

Bronchiolitis obliterans kialakulásának vizsgálata patkány trachea transzplantációs modellen

Doktori tézisek

Dr. Fillinger János

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Doktori Iskola Programvezető: Dr. Tulassay Zsolt egyetemi tanár, MTA doktora

Témavezető: Dr. Antus Balázs osztályvezető, Ph.D.

Bíráló Bizottság elnöke: Dr. Losonczy György egyetemi tanár, MTA doktora

Bíráló Bizottság tagjai: Dr. Moldvay Judit egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Vadász Pál osztályvezető főorvos, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Müller Veronika egyetemi docens, Ph.D.

Dr. Csoma Zsuzsanna adjunktus, Ph.D.

Szigorlati Bizottság elnöke: Dr. Nagy Péter, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Pápay Judit egyetemi adjunktus, Ph.D.
Dr. Simon Károly, egyetemi magántanár

Budapest
2011

1. Bevezetés

A légzőszervi megbetegedések közül számos kórkép vezet végállapotú tüdőbetegség kialakulásához. Ezen esetekben – a megfelelő betegkiválasztás után – a betegek számára a tüdőtranszplantáció jelenti az egyedüli esélyt az életminőség javítására, illetve sok esetben a túlélésre. Az elmúlt két évtized során a műtéti technika fejlődésének, az újabb és hatékonyabb immunszuppresszív gyógyszerek bevezetésének, a peri- és posztooperatív betegellátás korszerűsödésének és a transzplantációs immunológia területén elért tudományos eredményeknek köszönhetően a sikeres tüdőátültetések száma sokszorosára emelkedett.

Korábban az akut kilökődés megelőzése, a beültetett szerv megtartása jelentette a legnagyobb kihívást a tüdőtranszplantáció után. A nagy transzplantációs centrumok adatai szerint a modern immunszuppresszív gyógyszerek bevezetése jelentősen visszaszorította az életet veszélyeztető akut kilökődések gyakoriságát. A hatékonyabb immunszuppresszió – a korábbi várakozásokkal ellentétben – azonban csak kismértékben befolyásolta a transzplantátumok hosszú távú túlélését. Napjainkban, a transzplantált tüdő késői elvesztésének leggyakoribb oka a krónikus szervdiszfunkcióval járó obliteratív bronchiolitis (OB). Jelenleg a kórképnek sem pontos patofiziológiája, sem hatékony kezelése nem ismert.

Az elmúlt évtizedben a szervtranszplantáltak körének folyamatos követése során figyelték fel arra, hogy egyes parenchymás szervek átültetése esetében a donor és a recipiens nemi különbözőségének jelentősége van a transzplantáció késői kimenetele és/vagy az allograftok kilökődése szempontjából.

A nemi különbözőség mellett az BOS kialakulásában számos egyéb tényező is szerepet játszhat. Az angiotenzin II, a renin-angiotenzin rendszer (RAS) fő effektor peptidje haemodinamikai hatásai mellett, számos szervben fibroproliferációt indukáló hatással is rendelkezik. Hasonlóan, a vazokonstriktor hatású endothelin (ET)-I-nek számos szövetben profibrotikus és növekedést indukáló hatása ismert. Számos megfigyelés támasztja alá e két molekula központi patofiziológiai szerepét szív- és vesetranszplantátumok krónikus kilökődésében.

A thromboemboliás megbetegedések profilaxisában és kezelésében széles körben használt kis molekulású heparinok (LMWH) különböző láncösszűségű glükózaminoglikán molekulák keverékei. Kísérletes eredmények igazolták, hogy a heparin immunszuppresszív és antiproliferatív hatással is rendelkezik, amely független az antikoaguláns aktivitásától.

