

A pre- és postkondicionálás szerepe a pneumoperitoneum által indukált iszkémia-reperfúziós ártalom kivédésében

PhD Tézis

Dr. Veres Gyöngyvér Tünde

Doktori Iskola vezetője:

Prof. Kovács L. Gábor

Programvezető:

Dr. Jancsó Gábor

Témavezetők:

Prof. Vereczkei András

Dr. Takács Ildikó



Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Sebészeti Oktató és Kutató Intézet

Pécs

-2019-

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	3
2. Célkitűzés.....	5
3. Alkalmazott módszerek.....	6
3.1. Az oxidatív stressz paraméterek analízise.....	6
3.2. Szérum TNF-alfa és IL-6 meghatározás.....	6
3.3. Szövettani vizsgálatok.....	6
3.4. Western blot vizsgálat.....	7
4. A pre- és poszt-kondicionálás szerepe a pneumoperitoneum által kiváltott iszkémia-reperfúziós károsodásban.....	7
5. A PPAR- γ agonista szerepe a pneumoperitoneum által okozott iszkémia-reperfúzió kivédésében.....	10
6. Prekondicionálással csökkenthető a szén-dioxiddal készített pneumoperitoneum okozta mellékhatások/Klinikai pilot study/.....	12
7. A tudományos értekezés új eredményei és megállapításai.....	16
8. Publikációs jegyzék.....	17
9. Köszönetnyilvánítás.....	20

1. Bevezetés

A sebzések bármely formája, beleértve a sebészeti beavatkozásokat is oxidatív stresszt indukálnak. A laparoszkópos sebészetben a műtéti terület feltárása és a vizualizáció szempontjából elengedhetetlen pneumoperitoneum során megemelkedik az intraabdominalis nyomás, valamint a has felfújása és leengedése, vagyis az insufflatio-deflatio iszkémia-reperfúziót (I/R) hoz létre, ezáltal a laparoszkópos beavatkozás során az oxidatív stressz nagyobb lesz. Beavatkozások során az iszkémiás időtartam hossza után a rekonstrukciós fázisban komoly reperfúziós károsodással kell számolni. Ezen reperfúziós károsodások csökkentésének komoly klinikai jelentősége van a laparoszkópos sebészetben. A reperfúziós károsodás a szövetek iszkémiát követő vérkeringés-helyreállításra adott összetett válasza, mely mechanikai-, extra-, és intracelluláris folyamatokat foglal magában. Ezek a folyamatok a reperfúzió első pillanataiban indulnak és potenciálisan napokig tarthatnak. Az oxidatív stressz mértéke és a következményesen kialakuló inflammatórikus válasz függ az iszkémiás időtől, az iszkémiás szövet volumenétől és az endothelium leukocyta funkcionális komplex általános állapotától. Az iszkémia/reperfusio számos típusú sejthalált képes indukálni, mint pl. a programozott sejthalált, apoptozist, oncózist, necrosist. A hasi sebészeti beavatkozások során az I/R, a leucocyta aktiváció és a mitokondriális dysfunctio hatására a szabadgyökök mennyisége megemelkedik. Apoptózist az elnyújtott iszkémia/hipoxia, valamint a reperfúzió is indukálhat. A reperfúzió indukálta sejthalál mechanizmusa máig nem teljesen tisztázott, azonban az oxidatív stressz során kialakuló reaktív oxigén származékoknak (ROS) feltételezhetően nagy szerepük van ebben. A ROS erőteljes acut inflammatorikus választ indukál citokinek felszabadítása által, valamint aktiválja a vaszkuláris endotheliális sejteket és leukocytákat sejtfelszíni adhéziós molekulák expressziója által, és szabályozzák a pro-inflammatórikus gén programozást, mely közrejátszik a post iszkémiás gyulladás kialakulásában. A szabadgyökök erősen reaktív, párosítatlan elektront tartalmazó molekulák, melyeket a mitokondriumok, leukocyták és a xantin oxidáz termelnek. Fontos biológiai szerepük van a redox szignál utak, valamint az antibakteriális védekezés során, emellett fehérjékkel, lipid membránokkal, illetve a DNS-el is reagálhatnak, károsítva azokat. Az emberi szervezetben számos komplex enzimátikus és nem enzimátikus antioxidáns folyamat létezik, melyek megküzdnek a szabadgyökök elleni védelemben. Az oxidatív stressz akkor alakul ki, amikor megbillen az egyensúly a keletkező szabadgyökök és az antioxidáns szint között. Az oxidatív stressz mértéke különböző biomarkerek szintjével mérhető, mely többféleképpen is lehetséges: direkt szabadgyök mennyiségének mérésével, a szabadgyökök által okozott károsodás végtermékeinek mérésével, vagy az egyes vagy a teljes antioxidáns szintek mérésével. Nincs egyetlen olyan biomarker sem,

ami teljes egészében képviselné az oxidatív stresszt, minden labornak különböző biomarkerei vannak.

Az iszkémiás prekondicionálás az egyik leghatásosabb ismert módszer, mely védelmet nyújt a iszkémiás károsodásával szemben. Mind állat, mind humán kísérletben igazolták, hogy rövid iszkémiás szakaszok védelmet nyújtanak a szívet érő későbbi, hosszabb iszkémiás időszakokkal szemben, csökkentik az infarktus nagyságát, mérséklék a reperfúzió indukálta arrhythmia előfordulását és súlyosságát, valamint megelőzik az endotheliális sejt dysfunctiót. Habár az iszkémiás prekondicionálás teljes mechanizmusa még homályos, számos tanulmány igazolta, hogy a mechanizmus hátterében receptor mediált védő mechanizmusok, protein kináz aktiváló-, beleértve a protein kináz C-t, valamint mitokondriális K_{ATP} csatornákat is aktiváló intracelluláris szignál transzdukciós mechanizmusok állnak. Többek között az oxidatív stressz módosíthat néhány olyan celluláris aktivitást, amely in vivo mediadora lehet az IPC jelenségnek.

Feltételezhetően egy kezdeti prekondicionálást követő reperfúziós időszakban relative kevesebb oxigén szabad gyök keletkezik, melyek nem képesek necrosist okozni, de ahhoz elegendőek, hogy celluláris aktivitást váltsanak ki. Az iszkémiás prekondicionálást először Murry írta le 1986-ban. Munkacsoportjuk általános érzéstelenítés mellett nyitott mellkasú kutyák koronáriáján 4 alkalommal 5 percre koronária occluziót alkalmazott, melyet 5 perces reperfúziós időszak követett, majd ezt követően 40 perces tartós szívkoszorúér lezárás következett. A kontrollként alkalmazott állatok nem részesültek iszkémiás prekondicionálásban, ezáltal sokkal kiterjedtebb volt a szívükön észlelt infaktusos terület nagysága. Aksöyek és mksai a prekondicionálás jótékony hatását hasi szerveken írták le. Bár a prekondicionálás kivitelezése igen egyszerű, helye mégis inkább a kontrollált, elektív műtétek során van, sürgős kórállapotokban nem alkalmazható.

