi és személyi feltételeket a Semmelweis Egyetem I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetének igazgatójaként és a Patológia Doktori Iskola programvezetőjeként is, részemre biztosította. Támogatása nélkül e munka nem valósulhatott volna meg.

Köszönetemet fejezem ki **dr. Jeney András** professzor Úrnak, aki a Patológia Doktori Iskola korábbi programvezetőjeként munkámat figyelemmel kísérte.

Köszönetemet fejezem ki **dr. Perner Ferenc**, **dr. Alföldy Ferenc** és **dr. Járay Jenő** professzor Uraknak, akik a Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikájának igazgatóiként engedélyezték és támogatták a Doktori Iskolában végzett kutatói munkámat.

Köszönetemet fejezem ki és hálával tartozom az I.sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet **minden munkatársának**, amiért közösségükbe befogadtak, munkámban önzetlenül, legjobb tudásuk szerint, barátsággal segítettek.

Köszönettel tartozom **dr. Paku Sándor** tudományos főmunkatársnak, aki bevezetett a kutatói munka rejtelmeibe, az alapvető technikákra, metodikákra, a sejtenyésztéstől a szövettani metszetek készítésén, az immunhisztokémiai vizsgálatokon át az állatkísérletek végzéséig megtanított. Biztatása nélkül a kutatói munka sikertelenségein és a kudarc élményén nehezen tudtam volna túljutni.

Őszinte hálával tartozom **dr. Sebestyén Anna** tudományos főmunkatársnak a mycophenolsavval kapcsolatos vizsgálatokban nyújtott segédkezéért, amiért teljes odaadással támogatott és segítette egy „laikus” sebész ötleteinek gyakorlati megvalósulását. Tudásával és kutatói tapasztalatával felügyelte mindvégig a kísérleteket, mutatott rá a hibákra és segítette az eredmények értelmezését. Pozitív hozzáállása és bátorítása ösztönzött a tudományos munka végigvitelében.

Köszönettel tartozom **dr.Berczi Lajos** adjunktus úrnak a szövettani metszetek értékelésében, **dr. Hajdú Melinda** és **dr. Barna Gábor** PhD hallgatóknak az áramlási citometriai és a Western blot vizsgálatok végzésében nyújtott segítségéért.

Köszönöm **Csorba Gézáné, Maricának** az in vitro vizsgálatokban nyújtott lelkiismeretes és precíz munkáját, a laboratórium dolgozói közül **Klucsik Nicolettenek, Gergely Imrének** és **Kis Lillának**, valamint az állatház dolgozóinak, **Kovács Lászlónak** és **Sztodola Andrásnak** a hasznos segítségét.

A transzplantációs regiszterből származó adatokért **dr. Hídvégi Mártának** tartozom köszönettel, a statisztikai számításokban pedig **dr. Dinya Elek** Tanár Úr volt segítségemre, köszönöm Neki.

A kutatást az OTKA (F048380, TS049887) és a Békésy Alapítvány (118/2001) támogatta.

Hálámat szeretném **Szüleimnek** is kifejezni, amiért felneveltek és megadták a lehetőséget, hogy tanuljak és orvos lehessek. Őszinte köszönettel és hálával tartozom családomnak szeretetükért, **Feleségemnek**, aki felvállalta helyettem mindazon terheket, amelyek nem reá róttak azért, hogy ezt a munkát elvégezhessem, biztatott és támogatott, és elviselte a munka nehézségei szülte nyugós és nehéz pillanatokát. Köszönöm **Gyermekeimnek**, hogy megbocsátják a nem velük töltött, be nem pótolható időt, az apai jelenlét hiányát.