2. Célkitűzések

Tudományos kutatómunkánk célkitűzése annak a vizsgálata volt, hogy a donor és a recipiens neme miként befolyásolja az obliteratív légúti betegség (OAD) kialakulását patkány trachea allograftokban, és hogy az angiotenzin-konvertáló enzim (ACE)-inhibitorok, az ET receptor gátlók, illetve a LMWH származékok adásával csökkenthető-e az OAD progressziója ebben az állatmodellben. Az értekezésben bemutatásra kerülő három kísérletsorozat kapcsán az alábbi hipotéziseket vizsgáltuk meg:

- a) A donor és a recipiens neme befolyásolja az OAD kialakulását patkány trachea allograftokban.
- b) Az ACE-inhibitorok és az ET-1 receptor blokkolók együttes adásával a graftok elzáródásának mértéke jobban visszaszorítható, mint a RAS és az ET rendszer külön-külön való farmakológiai gátlásakor.
- c) Az LMWH kezelés csökkenti az OAD kialakulását patkány trachea allograftokban, amely a graftok körüli leukocytas infiltráció, illetve a graftok elzáródásához vezető fibroproliferatív folyamat visszaszorulásában nyilvánul meg.

3. Módszerek

3.1. Állatok

Kísérleteink során beltenyésztett, 250-300g súlyú, hím és nőstény Lewis (Lew, RT1; WOBE Kft., Budapest, Magyarország), illetve hím és nőstény Brown-Norway (BN, RT1; WOBE Kft.) patkányokat használtunk. A kísérleteket a megfelelő állatvédelmi törvények betartásával és az etikai bizottság engedélyével végeztük.

3.2. Transzplantáció

Kísérleteinkben a BN patkányok tracheáját heterotop módon a Lew patkányokba transzplantáltuk. A donor állatokat pentobarbitállal (Nembutal; 80 mg/kg ip., Egis, Budapest, Magyarország) elaltattuk, majd az állatokból a tracheát kiperaráltuk. A recipiensek (Lew patkányok) nyakán, altatásban hosszanti metszést ejtettünk és az izomfascia felett egy subcutan „zsebet” képeztünk, majd a trachea graftot ebbe a zsebbe helyeztük. Az állatok immunszuppresszív kezelésben nem részesültek.

3.3. Első kísérletsorozat

A vizsgálatban részvevő 96 állatot random módon 4 csoportba osztottuk a donor és recipiens neme szerint: hím donor/hím recipiens (M/M), hím donor/nőstény recipiens (M/F), nőstény donor/hím recipiens (F/M) és nőstény donor/nőstény recipiens (F/F). A beültetés után az állatokat a 7. 14. és 21. napon öltük le.

3.4. Második kísérletsorozat

A 64 Lew recipienst random módon négy kísérleti csoportba osztottuk (n=16 állat/csoport) a kapott gyógyszeres kezelés alapján. A kezeléseket a kettős ET receptor (ET_A és ET_B) antagonistákkal bosenannal (B; 100mg/kg; Tracleer®, Actelion Ltd., Allschwil, Svájc), vagy az ACE-gátló ramiprillal (R; 5 mg/kg; Tritace®, Sanofi Aventis, Budapest, Magyarország), illetve két gyógyszer kombinációjával (B+R; dózisosok lásd előbb), vagy vehiculummal (V) történtek. A kezelés a 0.-k naptól az állatok leöléséig tartott. A gyógyszereket naponta gyomorszondán keresztül *per os*

jutattuk az állatokba (1ml oldat/állat). Mindegyik csoportból nyolc állatot a 7., míg a maradék nyolc állatot a 21. napon öltük le.

3.5. Harmadik kísérletsorozat

A vizsgálat során 64 állatot véletlenszerűen 4 csoportba osztottuk (n=16/csoport). Az állatok első csoportját nadroparinnal (N, 57 anti-Xa IU/kg; Fraxiparine®, GlaxoSmithKline, Budapest, Magyarország), a másodikat enoxaparinnal (E, 100 anti-Xa IU/kg; Clexane®, Sanofi Aventis, Budapest, Magyarország), a harmadikat parnaparinnal (P, 91 anti-Xa IU/kg; Fluxum®, Alpha Wassermann, Budapest, Magyarország), a negyediket vehiculummal (V) kezeltük. A nadroparint naponta egyszer, míg az enoxaparint és parnaparint naponta kétszer adtuk *subcutan* injekció formájában. A vehiculummal kezelt állatok 0,9%-os sóoldatot kaptak. Minden csoportból nyolc állatot a 7. napon, míg a maradék nyolc állatot a 21. napon öltük le.

3.6. Szövettan

Hisztológiai és morfometriai vizsgálatokra a trachea darabokat 4%-s pufferelt formalinban fixáltuk. A haematoxylin-eosinnal (HE) megfestett metszeteken számítógép vezérelte morfometriás méréseket (Olympus DP-Soft, Budapest, Magyarország) végeztünk. Az analízis során a luminalis obliterációt és az epithelialis nekrozist kvantitatív formában határoztuk.