Rövid iszkémiás időtartamok a reperfúzió kezdetén alkalmazva szintén csökkentik az infarktus nagyságát. Ezen iszkémiás poszt preconditionálást (IPoC) először Vinten-Johansen csoportja írta le. IPoC-t különböző protokollok segítségével lehet elérni: a reperfúziót követően alkalmazott iszkémiás időtartamok hosszával, vagy a I/R szakaszok számával. Gyakorlatilag minden eddigi állatfajon, valamint human kísérletben, ahol az IPoC-t tesztelték, minden alkalommal protektívnek bizonyult. Mindent összevetve mind az IPC, mind az IPoC ugyanazokat a kulcsfontosságú útvonalakat aktiválják, melyek a phosphatidylinositol 3-kinase-Akt és extracelluláris signal-regulált kinase (ERK/p42-44) útvonalakat foglalják magukba. Mind az IPC, mind az IPoC számos endogén mechanizmust befolyásolnak, amelyek számos szinten működnek, és a patológiás mechanizmusok széles körét célozzák.

2. Célkitűzés

Mindhárom fejezetben a módszerünkben a pneumoperitoneum által okozott oxidatív stressz csökkentésének lehetőségét kerestük.

Az első kísérletben célul tűztük ki patkány állatmodellen a pre- és postkondicionálás protektív hatásának vizsgálatát és összehasonlítását a pneumoperitoneum által okozott oxidatív stresszel szemben. Az irodalomban számos állatkísérletes közlemény látott már napvilágot az IPC hatásával kapcsolatban laparoszkópos beavatkozások során, azonban az IPoC hatását kevesen vizsgálták. Kísérletünk során alacsony nyomást használtunk mind a pre-, mind postkondicionálás során, eredményeinket normál és kontrollcsoportos eredményekkel hasonlítottuk össze. Továbbá, hogy igazoljuk az IPC és IPoC védő hatását, a reperfüzió korai szakaszában monitoroztuk a sejten belüli anti- és proapoptotikus közös szignál útvonalakat (Bax, bcl-2, p53).

A **második kísérletben** PPAR- γ agonista (abszicizinsav), egy növényi fitohormon adagolása történt meghatározott időközönként a pneumoperitoneum létrehozása előtt, vagy a 60 perces pneumoperitoneum alatt, a has leengedése előtt. Célunk az volt, hogy bebizonyítsuk, hogy a PPAR- γ agonista csökkentheti a pneumoperitoneum által okozott oxidatív stresszt. Egységes PPARGA dózisokat adagoltunk a patkányoknak meghatározott időben a pneumoperitoneum létrehozása, illetve a has leengedése előtt. Célunk a legjobb adagolási idő megtalálása volt, mely során a legjobban csökkenthető az oxidatív stressz.

A **harmadik részben** a patkánykísérletekben észlelt laparoszkópos prekondicionálás kedvező eredményei alapján, laparoszkópos cholecystectomiára /LC/ váró human beteg anyagon szerettük volna igazolni az iszkémiás prekondicionálás protektív hatását. Kísérleti tanulmányunkban egy bárhol reprodukálható klinikai modellt szerettünk volna felállítani. A hagyományos LC- és IPC (iszkémiás prekondicionált) csoport oxidatív stressz paramétereit hasonlítottuk össze. Mértük a kórházi napok számát, valamint a postoperatív fájdalmat is.

3. Alkalmazott módszerek

3.1. Az oxidatív stressz paraméterek analízise

A malondialdehid (MDA) mérése: az MDA a sejtmembránok lipid-peroxidációjának mértékét jelző marker. Az MDA meghatározása teljes, alvadásban gátolt vérből történt fotometriás módszerrel Placer, Cushman és Johnson nyomán. Az MDA koncentrációt nM/ml-ben fejeztük ki. A redukált glutation (GSH) és plazma tiol-csoport (-SH) szintjének meghatározása: teljes, EDTA-val alvadásgátolt vérből Ellman-reagens felhasználásával Sedlak és Lindsay protokollja alapján történt. Az értékeket mindkét esetben nM/ml-ben fejeztük ki.

A SOD aktivitás meghatározásakor teljes, EDTA-val alvadásgátolt vérből Hartman reagens felhasználásával centrifugálást és mosást követően az erythrocytha homolizátumhoz kloroformot és ethanol-t adtunk, majd újabb centrifugálást követően adrenalint. A felülúszót 480 nm-es spektrofotometriás eszközzel vizsgáltuk, az értéket U/ml-ben mértük. MPO aktivitás meghatározása céljából Na citrát és *o*-Dianisidin tartalmú oldatot kevertünk össze plazmával. Az elegyet perklórsavban inkubáltuk, végül centrifugáltuk. Az MPO koncentrációt spektrofotométerrel mértük, az értéket U/l-ben fejeztük ki.

A kataláz enzim szintjének meghatározásakor az oldatot peroxide oldattal elegyítettük, majd mosott, százszorosra hígított vörösvértestet adtunk hozzá. Spektrofotométer segítségével a peroxide veszést mértük. A kataláz szintet BE/ml-ben fejeztük ki.

3.2. Szérum TNF-alfa és IL-6 meghatározás

Szérum TNF-alfa és IL-6 meghatározás céljából Rat TNF-alfa és Rat IL-6 ELISA kitet használtunk (R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA) a gyártó protokollját követve.

3.3. Szöveti vizsgálatok

A kísérlet végén terminált állatokból szöveti vizsgálat céljából mintát vettünk a májból, veséből, belekből valamint hasfali izomzatból. A szöveti vizsgálatok célja a csoportokban észlelt vese károsodás vizuális megjelenítése volt. Paraffinba ágyazott blokkokból metszés után hematoxylin-eozin festést végeztünk.

3.4. Western blot vizsgálat

50 mg vese szövetet (jobb és bal vese) homogenizáltuk jeges TRIS pufferben (50 mM, pH 8.0). A felülúszó fehérjetartalmát bicinchorinic savval derítettük, hogy a Laemmli oldat 1 mg/ml fehérjét tartalmazzon. A mintákat kétszeres koncentrációjú SDS-poliakrilamid gél-elektroforetikus pufferben tároltuk. A fehérjéket 12%-os SDS poliakrilamid gélben futtatuk és választottuk szét, majd nitrocellulóz membránra blottoltuk, ezt követően 4°C-on egy éjszakán át az elsődleges antitestekkel inkubáltuk a membránokat: Bcl-2 (1:1000 higítás), Bax (1:1000 higítás), p-53 (1:1000 higítás) (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA). A membránokat ezt követően hatszor 5 percig mostuk Tween-es TBS-ben, majd hozzáadtuk a tormaperoxidázzal jelölt másodlagos antitesteket (1:3000 higítás; Bio-Rad, Budapest, Hungary). Ismét hatszor 5 percig mossuk a membránokat Tween-es TBS-ben, majd kemilumineszcens oldattal láthatóvá tettük a blottot. A kapott eredményeket Scion Image 4.02 programmal elemeztük.

4. A pre- és posztkondicionálás szerepe a pneumoperitoneum által kiváltott iszkémia-reperfúziós károsodásban

Kísérletünket 200-300 g közötti Wistar patkányokon végeztük (nőstény-hím egyaránt). Az állatokat egyéni ketrecekben hőmérséklet-és fény szabályozott, légkondicionált teremben tartottuk, ahol szabadon juthattak folyadékhoz és táplálékhoz. A pneumoperitoneumot Veres tű segítségével hoztuk létre, melyet transabdominálisan vezettünk be a hasüregbe, majd automata insuflátorral 5-, illetve 10 Hgmm állandó CO₂ nyomást állítottunk be 60 percre. Az állatokat hét csoportra osztottuk. Az I. csoport a Sham vagy kontrollcsoport volt, ahol csak transabdominális Veres tű bevezetése történt. II. csoportnál a hasat 60 percre 5 Hgmm állandó nyomással fújtuk fel (5 Hgmm csoport), III. csoportban prekondicionálást alkalmaztunk: a patkányok hasát 5 percre 5 Hgmm nyomással felfújtuk, majd 5 percre leengedtük, ezt követően 60 percig 5 Hgmm állandó nyomással pneumoperitoneumot hoztunk létre (5 Hgmm IPC csoport). A IV. csoportban hasat 60 percre 5 Hgmm állandó nyomással felfújtuk, majd 5 perces leengedést követően 5 percre ismét 5 Hgmm nyomással felfújtuk (5 Hgmm IPoC csoport). Az V. csoportban az állatok hasát 10 Hgmm állandó nyomással fújtuk fel 60 percre (10 Hgmm csoport), a VI. csoportban ismét prekondicionálást alkalmaztunk: a patkányok hasát 5 percre 10 Hgmm nyomással felfújtuk, majd 5 percre leengedtük, ezt követően 60 percig 10 Hgmm állandó nyomással pneumoperitoneumot hoztunk létre (10 Hgmm IPC). Végül a VII. csoportban 10 Hgmm-es nyomással postkondicionáltuk az

állatokat a 60 perces 10 Hgmm-es pneumoperitoneumot követően (10 Hgmm IPoC). A beavatkozást követő 2 óra elteltével az állatoktól vérmintát nyertünk, majd az állatokat termináltuk, intraabdominális szerveiket, valamint a hasfali izomzatot formalinban és folyékony nitrogénben tároltuk. Az oxidatív stressz mértékének meghatározásához a lipidperoxidációt jelző malondialdehidet (MDA), az endogen antioxidáns redukált glutathiont, a tiol csoportok koncentrációját, valamint az antioxidáns superoxide-dizmutáz (SOD) és myeloperoxidáz (MPO) aktivitását mértük. A TNF- α és IL-6 szérumszintjének meghatározásához patkány TNF- α és IL-6 ELISA kitesztet használtunk. (R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA). A pro- és antiapoptotikus jelátviteli útvonalakat valamint a DNS károsodást jelző p53 molekulát Western blot módszerrel határoztuk meg.

Az eltávolított szövetmintákat formalinban fixáltuk, majd hematoxylin-eozin festést követően 40x nagyítás mellett Panoramic Viewer® software segítségével vizsgáltuk.

A statisztikai elemzést SPSS (Ver. 22.0) Statisztikai Software (SPSS, Chicago, IL, USA) Kruskal-Wallis Független-Minta Próbával vizsgáltuk. Az eltéréseket szignifikánsnak tekintettük, ha a p kisebb volt, mint 0,05.

Eredmények:

Az MDA koncentrációja a vérben szignifikánsan magasabb volt minden csoportban a Sham csoporthoz viszonyítva. Az 5 és a 10 Hgmm-es IPC csoportokban alacsonyabb, de nem szignifikáns koncentrációkat észleltünk az 5 és 10 Hgmm csoportokhoz képest. A plazma MDA koncentráció esetében szintén szignifikánsan magasabb MDA koncentrációt mértünk minden csoportban a kontrollcsoporthoz képest, de a 10 Hgmm IPC és 10 Hgmm IPoC csoportok koncentráció értékei a 10 Hgmm csoporthoz képest szignifikánsan alacsonyabbak voltak. A vérben a GSH koncentráció szignifikánsan csökkent az összes csoportban a Sham csoporthoz képest. A 10 Hgmm csoporttal összehasonlítva a 10 Hgmm IPC és 10 Hgmm IPoC csoportokban szignifikánsan magasabb GSH koncentrációkat észleltünk, mely azt mutatja, hogy a prekondicionálás csökkentette az oxidatív stresszt. A tiol csoportok esetében nem tapasztaltunk változást. A SOD esetén csökkent aktivitást észleltünk az 5 Hgmm, 5 Hgmm IPC, 5 Hgmm IPoC és 10 Hgmm csoportokban a kontrollcsoporthoz képest. A 10 Hgmm csoporthoz viszonyítva a 10 Hgmm IPC csoportban szignifikánsan magasabb volt a SOD aktivitás. Ezen értékek azt mutatták, hogy a létrehozott pneumoperitoneum károsodást okoz melyet a prekondicionálás alkalmazásával csökkenteni lehet. Az MPO értékeket vizsgálva szignifikánsan alacsonyabb MPO értékeket mértünk a nem kondicionált (5 Hgmm, 10 Hgmm) csoportokban. A csoportok MPO értékeinek összehasonlítása során szignifikánsan nagyobb MPO értéket mértünk az 5 Hgmm IPC és 5 Hgmm

IPoC csoportokban az 5 Hgmm csoporthoz képest, valamint a 10 Hgmm IPC és 10 Hgmm IPoC csoportokban is a 10 Hgmm csoporthoz képest. A TNF- α koncentrációk a 10 Hgmm IPC csoport kivételével minden csoportban szignifikánsan magasabbak voltak a Sham csoporthoz képest. A jelzett 10 Hgmm IPC csoportban alacsonyabb, de nem szignifikáns eltérést észleltünk a kontroll csoporthoz viszonyítva. IL-6 koncentrációk mérése során az 5 Hgmm, 10 Hgmm és 10 Hgmm IPoC csoportokban szignifikánsan magasabb IL-6 koncentrációt mértünk a kontrollcsoport értékeihez viszonyítva. Alacsonyabb, de nem szignifikáns értékeket kaptunk az 5 Hgmm IPC, 5 Hgmm IPoC csoportokban a sima 5 Hgmm csoporthoz viszonyítva és szintén alacsonyabb de nem szignifikáns értékeket a 10 Hgmm IPC csoportban a 10 Hgmm csoporthoz viszonyítva. A TNF- α és IL-6 változások azt mutatják számunkra, hogy a pneumoperitoneum aktiválja a szisztémás inflammatorikus választ, gyulladást indukál, mely a prekondicionálás alkalmazásával csökkenthető, de ezt a csökkenést csak magasabb nyomáson észleltük.