3.7. RNS izoláció és reverz-transzkripció

A trachea graftokból a TRI-Reagens segítségével (Sigma-Aldrich Kft, Magyarország) teljes RNS-t izoláltunk. A cDNS szintézisét a TaqMan Reverz Transzkripciósi Kit (Applied Biosystems, Applera Kft., Budapest, Magyarország) segítségével végeztük.

3.8. Real-time PCR

Az IL-2, INF- γ , TGF- β_1 és PDGF-A citokineknek megfelelő specifikus cDNS-t real-time PCR során a TaqMan Universal PCR Master Mix Kit segítségével (Applied Biosystems) amplifikáltuk. A vizsgált citokineknek megfelelő relatív mRNS

expressziót a $\Delta\Delta\text{CT}$ módszer alapján egy szoftver (Gene Expression Analysis for Real-time PCR Detection System; BioRad, Magyarország) segítségével határoztuk meg. Az expressziót a gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH), mint belső kontroll mRNS expressziójára normalizálva adtuk meg.

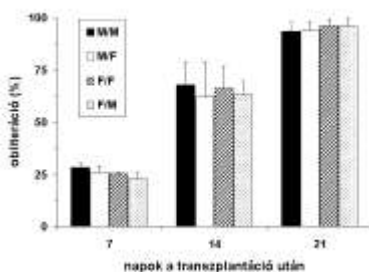
3.9. Statisztikai analízis

Az adatok átlag \pm átlag szórása (SEM) formában szerepelnek. Az adatok összehasonlítása varianciaanalízissel (ANOVA), majd a Bonferroni *post hoc* teszttel történt (GraphPad Prism 4.0, GraphPad Software Inc., San Diego, USA). $p < 0.05$ esetén tekintettük a különbségeket szignifikánsnak.

4. Eredmények

4.1. Első kísérletsorozat

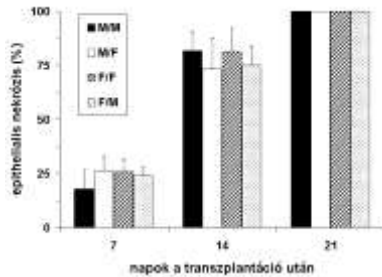
A 21. napon eltávolított trachea allograftok lumene hegszövettel majdnem teljesen elzáródott, függetlenül a donor vagy recipiens nemétől (M/M: 93.6 ± 3.9 , M/F: 94.1 ± 4.1 , F/F: 96.2 ± 3.1 és F/M: $95.9 \pm 4.1\%$, $p > 0.05$; 1. ábra).



1. ábra. A luminalis obliteráció az allograft tracheákban a 7., 14. és 21. napon leölt állatokban.

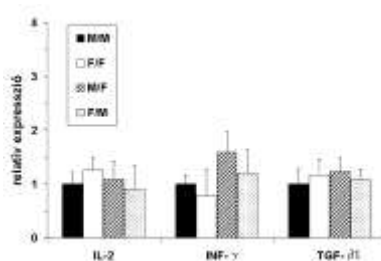
Jóllehet az elzáródás mértéke a 7. és 14. napon kisebb volt a 21. napon mérthez értékekhez képest, itt sem mutatkozott különbség a nemek között (7. nap: M/M: 28.2 ± 2.4 , M/F: 26.0 ± 3.1 , F/F: 25.4 ± 0.7 , F/M: $22.9 \pm 2.8\%$, $p > 0.05$; 14. nap: M/M: 67.9 ± 11.2 , M/F: 61.9 ± 16.8 , F/F: 66.2 ± 10.9 , F/M: $63.1 \pm 6.6\%$, $p > 0.05$). A luminalis elzáródás az epithelium teljes pusztulásával járt. Hasonlóan, az epithelium károsodá-

sának mértéke (epithelialis nekrozis) sem különbözött az állatcsoportok között a fenti időpontokban eltávolított trachea allograftokban (2. ábra).



2. ábra. Az epithelialis nekrozis az allograft tracheákban a 7., 14. és 21. napon leölt állatokban.

Az IL-2, INF- γ és TGF- β_1 citokinek mRNS szintjét a 21. napon eltávolított allograftokban vizsgáltuk real-time PCR technika segítségével. A szövettani eredményekkel összehangban a vizsgált faktorok mRNS szintjében nem mutatkozott szignifikáns különbség a csoportok között (3. ábra).

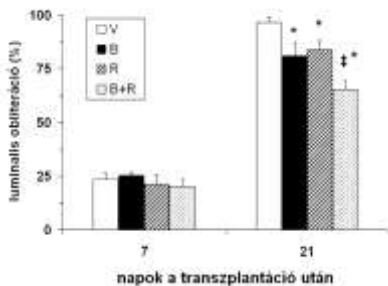


3. ábra. Citokinek és növekedési faktorok expressziója a trachea allograftokban 21 nappal a transzplantáció után.

4.2. Második kísérletsorozat

A 7. napon eltávolított trachea graftokban az obliteratív folyamat már megkezdődött, az állatcsoportok között különbséget nem tapasztaltunk (4. ábra). A 21. napra a vehiculummal kezelt állatokban a graftok lumenét gyakorlatilag teljes egészében hegszövet töltötte ki. A bosentannal kezelt (B) állatokban a luminalis obliteráció szignifikánsan csökkent a vehiculummal kezelt (V) állatokhoz képest (B: 81.0 ± 6.1 vs. V: $96.6 \pm 2.4\%$; $p < 0.05$). Közel hasonló mértékben a ramipril kezelés (R) is csök-

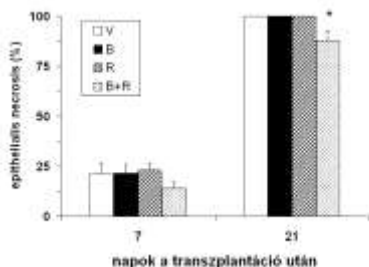
centette a lumenális obliterációt (R: 83.9±4.3%; p<0.05). A kombinált kezelést kapott állatokban (B+R) az obliteráció mértéke még kisebb volt a kizárólag bosentannal vagy ramiprillal kezelt állatokhoz képest (B+R: 65.3±4.1%; p<0.01).



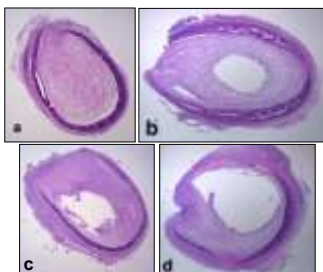
4. ábra. A lumenális obliteráció az allograft tracheákban a 7. és 21. napon. *p<0.05 vs. vehiculummal (V) kezelt állatok; †p<0.05 vs. bosentannal (B) vagy ramiprillal (R) kezelt állatok.

A 7. napon eltávolított trachea graftokban a légúti epithelium kb. 20%-a pusztult el. A graftok nyálkahártyája megduzzadt és kifejezett gyulladásos sejtinfiltráció jelentkezett intra- és subepithelialisán, valamint a gyűrűporcokat körülvevő kötőszövetben. A csoportok között különbség nem volt. A 21. napon eltávolított és vehiculummal kezelt graftokban az epithelium teljes mértékben necrotizált, és csak a lument kitöltő hegszövetben fordult elő néhány lobsejt. Az önmagában bosentannal vagy ramiprillal kezelt állatokban az epithelium károsodása hasonló mértékű volt. Ezzel szemben, a kombinált kezelést kapott állatokban (B+R) az epithelialis necrosis kismértékben, de szignifikánsan csökkent (B+R: 87.9±4.9 vs. V: 100%; p<0.01) (5. és 6. ábra).

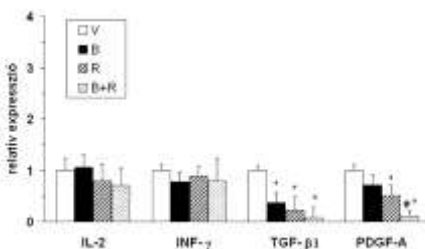
A 21. napon a TGF-β₁ és a PDGF-A intragraft mRNS szintje a lumenális obliteráció mértékével volt arányos az egyes állatcsoportokban. Mind a bosentan (B), mind a ramipril kezelés (R) csökkentette a TGF-β₁ és a PDGF-A expresszióját a vehiculum kezeléshez (V) képest (p<0.05) (7. ábra).