A leglátványosabb szövettani eredményeket veseszövet értékelése során észleltük. Sham csoport esetén nem láttunk eltérést, az 5 Hgmm-es csoportban a kelyhekben vvt-t, a parenchymában vérzést észleltünk, de az ureter, a glomerulusok és a vesetok érintetlen maradt. Az 5 Hgmm IPC csoportban a glomerulusok és tubuláris sejtek szétestek, a parenchymában minimális vérzést észleltünk, valamint az urethra epithel sejtjei is sérültek. Az 5 Hgmm IPoC csoportban a glomerulusokban és a tubulusokban sérült sejtmembránokat észleltünk, apoptoticus, duzzadt nucleolusokat, a parenchymában necrotikus és bevérzett területek voltak láthatók. Az urethralis epithel itt is intact volt. A 10 Hgmm csoport veseszövetében a glomerulusokban és tubulusokban is bevérzést észleltünk. A 10 Hgmm IPC csoportban duzzadt nucleolusokat, a glomerulusokban, a vese parenchymásában és a kehelyben vérzést észleltünk. A tubulusok intaktak maradtak. Végül a 10 Hgmm IPoC csoportban az urethralis epithelium és a disztális tubulusok felszakadoztak a nyomás hatására. Az urethrában és a parenchymában vérzés és apoptotikus sejtek voltak láthatók. A pro és antiapoptotikus jelátviteli utak valamint a DNS károsodás megállapítására Western blot vizsgálatot végeztünk. A proapoptotikus bax expressziója magasabb volt a nem kondicionált csoportokban. Alacsonyabb bax expressziót észleltünk a Sham, 5 Hgmm IPC, 10 Hgmm IPC és 10 Hgmm IPoC csoportokban. Az antiapoptotikus bcl-2 szignál transzdukciós molekula expressziójának vizsgálata esetén jeletősen magasabb bcl-2 expresszót észleltünk a 10 Hgmm IPC és 10 Hgmm IPoC csoportokban. A foszforilált p53 molekula expressziója, mely a DNS károsodás mértékét jelzi, alacsonyabb volt a pre- és postkondicionált csoportokban, de szignifikáns eltérést csak a 10 Hgmm IPC és 10 Hgmm IPoC csoportokban észleltünk a 10 Hgmm csoporthoz viszonyítva. A p53 expressziója magasabb volt a Sham, 5 Hgmm és 10 Hgmm csoportokban.

Eredményeink alapján azt a következtetést vontuk le, hogy a pneumoperitoneum létrehozása során megemelkedett intraabdominális nyomásnak számos negatív hatása van. A pneumoperitoneum során kialakuló I/R során szabadgyökök termelődnek melyek oxidatív stresszt indukálnak. Az oxidatív stressz paraméterekkel ezen károsodást mérni tudtuk, és az alkalmazott rövid idejű pre- és postkondicionálással ez a negatív hatás csökkenthető volt. Összehasonlítva a módszereket egymással, jelen állatkísérletben mindkét módszert hasonlóan jó technikának véltük a sebészi ártalom kivédésére.

5. A PPAR- γ agonista szerepe a pneumoperitoneum által okozott iszkémia-reperfúzió kivédésében

Második kísérletünkben egy fitohormont, nevezetesen a PPAR- γ (peroxiszoma proliferator-aktivált receptor gamma) agonista abszcizinsavat alkalmaztunk, melyet patkányok fark vénaájába injektáltunk. A peroxiszoma proliferator-aktivált receptor-gamma (PPAR- γ /PPARG) a nukleáris receptor-szupercsalád tagja. A PPAR-ok ligand-függő transzkripciós faktorok, melyek a szabályozandó gén enhancer régiójának specifikus peroxiszoma proliferátor reszponzív elemeihez kötődnek. Részt vesznek a zsírsejt differenciáció irányításában, az inzulin-szenzitivitás és gyulladási folyamatok szabályozásában, valamint az NF-kB-függő gyulladási gének transzkripciójának gátlása révén down-regulálják a makrofágok proinflammatorikus mediátor-termelését. Nem-inzulin függő diabetes mellitus kezelésében orális antidiabetikumként szintetikus PPARG agonisták (PPARGA) használatosak. A PPARG aktiváció képes szabályozni a gyulladási válaszreakciókat, valamint receptor-függő transzrepresszió révén képes számos proinflammatorikus molekula expresszióját gátolni. Az irodalomban a PPARG agonisták iszkémia-reperfúziós károsodásokkal szembeni jótékony hatásáról több cikk is beszámol a bél, tüdő, szív, vese és agy esetén.

Kísérletünket 60 Wistar patkányon végeztük (200-300 g). A pneumoperitoneumot Veres -tű segítségével hoztuk létre, mely transabdominálisan került bevezetésre a hasüregbe, a nyomást állandó 10 Hgmm-en tartottuk 60 percig. Az állatokat 6 csoportra osztottuk (minden csoportban n=10) : 100 μ Mol PPARGA-t adagoltunk 45, 30 és 5 perccel az inszuffláció előtt (II-IV csoport 45Pre, 30 Pre és 5 Pre), valamint 20 és 5 perccel a has leengedése vagyis a deszuffláció előtt (V-VI csoport 40 Isch, 55 Isch). A kontroll csoport nem volt kezelve. A beavatkozást követő 2 óra elteltével az állatoktól vérmintát vettünk, majd termináltuk őket. Oxidatív stressz paraméterek

meghatározása történt: malondialdehid (MDA), redukált glutathion (GSH), thiol csoport (-SH), szuperoxid-dizmutase enzim (SOD), valamint a TNF- α és IL-6 gyulladáscsökkentő citokinek szintjét mértük a feljebb részletezett módszerekkel. A statisztikai elemzést SPSS (Ver. 22.0) Statisztikai Software (SPSS, Chicago, IL, USA) Kruskal-Wallis Független Minta Próbával vizsgáltuk. Az eltéréseket szignifikánsnak tekintettük, ha a p kisebb volt, mint 0,05.

Eredmények

A Sham csoporthoz viszonyítva minden csoportban magasabb TNF- α szinteket mértünk. Az insuffláció 40.-ik percében, vagyis abban a csoportban ahol a PPARGA-t 20 perccel a has leengedése előtt adagoltuk, szignifikánsan alacsonyabb volt a TNF- α szintje azokhoz a csoportokhoz képest ahol az insuffláció előtt 5 vagy 30 perccel adtuk a szert. Az IL-6 esetében szintén minden csoportban emelkedett IL-6 értéket észleltünk a Sham csoporthoz viszonyítva. A csoportokat egymáshoz hasonlítva az alábbi eredményeket találtuk: az 5 Pre csoporthoz viszonyítva (insuffláció előtt 5 perccel kezelt csoport) a 30 Pre (insuffláció előtt 30 perccel kezelt csoport), valamint a 40 Isch és 55 Isch csoportok esetén (insuffláció után a has leengedése előtt 20 és 5 perccel kezelt csoport) szignifikánsan alacsonyabb IL-6 értékeket mértünk. A SOD aktivitás mérése esetén az 5 Pre csoportban szignifikánsan alacsonyabb aktivitást mértünk a Sham, 40 Isch és 30 Pre csoportokhoz képest. A 40 Isch és 30 Pre csoportok aktivitás értékeihez képest a 45 Pre csoportban szignifikánsan alacsonyabb SOD aktivitást észleltünk. Szintén szignifikáns csökkenést észleltünk az 55 Isch csoportban a 30 Pre csoporthoz viszonyítva. A SOD aktivitás átlaga a Sham, 30 Pre, 40 Isch csoportokban közel azonos értéken marad, mely a PPARGA protektív hatását mutatja a 30 Pre és 40 Isch csoportokban. A GSH értékek minden csoportban szignifikánsan alacsonyabbak voltak a Sham csoport értékéhez képest. Az 5 Pre csoport GSH értéke szignifikánsan alacsonyabb volt a 30 Pre csoport értékéhez képest. Az 55 Isch csoport értékei pedig szignifikánsan alacsonyabbak voltak a 30 Pre és 40 Isch csoportokhoz képest. A vér MDA koncentráció értékeknél minden csoportban szignifikánsan magasabb MDA értékeket mértünk a Sham csoporthoz képest. A csoportok összehasonlítása során nem találtunk statisztikailag különbséget. Az MDA plazma koncentráció értékek során minden csoportban magasabb MDA koncentrációt mértünk a Sham csoporthoz képest, azonban szignifikánsan magasabb koncentrációt csak a 45 Pre, 5 Pre és 55 Isch csoportokban észleltünk. A 30 Pre csoport koncentráció értéke szignifikánsan alacsonyabb volt a 45 Pre, 5 Pre és 55 Isch csoportok koncentrációihoz képest. A 40 Isch csoportban szintén szignifikánsan alacsonyabb koncentrációt mértünk az 5 Pre és 55 Isch csoportok koncentráció értékeihez képest.

Kísérletünkben Western blot segítségével megszerettük volna határozni proapoptotikus (bax), antiapoptotikus (bcl-2) szignál fehérjék expresszióját, valamint szintén Western blot segítségével a DNS károsodást jelző p53 molekula expresszióját és foszforilációját vizsgáltuk.

Eredményeink során azt találtuk, hogy a bax expressziója magasabb volt a Sham, 45 Pre és 5 Pre csoportokban. Csökkent expressziót detektáltunk a 40 Isch-, 55 Isch-, valamint még alacsonyabbat a 30 Pre csoportban. Az antiapoptotikus (bcl-2) szignál protein szintjét is mértük az összes PPARGA kezelt csoportban. Jelentősen magasabb volt a bcl-2 expressziója a 40 -, és 55 Isch csoportokban. A DNS károsodást jelző foszforilált p53 molekula expressziója a csökkenést mutatott a 30 Pre csoportban. A többi csoportban nem volt szignifikáns eltérés a p53 expresszióját tekintve.

Jelen kísérletünkben is bizonyítottuk, hogy a pneumoperitoneum hatására megemelkedett intraabdominális nyomás oxidatív stresszt indukál. A PPARGA adagolásával ezen káros hatás kivédhető, azonban további kutatások szükségesek az adagolás optimális idejének megtalálására.

6. Prekondicionálással csökkenthető a szén-dioxiddal készített pneumoperitoneum okozta mellékhatások/Klinikai pilot study/

Kísérletünk célja az volt, hogy a patkányokon tapasztalt pozitív prekondicionálási eredményeket követően laparoszkópos cholecystectomiára váró betegeken is bizonyítsuk a prekondicionálás jótékony hatását. Jelen kísérletünket 2013. február és 2014. június között folytattuk a Pécsi Tudományegyetem Sebészeti Klinikáján valamint a Sebészeti Oktató és Kutató Intézetben. Kísérletünket a Helszinki Etikai Kódex Nyilatkozata alapján készítettük, valamint a kísérleti protokollunk az Országos Etikai Bizottság (TUKÉB) által is engedélyezésre került (No. ad.774/PI/2012; ad.50760/2012/EKU). A prospektív vak klinikai vizsgálatunkba random 30, laparoszkópos cholecystectomiára (LC) váró beteg került bevonásra. 15 beteg a laparoszkópos cholecystectomia előtt iszkémiás prekondicionálásban részesült (IPC), míg a másik 15 beteg hagyományos LC műtéten esett át. A vizsgálatba 18 és 70 év közötti betegeket válogattunk be. A műtét előtt a betegek egy részletes Betegtájékoztatót valamint Beleegyező Nyilatkozatot kaptak. Kizárási kritériumként bármilyen ismert rosszindulatú daganatos megbetegedés, extrém obezitás, immunrendszeri és autoimmun betegségek, uremia, masszív hypoproteinaemia, icterus, krónikus

dekompensált májbetegségek szerepeltek, illetve a beleegyezés visszautasítása. A sebészeti beavatkozások a Pécsi Sebészeti Klinikán történtek, a vérminták feldolgozása a Sebészeti Oktató és Kutató Intézetben, míg a statisztikai eredmények kiértékelése a Bioanalitikai Intézetben zajlott.

Minden beteg műtétje általános anesztézia mellett zajlott. Preoperatíven sem antibiotikus sem alacsony molekulású heparin (LMWH) kezelésben nem részesültek a betegek.

Prekondicionálás

Az LC műtét megkezdése előtt a köldök magasságában ejtett metszést követően transzabdominálisan Veres tű került bevezetésre, mellyel 5 percre 15 Hgmm-es konstans nyomásra a hasüreget felfújtuk, melyet 5 perc desufflatio követett. Ezen beavatkozást követően a betegeket hagyományos rutin LC műtétnek megfelelően operáltuk meg. A kísérletünk céljából a betegektől 4 alkalommal vettünk vénás vért: a befekvés előtt (BH), anesztéziát követően de még a műtét előtt (A), közvetlenül a műtét után (AO) valamint 24 órával a műtétet követően (24h Post). Az oxidatív stressz mértékének meghatározásához lipid peroxidációt jelző malondialdehyd (MDA) koncentrációja, az endogen antioxidáns redukált glutathion- (GSH), és thiol csoportok (SH-) koncentrációja valamint az antioxidáns szuperoxid-dismutase (SOD) és kataláz (KAT) aktivitásai kerültek mérésre teljes vérből. Plazma MDA és myeloperoxidáz (MPO) aktivitását is mértük. Visual Analog Skála segítségével a betegek műtét utáni és 24 órás postoperatív fájdalmait mértük. Vezetjük a kórházban töltött napok számát. A sebek méretét és állapotát, valamint a szövődeményeket is értékeltük.

A statisztikai elemzést SPSS (Ver. 22.0) Statisztikai Software (SPSS, Chicago, IL, USA) segítségével végeztük. Az értékeket Mann-Whitney próbával vagy Wilcoxon Előjeles rangszámösszeg próbával értékeltük. Az eltéréseket szignifikánsnak tekintettük, ha a p kisebb volt, mint 0,05.

Eredmények

Összesen 30 beteg került bevonásra a kísérletbe. Az átlag életkor 38.3 ± 6.4 év volt, a beavatkozások átlag ideje 25–80 perc volt. A nemek közti megoszlás 6:24 férfi: nő arány volt. A kórházban töltött átlag idő 2.37 nap volt, de az IPC csoportban ehhez képest 10% csökkenést észleltünk. Hospitalizációs időt tekintve a két csoportot összehasonlítva: LC csoport bennfekvés átlag ideje $2.67 \pm 1,047$ nap volt, míg az IPC csoport esetében átlag 2.29 ± 0.72 nap. (Mann-Whitney test $p = 0.377$)

SOD

A SOD értékek nagyfokú heterogenitást mutattak, így értékelhető statisztikai eredmény nem született. A befejezés előtti kontroll SOD aktivitása a két csoportnak közel hasonló volt. Anesztéziát követően mindkét csoportban csökkent a SOD értéke, mely az altatás során keletkező oxidatív stressz eredménye. Sem a műtét utáni, sem a 24 h SOD aktivitás értékek tekintetében nem találtunk szignifikáns eltérést.

MDA (vér)

A vér MDA koncentrációját vizsgálva a két csoportban szintén nem találtunk szignifikáns eltérést sem a kontroll, sem műtét előtti, illetve műtét utáni és 24 h értékeknél.

GSH

A GSH koncentrációk értékei szintén heterogének voltak, de az IPC csoportban a postoperatív GSH koncentrációja szignifikánsan magasabb értéket mutatott a postoperatív LC értékhez képest.

SH-, KAT, MPO, MDA (plazma)

A tiol-csoport, kataláz, myeloperoxidáz és MDA plazma esetén nem találtunk szignifikáns eltérést.

Vizuál Analog Skálával mért fájdalom

Szignifikáns eredményt észleltünk az IPC csoportban mind posztoperatíván, mind 24 h órával a műtétet követően. Az IPC csoportban a fájdalom kb. 2-2.5 egységgel volt alacsonyabb mindkét alkalommal. Lényegében az IPC csoport műtét utáni fájdalom szintje hasonló, mint a sima műtétesek 24 órás fájdalma, vagy a prekondicionálás a fájdalom csökkenésében egy egész napos előnyt jelent.

Megbeszélés

Laparoszkópos beavatkozás során a szervezetben iszkémia, majd reperfüzió alakul ki, ezen I/R hatás oxidatív stresszt indukál. Pilot studynk során olyan klinikai modellt állítottunk fel, mely bárhol reprodukálható, és eredményei alapján egy későbbi vizsgálatban multicentrikussá tehető. A még adekváltabb eredmények érdekében olyan homogénebb beteganyag kiválasztása lenne a cél, ahol a betegeknek nagyjából egykorúak, hasonló BMI-vel rendelkeznek, viszonylag kevés a komorbiditásuk és nem szenvednek egyéb, akár krónikus betegségben. Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a prekondicionálás 10 perccel hosszabbítja a meg egy rutin LC műtét hosszát,

de előnyként könyvelhető el, hogy rövidítette a hospitalizációs időt, valamint csökkentette a betegek fájdalmát. A költség-haszon hányadost tekintve a prekondicionálás egy olcsó, semmilyen plusz eszközt nem igénylő beavatkozás, mely akár a későbbi mindennapi klinikai gyakorlatba is beültethető lehet.

7. A tudományos értekezés új eredményei és megállapításai

Az első kísérletünkben patkány állatmodellen laparoszkópos pneumoperitoneum készítése során megfigyeltük és összehasonlítottuk az IpC és IPoC hatását. A kísérlet alapján három fontos megállapításunk született: mind az IPC, mind az IPoC alkalmazása során csökkent a pneumoperitoneum által kiváltott oxidatív stressz, de eredményeink alapján a 10 Hgmm-es IPC csoportban láttuk a legeredményesebb hatást. Elsőként vizsgáltuk a laparoszkópos postkondicionálás hatását és hasonlítottuk össze a prekondicionálással. Tudomásunk szerint a szakirodalomban még nem vizsgálták a laparoszkópos postkondicionálás hatását, valamint a pre- és postkondicionálás összehasonlítása sem történt még.

A második vizsgálatunkban a nem szintetikus PPAR- γ hatását vizsgáltuk konstans peritonealis nyomáson okozott I/R károsodás esetén. Elsőként vizsgáltuk a PPRGA hatását a pneumoperitoneum okozta oxidatív stresszel szemben. Eredményeink alapján azt találtuk, hogy a PPAR- γ protektív hatású volt az oxidatív stresszel szemben, azonban a legeredményesebb hatást meghatározott időben adagolt esetben láttuk. A legjobb protektív hatást a beavatkozás előtt 30, valamint a pneumoperitoneum 40. percében, vagyis a has leengedése előtt 20 perccel értük el.

A haramadik részben egy klinikai kísérletes tanulmányban célunk a prekondicionálás protektív hatásának vizsgálata volt laparoszkópos cholecystectomiára váró beteganyagban. Tudomásunk szerint eddig hasonló humán, a prekondicionálás szerepét vizsgáló kísérlet még nem volt. Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a műtétek során a hagyományos LC és IPC csoport eredményei összehasonlítva az IPC csökkentheti az anaesthesia, a pneumoperitoneum és a műtét során jelentkező oxidatív stresszt. Az alkalmazott IPC által csökkent a kórházi bennfekvési idő, valamint csökkent a betegeknek a postoperatív fájdalom is. Az IPC egy jótékony és egyszerű módszer lehet a mindennapi laparoscopos sebészetben.

8. Publikációs jegyzék

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények jegyzéke

Közlemények

1. Kürthy Mária, Miklós Zsanett, Kovács Dóra, Degrell Péter, Rantzinger Eszter, Arató Endre, Sínay László, Nagy Tímea, Hardi Péter, Kovács Viktória, Jávor Szaniszló, Veres Gyöngyvér Tünde, Róth Erzsébet, Lantos János, Jancsó Gábor: A posztkondicionálás hatása az iszkémia/reperfúziós károsodásra hiperlipidémiás patkánymodellen, MAGYAR SEBÉSZET (ISSN: 0025-0295) 66: (2), pp. 95-96 type of document: Journal paper/Review paper impact factor: 0.120
2. T Nagy, V Kovács, P Hardi, T Gy Veres, I Takács, G Jancsó, L Sinay, G Fazekas, Ö Pintér, E Arató. Inhibition of Glutathione S-transferase by ethacrynic acid augments the ischaemia-reperfusion damages and apoptosis and attenuates the positive effect of ischaemic postconditioning in bilateral acut hindlimb ischaemia rat model. JOURNAL OF VASCULAR RESEARCH 52:(1) pp. 53-61. (2015)
IF: 2.90
- 3.T.Gy.Verés, I.Takács, T.Nagy, G.Jancsó, A. Kondor, L.Pótó, A. Vereczkei *Pneumoperitoneum induced ischaemia-reperfusion injury of the peritoneum /Preconditioning may reduce the negative side-effects caused by carbon-dioxide pneumoperitoneum/ Pilot study Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol. 69, no. 4, pp. 481-488, 2018, DOI 10.3233/CH-170336 IOS Press; **IF: 1,914**
4. T.Gy. Veres, T. Nagy,L. Petrovics, K. Sárvári, A. Vereczkei, G. Jancsó, I. Takács The effect of laparoscopic pre- and postconditioning on pneumoperitoneum induced injury of peritoneum *Clinical Hemorheology and Microcirculation* –közlésre elfogadva, minor revision **IF: ..**

Egyéb közlemények jegyzéke

1. Veres Gyöngyvér Tünde, Jávor Szaniszló, Wéber György: Az alacsony nyomáson történő prekondicionálás csökkenti a pneumoperitoneum okozta szisztémás, káros oxidatív hatásokat MAGYAR SEBÉSZET (2012)
2. T. Gy. Veres, Sz. Jávor, Gy. Wéber: Preconditioning even using low pressure can reduce surgical stress following laparoscopic procedures EUROPEAN SURGICAL RESEARCH (ISSN: 0014-312X) (eISSN: 1421-9921) 48: (3) pp. 111-170. (2012)
3. Kürthy Mária, Miklós Zsanett, Kovács Dóra, Degrell Péter, Rantzinger Eszter, Arató Endre, Sinay László, Nagy Tibor, Hardi Péter, Kovács Viktória, Jávor Szaniszló, Veres Gyöngyvér Tünde, Róth Erzsébet, Lantos János, Jancsó Gábor: A posztkondicionálás hatása az ischaemia/reperfúziós károsodásokra hiperlipidémiás patkánymodellen. MAGYAR SEBÉSZET 67:(2) p. 95. (2013)
4. Kovács Viktória, Balatonyi Borbála, Borsiczky Balázs, Gasz Balázs, Jávor Szaniszló, Nagy Tibor, Hardi Péter, Veres Gyöngyvér Tünde, Dézsi László, Lantos János, Jancsó Gábor, Marczin

Nándor, Róth Erzsébet: Glutation-S-transzferáz P1 gén polimorfizmus és nyitott mellkasú szívűtét posztoperatív szövődeményeinek összefüggései. MAGYAR SEBÉSZET 67:(2) p. 95. (2013)

5. Nagy Tibor, Kovács Viktória, Hardi Péter, Veres Gyöngyvér Tünde, Kürthy Mária, Dézsi László, Sinay László, Arató Endre, Menyhei Gábor, Róth Erzsébet, Jancsó Gábor: A glutation-S-transzferáz gátló etakrinsav hatása az ischaemia-reperfüziós károsodásokra alsó végtagi ischaemia modellen. MAGYAR SEBÉSZET 67:(2) p. 101. (2013)

6. Huszár O, Jancsó G, Ferenc S, Hardi P, Veres Gy T, Vereczkei A, Horváth Ö P, Papp A: A Harmonic ACE és Enseal vágókészülék vérzéscsillapító hatásának összehasonlító vizsgálata Copidogrel/Aszpirin Protect okozta tct aggregáció gátlásban részesült, illetve nem részesült sertéseken MAGYAR SEBÉSZET 66:(2) p. 88. (2013)

7. Veres Gyöngyvér Tünde, Nagy Tibor, Kovács Viktória, Hardi Péter, Jávor Szaniszló, Kürthy Mária, Dézsi László, Vereczkei András, Róth Erzsébet, Jancsó Gábor, Wéber György: A pre-és posztoperatív kondicionálás szerepe a pneumoperitoneum által kiváltott ischaemia-reperfüzió indukálta oxidatív stressz kivédésében. MAGYAR SEBÉSZET 67:(2) p. 116. (2013)

8. Hardi Péter, Nagy Tibor, Veres Gyöngyvér Tünde, Kovács Viktória, Fazekas Gábor, Pintér Örs, Nagy Ágnes, Kovács Sándor, Szelechman Ildikó, Szekeres Eszter, Takács Veronika, Bognár Laura, Jancsó Gábor. Vese iszkémiás károsodások csökkentése penthosan polysulfate natrium (PPSN) adásával állatkísérletes modellben. MAGYAR SEBÉSZET 67:(3) pp. 166-167. (2014)

9. Kovács Viktória, Nagy Tibor, Veres Gyöngyvér Tünde, Hardi Péter, Lantos János, Jancsó Gábor, Gasz Balázs. A glutathion S-transzferáz gátló etakrinsav hatása acut myocardialis iszkémia/reperfüziós folyamatokra. MAGYAR SEBÉSZET 67:(3) p. 180. (2014)

10. Nagy Tibor, Kovács Viktória, Hardi Péter, Veres Gyöngyvér Tünde, Kürthy Mária, Lantos János, Pintér Örs, Sinay László, Menyhei Gábor, Róth Erzsébet, Jancsó Gábor, Arató Endre. Az endogén antioxidáns glutation S-transzferáz gátló etakrinsav hatása az iszkémia-reperfüziós károsodásokra alsó végtagi akut iszkémia patkánymodellen. MAGYAR SEBÉSZET 67:(3) p. 192. (2014)

11. Sárvári K, Petrovics L, Nagy T, Kovács V, Hardi P, Máthé E, Jancsó G, Wéber Gy, Vereczkei A, Veres Gy. A prekondicionálás és posztoperatív kondicionálás szerepének összehasonlítása a pneumoperitoneum okozta káros oxidatív hatások kivédésében. MAGYAR SEBÉSZET 67:(3) pp. 205-206. (2014)

12. Veres Gyöngyvér Tünde, Nagy Tibor, Sárvári Katalin, Petrovics Laura, Hardi Péter, Kovács Viktória, Takács Ildikó, Lantos János, Kondor Ariella, Baracs József, Máthé Ervin, Wéber György, Jancsó Gábor, Vereczkei András. Széndioxidral készített pneumoperitoneum okozta káros hatások vizsgálata és csökkentésének lehetősége - Klinikai vizsgálat. MAGYAR SEBÉSZET 67:(3) pp. 221-222. (2014)

13. Veres Gyöngyvér Tünde, Katalin Sárvári, Laura Petrovics, Tibor Nagy, Péter Hardi, Ildikó Takács, Ervin Máthé, György Wéber, András Vereczkei, Gábor Jancsó. The role of pre- and postconditioning to avoid the ischaemia-reperfusion injury caused by pneumoperitoneum. EUROPEAN SURGICAL RESEARCH 52:(3-4) p. 110. (2014)

14. J Werling, T Nagy, V Kovács, L Sínay, E Arató, T Gy Veres, I Takács, I Szelechman, P Hardi, K Sárvári, G Jancsó. Controlled Reperfusion of Infrarenal Aorta Decreased Ischaemic-Reperfusion Injuries after Aortic Clamping in Vascular Surgery. EUROPEAN SURGICAL RESEARCH 52:(3-4) p. 43. (2014)

15. Sárvári Katalin, Veres Gyöngyvér Tünde, Petrovics Laura, Nagy Ágnes, Takács Ildikó, Hardi Péter, Nagy Tibor, Vereczkei András, Jancsó Gábor: PPAR-gamma agonista adásával csökkenthető a pneumoperitoneum hatására létrejövő reperfúziós károsodás mértéke patkányokban. MAGYAR SEBÉSZET 68:(3) p. 125. (2015)

16. Veres Gyöngyvér Tünde, Takács Ildikó, Nagy Tibor, Hardi Péter, Kondor Ariella, Jávör Szaniszló, Sárvári Katalin, Petrovics Laura, Baracs József, Lantos János, Jancsó Gábor, Wéber György, Vereczkei András: Prekondicionálással csökkenthető-e a laparoscopos epeműtét során kialakult oxidatív stressz? MAGYAR SEBÉSZET 68:(3) p. 126. (2015)

Az értekezés témájához kapcsolható tudományos előadások jegyzéke

1. T Gy Veres, Sz Javor, Gy Weber: PRECONDITIONING EVEN USING LOW PRESSURE CAN REDUCE SURGICAL STRESS FOLLOWING LAPAROSCOPIC PROCEDURES 47th Annual Congress ESSR 2012.06.06-09. Lille- France

2. Veres Gyöngyvér Tünde, Jávör Szaniszló, Wéber György Az alacsony nyomáson történő prekondicionálás csökkenti a pneumoperitoneum okozta szisztémás, káros oxidatív hatásokat A Magyar Sebész Társaság 61. Kongresszusa, Szeged, 2012. szeptember 13–15.

3. Veres Gyöngyvér Tünde, Nagy Tibor, Kovács Viktória, Hardi Péter, Jávör Szaniszló, Kürthy Mária, Dézsi László, Vereczkei András, Róth Erzsébet, Jancsó Gábor, Wéber György: A pre- és posztkondicionálás szerepe a pneumoperitoneum által kiváltott iszkémia-reperfúzió indukálta oxidatív stressz kivédésében A Magyar Sebész Társaság Kísérletes Sebészeti Szekciójának XXIV. Kongresszusa, Debrecen, 2013. június 13-15.

4. Veres Gyöngyvér Tünde, Nagy Tibor, Kovács Viktória, Hardi Péter, Takács Ildikó, Kürthy Mária, Lantos János, Sárvári Katalin, Petrovics Laura, Máthé Ervin, Vereczkei András, Róth Erzsébet, Wéber György, Jancsó Gábor: A pre- és posztkondicionálás szerepe a pneumoperitoneum által kiváltott oxidatív stressz kivédésében Magyar Haemorheologiai Társaság XXI., a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság ill. a Magyar Szabadgyökkelkutató Társaság IV. közös Kongresszusa, Balatonkenese, 2014. április 4-5.

5. Veres Gyöngyvér Tünde, Katalin Sárvári, Laura Petrovics, Tibor Nagy, Péter Hardi, Ildikó Takács, Ervin Máthé, György Wéber, András Vereczkei, Gábor Jancsó. The role of pre- and postconditioning to avoid the ischaemia-reperfusion injury caused by pneumoperitoneum. 49th Annual Congress ESSR 2014.05.21-24. Budapest-Hungary

6. Veres Gyöngyvér Tünde, Nagy Tibor, Sárvári Katalin, Petrovics Laura, Hardi Péter, Kovács Viktória, Takács Ildikó, Lantos János, Kondor Ariella, Baracs József, Máthé Ervin, Wéber György, Jancsó Gábor, Vereczkei András. Széndioxid-dal készített pneumoperitoneum okozta káros hatások vizsgálata és csökkentésének lehetősége - Klinikai vizsgálat. Magyar Sebész Társaság 62. Kongresszusa, Győr, 2014. június 12–14.

7. Veres Gyöngyvér Tünde, Takács Ildikó, Nagy Tibor, Hardi Péter, Kondor Ariella, Jávor Szaniszló, Sárvári Katalin, Petrovics Laura, Baracs József, Lantos János, Jancsó Gábor, Wéber György, Vereczkei András: Prekondicionálással csökkenthető-e a laparoscopos epeműtét során kialakult oxidatív stressz? A Magyar Sebész Társaság Kísérletes Sebészeti Szekciójának XXV. Kongresszusa, Pécs, 2015. május 14-16.

8. T. Gy. Veres, K. Sárvári, L. Petrovics, I. Takács, T. Nagy, P. Hardi, A. Kondor, J. Baracs, Gy. Wéber, G. Jancsó, A. Vereczkei Ischemic preconditioning may reduce oxidative stress following laparoscopic cholecystectomies – Clinical trial 50th Annual Congress ESSR 2015.06.10-06.13. Liverpool- UK

9. Köszönetnyilvánítás

Legnagyobb hálával családomnak és barátaimnak tartozom, a szeretetért, türelemért és támogatásért amivel körülvettek a nehezebb időszakokban is.

Szeretném megragadni az alkalmat, hogy kifejezzem köszönetemet a támogatásért, melyet munkám során kaptam témavezetőimtől Dr. Takács Ildikótól és Prof. Vereczkei Andrástól, hogy ez a munka elkészülhessen. Segítségük, iránymutatásuk és vezetésük sokat jelentett számomra az évek alatt.

Szeretném megköszönni az intézetvezetőnek, Dr. Jancsó Gábornak, volt kollégáimnak Dr. Jávor Szaniszlónak, Dr. Nagy Tibornak, Dr. Kürthy Máriának, Dr. Lantos Jánosnak és a Sebészeti Oktató és Kutató Intézet valamennyi munkatársának, az állatkísérletekben és a laboratóriumi munkában nyújtott rengeteg segítséget. Szeretném köszönetemet kifejezni a korábbi intézetvezetőknek Prof. Róth Erzsébetnek és Prof. Wéber Györgynek, valamint szeretném megköszönni volt TDK hallgatóimnak Dr. Petrovics Laurának és Dr. Sárvári Katalinnak a kísérletek lebonyolításában nyújtott segítséget és a TDK versenyeken való szereplést. Szeretném megköszönni Dr. Póto Lászlónak és Borbásné Dr. Farkas Kornéliának, a Bioanalitikai Intézet munkatársainak a statisztikai eredményekben nyújtott segítséget. Külön köszönet illeti Vecsernyés Mónikát, az Orvosi Biológiai Intézet munkatársát a molekuláris biológiai vizsgálatokban nyújtott segítségért, valamint Dr. Kálmán Endrét, a PTE-ÁOK Pathologia Intézet munkatársát a szövettan elkészülésében nyújtott segítségért.