5. ábra. Az epithelialis nekrózis az allograft tracheákban a 7. és 21. napon leölt állatokban. * $p < 0.05$ vs. vehiculummal kezelt állatok



6. ábra. Vehiculummal (a), bosentannal (b), ramiprillal (c) és bosentan + ramiprillal (d) kezelt patkánytrachea allograftok keresztmetszeti képe a 21. napon (HE festés, nagyítás: $\times 4$).



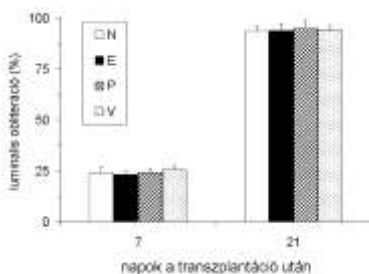
7. ábra. Citokinek és növekedési faktorok expressziója a trachea allograftokban 21 nappal a transzplantáció után. * $p < 0.05$ vs. vehiculummal (V) kezelt állatok; # $p < 0.05$ vs. bosentannal (B) vagy ramiprillal (R) kezelt állatok

A kombinált kezelés (B+R) mellett a PDGF-A növekedési faktor mRNS szintje tovább csökkent ($p < 0.05$), míg a TGF- β_1 szintje nem különbözött szignifikánsan bosentan vagy ramipril monoterápiával kezelt állatokhoz képest. A IL-2 és az INF- γ expressziójában nem mértünk szignifikáns különbséget az állatcsoportok között.

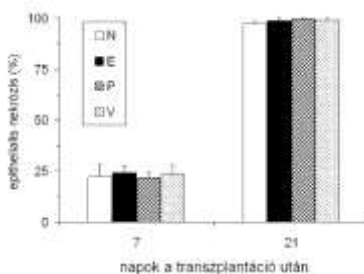
4.3. Harmadik kísérletsorozat

A recipiensek testsúlya a transzplantáció idején megegyezett egymással, és az állatok súlynövekedése is azonos mértékű volt a kísérlet ideje alatt. Az állatok a gyógyszereket jól tolerálták, vérzéses szövödményt nem észleltünk.

A transzplantációt követő 7. napon az allograftok lumenének elzáródási folyamata már elkezdődött, hasonlóan a korábbi kísérleteinkben látottakhoz. Az elzáródás mértéke nem különbözött szignifikánsan a csoportok között (N: 24.0 ± 2.8 , E: 23.0 ± 1.6 , P: 24.2 ± 1.7 és V: $25.6 \pm 1.7\%$, $p > 0.05$, ábra). A 21. npra az allograftok mindegyikében az elzáródás majdnem teljes mértékű lett a kezeléstől függetlenül (N: 93.5 ± 2.9 , E: 93.8 ± 3.5 , P: 95.0 ± 3.9 , V: $94.2 \pm 2.3\%$, $p > 0.05$) (8. és 9. ábra).



8. ábra. Luminalis obliteráció az allograft tracheákban a 7. és 21. napon leölt, nadroparinnal (N), enoxaparinnal (E), pamaparinnal (P) vagy vehiculummal (V) kezelt állatokban.

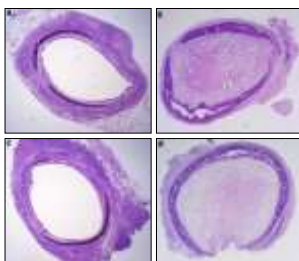


9. ábra. Epithelialis nekrozis az allograft tracheákban a 7. és 21. napon leölt, nadroparinnal (N), enoxaparinnal (E), pamaparinnal (P) vagy vehiculummal (V) kezelt állatokban.

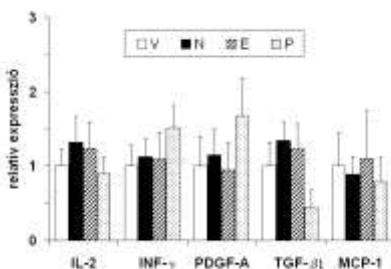
A 7. napon eltávolított transzplantátumokban az epithelialis felszín közel 20%-a károsodott. A felszín alatt és a graft falában bőséges lymphocytá és macrophag szaporulat látszott. Az epithelium károsodás mértékét az LMWH kezelés nem befo-

lyásolta (N: 22.1±6.2, E: 24.2±3.4, P: 21.7±2.9, V: 23.5±4.6%). A 21. napon az allograftokban a felszíni epithelium teljes károsodása, nekrozisa volt észlelhető. A lumen elzáródáshoz hasonlóan a kezelés nem befolyásolta az epithelium károsodásának folyamatát sem (9. és 10. ábra).

A 21. napon a vizsgált citokinek (IL-2, INF- γ), növekedési faktorok (TGF- β_1 és PDGF-A) és kemokinek (MCP-1) intragraft expressziója mindegyik csoportban közel azonos mértékű volt a kezelésektől függetlenül (11. ábra).



10. ábra. Vehiculummal (V) kezelt patkány trachea allograftok keresztmetszeti képe a 7. (a) és a 21. (b) napon, valamint enoxaparinnal (E) kezelt allograftok képe a 7. (c) és a 21. (d) napon (HE festés, nagyítás: $\times 4$).



11. ábra. Citokinek és növekedési faktorok expressziója a trachea allograftokban 21 nappal a transzplantáció után.

5. Megbeszélés

5.1. Első kísérletsorozat

E vizsgálatunkban hím és nőstény patkányokat használtunk recipiensként. A recipiens neme nem volt hatással az OAD kifejlődésére a trachea allograftokban, annak

ellenére, hogy a nemek között nyilvánvaló különbségek vannak az immunválasz szabályozásában és a nemi hormonok szintjébe.

A kísérletes eredmények közötti ellentmondások részben a nemi hormonok szerv-specifikus hatásaival magyarázhatók. Így például a vesében a nemi hormonok részben a vese haemodinamikára kifejtett hatásukkal befolyásolják a vese allograftok működését. A fentiek mellett jelentősége lehet az állatkísérletes modellek közötti immunológiai különbségeknek is. Az általunk használt patkány trachea transzplantációs modellben a donor és a recipiens között erős kilökődési reakció alakul ki. Az erős immunreakció alapja az, hogy a két állattörzs között az MHC II osztályú antigénekben teljes eltérés („mismatch”) van, és lehetséges, hogy ez elfedi a gyengébb hormonális hatásokat. Olyan törzskombináció esetén, ahol csak a minor antigénekben van különbség (pl. a Fisher-Lew patkánymodell) a kilökődési reakció sokkal enyhébb, ezért az esetleges hormonális hatások jobban kimutathatóak.

5.2. Második kísérletsorozat

Második kísérletsorozatunkban kimutattuk, hogy (1) az ET receptor antagonistá bosen tan és az ACE-gátló ramipril azonos mértékben csökkentik az OAD progresszióját patkány trachea allograftokban; (2) a bosen tan és a ramipril együttes alkalmazása során az obliteratív folyamat még jobban visszaszorul; és (3) az obliteráció csökkenését a TGF- β_1 és a PDGF-A növekedési faktorok alacsonyabb intragraft expressziója kíséri.

Az angiotenzin II-nek és az ET-1-nek az obliterációra gyakorolt hatásmechanizmusa nem tisztázott. Hasonlóan az additív hatás oka sem világos. Eredményeink alapján valószínűsíthető, hogy e molekulák részben különböző patogenetikai utakon keresztül fejtik ki hatásukat. Egyrésztől elképzelhető, hogy az angiotenzin II és az ET-1 közvetlenül hatnak a fibroproliferatív folyamat kialakulásában szerepet játszó sejtekre. Ezt támasztja alá az a megfigyelés, hogy az ET-1 erős mitotikus hatású légúti simaizomsejtekben, és fibronektin termelést indukál bronchialis epithelsejtekben. Az ET-1 elősegíti továbbá fibroblastoknak kontraktilis myofibroblastokká való differenciálódását is. Másrésztől, az angiotenzin II-nek és az ET-1-nek a légutakban szerepe lehet különböző pro-fibrotikus citokinek és növeke-

dési faktorok bioszintézisének és/vagy szekréciójának szabályozásában is. E mediátorok közül a TGF- β_1 és a PDGF tűnik a legfontosabbnak. A TGF- β_1 , mint a szöveti fibrózis egyik központi mediátora elősegíti az extracelluláris mátrix szintézisét és gátolja annak lebontását.

5.3. Harmadik kísérletsorozat

A harmadik kísérletsorozatban, a klinikai gyakorlatban használatos LMWH készítményeknek a trachea allograftok kilökődésére gyakorolt hatását vizsgáltuk. Három, a kereskedelmi forgalomban is kapható LMWH készítményt vizsgáltunk: a nadroparint, az enoxaparint és a parnaparint. Eredményeink alapján az OAD kialakulását egyik készítmény sem befolyásolta detektálható mértékben.

Számos tanulmányban került igazolásra, hogy az LMWH készítmények - antikoaguláns aktivitásuktól függetlenül - antiproliferatív és immunszuppresszív hatással is rendelkeznek. Az általunk használt állatmodellben az intraluminális obliteráció kialakulása számos citokin és növekedési faktor, így például a TGF- β_1 és a PDGF, valamint kemokin, többek között az MCP-1 túlermelődésével jár. A PDGF a simaizomsejtekre és fibroblasztokra erős mitogén hatást gyakorol, míg a TGF- β_1 -t a beültetett szervek kilökődésében szerepet játszó fibroproliferatív folyamatok központi mediátoraként tartják számon. Az LMWH kezelés ezen molekulák expresszióját sem befolyásolta, ami egybevág a szövettani kiértékelés során látottakkal. Eredményeink azt mutatták, hogy az LMWH kezelés nem alkalmas az OAD kialakulásának lassítására, és nem befolyásolja sem a trachea allograftok hosszú távú túlélését, sem a transzplantáció késői kimenetelét.

6. Következtetések

Patkánykísérleteink eredményeiből az alábbi következtetések vonhatók le:

- a) Sem a donor, sem a recipiens neme nem befolyásolja az OAD kialakulását patkány trachea allograftokban. Eredményeink nem támogatják azt a feltevést,

hogy a klinikai gyakorlatban a donor tüdők allokációja során a nemi különbséget figyelembe kellene venni.

- b) Az ET-receptor blokkolók és az ACE-gátlók azonos mértékben csökkentik az OAD kialakulását trachea allograftokban. A két gyógyszer együttes alkalmazása még kedvezőbb terápiás hatást eredményez. A kedvező hatás valószínűleg közvetett módon, a TGF- β_1 , a PDGF-A növekedési faktorok csökkent intragraft expresszióján keresztül nyilvánul meg. A jövőben e gyógyszerek, mint az immunszuppresszív kezelés kiegészítői jöhetnek szóba a BOS megelőzése során tüdőtranszplantált betegekben.
- c) A trachea allograftok kilökődésére az LMWH kezelésnek szignifikáns hatása nincs. Az LMWH kezelés a TGF- β_1 és a PDGF-A növekedési faktorok, valamint a Th1-es típusú citokinek és más kemokinek intragraft expresszióját sem befolyásolja.

Köszönetnyilvánítás

Doktori munkámhoz kapcsolódóan mindenekelőtt köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, *dr. Antus Baláznak*, hogy az általa vezetett kutatómunkába bekapcsolódhattam, és résztvevője lehettem munkacsoportjának a Kóréletteni Osztályon. Hálás vagyok munkám szakmai irányításáért és a tudományos tevékenységem során felmerülő nehézségek megoldása terén nyújtott sokoldalú segítségéért. A disszertációm megírásában nyújtott segítségért témavezetőm mellett *dr. Barta Imrét* is köszönet illeti. A molekuláris vizsgálatokban *dr. Sebe Attila* (Genoid Kft.) volt segítségemre.

Köszönettel tartozom a Patológiai Osztály vezetőjének, *dr. Soltész Ibolya* főorvos asszonynak is, hogy a napi rutin munka mellett lehetővé tette számomra a kutatómunkában való részvételt. Köszönöm továbbá Intézetünk vezetőjének *dr. Strausz János* Professzor Úrnak is, hogy lehetőséget teremtett arra, hogy az Intézetben kutatómunkát végezzek.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni *dr. Csiszér Eszter* főorvos asszonynak, hogy figyelmemet a tüdőtranszplantáció felé irányította és szakmai példamutatásával az igényes munka megbecsülésére és szeretetére nevelt.

Köszönettel tartozom továbbá a Kóréletteni és Patológiai Osztályok asszisztenseinek is, akik nélkül a munkámhoz és a kísérletek kiértékeléséhez szükséges metszetek nem készülhettek volna el.

Az értekezés tárgykörében megjelent saját közlemények bibliográfiai adatai:

1. Antus B, **Fillinger J**, Csiszér E, Czebe K, Horváth I. (2005) Bronchiolitis obliterans szindróma a tüdőtranszplantáción átesett betegekben. Orv Hetil, 146: 953-958.
2. Antus B, **Fillinger J**, Soltész I, Horváth I. (2005) A bronchiolitis obliterans modellezése patkányokban. Med Thor, 58: 8-13.
3. Antus B, **Fillinger J**, Sebe A, Jeney C, Soltész I, Horváth I. (2006) No gender difference in development of obliterative airway disease in rat tracheal allografts. Exp Mol Pathol, 81: 235-238.
4. Antus B, Sebe A, **Fillinger J**, Jeney C, Horváth I. (2006) Effects of blockade of the renin-angiotensin and endothelin systems on experimental bronchiolitis obliterans. J Heart Lung Transplant, 25: 1324-1329.
5. Antus B, **Fillinger J**, Sebe A, Jeney C, Horváth I. (2008) Late treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors plus endothelin receptor antagonists ameliorates rat tracheal allograft rejection. Transpl Int, 21: 801-807.
6. **Fillinger J**, Antus B. (2010) Low-molecular-weight heparins do not modify obliterative airway disease in rat tracheal allografts. Exp Lung Res, 36: 625-631.

Az értekezés tárgykörében megjelent előadáskivonatok bibliográfiai adatai:

1. Antus B, **Fillinger J**, Soltész I, Horváth I. (2004) Az endothelin receptor blokkoló bosentan hatása az obliteratív légúti betegség kialakulására patkány trachea allograftokban. Magyar Transzplantációs Társaság VI. Kongresszusa, Szeged
2. Antus B, **Fillinger J**, Soltész I, Horváth I. (2005) No gender difference in the development of obliterative airway disease in rat tracheal allografts. Eur Respir J, 26: 176s.

3. Antus B, **Fillinger J**, Soltész I, Horvath I. (2005) A nem szerepe az obliteratív légúti betegség kialakulásában patkány trachea allograftokban. Magyar Transzplantációs Társaság VII. Kongresszusa, Eger
4. Antus B, **Fillinger J**, Sebe A, Soltész I, Jeney C, Horváth I. (2006) Befolyásolja-e a donor vagy a recipiens neme patkány trachea allograftok kilökődését? Med Thor, 58: 45s.
5. Antus B, **Fillinger J**, Sebe A, Jeney C, Horvath I. (2007) Role of ischemia in development of obliterative airway disease in rat tracheal allografts. 5th ERS Lung Science Conference, Taormina, Italy
6. Antus B, **Fillinger J**, Sebe A, Jeney C, Horvath I. (2007) Effect of blockade of the renin-angiotensin and endothelin systems on rat tracheal allograft rejection. Eur Respir J, 30: 518s.
7. Antus B, **Fillinger J**, Sebe A, Jeney C, Horváth I. (2008) A renin-angiotenzin és az endothelin rendszer szerepe patkány trachea allograftok kilökődésében. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 55. Nagygyűlése, Balatonfüred
8. Antus B, **Fillinger J**, Sebe A, Jeney C, Horváth I. (2008) A renin-angiotenzin és az endothelin rendszer szerepe patkány trachea allograftok kilökődésében. Magyar Transzplantációs Társaság X. Kongresszusa, Gyula
9. **Fillinger J**, Antus B. (2009) Effect of low molecular weight heparins on the development of obliterative airway disease in the rat tracheal transplant model. Eur Respir J, 34: 387s.
10. **Fillinger J**, Antus B. (2009) Alacsony molekulásúlyú heparinok (LMWH) hatása a kislégúti obstructio kifejlődésére patkány trachea transzplantációs modellben. Magyar Transzplantációs Társaság XI. Kongresszusa, Galyatető
11. **Fillinger J**, Antus B. (2010) Alacsony molekulásúlyú heparinok (LMWH) hatása a kislégúti obstrukció kifejlődésére patkány trachea transzplantációs modellben. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron