

***Izoflurán vizsgálata „in vivo”
állatmodellben***

„Doktori (PhD) - értekezés”

Dr. Kádár Balázs

Daganatok molekuláris epidemiológiája

PhD program

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel

Program és témavezető: Prof. Dr. Ember István

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Pécs, 2012.

Tartalomjegyzék

Köszönetnyilvánítás	5
Rövidítések listája	7
I. Bevezetés, a téma aktualitása	10
I.1. A műtői személyzetének munkahelyi kockázata	10
I.2. Műtői altatógáz expozícióval kapcsolatos vizsgálatok áttekintése	11
II. A rágszálók anesztéziája.....	16
III. Az Izoflurán	18
III.1. Az Izoflurán fiziko-kémiai tulajdonságai.....	18
III.2. Az Izoflurán alkalmazása során tapasztalt nemkívánatos hatások, mellékhatások	19
IV. Az Izoflurán és egyéb inhalációs anesztetikumok toxikológiája.....	20
IV.1. Az inhalációs anesztetikumok metabolizmusa.....	20
IV.2. Teratogenitás, genotoxicitás, citotoxicitás	23
IV.3. Organotoxicitás	24
IV.3.1. Az Izoflurán és egyéb inhalációs anesztetikumok okozta hepatitisz	24
IV.3.2. Anorganikus fluorid okozta nefrotoxicitás	25
V. Molekuláris epidemiológiai szempontok.....	27
VI. Célkitűzések.....	29
VII. Anyag és módszer.....	30
VII.1. A Northern-blot technika	30
VII.2. A Polimeráz láncreakció technika	31
VII.3. Microarray	33
VIII. Az Izoflurán genomikai hatásainak jellemzésére tervezett kísérleti állatmodell... ..	34
VIII.1. Állatmodell.....	34
VIII.2. A rágszálók narkózisának modellezése	35
IX. Vizsgálatok Northern blotting technikával.....	38
IX.1. A <i>c-myc</i> , a <i>Ha-ras</i> onkogének és a <i>p53</i> szuppresszor gén vizsgálata	38
X. Vizsgálatok PCR technikával	39
X.1. <i>NFκB1</i> , <i>GADD45a</i> és <i>MAPK8</i> vizsgálata	39
X.2. A PCR paraméterei.....	40
XI. Humán vizsgálat kérdőíves módszerrel	41
XI.1. Kérdőív a műtői altatógáz expozíciónak kitett dolgozók részére	41
XII. Eredmények	45
XII.1. Az mRNS szintű génexpresszió vizsgálatok eredményei.....	45
XII.2. A gyulladáshoz kapcsolódó markerek génexpressziójának vizsgálati eredményei	65
XII.3. Kérdőíves humán vizsgálat statisztikai értékelése.....	73

XIII.	Megbeszélés.....	79
XIII.1.	Szignál transzdukció.....	80
XIII.2.	Apoptózis.....	82
XIII.3.	Génmutáció és malignus transzformáció	83
XIII.4.	Onkogének és tumorszuppresszor gének által kódolt fehérjék	83
XIII.5.	A <i>GADD45</i> gének és az általuk kódolt fehérjék szerepe a karcinogenezisben....	85
XIII.6.	Eredmények megbeszélése	86
XIV.	A műtői környezet monitorizálása	90
XV.	Javaslatok a műtői munkahelyi biztonság növelésére	91
XV.1.	Technológiai javaslatok a műtői légszennyeződés csökkentésére	92
XV.2.	A halogénezett gázok újrahasznosítása és recirkulációja	94
XV.3.	A műtői személyzet expozíciójának csökkentése.....	94
XV.4.	Biológiai monitorizálás	95
XVI.	Összefoglalás, új megállapítások	97
XVII.	Irodalomjegyzék	99
	Közlemények és előadások listája.....	115

Köszönetnyilvánítás

Gyakorló orvosként a műtőben vagy az intenzív osztályon tevékenykedve, ritkán végez az ember tudományos kutató munkát. 2005-ben az első szakvizsgám megszerzését követően azonban úgy határoztam, hogy az aneszteziológia területéről témát választva szeretnék tudományos munkát végezni. A PhD tanulmányom középpontjába így került az Izoflurán, ez a széleskörben alkalmazott inhalációs altatószer, mellyel nap mint nap dolgoztam és dolgozom ma is. A vizsgálati módszertan kidolgozásához és a megtervezett állatkísérletek elvégzéséhez azonban, sok segítségre volt szükségem.

Szeretném először is megköszönni Professzor Dr. Ember Istvánnak, témavezetőmnek, hogy iránymutatásaival a kezdetektől az utolsó pillanatig segítette a disszertáció elkészítését. Az általa vezetett Orvosi Népegészségtani Intézetben biztosított lehetőséget számomra a kísérletek megtervezéséhez, lebonyolításához és az eredmények prezentálásához. Bölcsességével, rendkívül széleskörű szakmai tapasztalatával, odaforduló türelemmel menedzselte többéves munkámat.

A technikai háttér biztosítását köszönöm meg először is Dr. Beregi Attila docens úrnak, aki a Szent István Egyetem Állatorvostudományi Karának gyakorló állatorvosa és kutatójaként segített az általunk használt kísérleti állatok altatását elvégezni. Az altatógépet Beregi doktor biztosította kísérleteimhez, illetve Ő felügyelte szakmailag a kisemlősök narkózisát. Szerzőtársamként, ennek a speciális területnek a megismerésében hathatós segítséget nyújtott. Az állatok boncolásában és szerveik laboratóriumi feldolgozásában Brunner Zsuzsanna és Herczeg Mónika segítő munkájára számíthattam.

Az eredmények értékelését és értelmezését, ezen kívül az elkészült közlemények vázának és építőköveinek összeállítását Dr. Gombos Katalin segítségével végeztem. Ő volt az, aki éveken át szoroson felügyelte munkámat, szaktudásával és tudományos területen szerzett jártasságával lépésről lépésre segített felépíteni a disszertációt. Nemcsak kollégaként, de emberileg és barátként is számíthattam rá. Hasonlóan nélkülözhetetlen segítséget nyújtott Dr. Szele Eszter szerzőtársam és Dr. Juhász Krisztina az eredmények interpretálásában vett részt és segített, ezúton köszönöm barátságukat is.

A szakmai háttér-szervezet képviselőjében a Magyar Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Társaság vezetősége éveken át szavazott számomra bizalmat és tartották fontosnak, hogy támogatással segítsék tudományos munkámat.

Az elmúlt hét évben több helyen dolgoztam főállásban és munkahelyi vezetőim mindenhol segítőkész szándékkal álltak az ügy mellé. A Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Kórház és Egyetemi Oktató Kórház főigazgatójával, Dr. Csiba Gáborral tanulmányi szerződést kötöttem, külföldi kongresszusokra így, az intézmény segítségével jutottam ki. Dr. Ökrös Ilona főorvosnő a gyakorló aneszteziológus és orvosszakmai vezető szemével nézve adott tanácsokat előadásaim elkészítéséhez, illetve engedélyezte távolléteimet mikor tudományos munkáim miatt Pécsre utaztam. Dr. Túri Péter a Magyar Légimentő Nonprofit Kft. ügyvezető igazgatója büszkén támogatta orvosigazgatójának szakmai fejlődését, baráti biztatása is többször adott lendületet a további munkához.

Az Országos Mentőszolgálat főigazgatója Dr. Mártai István támogatott a PhD tanulmányok utolsó időszakában, Pécsen töltött távolléteimet a Mentőszolgálat számára is fontosnak tartotta.

Köszönöm minden barátomnak és kollégámnak a nekem nyújtott támogató segítségüket!

Egy disszertáció megírásához nagyon sok kitartásra, szorgalomra, türelemre, segítségre, időre és anyagi támogatásra is szükség van.

Mit sem ér azonban ezek meglete, ha a nyugodt, megértő családi háttér nem biztosított. Ezúton köszönöm meg ezt a biztató támogatást, a megértést, a segítséget, a biztos családi háttérrel feleségemnek, Szilviának, aki féltve, de erőt adva indított útnak újra meg újra. Kislányom Anna Panna többször kénytelen volt az édesapával töltött időt nélkülözni, neki néhány év múlva újra megköszönöm majd megértését.

Végül, de nem utolsó sorban, nagyon szépen köszönöm a szüleimnek, hogy eljuthattam odáig, hogy PhD kutató munkát folytathassak. A kisgyermekkor óta látott megfelelő példa, tisztesség, szorgalom és szakmai alázat biztosan szükséges volt ahhoz, hogy ezt a feladatot végrehajtsam. A mindenkori szülői támogatás nélkül mindez lehetetlen lett volna.

Rövidítések listája

μ: mikro

μmol/l: mikromol per liter

ALV: avian leukémiavírus

ÁNTSZ: Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat

ASA: American Society of Anaesthesiologist

bm: biológiai monitorizálás

bp: bázispár

cAMP: ciklikus adenzin monofoszfát

°C: celsius fok

CO₂: széndioxid

Crea: kreatinin

Des: Deszflurán

DNS: deoxyribonukleinsav

dNTP: deoxiribonukleotid trifoszfát

EGF: epidermális növekedési faktor

ET: end tidal

ETCO₂: kilégzés végi széndioxid

F: fluor

FGK: frissgázáramlás

GADD: growth arrest and DNA damage

h: óra

H₂Ocm: vízcentiméter

HFIP: hexafluoroisopropanol

Hgmm: higany milliméter

hPa: hektopascal

HPRT: hypoxantin foszforibozil-transzferáz

IKB: inhibitor KB

Iso: Izoflurán

K: kálium

L/min: liter per perc

l: liter

Ima: laringeális maszkos anesztézia
MAC: minimális alveoláris koncentráció
MAK: maximális munkahelyi koncentráció
MAPK: mitogén aktivált proteinkináz
mg: milligramm
MgCl₂: magnézium klorid
min: perc
miRNS: mikroRNS
ml: milliliter
N₂O: nitrogénoxidul
Na: nátrium
NFκB: nukleáris faktor KB
NIOSH: National Institute for Occupational Safety and Health
NOAEL: No Observed Adverse Effect Level, nem észlelhető kedvezőtlen hatás szint
NOEL: No Observed Effect Level, nem észlelt hatásszint
O.R.: Odds Ratio, esélyhányados
O₂: oxigén
PaCO₂: parciális széndioxid nyomás
PaO₂: parciális oxigén nyomás
PC: személyi számítógép
PCR: polimeráz láncreakció
ppm: parts per million
RNS: ribonukleinsav
rt: real time
RT: reverz transzkriptáz
RT-PCR: reverz-transzkriptáz polimeráz láncreakció
RTG: röntgen
SCE: sister chromatid exchange
sec: másodperc
Sevo: Szevoflurán
SOP: Standard Operation Procedure, általános eljárásrend
SVP: Separated Vapour Pressure
TCR: T-sejt receptor
TEC: Temperature compensated

TFA: Trifluor ecetsav

TISAB: Total ionic strength activity buffer

Tiva: totál intravénás anesztézia

TLV: treshold value, küszöbérték szint

TV: tidal volumen

U.V.: ultraviola

UK: Egyesült Királyság

USA: Amerikai Egyesült Államok

We: vérsüllyedés

WHO: World Health Organization

I. Bevezetés, a téma aktualitása

I.1. A műtő személyzetének munkahelyi kockázata

Az inhalációs altatószereket évtizedek óta használják a műtéti anesztézia biztosítására. Az elmúlt évtizedekben az aneszteziológia eszköztára jelentős fejlődést tudhat maga mögött és az inhalációs narkotikumok is egyre biztonságosabbá váltak. A műtő személyzetének munkahelyi expozíciója és ezzel együtt a lehetséges egészségkárosodások kialakulása azonban a mai napig vizsgálatok tárgyát képezik. A humán adatok nagyrészt epidemiológiai jellegűek és többségük retrospektív vizsgálatokon alapul. A prospektív vizsgálatok elvégzését részben a műtői környezetben előforduló egyéb egészségkárosító tényezők feltételezett vagy bizonyított fennállása (ionizáló sugárzás, dezinficiáló és egyéb vegyi ágensek, hőhatások, stressz), a megfelelő módszertan hiánya, másrésztől etikai megfontolások korlátozzák.

A műtő légtérbe jutó altatógázoknak a személyzetre kifejtett káros hatásáról 1967 óta állnak rendelkezésre ismereteink. (46) A különböző időszakokban alkalmazott inhalációs anesztetikumoknak már rövid idejű használat után is voltak, és feltételezhetően jelenleg is vannak bizonyos szövődményeik. Ilyenek lehetnek a fejfájást, testi és szellemi fáradékonyságot, a kognitív funkciók és a koncentráció képesség romlását okozó hatásaik.

(47,48,49)

A Szevoflurán és az Izoflurán polifluorozott anesztetikumok, melyeket a sebészi beavatkozás ideje alatt a narkózis kellő mélységének eléréséhez használnak a felnőtt és a gyermek aneszteziológiában egyaránt. (6) Ezeket az párologó anesztetikumokat minden esetben oxigéngáz és nitrogénoxidul vagy légköri levegő keverékével juttatják be altatógépek segítségével a páciens szervezetébe. A gázok krónikus expozíciójának kitett műtői dolgozókra leselkedő veszélyekről számos tanulmány született. Sok országban az altatógázok műtői légtérben megjelenő koncentrációját nem kötelező mérni, így a komponenseknek maximálisan alkalmazható dózisa sincs definiálva.

A krónikus expozíció hepatotoxicitás, nefrotoxicitás, karcinogenitás, csökkent immunvédekezés, fertilitási zavarok, magzati fejlődési rendellenességek, teratogenitás, mutagenitás, és a spontán abortuszok számának növekedésének veszélyeit hordozhatja magában.

Az anesztetikus gázok genotoxikus hatásaira vonatkozó adatok, mint a kromoszóma elváltozások, testvérkromatida kicserélődés, mikronukleusz assay, több tanulmányban is bemutatásra kerültek. Néhány tanulmányban dózis-függő testvérkromatida kicserélődésről és limfocitákban megjelenő mikronukleuszokról számolnak be. (27,78) Alacsony Szevoflurán expozícióval (0,2 ppm) végzett vizsgálatban, ahol nitrogénoxidult nem használtak, szintén a testvérkromatida kicserélődés megszorodását mutatták ki.

Ezeket az elváltozásokat szem előtt tartva azonban feltételezhetőek más faktorok hatásai is, úgymint a műtői ionizáló sugárzás, a fertőtlenítő aeroszolok, és a műtői stressz. (44,45)

I.2. Műtői altatógáz expozícióval kapcsolatos vizsgálatok áttekintése

Az utóbbi két évtizedben az aneszteziológia eszköztára sokat fejlődött és az altatógázok is egyre biztonságosabbá váltak. Annak ellenére, hogy a teljes intravénás anesztéziát (TIVA) egyre szélesebb körben alkalmazzák, a narkózisok fentartására továbbra is a halogénezett gázokat részesítik előnyben. (2,38,53) Bizonyos esetekben, mint például a gyermekek narkózisánál, vagy mikor előreláthatóan nehéz intubációra számíthatunk, a légzésdepresszió elkerülése érdekében gyakran a narkózis bevezetésére is inhalációs technikát választanak az aneszteziológusok. (1,3,26)

Az anesztézia fejlődése során az inhalációs anesztetikumok spektruma sokat változott. A jelenleg Magyarországon alkalmazott altatógázok között szerepel a Szevoflurán, az Izoflurán, a Deszflurán és az Enflurán. Széleskörű elterjedésüket előnyös farmakokinetikai tulajdonságaik, kiszámítható haemodinamikai hatásuk és szöveti inertségük magyarázza. (56,57,61)

Az altatógépek fejlesztésénél sok egyéb mellett, nagyon fontos szempont volt a légzőkör, a túlfolyó szelepek, és az elszívók fejlesztése is. A vaporizátorok innovációja is rohamtempóban haladt, és az aneszteziológiai egyéb eszközeit is folyamatosan fejlesztik (endotracheális tubusok, supraglottikus eszközök, szívók), azonban az anesztézia végzésének technikájából és változatosságából eredően, több-kevesebb műtői halogénezett altatógáz szennyeződés így is elkerülhetetlennek látszik.

A fent felsorolt innovatív fejlesztések és a szakmai eljárásrendbeli szigorítások mellett is számítanunk kell azonban a műtői személyzet fokozott altatógáz exponáltságára. (77,79)

A munkahelyi ártalomnak kitett csoportba tartoznak a műtőben dolgozó aneszteziológusok, sebészek, asszisztensek, műtősnők és egyéb abban a zárt légtérben tevékenykedő dolgozók.

1977-ben a Nemzetközi Munkahelyi Biztonság és Egészség Intézete (National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)) javaslatot tett arra vonatkozóan, hogy a munkahelyén, halogenizált anesztetikumok expozíciójának kitett dolgozók környezetében az altatógázok koncentrációjának szintje időarányos átlagban ne haladhassa meg a 2 ppm értéket. (33)

Ez az ajánlás az akkoriban még széles körben használt Halothán, és a ritkábban előforduló Enflurán és Izoflurán halogenizált anesztetikus gázokra vonatkozott (I. táblázat). (34,95)

Ha a halogenizált altatógázokat nitrogénoxidullal együtt adagolták, arra az esetre a NIOSH a 0.5 ppm-et nem meghaladó limitált szintet javasolt.

	Szevoflurán	Izoflurán	Enflurán	Deszflurán	Halothán	N ₂ O
Ausztria	-	-	-	-	5	-
Dánia	-	-	2	-	5	100
Franciaország	-	-	-	-	2	-
Németország	-	-	20	-	5	100
Anglia	-	50	50	-	10	100
Olaszország	-	-	-	-	-	100
Norvégia	-	2	2	-	5	100
Svédország	-	10	10	-	5	100
Svájc	-	10	10	-	5	100
USA	2	2	2	2	2	25

I. táblázat

Az altatógázok koncentrációjának ajánlott határértékei (ppm) a műtői légtérben különböző országokban (95)

Az I. táblázatban felsorolt inhalációs anesztetikumoknak akár egyszeri nagy dózisú, de még inkább krónikus expozíciója, súlyos szubjektív panaszokat, kognitív zavarokat és maradandó egészségkárosodást okozhatnak. Magyarországon a párologó altatószerek és anesztetikus hatású gázok maximálisan megengedhető munkahelyi koncentrációja, hasonlóan több más országhoz is, nincs meghatározva. Következésképpen a munkahelyeken, tehát a műtők légtérében sem kötelező rutinszerűen mérni az inhalációs narkotikumok koncentrációját.

A maximális munkahelyi koncentráció (MAK) értékének meghatározását Szevoflurán és Izoflurán esetében Lengyelországban, a kémiai kockázat elemző szakértői csoport jelenleg

figyelembe veszi. Ezt javaslatuk szerint Izoflurán vonatkozásában 55 mg/m^3 (7 ppm), illetve Enflurán esetén 32 mg/m^3 (4 ppm) értéken határozták meg, mely a munkahelyi kockázat szempontjából még elfogadható érték a munkaterületen. (11,32)

Az általános anesztéziában végzett sebészeti beavatkozások alatt, a műtői környezet levegőjének anesztetikus gázzal történő valamilyen fokú szennyeződése elkerülhetetlen. Amennyiben a volatilis anesztetikus szerek expozíciós értékei az előírt határértékeknek megfelelően azon, vagy az alatt tarthatóak, abban az esetben a műtőben dolgozó személyek megvédhetőek az akut neurológiai, kardiovaszkuláris és respiratórikus mellékhatásoktól, illetve az irritáló hatásoktól. Mindemellett a krónikusan fennálló, akár alacsony fokú, természetesen szubanesztetikus dózisu altatógáz expozíció számos, az egészségi állapotot negatívan befolyásoló hatást fejthet ki az exponáltaknál. (37) Problémát rejt az a tény is, hogy a párolgó anesztetikumok legnagyobb része az emberi érzékszervek számára magas koncentrációkban is észrevétlen maradhat. Így például a vizsgált populációnak a fele, csak akkor képes érzékelni a Halothánt, amikor a levegőben annak koncentrációja elérte a 250 ppm-et, vagyis az ajánlott maximális dózis szint 125-szörösét. (9)

Egy műtői expozícióval foglalkozó tanulmány gyermeksebészeti műtőben dolgozókon végzett vizsgálatokat. (28) A gyermekgyógyászati aneszteziológiai eljárások ugyanis részben különböznek a felnőtt ellátásban megszokottól. Az inhalációs narkózis bevezetéséhez itt az altatógázzal végzett maszkos lélegeztetés lényegesen gyakrabban fordul elő és ez növeli a műtői környezet altatógáz szennyeződését. Az inhalációs anesztetikum légterbe kerülésének másik jelentős oka a gyermekgyógyászati narkózisok során abból adódik, hogy bizonyos életkor alatt mandzsetta nélküli endotracheális tubusokat használnak az aneszteziológusok, így a tracheafal és a tubus között a belélegeztetett altatógáz keverék a beteg száján keresztül a műtői légterbe kerülhet. (54,55) Harminchat dolgozót vizsgáltak, (10 aneszteziológus orvos, 10 sebész, 12 aneszteziológus asszisztens és 4 műtőssegéd), akik gyermeksebészeti műtőben dolgoztak. A vizeletükben megjelenő Szevoflurán szintjét monitorizálták. Az aneszteziológusok vizeletében szignifikánsan emelkedett a kimutatható Szevoflurán mennyisége. A 22 aneszteziológiai munkakörben dolgozók közül ez 4 esetben a NIOSH által meghatározott határértéket is meghaladta. Pozitív korrelációt lehetett kimutatni az egy napon elvégzett, inhalációs narkózis indukcióval elaltatott betegek száma és az aneszteziológusok légzési zónájában és vizeletében mért Szevoflurán mennyisége között. (29) A laringeális maszkokkal végzett narkózisok és a merev bronchoszkópok használata esetén, szintén lehetett összefüggést kimutatni a tekintetben, hogy ezek az eszközök minél gyakrabban kerültek alkalmazásra, úgy emelkedett a kimutatható Szevoflurán mennyiség, mind a vizeletben, mind

a légzési zónában elhelyezett mintavevőben. Ezért konklúzióként levonható, hogy a gyermeksebészeti műtőkben az arcmaszkok, laringeális maszkok, mandzsetta nélküli endotracheális tubusok és a merev bronchoszkóp alkalmazása esetén az inhalációs narkotikumok expozíciója emelkedik, mely növeli az ott dolgozók egészségkárosodásának kockázatát.

Hasonló vizsgálatokat végeztek szívsebészeti műtőkben is. Mivel az ott használatos membrán oxigénátorok gyakran nincsenek az elszívó rendszerhez csatlakoztatva - különösen magas frissgáz áramlás esetén ($\geq 5\text{l/min}$) - a műtői környezet altatógáz szennyeződése bizonyítottan emelkedik. (30) Az említett tanulmány figyelembe vette, hogy egy bizonyos munkahely fel van-e szerelve megfelelő elszívó berendezéssel. Ahol ez megtalálható volt, ott Deszflurán esetében 0.3 ppm volt a műtői levegőben kimutatható párolgó anesztetikum mennyisége. Ugyanez Izoflurán esetében 0.2 ppm volt. Azokban a szívsebészeti műtőkben, ahol elszívó rendszer nem volt beszerelve, az Izoflurán esetében háromszor, Deszflurán esetében ötször magasabb értékek voltak detektálhatóak.

A munkahely légterébe kerülő altatógázok koncentrációját monitorizáló rendszerek, általában a beteg szájához közel, illetve a műtőben dolgozók légzési zónájában detektálnak. Egy, Hoerauf és munkatársai által a regensburgi egyetemi klinika aneszteziológiai osztályán végzett vizsgálatban, két percenként mérték a légtérben jelen lévő volatilis anesztetikum koncentrációját a beteg, az aneszteziológus és az operációt végző sebész közvetlen környezetében, megszokott hétköznapi műtői szituációban. (35) Húsz százalékban mérték a megengedettnél magasabb küszöbértéket (TLV). Terhes nők esetében a meghatározott határértéket az esetek 93%-ában haladták meg a mérési eredmények. (10) A legnagyobb mértékű altatógáz szivárgást, így az altatógáz koncentrációjának kiemelkedően magas értékeit, minden esetben a betegek szája környékén mérték. Bár a műtői biztonság olyan jellegű növelésével, mint a megfelelő légkondicionáló és szellőző rendszerek használata, és az endotracheális tubus mandzsettájának megfelelő nyomáson tartása, a hulladék altatógázok koncentrációja a műtőkben csökkenthetőek, de még ezen eszközök és eljárások alkalmazásával is mérhetőek voltak olyan koncentrációk, amelyek krónikus expozíció mellett károsak lehetnek.

A Halothánról kiderült, hogy mutagén és teratogén hatása is van, ugyanez az Izofluránnal és Enfluránnal kapcsolatban csak a közelmúltban vetődött fel. (37) Bár a fokozott karcinogenitás, mutagenitás, teratogenitás vagy a fertilitás csökkenése az inhalációs anesztetikumok krónikus expozíciójának kitett személyekben még vitatott, de több

kutatócsoport és tanulmány is tényként közölte, hogy van pozitív korreláció a munkahelyi egészségkárosodás és a párologó altatógázok maradványai által okozott expozíció között. (40) Az ehhez társuló egyéb egészségkárosító hatások, mint a dohányzás, stressz, cirkadián ritmus megzavarása, szűk térbe bezártság, állatkísérletekben is növelték a teratogenitás és a daganat képződés incidenciáját. Addig, amíg az inhalációs narkotikumok expozíciójának tartósan kitett dolgozók egészségére kifejtett kockázatát nem lehet kizárni, a legtöbb közegészségtani hatóság igyekszik a munkahelyi expozíció szintjét standardizálni, és ezzel minimalizálni a lehetséges egészségkárosodásokat.

A jelenleg általánosan használt volatilis anesztetikumok esetén a szervezetbe jutó dózis mérését tekintve, csupán a fluorid tartalmú metabolitok vizsgálata kivitelezhető, melyek esetén a biológiailag tolerálható értéket 4.0-7.0 mg F⁻ per gram kreatininre vonatkoztatva adják meg. A fluorid exkréció összevethető a munkahelyi volatilis anesztetikum expozíciós értékkel és kimutathatóan emelkedik az expozíciót követően. Több vizsgálat elvégzése után, a vizeletből kimutatott fluorid koncentráció medián értéke Izoflurán esetében 0.50 (0.16-7.04) ppm, a Szevofluránál 0.79 (0.15-1.95) ppm volt. (31,33,67)

Jelenleg nincsen kidolgozva olyan laboratóriumi biológiai monitorizálási eljárás, mellyel az expozíciót követő fluorid exkréció rutinszerűen és hatékonyan mérhető lenne. Az aneszteziológiai dolgozók és a műtői személyzet tehát bizonyítottan magasabb kockázatnak vannak kitéve, mivel nap mint nap krónikus expozíciót szenvednek a véletlenül kifolyó, kiömlő anesztetikus ágensektől, illetve alacsony küszöb alatti dózisban az anesztetikus hulladék gázoktól és párologtatókból származó egyéb expozíció miatt. A legfontosabb kérdés számunkra az, hogy létezik-e kapcsolat az anesztéziai gázok krónikus expozíciója és az annak kitett személyek egészségére kifejtett károsító hatás között. Addig, amíg nem nyer egyértelmű bizonyítást, hogy az inhalációs anesztetikumok okozta expozíció nem okoz tartós egészségkárosodást, az anesztéziai munkahely dolgozóinak meg kell tenniük mindent azért, hogy az altatószerekkel történő kontaminálódást kerüljék, illetve redukálják, mind prevencióeszközökkel, mind a munkahelyi technológiai biztonság fokozásával. (43)

II. A rágcsálók anesztéziája

Még a XX. században is gyakran előfordult, hogy állatkísérleteket, vagy fájdalmas beavatkozásokat, minden anesztéziát nélkülözve, vagy nem megfelelő aneszteziológiai módszerekkel végeztek. Manapság már kutatások és ajánlások százai állnak rendelkezésre, melyek a kisemlősök és így a rágcsálók altatásáról szólnak. A nem megfelelő technikák, illetve eszközök használata és a biztonsági elszívó rendszerek hiánya, nemcsak az állatok egészségét veszélyezteti, de a krónikus expozíció az állatorvosi rendelőkben dolgozók között is gyakori. (88) Egy amerikai kísérletben három különböző, nem visszalégző rendszerű légzőkört hasonlítottak össze. A Bain, a módosított Bain és a Mapleson „E” rendszerűeket. A narkózis bevezetését 5% Izofluránnal végezték 2 L/perces oxigén áramlás mellett, melyet később 1 L/percre csökkentettek. A narkózist Laboratory Animal Anaesthesia Systems (VetEquip, Pleasanton, CA, USA) altatógéppel végezték és Isotec 3 Izoflurán vaporizátort használtak. Azt találták, hogy ha egy gumiharang segítségével a Mapleson „E” rendszert zárják, akkor a műtői szennyeződés bizonyíthatóan csökkenthető. (42)

Az állatgyógyászattal foglalkozó intézményekben, több helyen a világon, jellemzően leginkább az Amerikai Egyesült Államokban, általános eljárásrendeket (SOP) dolgoztak ki, melyben meghatározásra került az állatgyógyászati műtők technológiai kivitelezése, az alkalmazható aneszteziológiai eszközök karakterisztikája, és a narkózis vezetésének szakmai protokollja is. Természetesen a munkahelyi biztonságra vonatkozó egyéb kivitelezési, technikai és eljárásrendi szabályzók is le lettek fektetve.

A rágcsálók narkózisához a következő technikai eszközöknek kell rendelkezésre állniuk, követve a kisemlősök speciális anatómiai, élettani és kórélettani sajátosságait:

- 1., Oxigén adagolás lehetősége (központi ellátás, vagy színkódolt palack), ahol a beáramló frissgáz rotaméterrel mérhető. Ezek a rotaméterek legalább 0.5 és 2 liter/perc között legyenek kalibrálva és csak a megfelelő speciális gázzal használhatóak, melyet az eszközön jelölnek.
- 2., Pontosan szabályozható vaporizátor, amely a párolgó folyékony anesztetikumot tartalmazza. A narkózis bevezetéséhez 4-5 térfogatszázalék Izoflurán beállítása ajánlott. Ez az érték beteg, vagy idősebb rágcsálók esetében csökkenthető, amennyiben kétség merül fel, úgy 3 térfogatszázalék használata ajánlott az indukció idején. A narkózis fentartásához 2-3%-ra kell beállítani az Izoflurán vaporizátort.
- 3., Légzőkör, csövek, csatlakozók és szelepek. Az altatógép felépítése a Bain féle nem-visszalégző rendszernek megfelelő, így a frissgáz beáramoltatásán kívül a széndioxid

kimosását is szolgálja. A Bain féle rendszer használatakor az egyik legfontosabb szabály, hogy a légzési percventillációnak legalább háromszorosát kell beállítani frissgáz áramlásnak. Ez soha nem lehet kevesebb 0.5 L/percnél. Az indukció alatt ezt az értéket legalább 1.5-2 L/percre növeljük. Az alacsony frissgáz beáramlás széndioxid retenciót, így hiperkapniát és légzésdepressziót okozhat.

Mivel a beáramló gáz szobahőmérsékletű és száraz, így az állatok hő és folyadékvesztése fokozódik, mely hipotermiához és dehidrációhoz vezethet. Fűtő takaró vagy melegítő lámpa az ilyen beavatkozásoknál ezért ajánlott.

Egy éber egérnél, melynek tömege átlagosan 25 g, a légzésszáma 200-300/perc, jelentős holttér légzéssel kell számolnunk. A tidal volumen általában a grammal kifejezett testtömeg 1/100-ad részének megfelelő milliliter, tehát 0,25 ml. A percenkénti légzés volumene így kb 50-75 ml. Narkózis során a légzésszám általában 50/percre csökken, azonban ezzel párhuzamosan a tidal volumen kis mértékben emelkedik.

4., Elszívó rendszer. A lazán felhelyezett arc és orrmaszkok mellett gyakori a műtői altatógáz szennyeződés. Ezt vagy egy kisebb, az állat fejéhez helyezett elszívó vagy elnyelető rendszerrel lehet eliminálni, vagy az egész helyiségben egy nagy teljesítményű elszívó-légcserélő technikát lehet alkalmazni.

A narkózis ugyanazon elvek alapján működik, mint humán esetben, tehát a beáramló tiszta oxigén vagy az oxigén/nitrogénoxidul, vagy oxigén/sűrített levegő keveréke, mint frissgáz, a vaporizátoron keresztül haladva a volatilis anesztetikumot a légutakba juttatja, általában spontán légzés megtartása mellett. Természetesen rágcsálókön végzett sebészeti vagy kísérleti beavatkozások esetében is előfordul, hogy izomrelaxációt kell alkalmazni, vagy a mellkas megnyitása történik. Ilyenkor elengedhetetlen a kontrollált lélegeztetés, melyet vagy speciálisan kialakított lélegeztető géppel, vagy ballon segítségével, kézzel lehet végezni. (42)

III. Az Izoflurán

III.1. Az Izoflurán fiziko-kémiai tulajdonságai

Az Izoflurán egy nem gyúlékony folyadék, mely vaporizátorral adagolható, általánosan elterjedt anaesztetikus hatású szer. 1 kloro-2,2,2 trifluoetildifluometil éter. Fiziko-kémiai tulajdonságai a II. táblázatban kerültek összefoglalásra. Az Izoflurán egy tiszta, színtelen, stabil folyadék, mely nem tartalmaz sem kémiai stabilizátorokat, sem egyéb adalékanyagokat. Illata enyhén szúrós. Ha Izoflurán mintát színtelen üvegben napsugárzásnak tettek ki 5 éven át, vagy 30 órán keresztül 2 amper áramerősségű és 115 volt feszültségű elektromos áram hatásának tették ki, illetve ha 60 ciklusnyi hosszú hullámú ultraviola fénysugarat bocsájtottak rá, a szer összetétele egy alkalommal sem változott meg. Ezt gázkromatográffal bizonyították. Az Izoflurán 1 normális nátrium-metoxid-metanol oldatban hat hónap alatt bomlik el, ez mutatja a nagyfokú stabilitását lúgos közegben. (144) Nem bomlik el nátrium, kálium és kalcium-hidroxidos elnyelő szóda jelenlétében sem, szobahőmérsékleten. Nem roncsolja az alumíniumot, bronzot, vasat, rezet.

Képlete	$\text{CHF}_2\text{-O-CHClCF}_3$
Molekulatömege	184.5g
Denzitása	1.502 g/ml
Forráspontja 760 Hgmm-nél	48.5 Celsius fok
Törésmutatója	n_D^{20} 1,2990-1,3005
Fajsúly 25 °C-on	1,496
Separated Vapour Pressure (SVP) 18 C°	219 Hgmm
SVP 20 C°	240 Hgmm
SVP 22 C°	262 Hgmm
SVP 24 C°	286 Hgmm
Illat	Éter, szúrós
Tartósság	Nem
Stabilitás elnyelő szódában	
40 C°	Stabil
80 C°	Instabil

II. táblázat
Az Izoflurán fiziko-kémiai jellemzői

Az Izoflurán molekulaszervezete a terminális etil szénatomon elhelyezkedő három fluor atom következtében nagyfokú kémiai stabilitással jellemezhető, kémiai és fizikai reakciókba nehezen vihető, fémekkel nem lép reakcióba, sóoldatban, illetve UV fény hatására is stabil marad. A Halothán alapmolekulához képest az Izoflurán esetén a klór lecserélése fluorral tovább csökkentette a vér/gáz megoszlási hányadost, aminek a még gyorsabb anesztézia beállás és lecsengés lett a következménye. A ritkán észlelhető vese és májtoxicitás, a Halothánhoz hasonlóan az Izoflurán esetén is a trifluoecetsav metabolit általi fehérje acetilezés következményének tulajdonítható. Az Izoflurán a citokróm P450 2E1 enzim által katalizált mikroszómális defluorináción is keresztül megy. A felszabaduló ionos és nem ionos fluorid termékek tehetők felelőssé a DNS károsodásból, lipid peroxidációból, antioxidáns deplécióból és addukt képződésből fakadó további biológiai hatásokért. (63,65)

III.2. Az Izoflurán alkalmazása során tapasztalt nemkívánatos hatások, mellékhatások

Ritkán aritmia, légzésdepresszió, hipotónia előfordulását észlelték. A szérumban a szerves fluor tartalma minimálisan emelkedhet az Izoflurán anesztézia alatt és után, a készítmény biodegradációja következtében. Az észlelhető alacsony fluor szint (egy vizsgálatban átlagosan 4,4 mikromol/l) vesekárosodást okozó hatása valószínűtlen, mivel az jóval a vese-toxicitás küszöbértéke alatt van. Hipotónia és légzésdepresszió jelentkezhet túl mély anesztézia következtében. Ébredéskor reszketés, hányinger, hányás előfordulhat. Az Izoflurán okozhat malignus hipertermiát.

Klinikai alkalmazása során májkárosodást észleltek az enyhe, átmeneti májfunkciós eltérésektől a nagyon ritkán előforduló fatális májnekrózisig.

Ritkán, különösen az inhalációs anesztetikumokkal, köztük az Izofluránnal történt hosszantartó munkahelyi expozícióval összefüggésben túlérzékenységről (kontakt dermatitissről, bőrkiütésről, diszpnóeról, sípoló légzésről, mellkasi diszkomfortról, az arc feldagadásáról vagy anafilaxiás reakcióról) szóló beszámolók érkeztek. Ezeket a reakciókat klinikai vizsgálatokkal megerősítették (pl. metakolin provokáció). Mindazonáltal az inhalációs anesztetikumokkal történő expozíció alatt észlelt anafilaxiás reakciók etiológiája a több gyógyszerrel történt egyidejű alkalmazás miatt nem tisztázott, mert közismert, hogy közülük több is előidézik ilyen reakciókat. (97)

IV. Az Izoflurán és egyéb inhalációs anesztetikumok toxikológiája

Az Izoflurán viszonylag kismértékben metabolizálódik az emberi szervezetben. A posztoperatív periódusban csak 0,17%-a mutatható ki a vizeletben metabolit formájában. A szérumban szerves fluorid tartalmának átlagos csúcskoncentrációja kisebb 5 $\mu\text{mol/l}$ értéknél. A csúcsértékek kb. 4 órával az anesztézia után jelennek meg és 24 órán belül az értékek általában normalizálódnak. (97)

Bár mind az Enflurán, mind az Izoflurán metabolizációja magába foglalja a defluorinációt, a metabolitok aránya az összetevők között alacsony. Az anorganikus fluorid csúcs plazma koncentrációja nem haladja meg a nefrotoxikus határértéket normál sebészi anesztéziát követően ezen ágensek esetén, és vesekárosodás nem jön létre.

Ötven $\mu\text{M/l}$ -t meghaladó plazma anorganikus fluorid csúcskoncentrációt mutattak ki olyan betegek esetében, akik Izofluránt kaptak elhúzó sebészi beavatkozás, vagy intenzív osztályos narkózis során és nem szenvedtek vesekárosodást. Ezek a vizsgálatok kihangsúlyozták, hogy a plazma anorganikus fluorid csúcskoncentráció mérése önmagában nem megbízható indikátora egy párolgó anesztetikum nefrotoxikus potenciáljának. Érdekes megjegyezni, hogy a plazma anorganikus fluorid szintje, amelyet ezekben a tanulmányokban észleltek, jelentősen magasabbak voltak, mint azok az értékek, melyek olyan betegektől származnak, akik normál sebészi anesztézián estek át, melyet Izofluránnal végeztek. Ezekben az esetekben ez az érték nem érte el az 5 $\mu\text{M/litert}$. Az anesztetikum metabolizációjának indukciója következik be azokban a betegeknél, akik elhúzó periódusban vannak kitéve Izoflurán expozíciónak. (3,5,60)

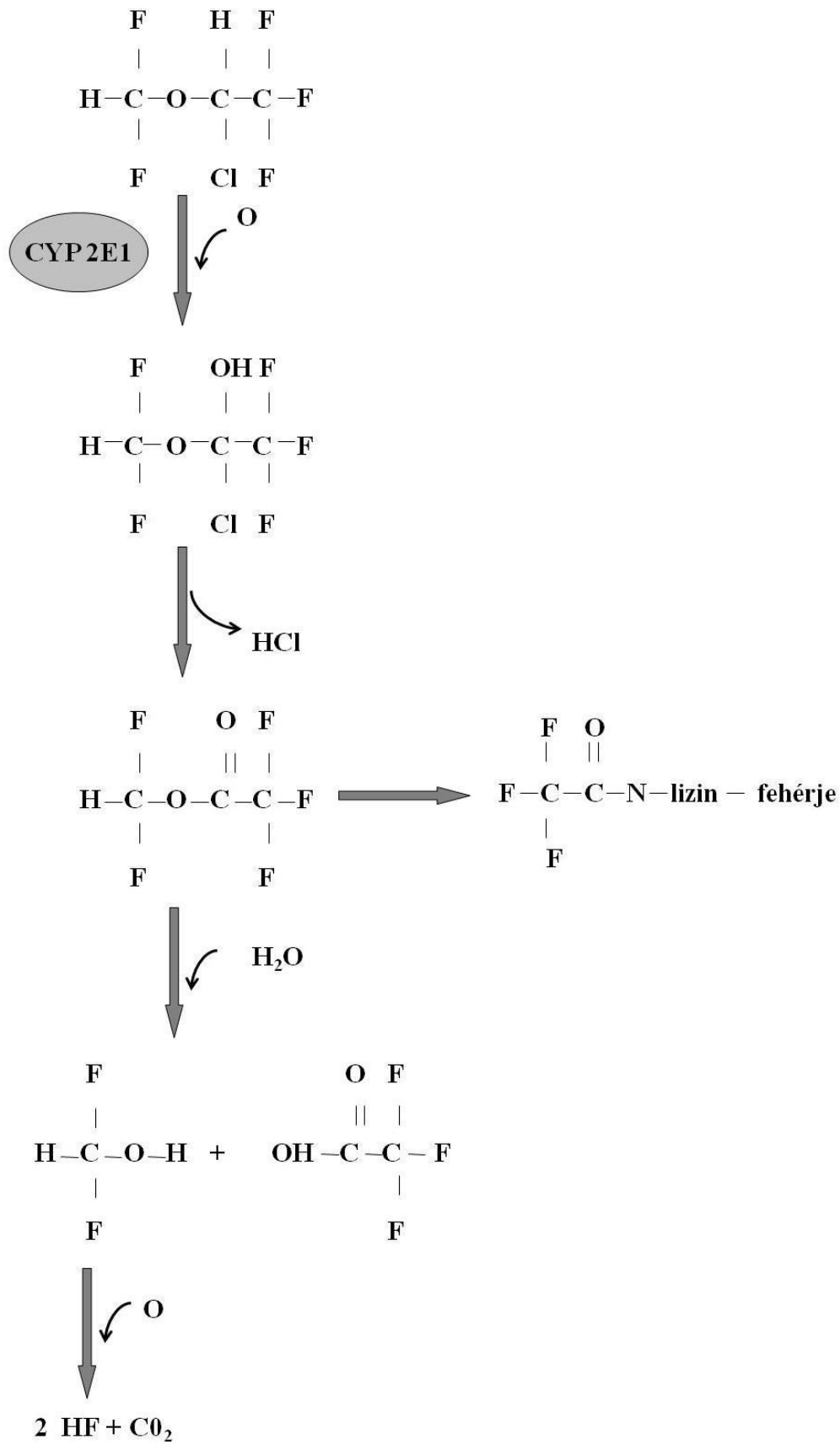
IV.1. Az inhalációs anesztetikumok metabolizmusa

A belégzett Izoflurán 95%-a mutatható ki a kilégzett levegőből. Az anesztetikus dózisú Izofluránnak csupán 0,2%-a metabolizálódik a humán szervezetben. (65) Ez a metabolizációs arány Enflurán esetén 2-4%, míg a Halothán esetén 20%. Azokban a betegeknél, akik 3% minimális alveoláris koncentrációjú Izoflurán expozíciónak voltak kitéve, a csúcs szérumban fluorid szintjük 3.6-5.08 $\mu\text{M/L}$ volt. Körülbelül 50 $\mu\text{M/L}$ az a szükséges fluorid szint, amely akut vesetoxicitás kialakulásához szükséges. A minimális biotranszformáció és az Izoflurán

alacsony vér/gáz megoszlási koefficiense eredményezi, hogy az Izofluránnak az a mennyisége, amely a zsírszövetben raktározódik az anesztéziát követően, a későbbi metabolizmusa során intermedier vagy toxikus metabolitokra bomlik. (23,31)

Az Izoflurán és Enflurán metabolizmusát a CYP2E1 katalizálja. (5) A folyamat egy reaktív köztitermék képződésével (trifluoro-acil-difluorometil-észter) zajlik, amely vízzel reagálva trifluor-acetecetsav és nem organikus fluoridionok keletkezésével bomlik. (1. ábra)

A trifluoro-acil-difluoro-metil észter és a trifluoracetecetsav (TFA) is képes a CF_3CO metabolit haptén csoporton keresztül kovalensen kötődni a máj lizintartalmú fehérjéihez, így módosított fehérjét eredményez, amely a szervezet részéről immunreakciót vált ki. Ez a mechanizmus szolgál a hepatitisz kialakulásának háttéréül. A metabolitok kiválasztása a tüdőn és vesén keresztül zajlik.



1. ábra
Az Izoflurán humán metabolizmusa

IV.2. Teratogenitás, genotoxicitás, citotoxicitás

Ismételt Izoflurán anesztéziát követően, reprodukciós vizsgálatokat végeztek állatokon. Patkányokkal történt kísérletek a fertilitásra, szülésre és a magzat életképességére vonatkozóan nem mutattak hatást. Teratogenitásra utaló eltérést nem igazoltak. Nyulakon történt összehasonlító vizsgálatok azonos eredményt adtak. Az állatokon végzett vizsgálatok emberi vonatkozása nem ismert. (97)

In vitro és in vivo kísérletsorozatok kiértékelése után, a vizsgálatok nagy része azt bizonyította, hogy az Izofluránnak nincs szignifikáns biológiai hatása sejt vagy molekuláris szinten, azonban néhány független vizsgálati jelentés szerint az inhalációs anesztetikumoknak van enyhe fokú citotoxikus és genotoxikus jellemvonása. A 24 órás 2.4%-os Izoflurán expozíció citotoxicitást indukált a PC12 sejtekben és primer kortikális neuron sejtekben is megfigyelhető volt magfragmentáció és caspase 3 és 9 aktiváció. (20,22)

Az Izoflurán indukálta apoptózis, a perifériás limfocitákban dózis- és idő-függő viselkedést mutat. Az Izofluránnak van enyhe genotoxikus hatása is, amelyet in vitro kísérletben vér limfocita proliferáción írtak le. Ez a genotoxikus hatás az egyszálú DNS károsodásában mutatkozott meg, amelyet alkalikus üstökös elektroforézis (comet assay) vizsgálattal detektáltak Izoflurán expozíciónak kitett sejtekben. (45,70) Az emelkedett sister chromatid exchange (SCE) szint bizonyította ezt, melyet olyan humán limfocitákon írtak le, amelyeket 0.3 mM/L Izoflurán koncentrációval exponáltak. (27,44) Szintén comet assay vizsgálattal demonstráltak Izoflurán okozta szignifikáns DNS károsodást hím Sprague-Dawley patkányok limfocita, csontvelő, lép, agy, máj és tüdő szöveteinek mintáiban. (69) Ugyanebben a vizsgálatban írtak le a malondialdehid és a fehérje-oxidáció emelkedő szintjének idő függvényében történő növekedését állatok plazmájában, és több létfontosságú szerveiben. (62,68) Egy humán vizsgálatban szignifikáns különbség volt megfigyelhető az intakt, az intermedier és a flagellált sejtmagok között, olyan betegek mintáiban, akik 60 és 120 perces anesztézián estek át. (71)

IV.3. Organotoxicitás

IV.3.1. Az Izoflurán és egyéb inhalációs anesztetikumok okozta hepatitisz

Fenobarbitállal, illetve trijód-tironinnal előkezelt patkányokon végzett Halothán, Enflurán és Izoflurán anesztézia egyaránt májkárosodást indukált. A kísérletsorozatban nem mutatkozott különbség az Enflurán és az Izoflurán között a hepatotoxicitás kialakításában. Ismert néhány esettanulmány, melyben Enflurán narkózist követően bizonytalan hatásmechanizmussal hepatitisz alakult ki. Incidenciája alacsony, kevesebb, mint 800 ezerből egy. Az Enflurán hepatitisz klinikai jellegzetességeit tekintve gyakorlatilag megegyezik a Halothán hepatitisz manifesztációjával. Leírásra került néhány olyan eset is, ahol az Izoflurán indukálta a hepatitiszt. (20)

Immunoblottinggal analizálva az Enfluránnal, vagy az Izofluránnal kezelt patkányok májából származó mikroszomális frakciókat, azt mutatták ki, hogy a metabolit módosított fehérjék, megkülönböztethetetlenek immunkémiaiilag attól a CF_3CO csoport által módosított protein antigén derivátumtól, amely a Halothán bomlása során keletkezik. Ugyanez az antigén derivátum volt kimutatható a Halothán hepatitiszt elszenvedő betegekben is.

Ez arra világít rá, hogy az Enfluránnak és az Izofluránnak is megvan az a képessége, hogy hepatotoxicitást eredményezzen emberi szervezetben, olyan immun-mechanizmusokon keresztül, melyek hasonlóak a Halothán okozta hepatitiszben leírtakhoz. Az Enflurán és az Izoflurán alkalmazása során tehát megvan a lehetősége annak, hogy az immunallergiás mechanizmusok, ritkán kialakuló májkárosodást idézhetnek elő. (3,16)

Az immunoblotting kutatások is azt mutatták, hogy az adduktok szintje sokkal alacsonyabb volt az Enfluránnal kezelt patkányokban, ellentétben azoknak az állatoknak a májával, akiket ekvivalens dózisu Halothánnal kezeltek és még kevesebb volt azon patkányok májában, akik Izofluránt kaptak.

A Halothán által okozott hepatitisz incidencia jelzetten magasabb, mint az Enflurán vagy az Izoflurán hatásának feltételezhető májkárosodás incidenciája. Ez a tény növeli a valószínűségét annak, hogy az anesztetikumok hepatotoxikus potenciálja ahhoz kapcsolódik, hogy a bioaktiváció során milyen fokban alakulnak olyan reaktív metabolitokká, amelyek kovalensen kötődnek a máj fehérjéihez. (59,60,92)

Fenti megállapítások szerint, ha az Enflurán és az Izoflurán immun-mechanizmusokon keresztül okoz májkárosodást, akkor a toxicitással rendelkező betegek szérumból elméletileg

kimutathatóak a metabolit módosított máj fehérje antigének ellen termelt antitestek. Az erre a területre fókuszáló immunológiai kutatások irodalma azonban hiányos.

IV.3.2. Anorganikus fluorid okozta nefrotoxicitás

Az inhalációs anesztetikumok nefrotoxicitása egyrészt a hepatotoxicitásnál részletesen leírt fehérje antigén derivátumra adott immun-mechanizmusban keresendő, másrészt az anorganikus fluorid direkt toxicitásának tudható be.

Az anorganikus fluoridról kimutatták, hogy direkt akadályozza a vese koncentráció képességét, ugyanúgy humánban, mint patkányokban. (23,31)

Pozitív korreláció mutatható ki az anesztetikum dózisa, a szérumban anorganikus fluorid szintje és a nefrotoxicitás súlyossága között. (60,66)

Ismert, hogy a fluoridion szorosan kötődik fém kationokhoz, mint például a Mg^{2+} és a Ca^{2+} (a fluor a leg elektron-negatívabb az elemek között) és ez az a reakció, amely számos enzimszisztéma gátlását eredményezi, különböző lebomlási útvonalak szétválasztásához vezetve, beleértve a glikolízist is.

A fluorid gátolja az intracelluláris szignál rendszert, amellyel a vazopresszin mediálja az antidiuretikus hatást a tubulusokban. A vazopresszin kötődik a G proteinhez kapcsolt V2-ként ismert receptorhoz, amely aktiválja az adenilát ciklázot, így emelve a ciklikus adenosin monofoszfát (cAMP) koncentrációját intracellulárisan. Ez viszont elősegíti a fehérje foszforilációt, és ezáltal vízcsatornák kialakulását a sejtek plazma membránjában, a disztális tubulusokban és a gyűjtőcsatornában. Az esemény pontos szekvenciája rosszul szabályozott, de az biztos, hogy a kalcium kötő kalmodulin fehérje is érintetté válik, ahogy a mikrotubulusok is. Azok a kísérletek, amelyeket varangyos béka húgyhólyagján végeztek azt sugallta, hogy a fluoridion a cAMP termelés után fejti ki hatását, de a végső effektor mechanizmus előtt. (39)

Noha a glikolízis gátlása nincs hatással a vazopresszin működésére, úgy tűnik, hogy a fluoridion csökkenti a kalmodulin aktivitását, amely a mikrotubuláris aktivációhoz szükséges. A kalciumionok, a kalmodulin és a cAMP a mindenütt előforduló másodlagos messengerek, de az aktivitásuk a vesében speciálisan érzékeny lehet toxinokra, mint például a fluoridion, mert a toxinok itt koncentrálnak a reabszorpció és a kiválasztó mechanizmusok miatt. (3,5,31,39)

Prospektív klinikai vizsgálatok azt mutatták, hogy az a küszöb csúcs fluorid szérumszint, amely felett emberi szervezetben bekövetkezik a vesekárosodás körülbelül 50 µM/L, és ezt a szintet a magasabb, mint 2% alveolaris koncentrációval végzett Methoxyflurán anesztézia után érte el. Emellett meg kell jegyezni, hogy jelentősen emelkedett szérumszintű anorganikus fluorid szintet lehet detektálni számos nappal a Methoxyflurán anesztézia után is a betegekben. Ez a tünet a gyógyszer jelentős szövetszintű oldódásának is köszönhető. (64)

Egy kutatás azt mutatta be, hogy azon kívül, hogy a hepatisz citokróm P-450 metabolizálja, a Methoxyflurán in vitro metabolizálódik több renális citokróm P-450 által is. Ily módon a vese metabolizáció hozzájárulhat a Methoxyflurán nefrotoxikus mechanizmusához, mely részben a nagyon magas anorganikus fluorid szinten keresztül vezet ide, részben toxikus reaktív metabolitok generálásán keresztül a tubuláris sejteken belül. Ez nem jelenti bizonyosan, hogy a nefrotoxikus határértéke az anorganikus fluoridnak 50 µM/L az Enflurán, az Izoflurán és a Szevoflurán esetében is, ahogy a Methoxyfluránál, hiszen sokkal kevésbé oldódnak a szövetekben, sokkal gyorsabban eliminálódnak a testből és nem szubsztrátjai a renális citokróm P-450-nek. A Szevoflurán metabolizmusa in vivo anorganikus fluoridionokat generál, amelyek nefrotoxikusak lehetnek. A Szevofluránnal végzett korábbi munkák során a fluorid kiválasztás felezési idejét a vizeletben körülbelül 16 órában adták meg. Megállapították, hogy az expozíciót követő 24-48 órában a vér fluorid szintje jelentéktelen.

A vizsgálatok célja a vesefunkció, a visszatérési változók, és a szérumszintű anorganikus fluorid koncentrációjának meghatározása volt az idő függvényében. A szérumszintű anorganikus fluoridion koncentrációját ion szelektív elektród technikával határozták meg. (58,60)

Egy vizsgálatban ötven, normális vesefunkciójú betegen 1 óráig narkózist végeztek Szevofluránnal és Izofluránnal a készítménynek megfelelő belégzési koncentrációk alkalmazásával. A szérumszintű anorganikus fluoridion szintje szignifikánsan emelkedett volt a Szevoflurán csoportban az Izofluránnal összehasonlítva, több mérési időpontban. A Szevoflurán csoportban a szérumszint csúcsa 1 óránál alakult ki. Az Izoflurán csoportban a csúcserték 12 óránál volt tapasztalható. A csúcs szérumszintű fluorid koncentráció korrelált az anesztetikus dózissal azokban a betegekben, akik Szevoflurán expozíciónak voltak kitéve, nem volt azonban nyilvánvaló korreláció a dózis és a fluorid koncentráció között az Izoflurán csoportban. (65,66,67)

V. Molekuláris epidemiológiai szempontok

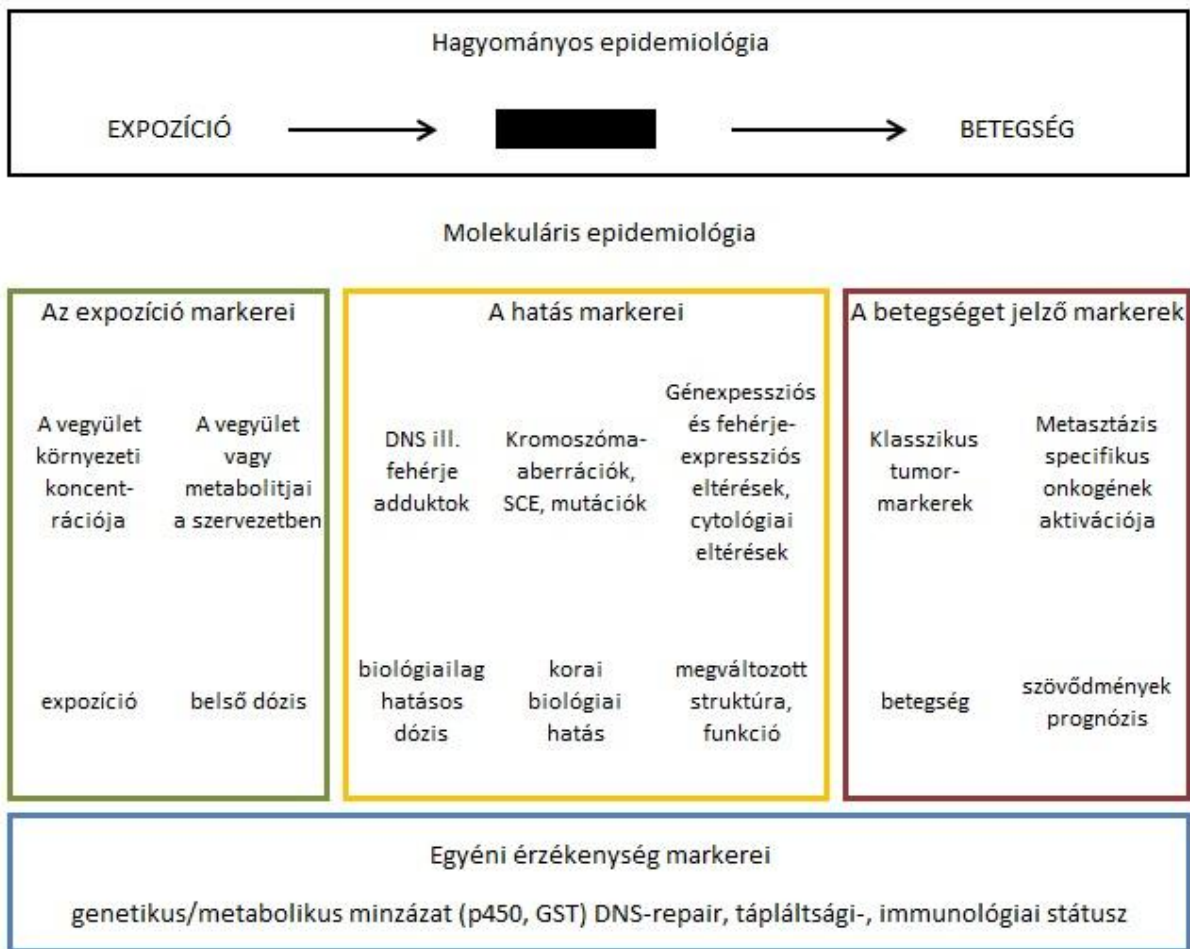
A molekuláris epidemiológia a modern molekuláris biológia technológiai eszköztárával az expozíció és a klinikailag manifesztálódó betegség közti összefüggés folyamatát tárja fel.

(2. ábra)

Magyarországon a műtői altatógáz expozícióval kapcsolatos, munkahelyi biztonságot szabályozó, ezáltal prevenció intézkedéseket megteremtő rutinszerű eljárások, illetve az ezeket meghatározó jogszabályok hiányosak. Ezért is rendkívül fontos, hogy az expozíciós ágens okozta potenciális biológiai hatást, a korai választ adó molekuláris epidemiológiai markerekkel monitorizálni lehessen. Ahhoz, hogy ez emberben rutinszerűen működő, munkahelyi biztonságot szolgáló prevenció intézkedéseket magába foglaló eljárás legyen, először állatkísérletekben kell a molekuláris epidemiológiai vizsgálatok munkahelyi expozícióra való érzékenységet és hatékonyságát bizonyítani, a megfelelő korai biológiai markereket felkutatni. (114,115,116) Kézenfekvőnek tűnik tehát az inhalációs altatószerek esetében is, a szervezetet ért bármilyen stresszreakció kapcsán már többször vizsgált onko/szuppresszor kulcsgének vizsgálata. (123,124,126)

A módszer természetesen a betegséget előidéző tényezők (fizikai, kémiai, biológiai) és az emberi szervezet egyéni érzékenységét meghatározó tényezők (genetikai, epigenetikai, immunológiai, tápláltsági) vizsgálatára egyaránt alkalmas, így lehetőséget nyújt gyakorlatilag az összes fertőző és krónikus nem fertőző betegség hatásmechanizmusának feltárására.

Az Izoflurán hatásainak vonatkozásában az eddigi irodalmi adatok az expozíció markereinek tekinthető környezeti koncentráció és a szervezetben kimutatható metabolitok jelenlétére koncentrálnak, melyek a vegyület belső dózist jellemzik. A vegyület genotoxicitására irányuló vizsgálatok pedig (kromoszóma aberrációk vizsgálata comet-assay és SCE alkalmazásával), a biológiailag hatásos dózist és az Izoflurán korai biológiai hatását jellemzik. Vizsgálatainkban a kulcsgének expressziójában, illetve az inflammatorikus jelátviteli rendszerek funkciójában bekövetkező változásokat demonstráljuk, mely az Izoflurán által kiváltott korai biológiai hatás és a manifeszt betegség (gyulladás, diszplázia) közti kapcsolatot tárja fel. Eredményeink lehetővé teszik, hogy a korai biológiai markerek válasz-reakcióinak megismerésével a foglalkozás-egészségügy számára egy rutinszerűen és pontosan használható, prevenció jelleggel működő biológiai monitorizálási rendszert mutassunk be.



2. ábra

A molekuláris epidemiológia kulcsfolyamata (145)

VI. Célkitűzések

Az inhalációs anesztetikumok vizsgálata során számtalan kísérlet csak az altatószerek organotoxicitásának tisztázására összpontosított. Nehéz azonban - az ilyen rendszeres, hosszútávú és küszöbdózis alatti expozíció esetén, mely az esetek túlnyomó többségében nyilvánvalóan nem jár organotoxikus hatással - a hosszútávú egészségügyi következményeket behatárolni.

Vizsgálatainkban molekuláris epidemiológiai módszereket alkalmazva, olyan humán szövetekben általánosan aktiválódó gyulladási folyamatokban szereplő onko és szuppresszor gének, úgynevezett kulcsgének kifejeződését vizsgáltuk, melyek küszöbdózis alatti expozíció esetén is kimutathatóak és lehetséges biomarkerként értelmezhetőek a karcinogenezis többlépcsős folyamatában. Génexpressziós vizsgálataink alapjául szolgálhatnak a krónikus inhalációs anesztetikum expozíciónak kitett populáción belül - elsősorban a műtőben dolgozó személyzet, illetve a krónikus, többször operált betegek - a daganatkockázat kialakulását tekintve, a fokozott rizikójú egyének azonosítására. A szövetspecifikus génexpressziós mintázat analízise pedig lehetőséget nyújt az expozíció által leginkább érintett célszervek meghatározására is.

Vizsgálatainkat a legalacsonyabb organotoxicitással bíró Izofluránnal végeztük, mivel jelenleg ez az orvosi gyakorlatban legszélesebb körben alkalmazott inhalációs anesztetikum.

Az általunk alkalmazott módszerekkel a fokozott, vagy akár a küszöbdózis alatti, de krónikus expozíció és ezáltal a magas rizikó hamar felismerhetővé válik, és ezek alapján a primer prevenció eszköztárának munkahigiénés rendszabályainak fokozott ellenőrzésével és alkalmazásával lehetőség lesz csökkenteni, illetve megelőzni a fokozott expozíció okozta egészségkárosodásokat.

A tézis felállításához az alábbi vizsgálatokat végeztük:

1., Az Izoflurán in vivo génexpresszióra gyakorolt hatása a *p53*, *c-myc*, és a *Ha-ras* gének kifejeződésére, H-2^k haplotípusú, kémiai karcinogénekkal szemben érzékenyített CBA/Ca egértörzssel végzett állatkísérletes modellben.

2., Az Izoflurán hatása az egyszálú DNS károsodást jelző *GADD45a*, az apoptózis szabályozásában kulcsszerepet játszó *NFκB*, és a *MAPK8* gének expressziójára, a CBA/Ca H-2^k egerek szerveiből vett mintákban.

3., Kérdőíves felméréssel statisztikai adatokat nyerni arra vonatkozóan, hogy a műtői altatógáz expozíció van-e hatással az ott dolgozók egészségi állapotára, az esetlegesen előforduló szomatikus és neurohormonális megbetegedésének előfordulására, a kognitív funkciók megváltozására.

Vizsgálataink alapján azt a feltételezést igyekszünk bizonyítani, hogy az Izoflurán küszöbdózis alatti krónikus expozíciója egészségkárosító lehet a műtőkben dolgozókra. Ezért is kiemelkedően fontos az altatógázok kezelésével, használatával kapcsolatos munkavédelmi jogszabályok hiányosságára felhívunk a figyelmet, majd javaslat tétel következik technológiai fejlesztésekre, és további munkahelyi biztonságot növelő eljárások és szabályozók bevezetésére.

A primer prevenció és az azt lehetővé tevő molekuláris epidemiológiai módszerek, a biológiai monitorizálás szükségességének és módszertanának bemutatása a disszertáció egyik legfontosabb célja.

VII. Anyag és módszer

VII.1. A Northern-blot technika

Az RNS szintű vizsgálatok legegyszerűbb és legrégebben használt eljárása a Northern-blot módszer. Lényege, hogy az RNS mintát egy nitrocellulóz membránon radioaktívan jelölt DNS vagy RNS próbával a bázispárosodás elvére épülően hibridizáljuk. Az RNS minta a membránhoz kovalensen kötődik. Ezt radioaktív jelölést követően röntgen filmen detektáljuk, de elterjedt a kemilumineszcens jelölési eljárás is. A vizsgálattal meghatározható a transzkriptum mennyisége, és az mRNS-ben történt változások kimutatására is alkalmas. (24,50,51,85)

A DNS és RNS azonosítás a mai biológiai kutatások nagymértékben használt eljárása. Az utóbbi tíz évben több technológiát fejlesztettek ki annak érdekében, hogy az azonosítás minél nagyobb teljesítményű és gyorsabb legyen. Ezek a módszerek a RT-PCR, a microarray, a SAGE, és a differential display. (84,88)

VII.2. A Polimeráz láncreakció technika

A polimeráz láncreakció (PCR) egy olyan molekuláris technika, amely lehetővé teszi nagy mennyiségű DNS előállítását specifikus DNS szekvencia, úgynevezett templát alapján, egy enzimátikus reakciót használva. Kary B. Mullis és Michael Smith 1985-ben fejlesztette ki ezt a technikát. (80) 1993-ban Nobel-díjat kaptak munkásságukért, a technika kidolgozásáért, és az oligonukleotidokra alapított helyspecifikus mutagenézis felfedezéséért. 1989 óta általánosan használják a laboratóriumokban, a mai modern molekuláris kutatásokban pedig különösen nagy szerepet kapott. A PCR technikákat széles körben alkalmazzák az evolúció-, a fejlődés-, és a molekuláris biológiában, továbbá a diagnosztikában és a populációgenetikában is.

A PCR reakció során a DNS-t először magas hőmérsékleten denaturáljuk, majd a felszaporítani kívánt szekvenciának a két végéhez primert hibridizálunk, melyek kijelölik a két végpontot. DNS polimeráz enzim segítségével történik a primerek meghosszabbítása, amely ciklikus folyamat. Így újabb és újabb DNS szekvenciák keletkeznek, amelyek templátként szolgálnak, így a reakció exponenciálissá válik.

A PCR reakció komponensei a következők: templát DNS, primerpár, dNTP keverék, Taq polimeráz, puffer, és $MgCl_2$.

A templát DNS lehet genomiális, extrakromoszomális DNS, vagy RNS-ről reverz transzkriptáz enzimmel visszaírt, úgynevezett cDNS. A primerpár 15-30 bázispár hosszú forward és reverse primer, ekvimoláris mennyiségben. A dNTP keverék tartalmazza a DNS lánc építőköveit. A Taq polimeráz egy DNS függő DNS polimeráz enzim, optimális működési hőmérséklete $72^\circ C$, de jól tolerálja a $95^\circ C$ -os denaturálási hőmérsékletet is. A puffer a polimeráz enzim működéséhez szükséges pH-t, ionerősséget és sókoncentrációt biztosítja. A $MgCl_2$ a Taq polimeráz működéséhez nélkülözhetetlen kofaktor.

A reakció több lépésben zajlik le. Elsőként a denaturáció szakaszában $95^\circ C$ -on elválnak a két DNS szál egymástól, és leáll minden nem kívánt enzimátikus reakció. A hőmérséklet helyes megválasztása azért fontos, mert a kettős szálú dsDNS két szálának szétválása nélkül sikertelen a reakció. Ezután $55^\circ C$ -on, az annealing szakaszban a primerek kötődnek a DNS-hez. A sebességet befolyásolhatja a primerek olvadási hőmérséklete. Ez a reakció legérzékenyebb része, mely a primerek koncentrációjától és a kötődési helyek jelenlététől függ. A primerek fokozatosan kötődnek a DNS-hez és akár le is szakadnak róla. A hőmérséklet csökkenésével egyre hosszabb ideig kötődnek.

A harmadik lépés az extenzió, a DNS szál szintézise. Az annealing alatt néhány extra bázis adódik a primerhez, ami növeli a primer templát DNS kötés erősségét. Így, amikor beáll a polimerizációs hőmérséklet, a primer már része a szintetizálódó DNS szálnak. Az extenzió az előzőleg hozzáadott dNTP-k segítségével valósul meg, 72°C hőmérsékleten. Ez az optimuma a Taq polimeráz enzim működésének, amely a reakció kulcsenzimének tekinthető. A Taq polimerázt a *Thermus aquaticus* YT-1 baktériumból izolálták 1976-ban. (81) A kemotróf baktériumból nyert Taq polimeráz enzim a PCR „motorja”, mely hőstabil, így nem denaturálódik. (82)

A primerek kijelölik a felszaporítani kívánt szakasz két végpontját, ezért az egyik primer szekvenciája megegyezik a DNS 5' végének szekvenciájával. A másik primer a DNS 5' végével 5'-3' irányú komplementaritást mutat. A primereket úgy kell megterveznünk, hogy ne legyenek egymástól túl messze, (100-2000 bp). Nagyságuk 10-30 bázispár között változik. Napjainkban, a kereskedelmi forgalomban kapható primer tervező szoftverek megkönnyítik ezt a feladatot. A betöltött DNS szekvencia ismeretében megadják az adott kísérlet elvégzéséhez legalkalmasabb primerpár bázissorrendjét. A primerek hossza és guanin-citozin tartalma közel megegyező kell, hogy legyen. Ennek következménye a közel azonos olvadáspont, ami azt jelenti, hogy az annealációs hőmérsékleten azonos hatékonysággal képes a templát DNS-hez hibridizálni. Fontos továbbá, hogy a primer ne alakítson ki másodlagos struktúrát és kerülendő a primerek közti intramolekuláris kölcsönhatás is. Így megakadályozható a nemkívánatos melléktermékek képződése.

A PCR egy kvalitatív módszer, ezért a mintában lévő nukleinsav mennyiségét nem tudjuk mérni. Erre ad lehetőséget a RT-Q-PCR (valós idejű kvantitatív PCR), amely segítségével kvantitatívan meghatározható a mintában lévő cDNS, illetve RNS mennyisége. Az RT-Q-PCR-t, mint módszert használhatjuk olyan esetekben, ahol a génekről átíródó mRNS mennyiségét akarjuk meghatározni és ezzel az expresszió erősségére következtethetünk.

Nem szabad azonban összekevernünk egy nagyon hasonló elven működő rendszerrel, amelyet megtévesztő módon RT-PCR-nak hívnak. A különbség az, hogy ebben a rendszerben az RT a reverz transzkripció rövidítéseként értendő. A reakció kulcsa a reverz transzkriptáz enzim, amely lehetővé teszi, hogy RNS mintával dolgozzunk. Az enzim RNS-ről visszaírja cDNS-re az információt, és ezzel dolgozik tovább a rendszer, amely lehet valós idejű, ekkor real-time, RT-PCR a neve. Az enzim természetes gazdája a retrovírusok, amelyek a reverz transzkriptáz enzimjüket arra használják, hogy arról DNS kópiát írva, azt integrálják gazdasejtjük genomjába.

Minden sejtben a genomális DNS-ről expresszálódik bizonyos mennyiségű mRNS, ez a transzkriptum. Főként ez határozza meg a sejt fenotípusát és funkcióját. A fehérjeszintézis első lépése az mRNS képződése. Környezeti ingerek és zavarok könnyen idéznek elő fenotípusos, szemmel látható változást. Sajnos a transzkript nagyon dinamikusan és gyorsan változik környezeti zavaró hatásra, még a replikáció, vagy sejtosztódás során is. (83)

Az mRNS mennyiségét fokozó (up-reguláló), és csökkentő (down-reguláló) faktorok, és ezen kívül még a sejtben lévő enzimek szabályozzák. A képződő fehérje mennyisége emiatt nem reprezentálja az mRNS mennyiségét, ezért óvatosan kell köztük mennyiségi kapcsolatra vonatkozó következtetéseket levonni. A kvantitatív real time PCR módszer a képződő mRNS mennyiségét méri. Használható olyan rendszerekben, amikor egy specifikus szekvenciát keresünk egy mintában, és ha jelen van, a mintában lévő mennyiséget is meghatározhatjuk.

A real-time Q-PCR egy olyan rendszer, amelyben a termékek detektálhatóak felhalmozódási helyükön. A „real time” rendszer, pl. etínium-bromidot tartalmazhat, amely közbeékelődik minden ciklus végén, és UV fény alatt világít. (84)

Ennek a tulajdonságának köszönhető, hogy egy PC vezérelt kamera alatt fluoreszkál az a kettőszálú DNS, amely megkötötte a festéket. A fluoreszcenciát ábrázolva a ciklusszám függvényében, lehetőség nyílt amplifikációs görbék, úgynevezett PCR kinetikai görbék felvételére. Ezáltal követhető a végtermék ciklusonkénti felszorzódása. A detektálás fluorimetriás úton történik, ennek előfeltétele valamely fluoreszcens jelzési technika alkalmazása. A SybrGreen I. festék az etínium-bromidhoz hasonlóan a dupla szálú, DNS-hez kötődik, majd gerjesztés után 520 nm-es maximummal fényt bocsát ki. Az ebből keletkező fluoreszcens jel arányos a reakció során felhalmozódó DNS mennyiségével.

VII.3. Microarray

A microarray eljárás a Watson és Crick által felfedezett bázispárosodási elven működik, hasonlóan a Southern, és Northern blot technikákhoz. (85) A Northern és Southern blot esetében a cél DNS/RNS rögzítve vannak, a jelölt próbát feleslegben adják ehhez, majd megtörténik a hibridizáció. A DNS microarray esetében a minta szekvenciák, rövid oligonukleotidok, vagy cDNS szakaszok vannak rögzítve előre kijelölt helyen, és a jelölt, általában fluoreszcens célszekvenciák, ezután hibridizálnak. (86,87) A nem kötődött elemek eltávolítása után, a megmaradt kötődött célszekvenciák jelerőssége azok mennyiségével arányos. Ez az alapja a nukleinsav tömeg-meghatározásának. (88)

A microarray technika korán sikert aratott. Felhasználása segítette a különböző rákfajták azonosítását, terápiás lehetőségek eldöntését, a szignál transzdukciós utak felderítését, és még sok mást. (89,90,91)

A microarrayt általában nylon- vagy üvegalapra hozzuk létre. A detektálás vörös (532 nm) és zöld (633 nm) lézertípussal történik, majd egy A/D konverteren keresztül alakul az analóg jel digitális jellé, mely a számítógépen megjeleníthető. (92) A génexpressziót nagyon hatékonyan lehet ezzel a módszerrel tanulmányozni.

VIII. Az Izoflurán genomikai hatásainak jellemzésére tervezett kísérleti állatmodell

VIII.1. Állatmodell

Kísérleteink során CBA/Ca, kémiai karcinogének iránt érzékenyített H-2^k haplotípusú, 5 hetes egereket használtunk. Az állatok súlya 20-23,5g között volt. Ezeket a laboratóriumi állatokat 1920-tól tenyésztik, Bagg albinó nőstény és DBA hím keresztezésével. A CBA/Ca altörzs manapság is az emlősökben kialakuló daganatok vizsgálatában az egyik leggyakrabban használt kísérleti állat, melyet hisztokompatibilitás szerint H-1^a, H-2^k és H-3 alcsoportokként ismerünk. (143) A CBA/Ca egereket gyakran használják leukémia kutatásában, mert kémiai ágensekre érzékenyek, emellett bennük a spontán módon kialakuló leukémia aránya alacsony. Nagy eséllyel alakul ki bennük myeloid leukémia például a benzol vagy ionizáló sugárzások hatására. (93,94)

Kísérleteinket a Pécsi Orvostudományi Egyetem Általános Orvostudományi Kar Orvosi Népegészségtani Intézetében végeztük. Laboratóriumi körülmények között, normál szobahőmérsékleten, átlagos páratartalom mellett, 1014 hPa átlagos légköri nyomáson.

„Short-term” állatkísérleteinkben az Izoflurán expozíció onko- és tumorszupresszor génekre, mint a *c-myc*, a *Ha-ras*, és a *p53*, valamint az egyszálú DNS károsodást jelző *GADD45a*, és az apoptózis szabályozásában kulcsszerepet játszó *NFκB* és *MAPK8* gének expressziójára gyakorolt hatását vizsgáltuk. (52,113,119,120)

VIII.2. A rágcsálók narkózisának modellezése

A rágcsálók narkózisához Bain féle vissza-nem-légző rendszerű altatógépet használtunk, mely a Szent István Egyetem Állatorvostudományi Karának tulajdona volt, és kisemlősök narkózisához használják rutinszerűen. A frissgáz áramlást 100%-os tiszta oxigénnel végeztük, melyet orvosi gázt tartalmazó palackból adagoltunk. Sűrített levegőt és nitrogénoxidult nem használtunk. A beavatkozáshoz az egereket egy 20 cm átmérőjű, tetején nyitott, átlátszó üveghengerbe helyeztük, melyet azután egy olyan kúppal fedtünk le légmentesen, melybe felülről a légzőkört csatlakoztattuk. Minden alkalommal hat darab kísérleti állatot helyeztünk a hengerbe. Az indukciót a szakmai ajánlásnak megfelelően magas frissgáz áramlással (>2 l/perc) és 3 térfogatszázalék Izoflurán beállításával végeztük. Miután az egerek mozdulatlaná váltak, a hengert oldalára billentettük és enyhe rázással az állatok egyenletes eloszlását igyekeztünk elérni az üvegben. Egy, illetve két órán keresztül végeztük a narkózist, melynek fentartásához 2% Izoflurán került kalibrálásra a párologtatón, a frissgáz áramlást 0.5l/percre redukáltuk.

A kontroll vizsgálatokat hasonlóképpen végeztük 100%-os oxigén 2 l/perces áramoltatásával az üvegbe 1, illetve 2 órán keresztül.

258 rágcsáló narkózisát, illetve kontroll vizsgálatát végeztük el. Elhullás egy esetben sem fordult elő. (3-7. ábrák)



3. ábra

Egerek altatásához használt üveg tégely a gázkeveréket beáramoltató légzőkörrel



4. ábra

CBA/Ca (H-2^k) egértörzs az altatáshoz használt tégelyben, mellette cseppfolyós Izoflurán gyári csomagolásban



5. ábra
Kisállatok és rágeszélők altatásához használt „félíg nyílt” rendszerű altatógép rotaméterrel, oxigén-palackkal és párologtatókkal



6. ábra,
Izoflurán párologtató 2%-os koncentrációra állítva

IX. Vizsgálatok Northern blotting technikával

IX.1. A *c-myc*, a *Ha-ras* onkogének és a *p53* szuppresszor gén vizsgálata

Mindkét nemből hat csoportot különítettünk el, csoportonként 6-6 állattal. Nemenként három csoportot 1 órás Izoflurán narkózisnak vetettünk alá.

Az altatást követően mindkét nemnél 3, 24, illetve 48 óra elteltével cervikális diszlokáció után boncolást végeztünk.

A fennmaradó, 3-3 kontrollként használt csoportot 100%-os 2 l/perces oxigén inhalációnak vetettük alá az altatásnak megfelelő 1 órás időtartamban, majd 3, 24 és 48 óra múlva, ezeknél a csoportoknál is boncolást végeztünk, az Izoflurán expozícióban részesült csoportokkal párhuzamosan.

Boncolás során a tüdőt, a timuszt, a lépét, a májat, a veséket, a mezenteriális nyirokcsomóköteget, valamint a femorális csontvelőt távolítottuk el.

A szerveket homogenizáltuk. Ezt követően a szövet-homogenizátumból teljes RNS izolálást végeztünk TRIZOL (Invitrogen, Paisley, Scotland, UK) reagens alkalmazásával. Az így nyert RNS minőségét 260/280 nm-en végzett abszorpciós fotometriával ellenőriztük (optikai denzitás 1,9-2,1 között volt). Az RNS-t Hybond N+ nitrocellulóz membránon (Amersham, Little Chalfont, UK) rögzítettük, majd kemilumineszcens jelöléssel ellátott *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* génspecifikus próbákkal (ECL kit, Amersham, Little Chalfont, UK) hibridizáltuk. A fluoreszcens jelet röntgen filmen detektáltuk és rögzítettük. A dotokat Quantiscan software (Biosoft, Cambridge, UK) alkalmazásával értékeltük ki. Belső kontrollként a β -aktin expressziót használtuk, mivel ez a gén állandó kifejeződést mutat, aktivitását 1 egységnyinek, illetve 100%-nak tekinthetjük. Az általunk vizsgált gének expresszióját a β -aktin aktivitás százalékában határoztuk meg. (121)

X. Vizsgálatok PCR technikával

X.1. *NFκB1*, *GADD45α* és *MAPK8* vizsgálata

Következő kísérletünk során hat csoportot különítettünk el. Három csoportnál az előző kísérletben végzett módon 1 órás Izoflurán narkózist alkalmaztunk, ugyanazzal a kisemlősök számára kifejlesztett altatógéppel. Három csoportnál kétszeresére hosszabítottuk az expozíciós időt, és az állatok narkózisát két órán keresztül végeztük. Az Izoflurán koncentrációját ennél a kísérletnél is 2%-ra (~1,5 MAC) állítottuk be, valamint 100%-os, 2 l/perces oxigén frissgáz áramlást alkalmaztunk. Mindkét nem esetében az altatást követően az első csoportot 6 óra után, majd a második csoportot 12 óra elteltével felboncoltuk. A kontroll csoportokat (nemenként 1-1 csoport) 1 és 2 órás 100%-os 2 l/perces áramlású oxigén expozíciónak vetettük alá. A kontroll csoportokat az Izoflurán expozíciónak kitett csoportoknak megfelelő 6, illetve 12 óra elteltével párhuzamosan boncoltuk.

Boncolás során a tüdőt, a májat és a veséket távolítottuk el. Az eltávolított szervekből vett szövetmintából nukleinsav izoláló automata (MagNA Pure Compact izoláló készülék, Roche, Berlin) és MagNA pure compact izolációs kit segítségével nagy tisztaságú (optikai denzitás 260/280 nm 1.9-2.1), teljes RNS-t izoláltunk. Quantitatív real-time PCR technikával (Light Cycler 2.0 PCR készülék, Roche, Berlin) kapilláris módszer alkalmazásával, Light Cycler RNA amplifikációs kit (Roche, Berlin) segítségével határoztuk meg a szövetek *GADD45α*, *NFκB1*, *MAPK8* és HPRT mRNS-re vonatkozó abszolút nukleinsav tartalmát. Minden PCR reakciót 3 technikai replikátumban, három külön futási ciklusban végeztünk el. Az így kapott értékeket szövetenként és génenként átlagoltuk.

X.2. A PCR paramétere

Alkalmazott primerek (TIB Molbiol, ADR Logistics, Roche Warehouse, Budapest):

NFκB1 forward: 5'CACTGCTCAGGTCCACTGTC 3' (20 mer)

NFκB1 reverse: 5'CTGTCACTATCCCGGAGTTCA3' (21 mer)

GADD45α forward: 5' CTGCCTCCTGGTCACGAA 3' (18 mer)

GADD45α reverse: 5' TTGCCTCTGCTCTCTTCACA 3' (20 mer)

MAPK8 forward: 5' AACTGTTCCCCGATGTGCT 3' (19 mer)

MAPK8 reverse: 5' TCTCTTGCCTGACTGGCTTT 3' (20 mer)

HPRT forward: 5'TCCTCCTCAGACCGCTTTT 3' (19 mer)

HPRT reverse: 5' CCTGGTTCATCATCGCTAATC3' (21mer)

Reverz transzkripció: 1 ciklus, 55°C, 10 perc

Denaturáció: 1 ciklus, 95°C, 30 másodperc

Amplifikáció: 45 ciklus

1. denaturáció: 95°C, 0 másodperc
2. annealing: 55°C, 15 másodperc, egycsatornás detektálási mód
3. extenzió: 72°C, 4 másodperc

Olvadási görbék: 1 ciklus

1. denaturáció: 95°C, 0 másodperc
2. annealing: 55°C, 30 másodperc
3. melting: 95°C, 0 másodperc, folyamatos detektálási mód

A detektálás hullámhossza az alkalmazott CYBR green fluoreszcens nukleotid jelölőanyaghoz igazítva: 530 nm.

A kvantitatív real-time PCR során a szövetek abszolút mRNS koncentrációit az *NFκB1*, *GADD45α*, *MAPK8* és HPRT gének vonatkozásában meghatároztuk. Ezt követően a génexpresszió eltéréseket HPRT százalékban fejeztük ki. A hipoxantin foszforibozil transzferáz (HPRT) a metabolizmusban játszik fontos szerepet. Ennek a „house keeper” génnek a kifejeződése konstansnak tekinthető.

XI. Humán vizsgálat kérdőíves módszerrel

Magyarországi viszonylatban a műtői munkahelyi környezet és az aneszteziológiában alkalmazott módszerek egyáltalán nem mondhatóak egységesnek. Több intézmény bevonásával, egy anonim kérdőív kitöltésével igyekeztünk azt felmérni, hogy a különböző aneszteziológiai munkahelyeken dolgozó kollégáink milyen szubjektív jeleket tapasztalnak, illetve milyen laboratóriumi eltéréseikről tudnak, melyeket esetlegesen a műtői altatógáz expozíciónak tudnak be. A kérdések összeállítása során vizsgáltuk azt is, hogy a különböző intézmények milyen gyakorlatot követnek arra vonatkozóan, hogy az alkalmazottakat milyen gyakran küldik munkaegészségügyi időszakos vizsgálatokra. A kérdőíves módszer törekedett arra, hogy a klinikákon, megyei kórházakban és városi kórházakban egyaránt összegyűjtse az aneszteziológiai munkahelyeken dolgozóktól nyert adatokat, mely a munkahelyi anesztetikus gázok expozíciójának szubjektív faktorait tükrözi. A műtői háttérrel és aneszteziológiai munkahellyel rendelkező egészségügyi intézmények közül, nyolc helyre az alábbi kérdőív került eljuttatásra. Arra kértük a dolgozókat, hogy a kérdőívet név nélkül, minél pontosabban töltsék ki.

XI.1. Kérdőív a műtői altatógáz expozíciónak kitett dolgozók részére

Az alábbi kérdések egy tudományos munka elkészítéséhez jelentenek fontos segítséget. A rendelkezésre álló nemzetközi irodalom szerint a manapság használatos altatógázoknak a műtőben dolgozókra nincs bizonyíthatóan tartós egészségkárosító hatása, azonban a nagyobb expozíciónak kitett egészségügyi dolgozók a gyógyszer leiratban felsorolt mellékhatásokat kis mértékben tapasztalhatják önmagukon is.

Kérjük, név nélkül töltsé ki, mindenhol egy választ jelöljön meg!

- | | | |
|-------------------|--------------|--------------------|
| 1., Nem: | <i>férfi</i> | <i>nő</i> |
| 2., Életkor: | <i>év</i> | |
| 3., Testsúly: | <i>kg</i> | |
| 4., Testmagasság: | <i>cm</i> | |
| 5., Munkakör: | <i>orvos</i> | <i>asszisztens</i> |

6., Hány éve dolgozik munkakörében?

<5 5-10 10-20 >20

7., Naponta hány órát tölt átlagosan műtői környezetben?

<1 1-4 4-8 8-12 12-16 >16

8., A műtői munkájának hány százalékában zajlik inhalációs narkózis?

<25 25-50 50-75 >75

9., Milyen messze tartózkodik általában az altatógéptől?

<50 cm 50-100 cm 1-2 m 2-5 m >5 m

10., Munkája során hány százalékban ül illetve áll? Állók, az esetek

<25 25-50 50-75 >75%-ában.

11., Egyéb expozíciónak ki van-e téve? (Több válasz lehetséges)

RTG sugárzás hőterhelés/hideg vér testnedvek zaj pszichés

12., Szed-e rendszeresen gyógyszert?

Igen Nem Fogamzásgátlót Egyéb hormon készítmény

13., Dohányzik-e, ha igen hány szálát naponta?

Nem <10 10-20 >20

14., Milyen gyakran jár munka-alkalmassági vizsgálatra?

Félévente Évente Ritkábban

15., Laboratóriumi leletében szokott-e eltérés mutatkozni? Kérem le/fel mutató nyíllal jelezze, ha volt eltérés a normál értéktől. (több válasz lehetséges)

Nem Fehérvérsejt szám Süllyedés Vörösvértestszám Thrombocita
Kálium Fluor Klór Vércukor Májfunkció Vesefunkció

16., Az elmúlt öt évben volt e táppénzes állományban?

Nem Igen Többször is

17., Milyen gyakran kerül közvetlen kapcsolatba altatógázokkal? Pl. altatógépbe tölti, nyitott tároló palackkal vagy vaporizátorral dolgozik, véletlenszerűen (kiömlik, közvetlenül párolog).

Soha Naponta többször Naponta Hetente 1-2 alkalommal

18., Milyen gyakran érzi az altatógáz jellegzetes illatát?

Soha Naponta többször Naponta Hetente 1-2 alkalommal

19., Műtői tartózkodás során érez-e olyan hatást, melyet az altatógáznak tud be?

Soha Naponta többször Naponta Hetente 1-2 alkalommal

20., Érez e fáradtságot, erős álmodást, mikor inhalációs narkózist végez?

Soha Naponta többször Naponta Hetente 1-2 alkalommal

- 21., Szokott-e fájni a feje, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal
- 22., Szokott-e fájni a mellkasa, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal
- 23., Érez-e szapora vagy lassú szívverést, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal
- 24., Érez-e hörgő irritációt, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal
- 25., Érez-e nyálkahártya irritációt, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal
- 26., Érez-e szédülést, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal
- 27., Érez-e remegést, reszketést, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal
- 28., Érez-e zsibbadást, paresthesiát, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal
- 29., Érez-e nyugtalanságot, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal
- 30., Érez-e légszomjat, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal
- 31., Érez-e hányingert, mikor inhalációs narkózist végez?
Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal

32., Előfordul-e, hogy ájulás érzése van, mikor inhalációs narkózist végez?

Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal

33., Fél-e attól, hogy elveszti önkontrollját, mikor inhalációs narkózist végez?

Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal

34., Volt-e halálfélelme, mikor inhalációs narkózist végzett?

Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal

35., Tapasztalt-e látászavart, mikor inhalációs narkózist végzett?

Soha Nagyon ritkán Naponta többször Naponta
Hetente 1-2 alkalommal

36., A menstruációs ciklusában tapasztal-e eltérést, ha nagyobb altatógáz expozíciónak volt előtte kitéve?

Igen Nem

37., Volt-e daganatos megbetegedése amióta ebben a munkakörben dolgozik?

Igen Típusa: Nem

38., Családjában fordult-e elő daganatos megbetegedés?

Igen Rokonsági fok: Nem

39., Volt-e a családjában leukémiás beteg?

Igen Rokonsági fok: Nem

40., Ön szerint megfelelőek-e a munkabiztonsági körülmények az altatógázok használatát, kezelését illetően?

Igen Nem Javaslat

Véleményem a kérdésekkel kapcsolatban, egyéb megjegyzés:

A kérdőívek statisztikai értékelése az eredmények között kerül bemutatásra.

XII. Eredmények

XII.1. Az mRNS szintű génexpresszió vizsgálatok eredményei

Az 1 órás Izoflurán narkózist követően, melyet 2 térfogatszázalék altatógáz belélegeztetésével végeztünk, a 6 fős csoportokra osztott kísérleti állatokat három különböző időpontban boncoltuk. A vizsgált szervek eltávolítását 3, 24 és 48 órával a narkózis felfüggesztése után végeztük. Külön vizsgáltuk a nőstény és a hím állatok szerveiből izolált mintákat. A hét általunk kiválasztott szervben a *c-myc* és a *Ha-ras* onkogének, és a *p53* szuppresszorgén expresszióját vizsgáltuk, azok numerikus elemzése és oszlopdiagrammon történő ábrázolása után. A kontroll csoportban szintén 1 órás, de 100%-os oxigén expozíciónak kitett 6-6 hím és nőstény egyed génexpressziójának átlagát ábrázoltuk.

Az Izoflurán és az oxigén expozíció elemzéséből készített diagrammokat, a szemléletesebb összehasonlíthatóság érdekében, egymás mellett ábrázoltuk. A nőstényeket, illetve a hímeket egymás alatt jelenítettük meg. Ezek alapján, minden alább bemutatott ábra, tulajdonképpen négy önálló diagrammot tartalmaz. (7.-13. ábrák)

Az Izoflurán csoportban mért génexpresszió változásokat β aktin százalékban kifejezve, azt elosztva a kontrollal, kaptuk meg, hogy hányszoros eltérés van a két csoport között. A szignifikancia számításához kétszélű, kétmintás, egyenlő varianciájú t-próbát alkalmaztunk. Ha ez az érték 0,05 alatt volt, akkor statisztikailag szignifikáns az eltérés, azonban a szenzitivitási határ megállapításánál, a legalább kétszeres eltérést is figyelembe vettük. Az adatok értékelésekor ezért, csak azokat a változásokat emeljük ki, ahol mindkét állítás ($p < 0.05$ és legalább kétszeres eltérés) megállapítható volt. (III.-VI. táblázat)

Vizsgált szerv	Vizsgált gén	Expozíciót követő idő	Izoflurán-oxigén	
			hányszoros eltérés	p-érték
máj	<i>c-myc</i>	3 óra	0,85	0,617690973
		24 óra	2,24	4,12201x10 ⁻⁶
		48 óra	31	2,926x10 ⁻⁵
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	2,46	0,005733329
		24 óra	2,94	5,46385x10 ⁻⁷
		48 óra	1,70	0,028612984
	<i>p53</i>	3 óra	0,68	0,145993302
		24 óra	6,13	2,37411x10 ⁻¹²
		48 óra	2,38	0,001539984
lép	<i>c-myc</i>	3 óra	16,29	6,74215x10 ⁻¹²
		24 óra	1,75	1,01643x10 ⁻⁸
		48 óra	30,33	4,66752x10 ⁻¹⁴
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	1,23	0,176271932
		24 óra	2,51	5,30321x10 ⁻¹⁰
		48 óra	2,30	1,49755x10 ⁻⁶
	<i>p53</i>	3 óra	0,81	5,42995x10 ⁻⁶
		24 óra	6,72	1,96147x10 ⁻¹⁶
		48 óra	13,56	2,47493x10 ⁻¹⁴
tüdő	<i>c-myc</i>	3 óra	2,84	0,000213213
		24 óra	0,93	0,476287532
		48 óra	34,83	2,85781x10 ⁻¹⁶
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	0,73	0,145993302
		24 óra	2,07	6,05642x10 ⁻⁷
		48 óra	4,88	1,03841x10 ⁻¹²
	<i>p53</i>	3 óra	0,28	2,64264x10 ⁻¹²
		24 óra	1,45	1,02901x10 ⁻⁶
		48 óra	23,12	5,19345x10 ⁻¹⁸
vese	<i>c-myc</i>	3 óra	1,54	0,07288896
		24 óra	3,38	0,001117506
		48 óra	15,82	1,2391x10 ⁻¹²
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	0,81	0,557802267
		24 óra	1,56	0,001036374
		48 óra	1,80	5,57053x10 ⁻⁵
	<i>p53</i>	3 óra	0,15	7,92126x10 ⁻¹²
		24 óra	2,84	1,3041x10 ⁻⁸
		48 óra	4,91	9,11111x10 ⁻¹⁰

III. táblázat

Az Izoflurán expozíciónak kitett nőstény CBA/Ca egerek kulcsgén expresszióinak változása a kontroll csoporthoz viszonyítva

Vizsgált szerv	Vizsgált gén	Expozíciót követő idő	Izoflurán-oxigén	
			hányszoros eltérés	p-érték
timusz	<i>c-myc</i>	3 óra	1,07	0,002066815
		24 óra	1,10	1,28157x10 ⁻⁶
		48 óra	5,92	5,43854x10 ⁻¹⁷
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	0,97	0,813267093
		24 óra	19,65	4,14054x10 ⁻¹⁴
		48 óra	6,36	5,05117x10 ⁻¹⁶
	<i>p53</i>	3 óra	0,92	4,00099x10 ⁻⁵
		24 óra	2,66	3,34831x10 ⁻¹⁵
		48 óra	9,90	0,000586107
nyirokcsomó	<i>c-myc</i>	3 óra	10,06	8,19662x10 ⁻¹²
		24 óra	2,67	3,93439x10 ⁻¹⁵
		48 óra	25,53	4,00639x10 ⁻¹⁶
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	1,57	0,081042682
		24 óra	7,67	2,00938x10 ⁻¹⁶
		48 óra	2,61	6,6971x10 ⁻¹⁰
	<i>p53</i>	3 óra	1,34	1,70925x10 ⁻⁶
		24 óra	3,95	5,55238x10 ⁻¹⁶
		48 óra	6,21	6,46836x10 ⁻¹²
csontvelő	<i>c-myc</i>	3 óra	1,80	1,2162x10 ⁻⁸
		24 óra	3,74	1,10151x10 ⁻¹²
		48 óra	4,96	4,94862x10 ⁻¹¹
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	1,30	0,150969559
		24 óra	5,38	2,0453x10 ⁻¹⁰
		48 óra	2,87	0,00213886
	<i>p53</i>	3 óra	1,53	5,07422x10 ⁻⁹
		24 óra	18	2,3205x10 ⁻¹³
		48 óra	0,67	6,48547x10 ⁻⁵

IV. táblázat

Az Izoflurán expozíciónak kitett nőstény CBA/Ca egerek kulcsgén expresszióinak változása a kontroll csoporthoz viszonyítva

Vizsgált szerv	Vizsgált gén	Expozíciót követő idő	Izoflurán-oxigén	
			hányszoros eltérés	p-érték
máj	<i>c-myc</i>	3 óra	0,87	0,00056002
		24 óra	2,45	9,8132x10 ⁻¹³
		48 óra	6,50	1,2637x10 ⁻¹⁰
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	0,80	0,00014274
		24 óra	3,27	6,2168x10 ⁻¹⁰
		48 óra	2,88	7,0906x10 ⁻⁷
	<i>p53</i>	3 óra	1,22	7,775x10 ⁻⁶
		24 óra	4,82	3,3702x10 ⁻¹³
		48 óra	1,87	0,00019842
lép	<i>c-myc</i>	3 óra	9,69	4,198x10 ⁻¹³
		24 óra	3,04	3,0556x10 ⁻¹⁴
		48 óra	21,00	2,5912x10 ⁻¹⁶
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	0,68	0,10377928
		24 óra	3,21	1,1347x10 ⁻¹¹
		48 óra	9,20	3,5305x10 ⁻¹⁶
	<i>p53</i>	3 óra	1,47	0,01797767
		24 óra	2,63	2,1562x10 ⁻¹²
		48 óra	6,67	1,5599x10 ⁻¹⁴
tüdő	<i>c-myc</i>	3 óra	1,94	3,7148x10 ⁻¹¹
		24 óra	20,76	1,938x10 ⁻¹⁶
		48 óra	47,62	1,7047x10 ⁻¹⁸
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	0,44	0,00033023
		24 óra	16,55	1,4922x10 ⁻¹⁶
		48 óra	9,10	6,7073x10 ⁻¹⁴
	<i>p53</i>	3 óra	0,77	4,7285x10 ⁻⁷
		24 óra	31,25	4,1675x10 ⁻¹⁷
		48 óra	3,60	6,9625x10 ⁻¹⁰

V. táblázat

Az Izoflurán expozíciónak kitett hím CBA/Ca egerek kulcsgén expresszióinak változása a kontroll csoporthoz viszonyítva

Vizsgált szerv	Vizsgált gén	Expozíciót követő idő	Izoflurán-oxigén	
			hányszoros eltérés	p-érték
vese	<i>c-myc</i>	3 óra	4,56	1,2084x10 ⁻¹⁰
		24 óra	0,34	0,00211242
		48 óra	6,57	1,561x10 ⁻⁸
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	1,28	0,41580915
		24 óra	0,88	0,40815561
		48 óra	1,25	0,0001094
	<i>p53</i>	3 óra	4,34	2,9916x10 ⁻¹²
		24 óra	1,14	0,02180222
		48 óra	0,60	0,0030561
timusz	<i>c-myc</i>	3 óra	4,87	2,0962x10 ⁻¹⁰
		24 óra	3,88	8,1504x10 ⁻¹⁰
		48 óra	2,83	1,6695x10 ⁻⁷
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	3,05	0,00039297
		24 óra	12,83	6,6631x10 ⁻¹³
		48 óra	0,46	2,7126x10 ⁻⁸
	<i>p53</i>	3 óra	1,05	0,06731857
		24 óra	1,91	4,8367x10 ⁻¹³
		48 óra	0,14	8,8718x10 ⁻¹⁴
nyirokcsomó	<i>c-myc</i>	3 óra	5,60	3,5708x10 ⁻¹⁰
		24 óra	3,90	1,1888x10 ⁻⁸
		48 óra	2,48	0,00054792
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	1,05	0,8200461
		24 óra	2,73	9,0797x10 ⁻⁷
		48 óra	2,12	0,00682248
	<i>p53</i>	3 óra	1,41	0,0017046
		24 óra	9,84	8,8286x10 ⁻¹²
		48 óra	4,00	0,00024712
csontvelő	<i>c-myc</i>	3 óra	4,94	3,0793x10 ⁻¹⁰
		24 óra	0,50	0,00761524
		48 óra	1,47	0,05398744
	<i>Ha-ras</i>	3 óra	2,65	0,00251088
		24 óra	0,36	0,00938182
		48 óra	2,76	0,00020736
	<i>p53</i>	3 óra	8,57	2,0045x10 ⁻¹¹
		24 óra	0,17	7,306x10 ⁻⁹
		48 óra	2,86	7,9286x10 ⁻⁶

VI. táblázat

Az Izoflurán expozíciónak kitett him CBA/Ca egerek kulcsgén expresszióinak változása a kontroll csoporthoz viszonyítva

Az alábbiakban a hét leginkább exponált, illetve az altatógáz metabolizmusában, vagy a szerv funkcióját tekintve bizonyítottan érintett, máj, lép, tüdő, vese, timusz, nyirokcsomó és csontvelő szöveteiből izolált onko- és szuppresszorgének expresszióját hasonlítjuk össze, illetve az adott szervek szöveti funkcióját szem előtt tartva elemezzük a változásokat.

Ahogy az inhalációs anesztetikumok organotoxicitásánál leírásra került, az Izoflurán indukálhat májkárosodást, akár hepatitiszt is. A máj érintettsége az általunk elvégzett vizsgálatban szintén markánsan és szignifikánsan reprezentálódott.

Hímekben már 3 órával az expozíció felfüggesztése után megemelkedett mindhárom vizsgált gén expressziója a nőstényekkel összehasonlítva. Nőstényeknél a 3 órás vizsgálatok a kontroll csoporthoz képest csak a *Ha-ras* esetében mutattak szignifikáns eltérést (2,46-szoros, $p=0,00573$), azonban a *c-myc* és a *Ha-ras* expressziója 24 óra elteltével szintén szignifikánsan emelkedett (*c-myc*:2,24-szeres, $p=0,00412 \times 10^{-3}$, *Ha-ras*:2,94-szeres, $p=0,0546 \times 10^{-5}$), miközben a *p53* kulcsgén expressziója több, mint hatszorosa lett a kontroll csoportnak, ebben az időpontban (6,13-szoros, $p=0,0023 \times 10^{-9}$). A hímekben mindhárom gén overexpressziója 24 óránál jelentősen emelkedett és a kontrollhoz képest elérték a szignifikancia szintet (*c-myc*:2,45-szörös, $p=0,0981 \times 10^{-11}$, *Ha-ras*:3,27-szeres, $p=0,0621 \times 10^{-8}$, *p53*:4,82-szeres, $p=0,037 \times 10^{-11}$). A *c-myc* és a *Ha-ras* kulcsgének expressziója az oxigén kontroll csoporthoz viszonyítva 24 óránál mindkét nemben 2-3-szorosára emelkedett, ez a sokszorozódás a *p53* esetében hímeknél ötszörös, nőstényeknél több mint hatszorosa volt. Nőstény állatoknál a *Ha-ras* 3 óránál tapasztalt kifejeződéséhez képest 24 óránál már szignifikánsan emelkedett tovább (4,31-szeres, $p=0,0117 \times 10^{-6}$), de ez a sokszorozódás a *c-myc* és a *p53* géneknél még inkább megfigyelhető volt, hiszen utóbbi esetében 13,79-szeres volt az overexpresszió változás a 3 és a 24 órás értékek között ($p=0,0454 \times 10^{-11}$). A hímek esetében a két időpontban végzett vizsgálat eredményeit összehasonlítva, csak a *c-myc* onkogénnél volt tapasztalható több, mint kétszeres eltérés (2,13-szoros, $p=0,015 \times 10^{-10}$). A 48 óránál tapasztalt mintázat nőstények és hímek esetében is a 24 órához képest a génexpresszió csökkenését mutatta a *c-myc* kivételével, mely nőstények esetében még 48 óra elteltével is tovább emelkedett. A *c-myc* 48 óránál mérhető expressziója szignifikánsan magasabb volt mindkét nem esetében a kontroll csoportok értékeihez képest. A *Ha-ras* onkogén kifejeződése 48 óránál mindkét nemben a 24 óránál mérhető szinthez képest csökkenést mutatott, azonban ez csak a nőstényeknél volt szignifikáns ($p=0,0365 \times 10^{-5}$). 48 óránál a *p53* tumorszuppresszor gén expressziója mindkét nem esetében a 24 órás értékhez képest szignifikánsan, ötödérehatódára csökkent (nőstényeknél $p=0,0105 \times 10^{-10}$, hímeknél $p=0,0133 \times 10^{-11}$).

Az oxigén kontroll csoportban jelentős nemi különbség volt tapasztalható. A három vizsgált gén egymáshoz viszonyított génexpressziós mintázata hímek esetében az Izoflurán csoportéval összehasonlítva, több ponton is hasonlóságot mutatott.

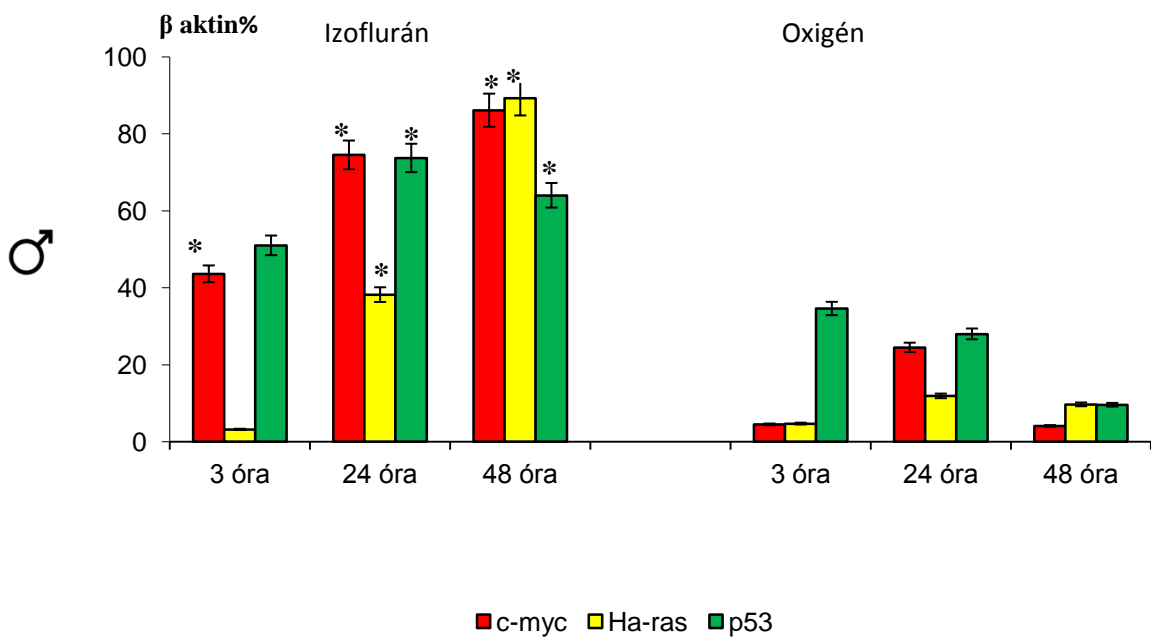
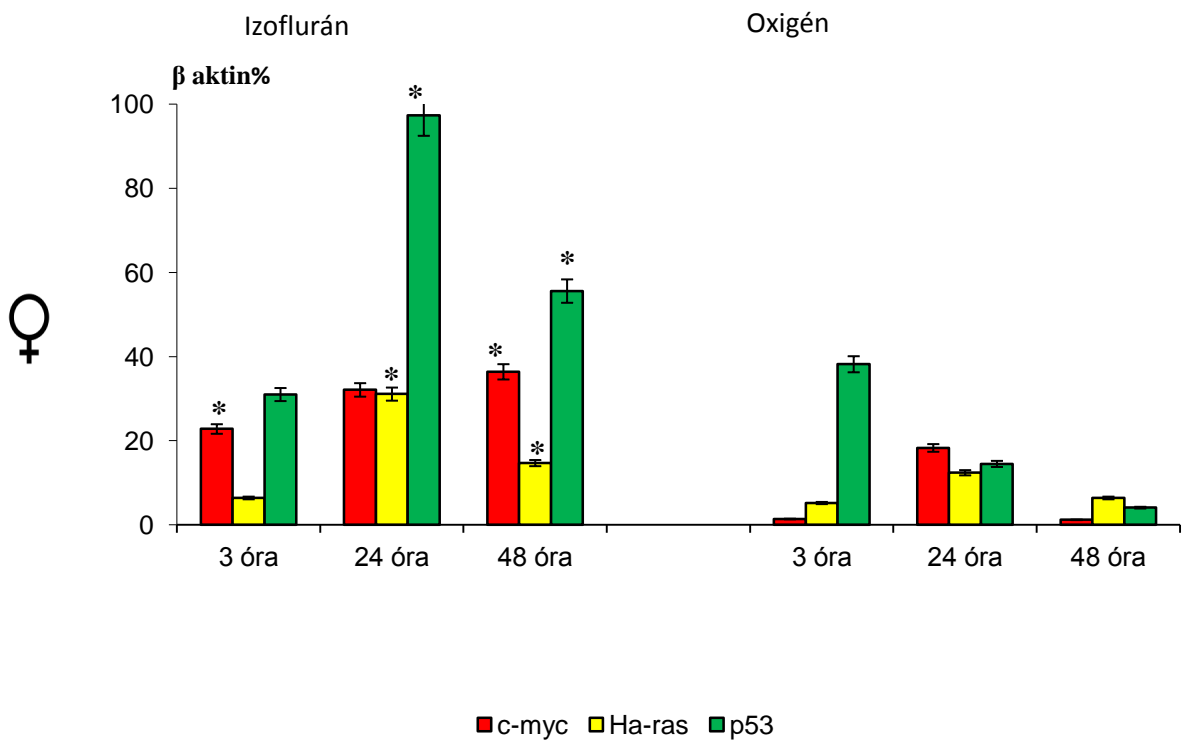
Három óra után a *c-myc*, a *Ha-ras* és a *p53* is hasonlóan emelkedett, legkevésbé a *Ha-ras*, majd 24 és 48 óra elteltével a gének kifejeződése csökkenő tendenciáját lehetett észlelni. Ugyanez a mintázatbeli hasonlóság jelent meg nőstények esetében is a 3 óránál számított génexpressziók esetében, azonban a 24 és a 48 óra múlva vett mintákban az Izoflurán csoporthoz képest mindhárom kulcsgén expressziója alacsony szinten maradt.

Megállapítható, hogy a nőstények esetében a kontroll csoporthoz viszonyítva a 24 órás vizsgálatnál volt látható a legnagyobb különbség mindhárom kulcsgén tekintetében, melyek közül a *c-myc* és a *p53* onko-szuppresszor gének overexpressziója 48 óra elteltével is szignifikáns maradt. (7. ábra)

A lép olyan parenhímás szerv, melynek vizsgálata során, nem találtunk olyan markáns különbségeket a két nem között, mint a máj esetében. Ennek okaként a májban található enzimrendszerek és a neuroendokrin szabályozásban szerepetl bíró hormon-receptorok nemenként eltérő mintázata szerepelhet, melyet a megbeszélésben részletesen tárgyalunk.

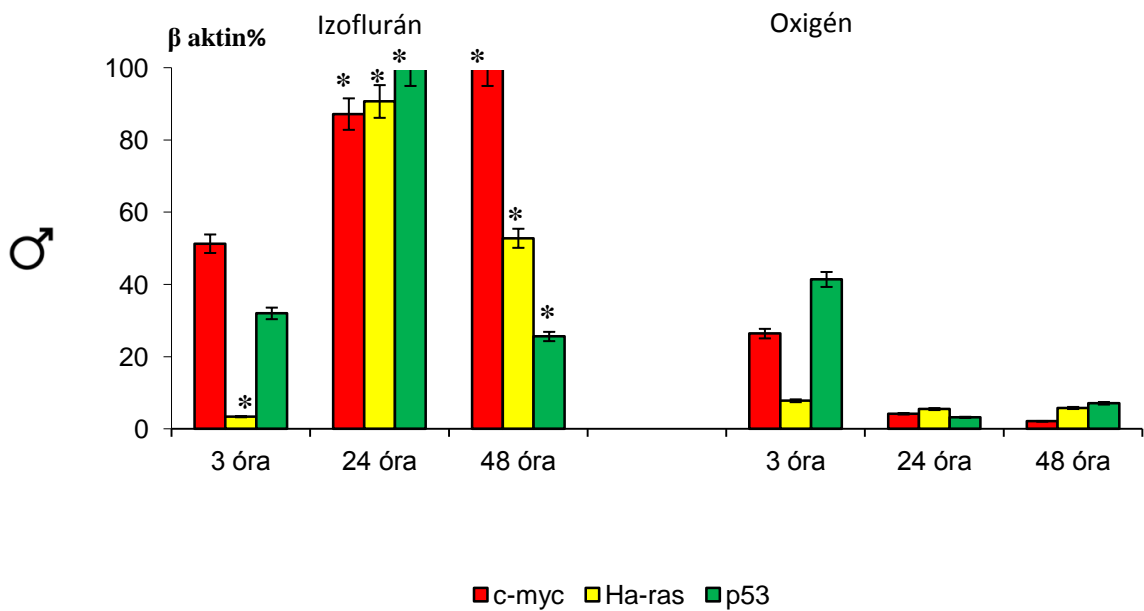
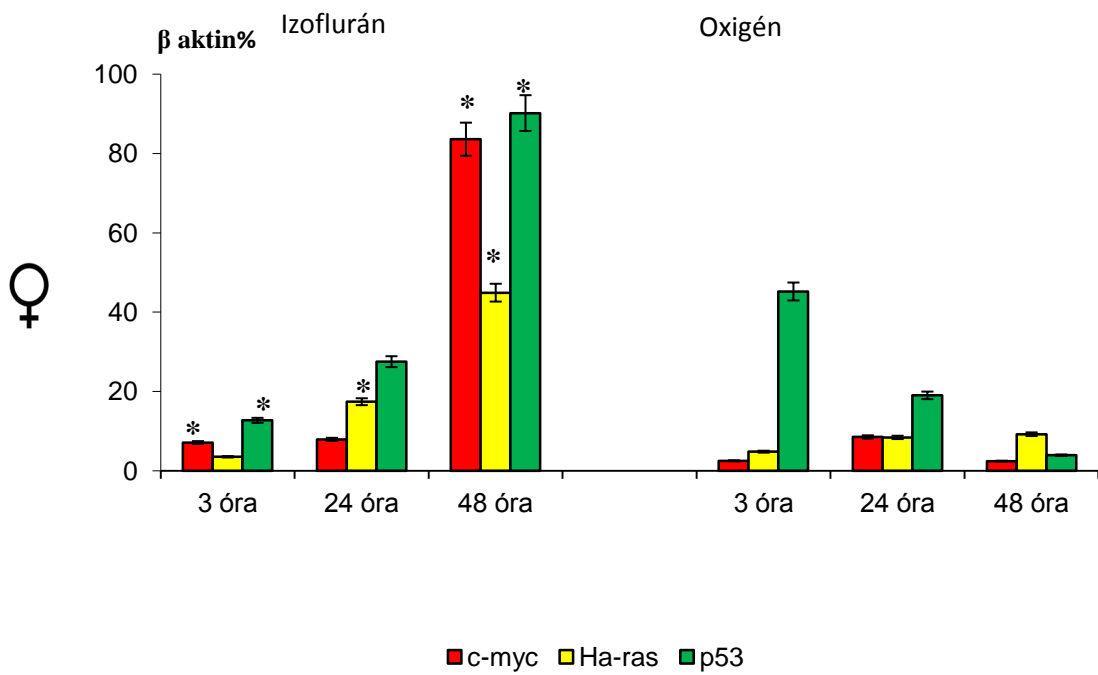
Már az inhaláció felfüggesztése után 3 órával elvégzett boncolás során nyert szöveti mintákban is, a *c-myc* és a *p53* kulcsgének overexpresszióját tapasztaltuk. Ez a *Ha-ras* onkogén expressziójához képest mindkét nemben lényegesen magasabb volt, és *c-myc* esetében a kontroll csoporthoz képest is szignifikáns eltérést mutatott mindkét nemben (nőstényeknél 16,29-szeres, $p=0,067 \times 10^{-10}$, hímeknél 9,69-szeres, $p=0,0419 \times 10^{-11}$). Itt kell megjegyeznünk azt is, hogy a *p53* tumorszuppresszor gén expressziója a 3 órás kontroll csoportban szintén jelentősen emelkedett volt a másik két onkogénéhez képest, mindkét nemben.

Az Izofluránnal exponált nőstény és hím egyedek esetében is, a *p53* gén kifejeződése 24 óránál még tovább emelkedett, mind a 3 órás eredményekhez (nőstényeknél 3,14-szeres, $p=0,0958 \times 10^{-14}$), mind az oxigén kontroll csoporthoz viszonyítva (nőstény: 6,72-szeres $p=0,0196 \times 10^{-14}$, hím: 2,63-szoros $p=0,0215 \times 10^{-10}$). 48 óra elteltével, ehhez képest csökkenő tendenciát mutatott a *p53* szuppresszorgén expressziója. A *c-myc* és a *Ha-ras* 24 óra után fokozottabban expresszáldott, mint 3 óránál. Ez a *Ha-ras* esetében mindkét nemnél ($p=0,053 \times 10^{-8}$, $p=0,013 \times 10^{-9}$), *c-myc* esetében csak a hím egyedeknél mutatott szignifikáns változást ($p=0,0305 \times 10^{-12}$). Ez a 3 és 24 órás értékek közötti változás a kontroll csoportban is hasonló tendenciát mutatott, a *c-myc* és a *Ha-ras* overexpressziója itt is mindkét nem esetében tapasztalható volt. Hímek esetében, az Izoflurán csoportban a *c-myc* gén kifejeződése a nőstényekhez képest - ebben a vizsgált időszakban – több mint kétszeres volt. A *Ha-ras* gén expressziója kifejezett különbséget mutatott a két nem között a 48 órás vizsgálati pontban. Míg nőstények esetében a 24 órás értékhez képest csökkent, addig hímeknél (2,33-szorosan, $p=0,0104 \times 10^{-12}$) szignifikánsan emelkedett. Az overexpresszió több mint kétszeresére nőtt a 24 órás, 27,88-szorosára a 3 órás és 9,2-szeresére az oxigénnel exponált, kontroll csoportban mért eredményekhez viszonyítva, hím kísérleti állatokban. A kontroll csoportokban észlelt génextpressziós mintázat a két nem esetében szinte teljesen azonos volt, minimális eltérés egyedül a 24 órával az expozíció után boncolt állatokban volt észlelhető, itt a *p53* expressziója a hímeiben a nőstényekéhez képest kifejezettebbnek tűnt és a *Ha-ras* génhez képest is jelentősebb a változás, ugyanúgy, ahogy az Izoflurán csoportnál is tapasztaltuk. (8. ábra)



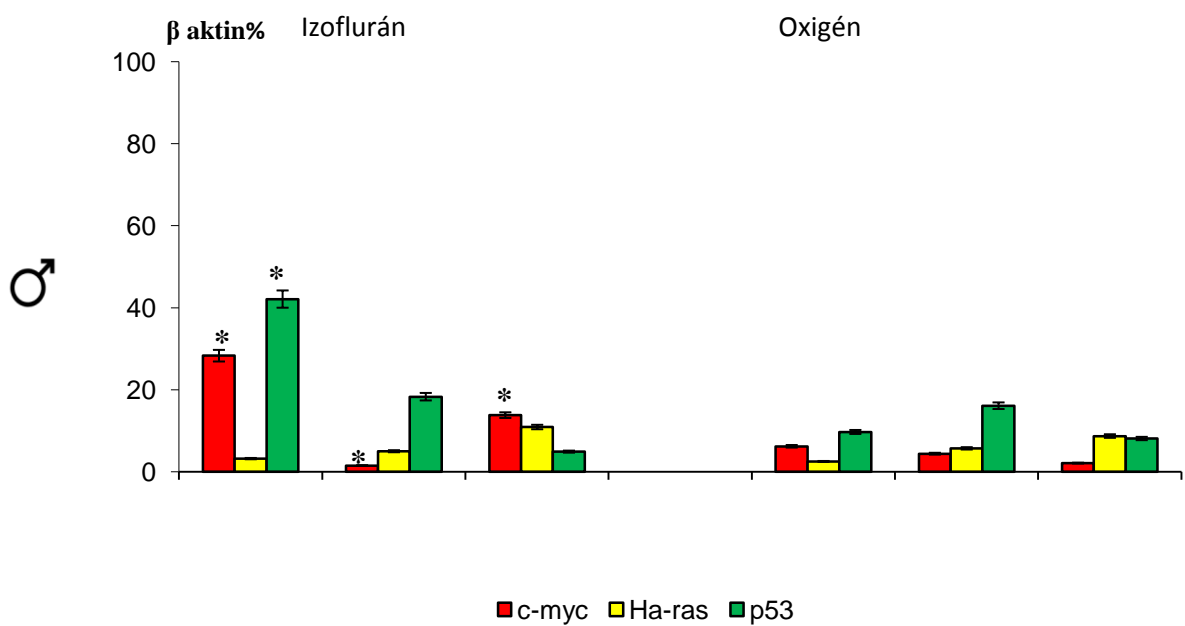
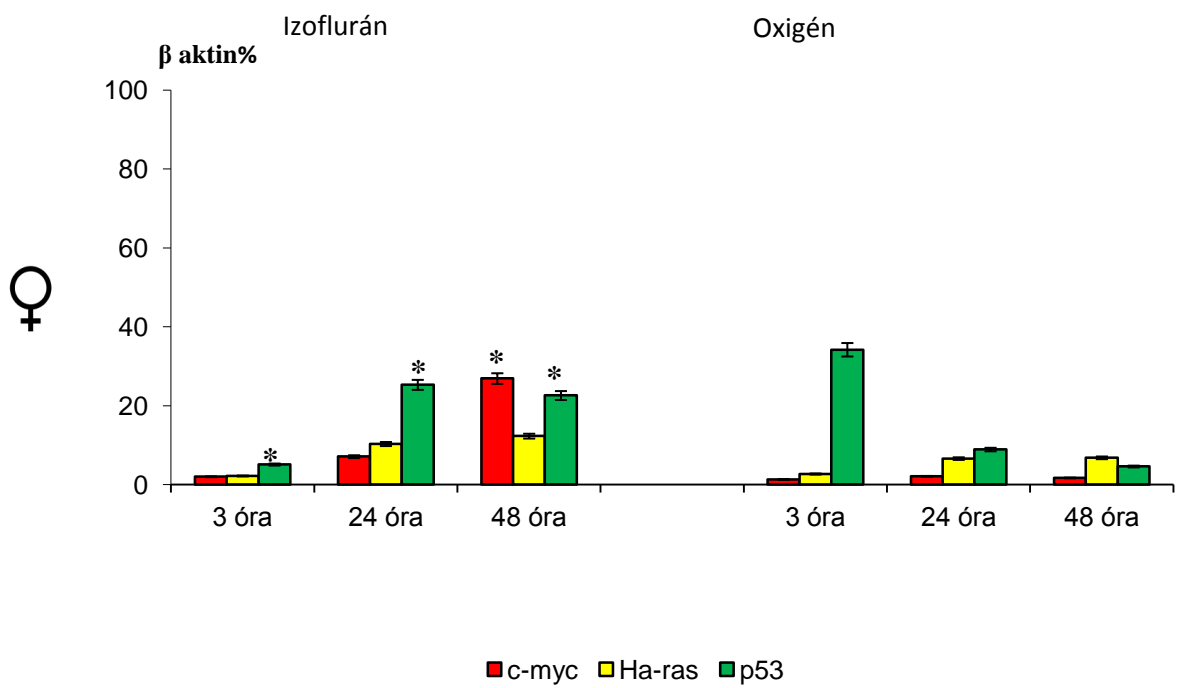
8. ábra
*c-myc, Ha-ras és p53 génexpresszió β-aktin százalékban kifejezve
 1 óra Izoflurán, valamint 1 óra 100% oxigén inhalációt követően, CBA/Ca egerek
 lépéből*

Ahogy azt a kísérletünk megtervezésekor már feltételeztük, a belélegzett gáz expozíciójának leginkább kitett tüdőkből, jelentős és szignifikáns eltéréseket észleltünk a vizsgált onkoszuppresszor gének overexpressziójának tekintetében. Hímek esetében már 3 óra elteltével is észlelhető volt a *c-myc* és a *p53* gének fokozott expressziója a nőstényekben detektált értékekhez hasonlítva. Az Izofluránnal, illetve az oxigénnel exponált csoportok összehasonlítása után elmondható, hogy hímekben mindkét ágens fokozta a *c-myc* és a *p53* expresszióját, azonban az értékek egymáshoz hasonlítva nem mutattak szignifikáns eltérést. Nőstény egerek esetében a *c-myc* 3 óránál már szignifikánsan (2,84-szeresen, $p=0,00021$) emelkedetten expresszáldott a kontroll csoporthoz hasonlítva. A *Ha-ras* egyik csoportban sem emelkedett jelentősen az első vizsgált időpontban, sőt hímeknél a kontrollcsoportban mért értékek voltak szignifikánsan magasabbak (0,44-szer, $p=0,00033$). Nőstény egereknél a *p53* szuppresszor gén kifejeződése volt hasonlóan, szignifikánsan emelkedett a kontroll csoportban (0,28-szoros, $p=0,0264 \times 10^{-10}$). 24 óra elteltével mindhárom vizsgált kulcsgén expressziója kisebb emelkedést mutatott a nőstény egerekben, melyek közül csak a *Ha-ras* elmozdulása volt szignifikáns (2,07-szeres, $p=0,0605 \times 10^{-5}$). A hímeknél azonban ez a változás már mindhárom vizsgált onkoszuppresszor gén esetében szignifikáns volt, és a kontroll csoporthoz viszonyítva megsokszorozódott (*c-myc*:20,76-szoros, $p=0,0193 \times 10^{-14}$, *Ha-ras*:16,55-szörös, $p=0,0149 \times 10^{-14}$, *p53*:31,25-szörös, $p=0,0416 \times 10^{-15}$). Eközben a *p53* szuppresszorgén a 3 óránál tapasztalt szinthez képest 24 óránál több mint megháromszorozódott. Nőstények esetében hasonlóan nagy eltérés tapasztalható 48 órával az expozíció után. A *c-myc*, a *Ha-ras* és a *p53* expressziója is szignifikánsan megemelkedett a kontroll csoport eredményeihez képest (*c-myc*:34,83-szoros, $p=0,0285 \times 10^{-14}$, *Ha-ras*:4,88-szoros, $p=0,0103 \times 10^{-10}$, *p53*:23,12-szeres, $p=0,0519 \times 10^{-16}$). A *Ha-ras* és a *p53* 24 órás értékhez viszonyított emelkedő tendenciájú génexpressziója 48 óránál csak a nőstényekben volt megfigyelhető, miközben a hím kísérleti állatok esetében ez csökkenő arányt mutatott, *p53* szuppresszorgén esetében például negyedére csökkent. A 48 óránál mért eredményekben tapasztalt változások, mindkét nem adatait figyelembe véve, a kontroll csoporttal összehasonlítva szignifikánsak voltak (nőstény: *c-myc*:34,83-szoros, $p=0,0285 \times 10^{-14}$, *Ha-ras*:4,88-szoros, $p=0,0103 \times 10^{-10}$, *p53*:23,12-szeres, $p=0,0519 \times 10^{-16}$, hím: *c-myc*:47,62-szeres, $p=0,0170 \times 10^{-16}$, *Ha-ras*:9,1-szeres, $p=0,0670 \times 10^{-12}$, *p53*:3,6-szoros, $p=0,069 \times 10^{-8}$). A tüdő esetében - kifejezettebben a hím állatoknál - a 24 és 48 órás adatok nagyszerűen demonstrálták, hogy az exponált szervben az onkogének és a tumorszuppresszor gén overexpressziója a kontroll csoporthoz képest jelentős volt, mely bizonyítani látszik az Izoflurán szervkárosító szerepét. (9. ábra)



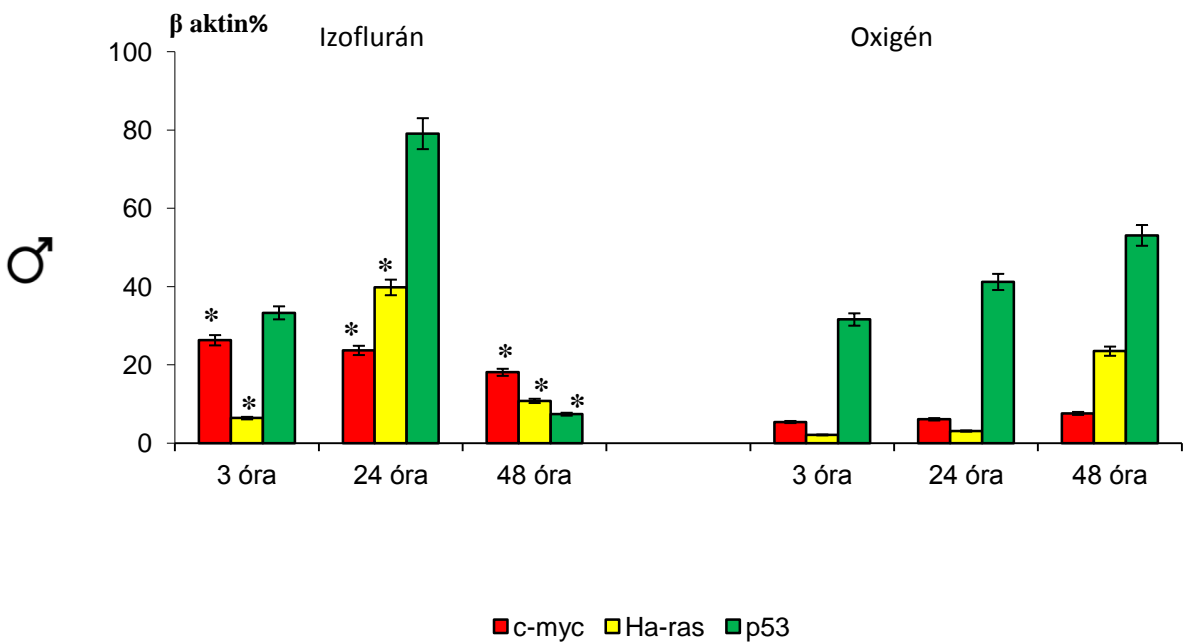
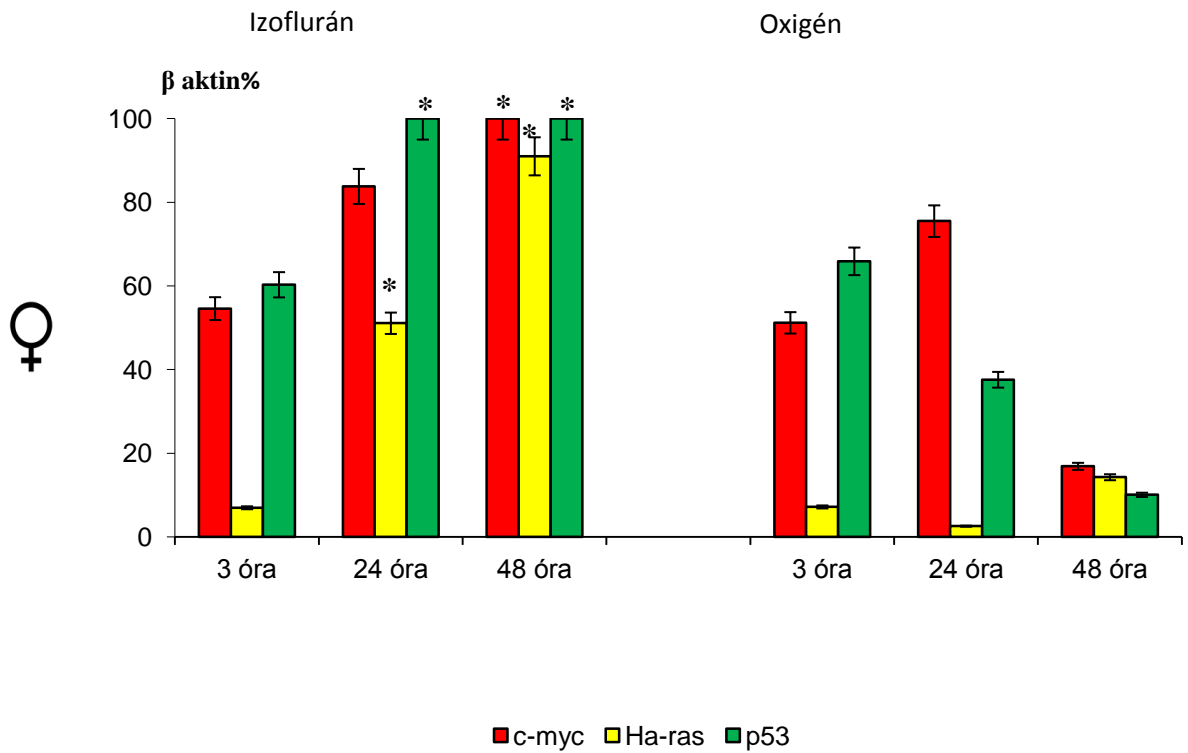
9. ábra
*c-myc, Ha-ras és p53 génexpresszió β -aktin százalékban kifejezve
 1 óra Izoflurán, valamint 1 óra 100% oxigén inhalációt követően, CBA/Ca egerek
 tüdő szövetéből*

Ahogy az Izoflurán metabolizmusánál leírásra került, az inhalációs anesztetikum legfontosabb organotoxicitást okozó bomlásterméke az anorganikus fluorid, mely nefrotoxicitást is okozhat. A veséről, mivel kiválasztó szerv azt feltételezhetjük, hogy az Izoflurán expozíciót követően jelentősen megváltozik benne az általunk vizsgált kulcsgének expressziója. Ezzel szemben, nőstény állatok esetében a korai időszakban kisebbek voltak a megjelenési értékek, mint azt vártuk. A kontroll csoportban 3 óránál a *p53* szuppresszor gén-expressziója fokozódik az Izofluránnal exponált egyedekhez képest (0,15-szörös, $p=0,0792 \times 10^{-12}$). Ezt a jelenséget, szintén nőstények esetében, már a tüdő vizsgálatánál is tapasztaltuk. Felmerülhet tehát ebben az esetben a *p53* gén „Janus arcúsága”, hiszen csökkent expressziója proapoptotikus tulajdonságának limitálását helyezheti előtérbe, így karcinogenitásban kifejtett szerepére hívja fel a figyelmet. A hímek esetében viszont 3 óránál szignifikánsan emelkedett a *c-myc* mellett a *p53* gének expressziója a kontroll csoport értékeihez viszonyítva (*c-myc*:4,56-szoros, $p=0,0120 \times 10^{-8}$, *p53*:4,34-szeres, $p=0,0299 \times 10^{-10}$). A nőstény állatoknál a 24 órás vizsgálatnál a *p53* szuppresszorgénnél volt észlelhető szignifikáns overexpresszió, mind a 3 órás eredmények (4,96-szoros, $p=0,0133 \times 10^{-8}$), mind a kontroll csoport értékeihez képest (2,84-szeres, $p=0,0130 \times 10^{-6}$). Ez az oxigénnel exponált csoport értékeihez viszonyított fokozott expresszió 48 óránál is észlelhető maradt nőstények esetében és itt már egy másik fontos kulcsgén, a *c-myc* génexpressziója is szignifikánsan változott (*c-myc*:15,82-szere, $p=0,0123 \times 10^{-10}$). Ebben az időpontban a *Ha-ras* közel változatlan szintű kifejeződése mellett a *c-myc* a 24 órás érték közel négyszeresét, míg a 3-órás értéknek több, mint 13-szorosát érte el. Hím egerekben 48 óránál csak a *c-myc* expressziója emelkedett szignifikánsan a kontroll csoporthoz képest (6,57-szeres, $p=0,0156 \times 10^{-6}$). A kontroll csoportok értékeit vizsgálva jól látható, hogy a nőstényeknél tapasztalt első mérésnél kimagasló *p53* génexpressziós értéket kivéve, a gének kifejeződésének mintázata mindkét nemben hasonló volt és értékeik az Izoflurán csoportéhoz képest több pontban is alacsonyabbak, bár nem mindenhol voltak szignifikánsak. A 24 és 48 órás kontroll csoport eredményei szinte teljesen azonosak voltak. (10. ábra)



10. ábra
*c-myc, Ha-ras és p53 génexpresszió β- aktin százalékban kifejezve
 1 óra Izoflurán, valamint 1 óra 100% oxigén inhalációt követően, CBA/Ca egerek
 vese szövetéből*

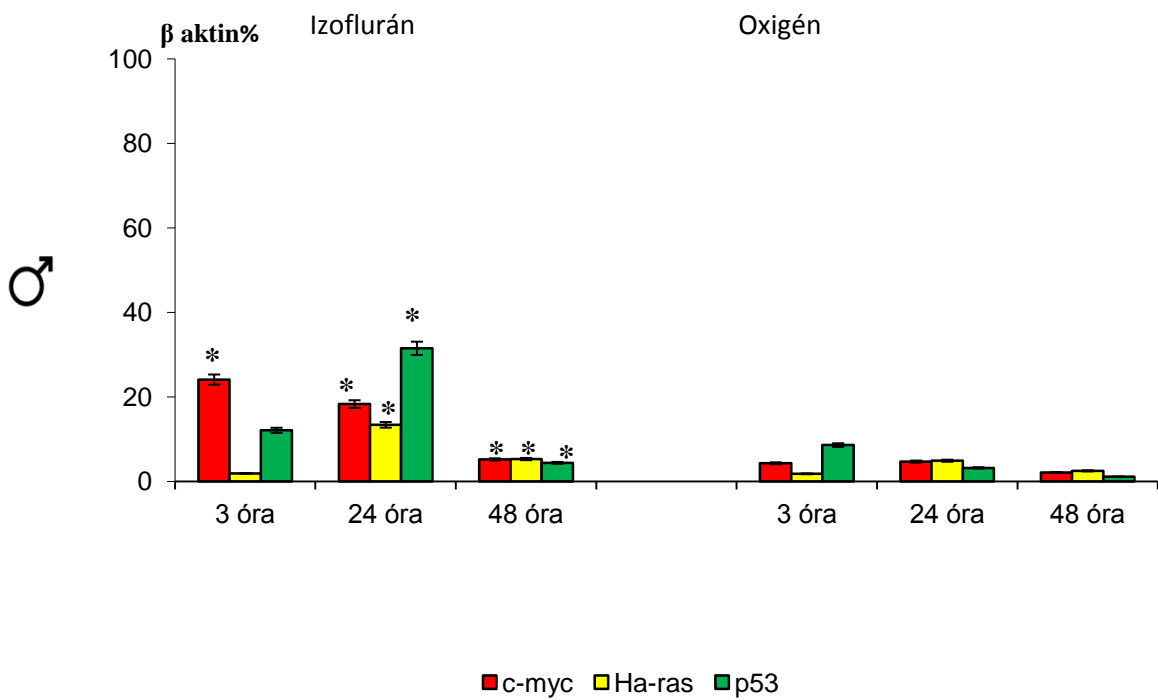
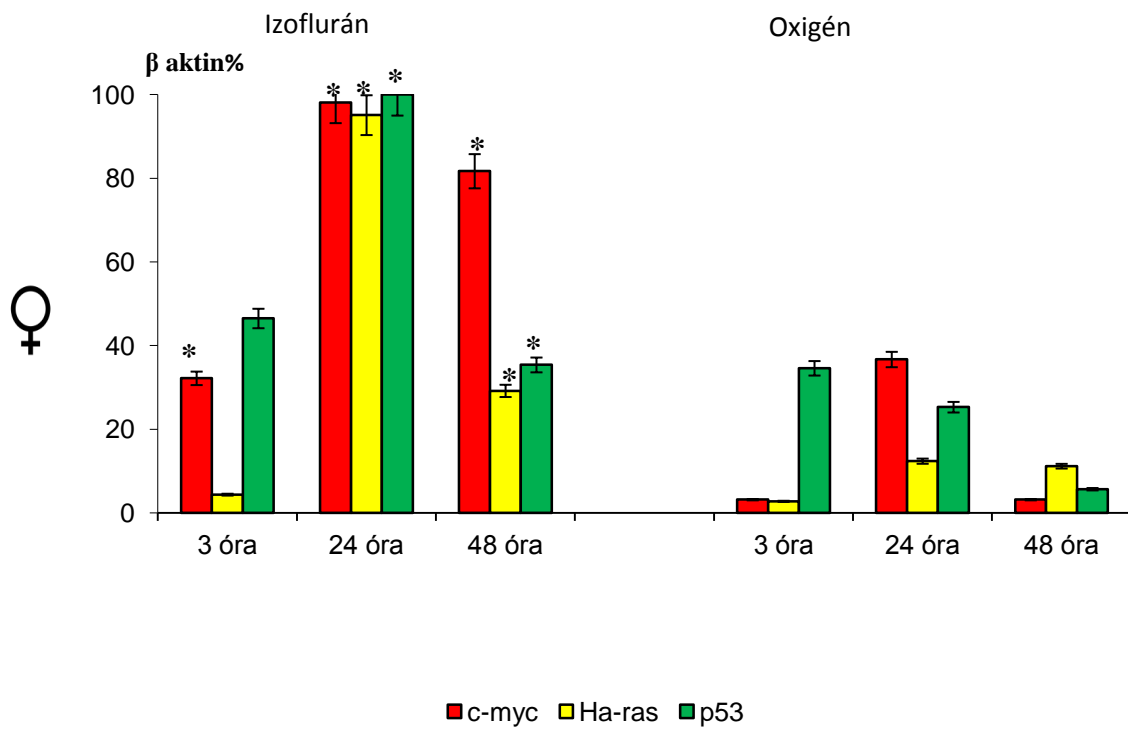
A timuszban az Izoflurán már 3 órával az expozíció után génexpressziós változásokat okozott mindkét nem esetében, az Izoflurán és az oxigén kontroll csoportban egyaránt. A génexpresszió változások főleg nőstényeknél, minden időpontban jelentősek voltak. Mint már az előzőekben is többször észlelhető volt, timusz esetében kifejezetten szembeötlő az az összefüggés, hogy a *c-myc* és a *p53* gének overexpressziója egymással paralell mozog. Nőstény egyedek esetében, a 3 órás vizsgálatoknál a *c-myc* és a *p53* gének az Izoflurán és az oxigén kontroll csoportban is hasonlóan emelkedett expressziót mutattak, így egymáshoz képest nem volt szignifikáns a változás. A hím egyedeknél 3 órával az Izoflurán expozíciót követően a *c-myc* és a *Ha-ras* expressziója szignifikánsan emelkedett (*c-myc*:4,87-szeres, $p=0,0209 \times 10^{-8}$, *Ha-ras*:3,05-szörös, $p=0,00039$). A kontroll csoportban a *p53* hasonlóan overexpressziót mutatott már 3 órával az expozíció után. A *Ha-ras* onkogén expressziója a 3 órás vizsgálatok alatt minden esetben alacsonyabb értéket mutatott a *c-myc* és a *p53* kulcsgének eredményeinél. 24 óránál újra észrevehető volt a nemek közötti differencia a *c-myc* tekintetében, hiszen míg nőstényeknél a kontroll csoporthoz képest nem szignifikáns az eltérés, addig a hím egerekben ez 3,88-szoros ($p=0,0815 \times 10^{-8}$), bár a 3 órás értékhez képest csökkent. A *Ha-ras* kifejeződése 24 óránál mindkét nemben szignifikánsan emelkedett, nemcsak a 3 órás eredményekhez (nőstény: 7,3-szoros, $p=0,0569 \times 10^{-12}$, hím:26,6-szoros, $p=0,0907 \times 10^{-11}$), de a kontroll csoporthoz képest is (nőstény:19,65-szörös, $p=0,0414 \times 10^{-12}$, hím:12,83-szoros, $p=0,0666 \times 10^{-11}$). Nőstény egereknél, 48 óra eltelté után végzett mintavétel eredményei abszolút értékben az összes vizsgálat közül a legmagasabb értékeket produkálták. A *c-myc*, a *Ha-ras* és a *p53* onko-szuppresszor gének expressziója ebben az időpontban a kontroll csoporthoz (*c-myc*: 5,92-szeres, $p=0,0543 \times 10^{-15}$, *Ha-ras*:6,36-szoros, $p=0,0505 \times 10^{-14}$, *p53*:9,9-szeres, $p=0,00058$) és a hím egyedek értékeihez képest is szignifikáns eltérést mutatott. A 3 és a 24 órás eredménnyel összehasonlítva, nőstények esetében a *Ha-ras* kifejeződése változott legmarkánsabban, a 3 órás eredményhez képest 13-szoros a génexpresszió ($p=0,0148 \times 10^{-14}$). Hímekek esetében, az Izoflurán csoportban, a 48 órás adatok kivétel nélkül alacsonyabbak voltak, mint a 24 óránál mérhetőek, a kulcsgének expressziója tehát lecsengeni látszott. Csak a *c-myc* overexpressziója maradt szignifikánsan magasabb a kontroll csoporthoz képest (2,83-szoros, $p=0,0166 \times 10^{-5}$). A *p53* hímekek esetében 48 óránál jelentős csökkenést mutatott a 24 órás értékekhez képest, és ez különösen érdekes annak tekintetében, hogy a kontroll csoportban a *p53* szuppresszorgén expressziója az egymás utáni vizsgálatokban emelkedő tendenciát mutatott. Ez utalhat arra, hogy a timusz az oxigén expozícióra is fokozottan érzékeny lehet, mely az immunrendszer élettanát is figyelembe véve, egy további vizsgálatokat indokló fenomén. (11. ábra)



11. ábra
c-myc, Ha-ras és p53 génexpresszió β- aktin százalékban kifejezve
1 óra Izoflurán, valamint 1 óra 100% oxigén inhalációt követően, CBA/Ca egerek
timusz szövetéből

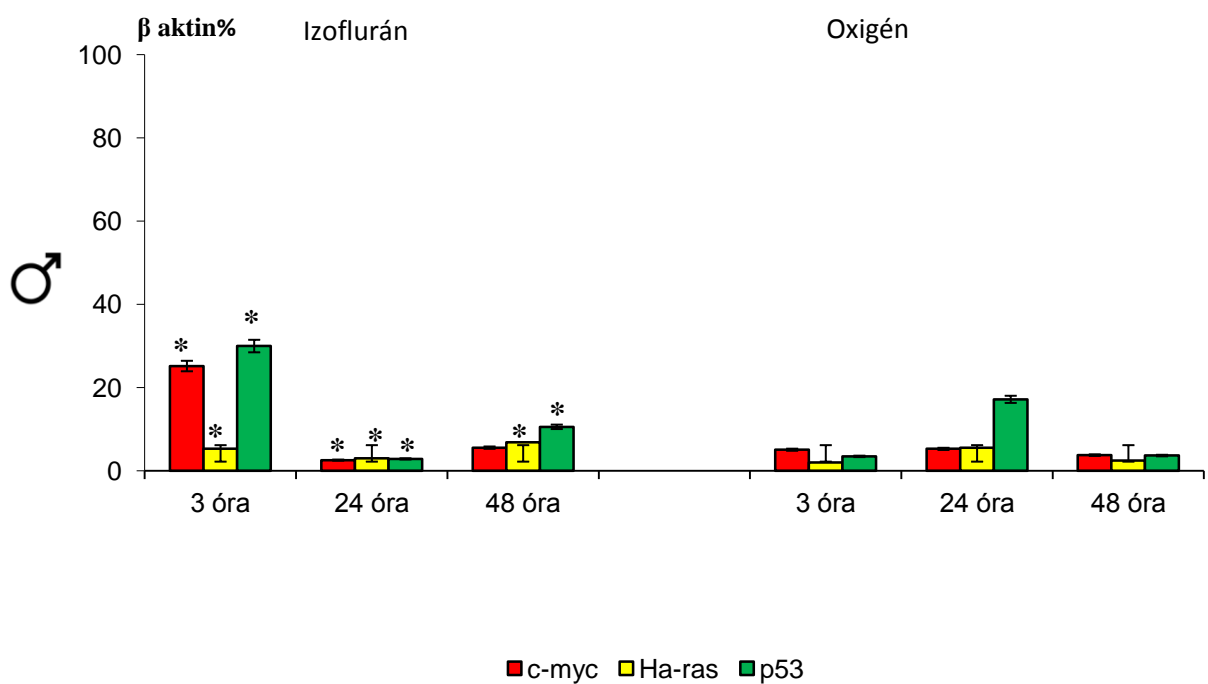
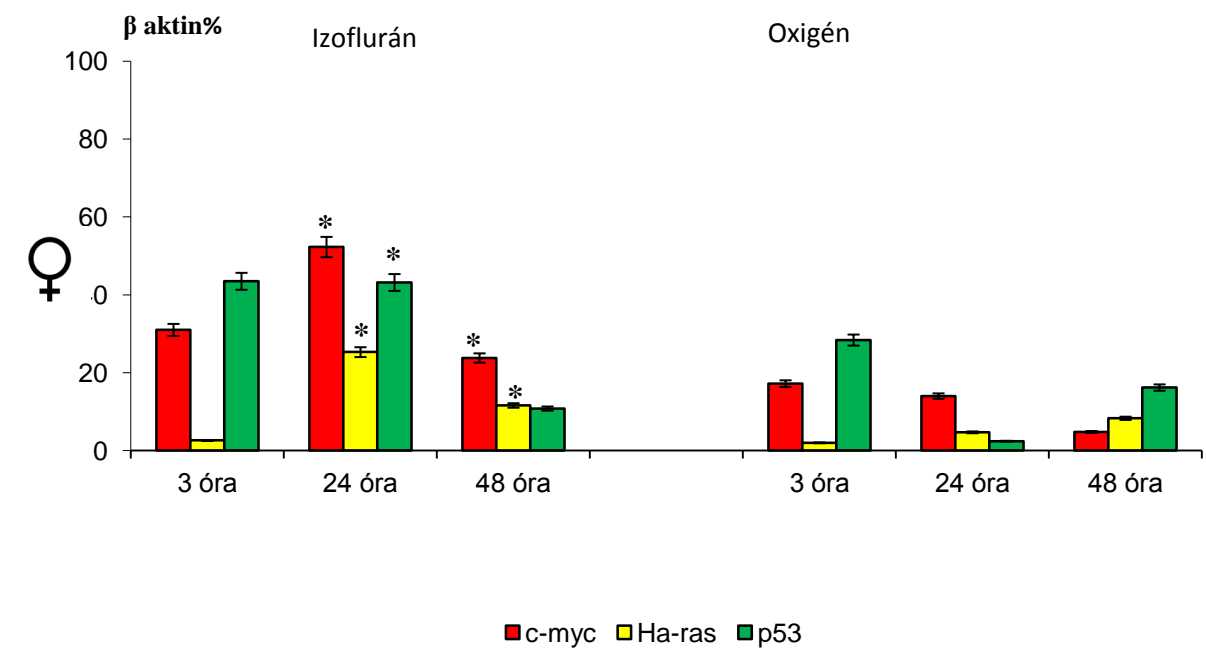
A timuszhoz hasonlóan a paraaortális nyirokcsomó esetében is kifejezettek voltak a nemi különbségek. Ebből is egyre biztosabbnak látszik, hogy a neurohormonális szabályozás és a receptor struktúra, illetve érzékenység, nagy valószínűséggel szerepet játszhat a vizsgált gének karcinogenezisre gyakorolt hatásában. Nőstények nyirokcsomójának feldolgoása után, hasonló kulcsgén expressziós mintázatot tapasztaltunk a 3 órás vizsgálatoknál, mint timusz esetében. A *c-myc* onkogén expressziójának emelkedése az Izoflurán csoportban 3 óránál mindkét nemben szignifikáns volt (nőstény: 10,06-szoros, $p=0,0819 \times 10^{-10}$, hím: 5,6-szoros, $p=0,0357 \times 10^{-8}$). A *Ha-ras* kifejeződése 3 óránál alacsony szinten maradt. 24 óránál a *Ha-ras* overexpressziója jelentősen emelkedett a 3 órás értékekhez képest (nőstény: 21,61-szeres, $p=0,0424 \times 10^{-15}$, hím: 7,05-szörös, $p=0,0313 \times 10^{-7}$), de a kontroll csoport értékeihez képest is szignifikáns volt az emelkedés (nőstény: 7,67-szeres, $p=0,02 \times 10^{-14}$, hím: 2,73-szoros, $p=0,0907 \times 10^{-5}$). Ezzel párhuzamosan, mindkét nemben a 24 óránál mérhető *c-myc* és *p53* gének expressziói is szignifikánsan emelkedtek a kontroll csoporthoz képest (nőstény: *c-myc*: 2,67-szeres, $p=0,0393 \times 10^{-13}$, *p53*: 3,95-szörös, $p=0,055 \times 10^{-14}$, hím: *c-myc*: 3,9-szeres, $p=0,0118 \times 10^{-6}$, *p53*: 9,84-szeres, $p=0,0882 \times 10^{-10}$). A 48 órás időpontban a kulcsgének expressziója a 24 órás értékekhez képest, mindkét nemben lecsengeni látszott, bár a kontroll csoporthoz képest még mindig szignifikánsan emelkedett volt (nőstény: *c-myc*: 25,53-szoros, $p=0,04 \times 10^{-14}$, *Ha-ras*: 2,61-szeres, $p=0,0669 \times 10^{-8}$, *p53*: 6,21-szeres, $p=0,0646 \times 10^{-10}$, hím: *c-myc*: 2,48-szoros, $p=0,0005$, *Ha-ras*: 2,12-szeres, $p=0,0068$, *p53*: 4-szeres, $p=0,0002$).

A paraaortikus nyirokcsomók vizsgálatánál fontos megállapítanunk, hogy a kulcsgének expressziójának mintázata az Izoflurán csoportban nagyon hasonló a két nem között, a különbség a β -aktin százalékban kifejezett abszolút értékben jelent meg igazán. (12. ábra)



12. ábra
c-myc, Ha-ras és p53 génexpresszió β-aktin százalékban kifejezve
1 óra Izoflurán, valamint 1 óra 100% oxigén inhalációt követően, CBA/Ca egerek
nyirokcsomó szövetéből

A csontvelő fontos vérképző-szerv, amely a timuszhoz hasonlóan az immunrendszer központi szerveinek egyike. Az immun-válaszban betöltött funkcióját és szabályozó mechanizmusait tekintve ezért hasonló eredményeket vártunk, mint a timusz esetében. A *c-myc*, a *Ha-ras* és a *p53* kulcsgének egymáshoz viszonyított expressziójának mintázata 3 óránál ezt mutatta is mindkét nemből. A szignifikanciában azonban volt különbség. Míg a nőstény egyedekben az Izoflurán csoportban egy vizsgált gén expressziója sem emelkedett szignifikánsan a kontroll csoport értékeihez képest, addig a hím kísérleti állatoknál mindhárom kulcsgén overexpressziója szignifikáns volt (*c-myc*:4,94-szeres, $p=0,03 \times 10^{-8}$, *Ha-ras*:2,65-szörös, $p=0,00251$, *p53*:8,57-szeres, $p=0,02 \times 10^{-9}$). A nőstényeknél, 24 óránál tapasztalható mindhárom vizsgált gén expressziójának legkifejezettebb emelkedése, mely a kontroll csoportban mért értékekhez képest szignifikáns eltérést jelentett (*c-myc*:3,74-szeres, $p=0,011 \times 10^{-10}$, *Ha-ras*:5,38-szoros, $p=0,0204 \times 10^{-8}$, *p53*:18-szoros, $p=0,0232 \times 10^{-11}$). A *Ha-ras* onkogén 24 órával az Izoflurán expozíció megszakítása után a 3 órás értékének 9,73-szorosára emelkedett ($p=0,0401 \times 10^{-6}$). A 48 órás vizsgálat a két nem között szintén mutatott eltérést. A nőstény kísérleti állatoknál a génexpressziók lecsökkentek az előző, 24 órás időpontban mérhető értékekhez képest, míg hímeknél egy második hullámban megjelenő emelkedés volt ismét tapasztalható. Nőstényeknél a *c-myc* és a *Ha-ras*, míg hímek esetében a *Ha-ras* és a *p53* overexpressziója volt szignifikánsan emelkedett az oxigénnel exponált kontroll csoport eredményeihez viszonyítva (nőstény: *c-myc*:4,96-szoros, $p=0,0494 \times 10^{-9}$, *Ha-ras*:2,87-szeres, $p=0,0021$, hím: *Ha-ras*:2,76-szoros, $p=0,0002$, *p53*:2,86-szoros, $p=0,0792 \times 10^{-4}$). (13. ábra)



13. ábra
c-myc, Ha-ras és p53 génexpresszió β-aktin százalékban kifejezve
1 óra Izoflurán, valamint 1 óra 100% oxigén inhalációt követően, CBA/Ca egerek
csontvelő szövetéből

XII.2. A gyulladásoz markerek génextpressziójának vizsgálati eredményei

A kapott eredmények statisztikai értékeléséhez kétszélű kétmintás t-próbát végeztünk. Statisztikailag értékelhető változásnak a kontroll csoporthoz viszonyított, legalább kétszeres génextpresszió eltérést tekintettük, ha a szignifikancia számítás alapján a p-érték kisebb volt, mint 0,05. (VII. táblázat) Az 1 és 2 óras Izoflurán expozíciók után nyert adatokat a kontroll csoportok eredményeivel összehasonlítva, génenként külön-külön is vizsgáltuk, illetve az *NFκB*, *GADD45α* és a *MAPK8* gének expresszióit egymáshoz viszonyítva is elemeztük. (52) Hat órával az Izoflurán expozíció követően a tüdő és veseszövetekben mindhárom gén jelentős expresszió változását észleltük a kontroll csoporthoz képest. Ez, az *NFκB* esetében a 2 óras, míg a *GADD45α* és a *MAPK8* esetében az 1 óras expozíció követően volt a tüdő esetében szignifikáns. Hat órával az Izoflurán expozíció követően, a tüdőben az *NFκB* expresszió duplájára emelkedett a 2 óras narkózisnak kitett egyedekben (2,09-szeres, $p=0,0025$), a kontroll csoport értékéhez viszonyítva. A *GADD45α* és a *MAPK8* expressziója a kontrollokéhoz képest az 1 óras Izoflurán expozíciónak kitett csoportban szignifikáns csökkenést mutatott. A *GADD45α* esetében 12 órával később 0,27-szeres, $p=0,0053$, a *MAPK8* génnél 6 óránál 0,42-szeres, $p=0,027$, 12 óránál 0,49-szeres, $p=0,035$). Ezzel szemben a vese szövetekben éppen ellentétes eredményeket figyeltünk meg. A 6 és a 12 óras időpontban az *NFκB* expresszió a kontrollhoz viszonyítva csökkent, ez a redukció a 2 óras expozíción átesett csoportban mindkét boncolási időpontban nyert szövetmintában szignifikáns is volt. A *GADD45α* overexpressziója volt tapasztalható a vesében 1 óra Izoflurán expozíció követően, a *MAPK8* expresszió pedig szignifikánsan emelkedett volt azon 1 óras expozíción átesett egyedek esetében, melyeket 6 óra eltelte után boncoltunk fel (3,47-szeres, $p=0,015$). A *GADD45α* gén expressziója a vesében, az 1 óras expozíció követően 12 óra múlva eltávolított szövetben is kifejezetten emelkedett volt, azonban a szignifikancia küszöböt nem érte el (2,19-szeres, $p=0,064$).

Kísérleteinkben a *GADD45α* és a *MAPK8* expresszió gyakran párhuzamos, míg az *NFκB* többször is ezekkel ellentétes irányú génextpresszió változást mutatott. (14-16. ábrák)

Alább, a vizsgált gyulladásoz markereket egyenként elemezve mutatjuk be a génextpresszió változásait az 1 és a 2 óras Izoflurán és oxigén expozíciókat követően, két különböző időpontban végzett boncolás után.

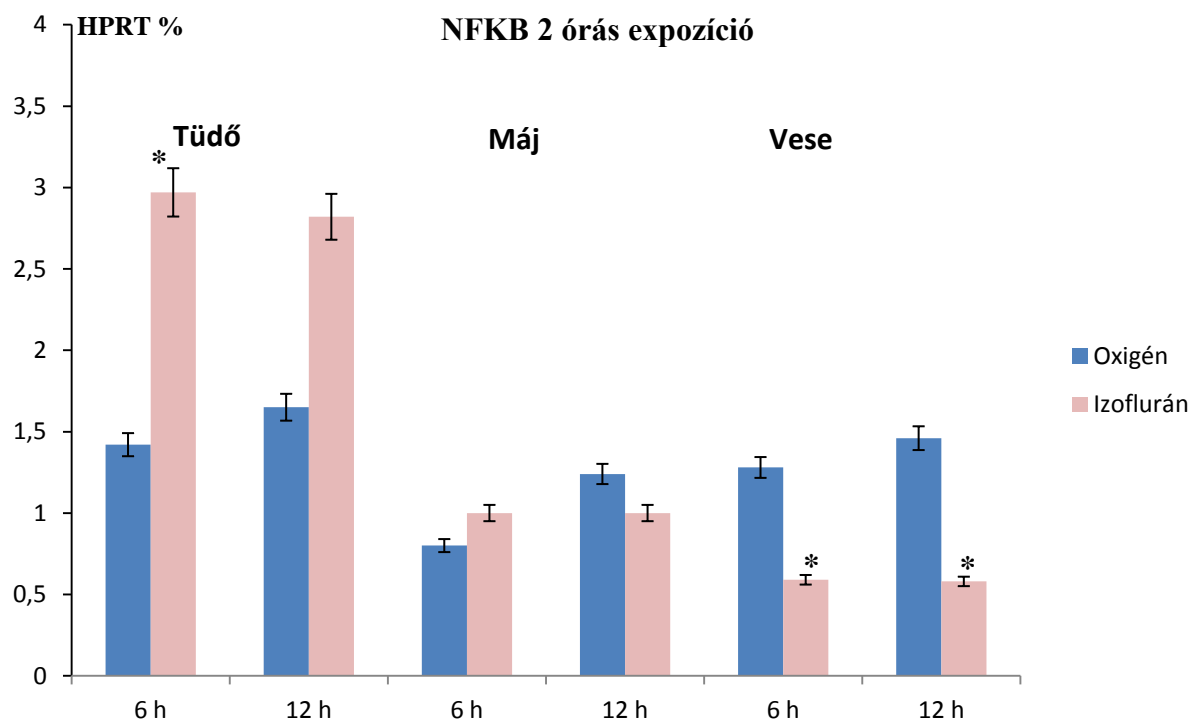
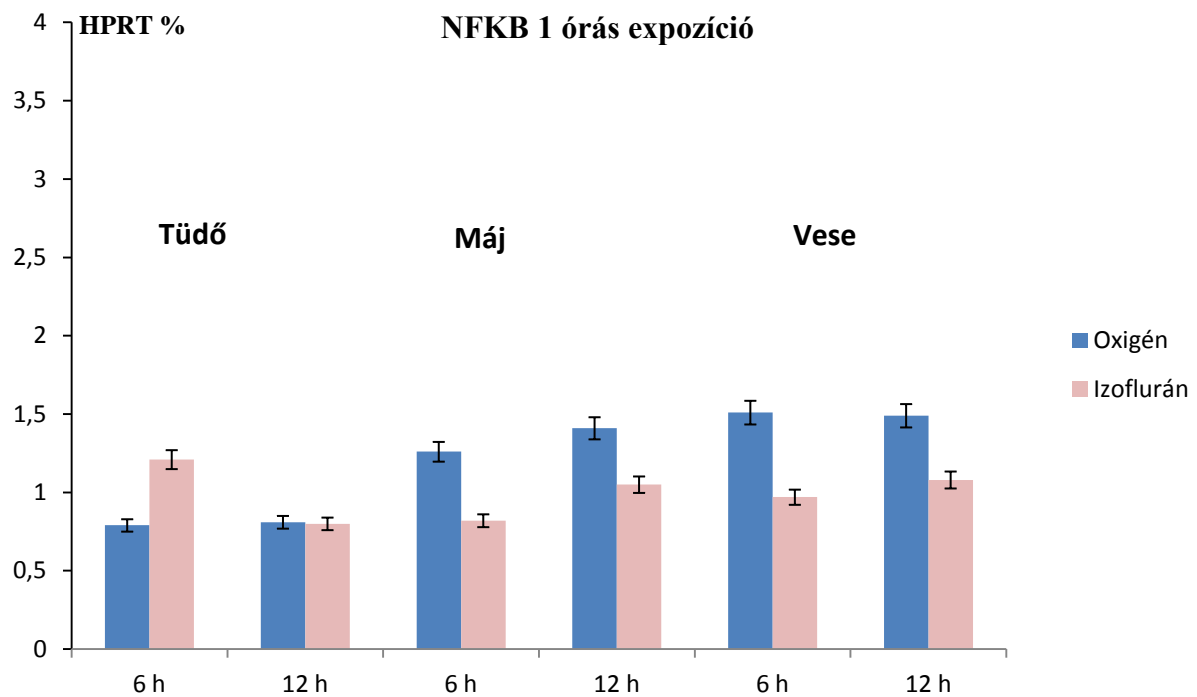
Vizsgált szerv	Vizsgált gén és expozíciós idő	Expozíciót követő idő	Izoflurán-oxigén		
			hányszoros eltérés	p-érték	
tüdő	<i>NFKB 1 óra</i>	6 óra	1,53	0,41081	
		12 óra	0,98	0,956967	
	<i>NFKB 2 óra</i>	6 óra	2,09	0,002541	
		12 óra	1,71	0,012875	
	<i>GADD45a 1 órás</i>	6 óra	0,43	0,205212	
		12 óra	0,27	0,005341	
	<i>GADD45a 2 órás</i>	6 óra	1,10	0,280811	
		12 óra	0,55	0,095382	
	<i>MAPK8 1 órás</i>	6 óra	0,42	0,027215	
		12 óra	0,49	0,035598	
	<i>MAPK8 2 órás</i>	6 óra	0,54	0,076355	
		12 óra	0,43	0,102603	
	máj	<i>NFKB 1 óra</i>	6 óra	0,65	0,229141
			12 óra	0,75	0,39252
<i>NFKB 2 óra</i>		6 óra	1,25	0,369693	
		12 óra	0,81	0,562613	
<i>GADD45a 1 órás</i>		6 óra	0,73	0,705794	
		12 óra	0,39	0,027926	
<i>GADD45a 2 órás</i>		6 óra	1,59	0,172626	
		12 óra	1,15	0,647361	
<i>MAPK8 1 órás</i>		6 óra	0,92	0,794699	
		12 óra	0,51	0,086092	
<i>MAPK8 2 órás</i>		6 óra	0,82	0,600158	
		12 óra	0,93	0,761064	
vese		<i>NFKB 1 óra</i>	6 óra	0,64	0,12283
			12 óra	0,72	0,309518
	<i>NFKB 2 óra</i>	6 óra	0,46	0,046187	
		12 óra	0,398	0,021558	
	<i>GADD45a 1 órás</i>	6 óra	2,01	0,063712	
		12 óra	2,19	0,064316	
	<i>GADD45a 2 órás</i>	6 óra	1,08	0,735463	
		12 óra	0,45	0,529738	
	<i>MAPK8 1 órás</i>	6 óra	3,47	0,015342	
		12 óra	1,81	0,147349	
	<i>MAPK8 2 órás</i>	6 óra	0,95	0,883377	
		12 óra	0,78	0,4763	

VII. táblázat

Az Izoflurán 1 és 2 órás expozícióját követő génexpresszió változások a kontroll csoporttal összehasonlítva 6 és 12 órával a narkózis befejezése után

A sejttúlélést az apoptózis gátlása révén szabályozó *NFκB* gén expressziója, az Izoflurán altatógáz expozíciónak leginkább kitett tüdő szövetéből nyert mintákban, 6 órával a narkózist követően, mindkét csoportban emelkedett volt, a kontroll csoportban számított értékekhez képest. A két órás expozíciót követően, ez több mint kétszeresére (2,09-szeres) változott, így szignifikáns volt ($p=0,0025$). Az antiapoptotikus hatású gén expressziója a két órás Izoflurán expozíciót követően, mindkét boncolási időpontban szignifikánsan emelkedettebb volt, az egy órás értékekhez képest (6 óránál:2,45-szörös, $p=0,0009$, 12 óránál:3,53-szoros, $p=0,0692 \times 10^{-3}$). Az 1 órás narkózist követő 12 órás vizsgálatnál az *NFκB* gén kifejeződése a tüdőben visszaállt a 100% oxigént inhaláló állatokban mérhető szintre. A máj szövetében érdemben értékelhető változás nem volt tapasztalható, az *NFκB* expressziója a kontrollhoz képest mérsékelten változik, akkor is jellemzően csökken.

A vese vizsgálatánál fordított arányú kifejeződés volt megfigyelhető. Az oxigén kontroll csoportban mért értékhez képest az *NFκB* gén expressziója a kontroll értékeknek a felét sem érte el a 2 órás expozíciót követően, sem 6 (0,46-szoros, $p=0,046$), sem 12 (0,39-szeres, $p=0,021$) órával az expozíció megszűnését követően. A génexpresszió redukciója már 1 óra Izoflurán expozíció után is megfigyelhető volt. (14 .ábra)

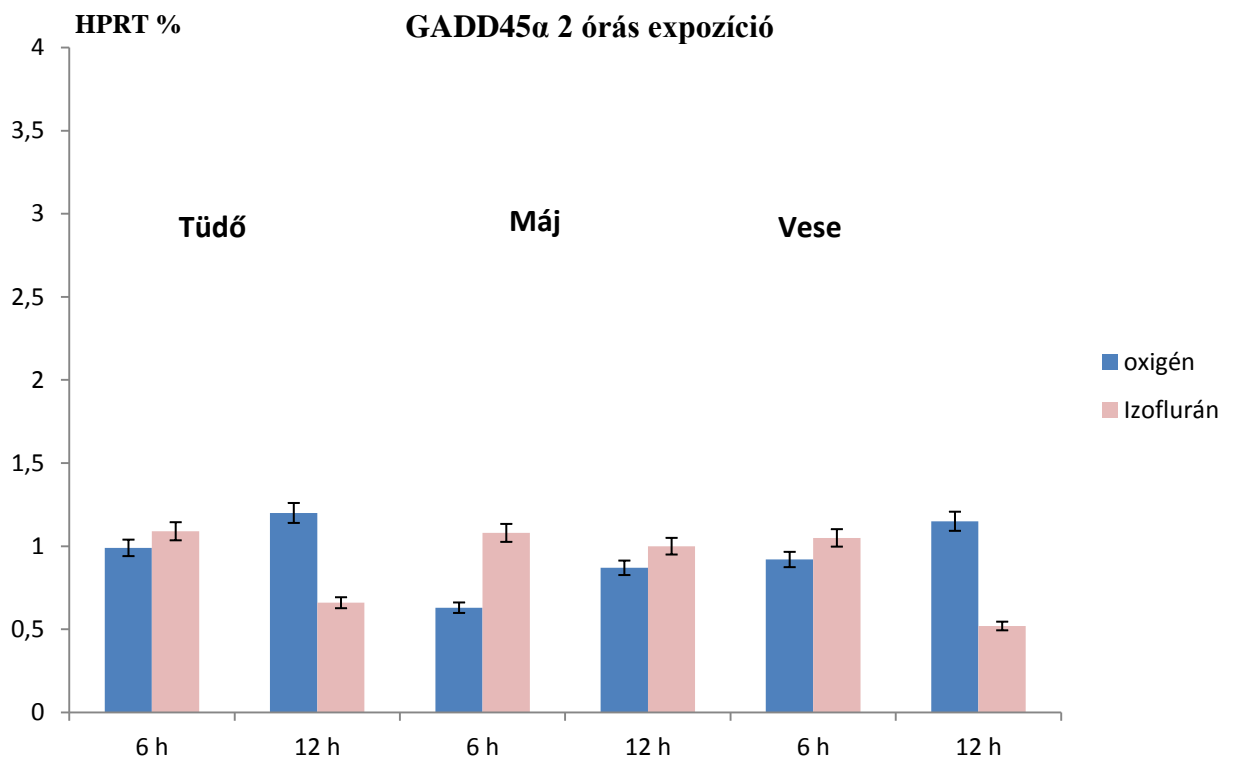
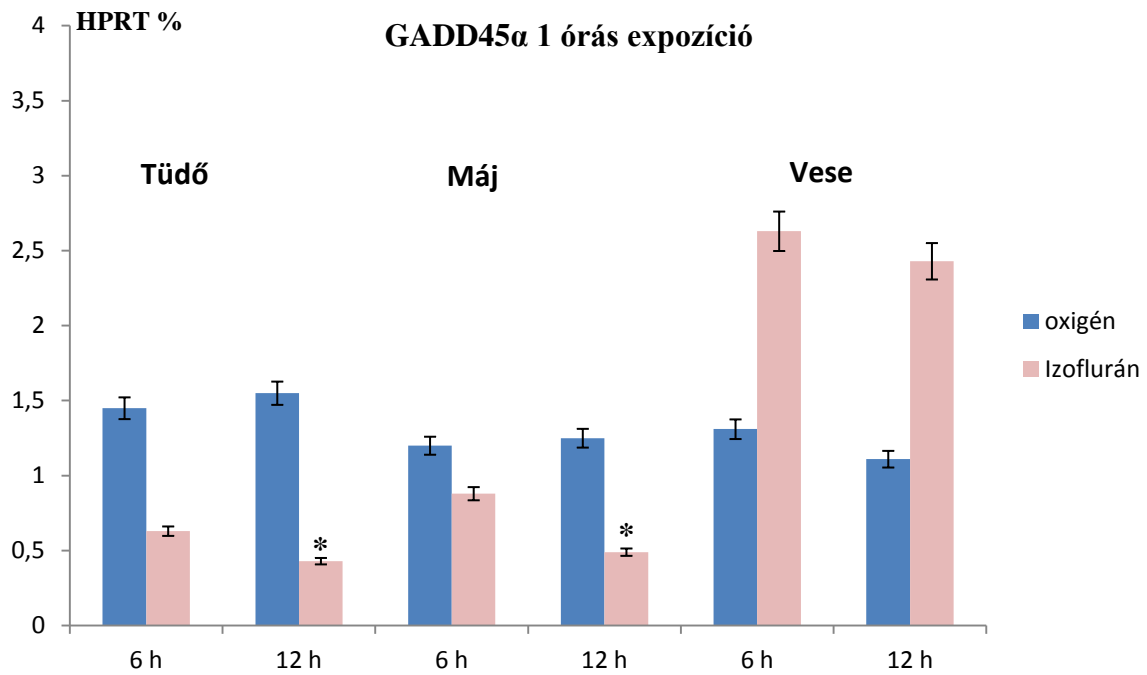


14. ábra

NFKB expresszió Hprt arányban kifejezve, 1 és 2 órás 2%-os Izoflurán, illetve 1 és 2 órás 100%-os oxigén inhalációt követően, 6 és 12 órával később elvégzett boncolás során nyert CBA/Ca egerek tüdő, máj és veseszöveteiben

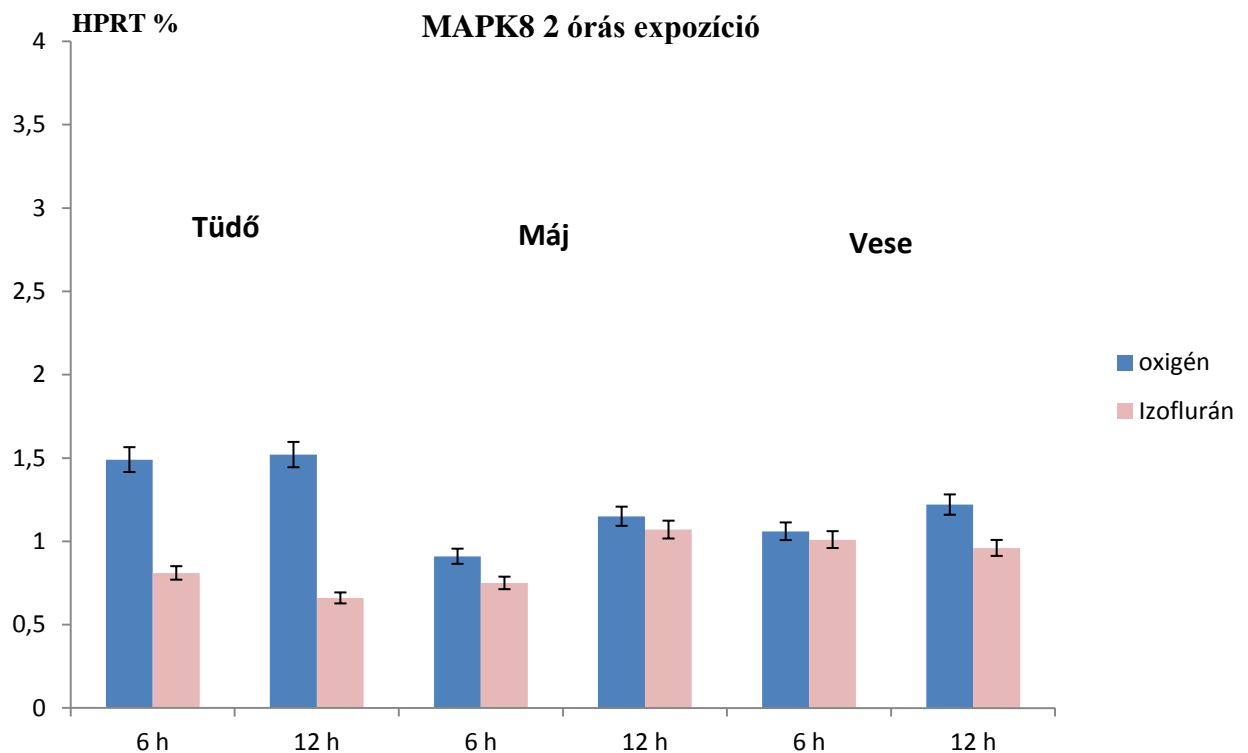
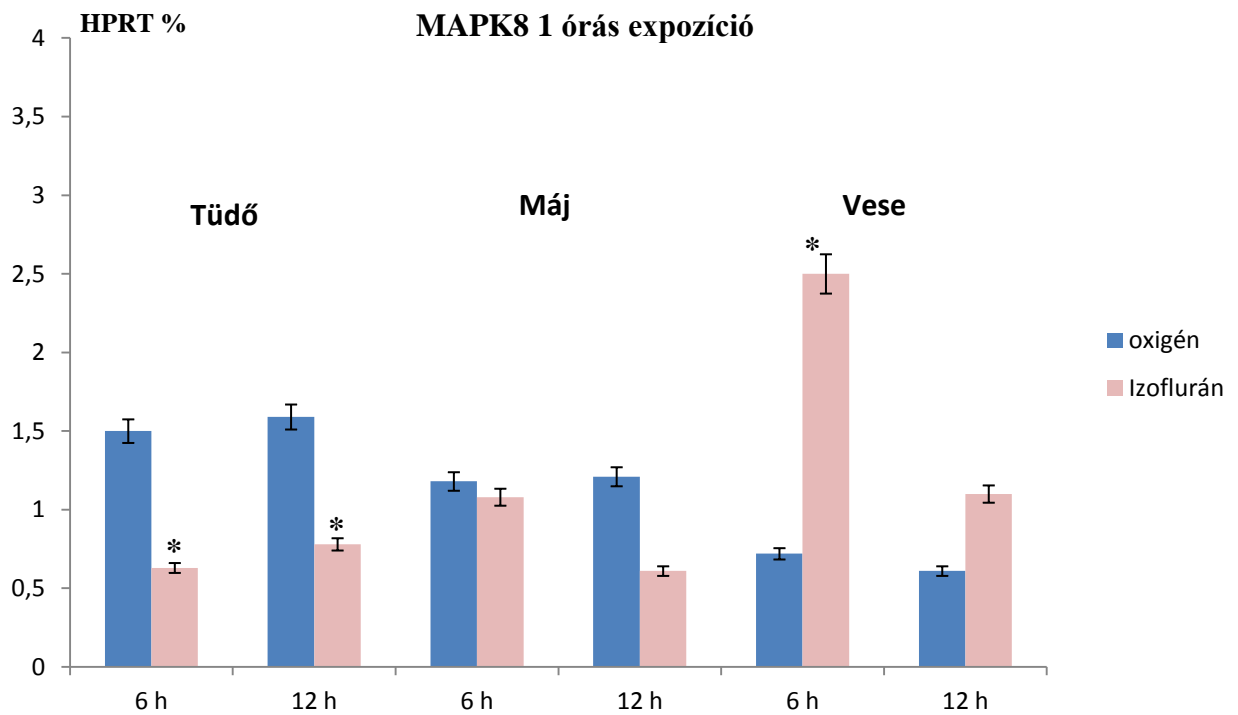
Az egyszálú DNS károsodására aktiválódó *GADD45α* gén vizsgálata, az előzőekben leírt *NFκB* antiapoptotikus génnél tapasztaltakkal több ponton ellentétes irányú változásokat mutatott. Tüdőben 6 óránál az Izoflurán csoport egyedeiben a *GADD45α* génexpressziója a kontroll csoportban mérthez képest kisebb, az 1 órás expozíció után átesett egyedeknél, és ez az expresszió változás a 12 órás vizsgálatnál még tovább csökkenve szignifikáns is vált (0,27-szeres, $p=0,0053$). A máj esetében szintén 1 órás narkózist követően csak a 12 óra után elvégzett boncolás során nyert mintákban volt szignifikánsan kisebb a *GADD45α* expressziója a kontrolléhoz képest (0,39-szeres, $p=0,027$). Két órás Izoflurán expozíciót követően a gén expressziója növekvő tendenciát mutatott, de ez a kontroll értéket meghaladó expresszió növekedés mellett sem okozott szignifikáns változást. A 12 órás eredményeket vizsgálva azonban, az 1 és 2 órás Izoflurán expozíciót követő *GADD45α* overexpressziója szignifikánsan változott, a kétszeres expozíciós időnek kitett egyedekben ugyanis 2,04-szeresére nőtt ($p=0,019$).

Vese szövet vizsgálata során az 1 órás narkózist követően, 6 és 12 óránál is overexpressziót észleltünk. Az expressziós értékek ugyan több, mint kétszeresek voltak (2,01 és 2,19-szeres), a szignifikancia szintet azonban mégsem érték el ($p=0,063$ és $p=0,064$). (15. ábra)



15. ábra
GADD45 expresszió Hprt arányban kifejezve, 1 és 2 órás 2%-os Izoflurán, illetve 1 és 2 órás 100%-os oxigén inhalációt követően, 6 és 12 órával később elvégzett boncolás során nyert CBA/Ca egerek tüdő, máj és vese szöveteiben

A *GADD45α*-val szoros jelátviteli összeköttetésben álló, apoptózist indukáló *MAPK8* génexpressziójának mintázata több ponton is jelentősen hasonlít a *GADD45α* génnél leírtakhoz. A tüdőben 1 órás Izoflurán expozíciót követően szignifikánsan változott a *MAPK8* génexpressziója, így 6 óra után 0,42-szeresen ($p=0,027$), 12 óránál pedig 0,49-szeresen ($p=0,035$), csökkent expressziója. Ugyanígy, génexpresszió csökkenés volt tapasztalható az oxigén kontroll csoporthoz képest a 2 órás expozíciót követően is tüdő esetében, azonban a szignifikancia szintet ez a változás nem érte el. A májban 1 órás expozíciós idő után 12 órával végzett boncolás során tapasztalható a génexpresszió csökkenése a kontrollhoz képest, ahogyan ez a *GADD45α* esetében is hasonló volt. Az ezirányú változás azonban, a kétszer ilyen hosszú behatási időnek kitett egyedeknél már alig tért el az oxigén kontrollban mért értékek szintjétől. A vesében 1 órás Izoflurán narkózist 6 órával követően jelentősen emelkedett a *MAPK8* expressziója (3,47-szeres, $p=0,015$). Ez az overexpresszió még 12 órával az expozíció után is tapasztalható volt, de már nem szignifikáns mértékben. Az 1 órás és a kétszer ilyen hosszú idejű Izoflurán expozíciót vizsgálva a vesében azt tapasztaltuk, hogy a *MAPK8* gén expressziója 6 órával később, az 1 órás narkózist követően 2,48-szorosa volt a 2 órás expozíciót jellemző értéknek ($p=0,039$). A *MAPK8* génexpressziója 1 órás altatást követően a vesében, nemcsak a kontroll csoport és a 2 órás érték, de a máj és a tüdő mintáinak értékeihez képest is jelentősen emelkedett. (16. ábra)



16. ábra

MAPK8 expresszió Hprt arányban kifejezve, 1 és 2 órás 2%-os Izoflurán, illetve 1 és 2 órás 100%-os oxigén inhalációt követően, 6 és 12 órával később elvégzett boncolás során nyert CBA/Ca egerek tüdő, máj és veseszöveteiben

XII.3. Kérdőíves humán vizsgálat statisztikai értékelése

A kitöltött kérdőívek összegyűjtése után, 104 kérdőív értékelése történt meg. A budapesti Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. Számú Sebészeti Klinikájáról, a Pécsi Orvostudományi Egyetem Idegsebészeti és Gyermeksebészeti Klinikájáról, a Baranya Megyei Kórházból, a nyíregyházi Jósa András Kórházból, a Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Kórház és Egyetemi Oktató Kórház Központi Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Osztályáról, és a sátoraljaújhelyi Erzsébet Kórház Központi Aneszteziológiai és Betegellátó Osztályáról, illetve a kazincbarcikai városi kórházból.

A kérdőívek értékelése Office Excel 2007 és IBM SpSS Statistics programokkal történt.

(VIII-X. táblázat)

A válaszadók közül 27 férfi és 75 nő volt, ketten nem jelölték meg nemüket. Az átlagéletkor 41 év volt. Munkakörüket tekintve a válaszadók közül 59 orvos, szakorvos vagy rezidens, és 44 aneszteziológus asszisztens vagy szakasszisztens volt. Egy fő nem jelölte meg munkakörét. A kérdőívet kitöltők közül 31 fő (29,8%) kevesebb, mint 5 éve dolgozik ebben a munkakörben, 20 évnél régebben 37-en (35,5%) végeznek aneszteziológiai tevékenységet.

Arra a kérdésre, hogy naponta átlagosan hány órát tölt műtői környezetben 1 fő válaszolta azt, hogy 1 óránál kevesebbet. Hatan (5,76%) 1 és 4 óra között, 52-en, tehát a dolgozók fele a napi munkaidőnek megfelelő 4-8 órát jelölt meg és 37 (35,57%) dolgozó, akár 8-12 órát is műtői környezetben tölt, míg hatan (5,76%) még a napi 12 óránál többet is az altatógép mellett tartózkodnak.

A kérdőív összeállításakor azokra a kérdésekre szerettünk volna választ kapni, hogy van-e összefüggés a műtői, tehát altatógáz expozíciónak kitett környezetben tartózkodás ideje, az ott végzett inhalációs narkózisok aránya, az altatógéptől mért távolság, illetve a padlótól számított magasság és bizonyos szubjektív panaszok között, illetve, hogy ezek a faktorok befolyásolják-e az egészségi állapotot, találunk-e laboratóriumi eltéréseket.

A válaszokat adó egyének olyan műtőkben dolgoznak általában, ahol a teljes ott töltött idő kevesebb, mint 25 %-ában 3 esetben (2,88%), 25-50 % között 21 (20,1%), 50-75%-ában 45 (43,26%), több mint 75%-ban 34 (32,69%) esetben zajlik inhalációs narkózis.

Az eltérő műtői építészeti kivitelezések a különböző elszívórendszerek és légcserélők, légkondicionálók, nagyon megváltoztathatják a levegő halogénezett altatógáz szennyeződését, ezért az altatógéptől mért távolság, illetve az ülő vagy álló pozíció és a szubjektív panaszok között kerestünk összefüggést, azonban szignifikáns eltérés egy esetben sem volt kimutatható.

Fontos viszont azt megemlíteni, hogy 1 méternél közelebb helyezkedik el az altatógéphez a dolgozók 50 százaléka. Az 52 főnek túlnyomó része aneszteziológus asszisztensi munkakörben dolgozik. A műtőben töltött idő legalább felében 44 kolléga ülve tartózkodik (42,3%), míg 14 (13,46%) ember még az ott töltött idő több mint 75%-ában sem foglal helyet. Arra a kérdésre, hogy milyen gyakran kerül közvetlen kapcsolatba altatógázokkal, a válaszok alapján két csoportot alkottunk. Az egyik csoport a „soha” vagy „nagyon ritkán” válaszokat adta, a másik csoportba azokat válogattuk, akik napi rendszerességgel érintkeznek az altatógázokkal. Több szignifikáns eltérést sikerült kimutatni és az esélyhányados kiszámítása is arra engedett következtetni, hogy tapasztalható összefüggés. Olyan hatás, melyet az altatógáznak tud be a kérdezett személy, 2,93-szor gyakrabban fordult elő, ha naponta kerültek közvetlen kapcsolatba inhalációs anesztetikumokkal ($p=0,03$). Akik napi rendszerességgel még az altatógázok jellegzetes illatát is megéreztek, miközben az anesztetikummal dolgoztak, azok között az altatógáznak betudott hatásról 4,87-szer többen számoltak be ($p=0,001$). Fáradtságot és álmoságot, bár azok is több mint kétszer gyakrabban éreztek, akik naponta kerültek kapcsolatba gázokkal, viszont a jellegzetes illatot naponta megérezőknél ez az összefüggés már szignifikáns is vált, OR:4,318 ($p=0,002$). Mellkasi fájdalomról közel háromszor annyian panaszkodtak (OR:3,07) abban a csoportban, akik naponta kapcsolatba kerülnek volatilis anesztetikumokkal, de mind ebben az esetben, mind a lassú és gyors szívverést tekintve, mely szintén közel négyszer (OR:3,70) gyakrabban fordult elő, csak az illatot naponta megérezőknél lehetett szignifikáns eltérést bizonyítani ($p=0,15$, vs. $p=0,027$). Szignifikáns volt továbbá az eltérés a hörgő irritáció és a nyálkahártya irritáció tekintetében, hiszen itt nemcsak az illatot detektálók, de a napi kapcsolatba kerülők is ilyen panaszokat gyakrabban éltek meg. A hörgő irritáció kialakulásához már a volatilis anesztetikummal napi kapcsolatba kerülés is szignifikáns eltérést mutatott (esélyhányados:2,77, $p=0,023$).

A nyálkahártya irritáció az illatot megérezők között 3,68-szor gyakrabban fordult elő ($p=0,017$). A legmarkánsabb panasz a nyugtalanság volt, ez a gázokkal napi kapcsolatba kerülők között két és félszeres eltérést eredményezett ($p=0,039$), az illatot is érzőknél ez már közel hatszorosára emelkedett (OR:5,81, $p=0,007$).

Vizsgáltuk továbbá azt is, hogy a munkaévek, a napi műtőben töltött idő, az inhalációs narkózisok aránya, az altatógéptől mért távolság, illetve az ülő vagy álló pozíció, hogyan befolyásolja ugyanezen szubjektív panaszok megjelenését, és okoznak-e esetlegesen laboratóriumi eltéréseket. Akik naponta 8 óránál hosszabb időt töltenek aneszteziológiai munkahelyen 2,78-szor gyakrabban számoltak be olyan hatásról, melyet az altatógázoknak

tudnak be ($p=0,039$), és ugyanennyiszor gyakrabban éreztek fáradtságot, álmodást is. Azokban a műtőkben, ahol az inhalációs narkózisok aránya meghaladta a napi munkahelyen töltött idő 75%-át, ott az altatógázoknak betudható hatást 3,67-szer többször tapasztalták magukon az aneszteziológus dolgozók ($p=0,028$). Itt érdemes kiemelni a légszomjat, mint szubjektív panaszt, mely ezekben az esetekben 2,2-ször gyakrabban lépett fel, azonban a szignifikancia szintet ez az érték nem érte el ($p=0,284$). A többi szubjektív panasz megjelenése és a műtőben töltött idő és az inhalációs narkózisok aránya között is látszott összefüggés, azonban ezek sem voltak szignifikáns eltérések. Ilyenek voltak a remegés, a szédülés, a halálfélelem, a fejfájás, a mellkasi fájdalom, a nyálkahártya irritáció és az ájulásérzés is.

Az altatógéptől mért távolság, illetve az ülő vagy álló pozíció és a szubjektív panaszok között statisztikailag kimutatható összefüggés nem volt.

A laboratóriumi leletekben mutatkozó eltérések tanulmányozása során arra a következtetésre lehetett jutni, hogy a pozitív vagy negatív irányú normál értéktől való eltéréseket sok kolléga nem jelölte meg, ezért azt csak egységesen sikerült elemezni. Bár szignifikáns eltéréseket itt, ilyenformán nem lehetett igazolni, azonban az esélyhányadost figyelembe véve elmondható, hogy azoknál, akik 20 évnél régebben dolgoznak aneszteziológiai munkahelyeken, vagy napi 8 óránál többet töltenek műtői környezetben, vagy a munkaidejük több mint 75%-ában zajlik inhalációs narkózis, a laboreredményeikben 2-2,5-ször gyakrabban található valamilyen eltérés.

Az epidemiológiai felmérés arra hívta fel a figyelmet, hogy a műtői környezetben töltött idő, az inhalációs narkózisok gyakorisága, az altatógázokkal történő napi kontaktus, bizonyítottan okoz szubjektív panaszokat és valószínűsíthetően befolyásolja a laboratóriumi eredményekben észlelhető eltéréseket is.

Figyelembe kell venni azonban, hogy a műtői környezetben egyéb káros hatású faktorok is megjelennek, mint az ionizáló sugárzás, kontaktus a különböző testnedvekkel, a hőterhelés és természetesen az ellátás közben megjelenő stressz faktor. Az aneszteziológiai munkakörben kötelezően előírt félévente történő egészségügyi szűrővizsgálat viszont azért fontos, mert akik fél évnél ritkábban jelentek meg üzemorvosi vizsgálaton, azok másfélszer gyakrabban kaptak olyan laboratóriumi értékelést, melyben valamilyen eltérés mutatkozott.

A kérdőívben utolsóként feltett kérdésre, melyben szöveges megjegyzésre és vélemény nyilvánításra volt lehetőség, a válaszadók közül többen a rossz munkakörülményeket, az elhúzódó, akár 12 órát is meghaladó műtőben tartózkodást és az elszívőrendszerek teljes hiányát, vagy nem megfelelő működését írták le.

15. kérdés felbontva az egyes laboratóriumi eltérések szerint (igen/nem):	6. kérdés: Hány éve dolgozik a munkakörében? A kérdés alapján a dolgozókat két csoportra osztottuk: 1 csop: Nem több, mint 20 éve 2 csop: Több, mint 20 éve	7. kérdés: Naponta átl. hány órát tölt műtői környékben. A kérdés alapján a dolgozókat két csoportra osztottuk: 1. csop: 8 óránál kevesebbet 2. csop: 8 óránál többet	8. kérdés: Munkájának hány %-ban zajlik inh. narkózis? A kérdés alapján a dolgozókat két csoportra osztottuk: 1. csop: Kevesebb, mint 75 % 2. csop: Több, mint 75%	10. kérdés: Munkája során hány %-ban áll? A dolgozókat két csoportra osztottuk: 1. csop: Kevesebb, mint 50 % 2. csop: több, mint 50%
Fehérvérsejt szám	p: 0,334 Odds ratio:0,302	p: 0,726 Odds ratio:0,648	p: 0,935 Odds ratio:1,107	p: - Odds ratio:-
Süllyedés	p: - Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-	p: 0,571 Odds ratio:2,25	p: - Odds ratio:-
Vörösvérsejtszám	p: 0,284 Odds ratio:3,305	p: 0,076 Odds ratio:3,150	p: 0,134 Odds ratio:5,514	p:0,234 Odds ratio: 2,964
Thrombocyta	p: 0,489 Odds ratio:0,500	p: 0,291 Odds ratio:6,418	p: 0,336 Odds ratio:0,345	p: 0,806 Odds ratio:0,782
Kálium	p: 0,305 Odds ratio:0,229	p: - Odds ratio:-	p:- Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-
Fluor	p: - Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-
Klór	p: - Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-
Vércukor	p: 0,401 Odds ratio:2,600	p: 0,127 Odds ratio:5,659	p: 0,402 Odds ratio: 0,454	p: 0,894 Odds ratio:1,146
Májfunkció	p: 0,124 Odds ratio:2,846	p: 0,782 Odds ratio:0,855	p: 0,693 Odds ratio:1,313	p: 0,799 Odds ratio:0,713
Vesefunkció	p: - Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-	p: - Odds ratio:-
Bármilyen laboratóriumi eltérés	p: 0,159 Odds ratio: 2,34	p: 0,391 Odds ratio: 2,062	p: 0,104 Odds ratio: 2,449	p: 0,065 Odds ratio: 0,611

VIII. táblázat
A kérdőívek statisztikai értékelésének eredményei I.

	7. kérdés: Naponta átl. hány órát tölt műtői környezetben. A kérdés alapján a dolgozókat két csoportra osztottuk: <i>1. csop: <8 óránál</i> <i>2. csop: >8 óránál</i>	8. kérdés: Munkájának hány %-ban zajlik inh. narkózis? A kérdés alapján a dolgozókat két csoportra osztottuk: <i>1. csop: <75 %</i> <i>2. csop: >75%</i>	9. kérdés: Milyen messze tartozkodik az alt. géptől ált-ban? A kérdés alapján a dolgozókat két csoportra osztottuk: <i>1. csop: <50 cm</i> <i>2. csop: 50 cm-en túl.</i>	10. kérdés: Munkája során hány százalékban áll? A kérdés alapján a dolgozókat két csoportra osztottuk: <i>1. csop: <75 %</i> <i>2. csop: >75%</i>
19. kérdés: Hatás, melyet altatógáznak tud be	p: 0,039 Odds ratio: 2,784	p: 0,028 Odds ratio: 3,67	p: 0,537 Odds ratio: 1,336	p: 0,353 Odds ratio: 1,71
20. kérdés: Fáradság, álmoság	p: 0,039 Odds ratio: 2,784	p: 0,386 Odds ratio: 1,543	p: 0,161 Odds ratio: 1,883	p: 0,974 Odds ratio: 0,981
21. kérdés: Fejfájás	p: 0,429 Odds ratio: 1,410	p: 0,268 Odds ratio: 1,696	p: 0,279 Odds ratio: 1,72	p: 0,3 Odds ratio: 0,436
22. kérdés: Mellkas fájdalom	p: 0,414 Odds ratio: 1,627	p: 0,636 Odds ratio: 1,336	p: 0,392 Odds ratio: 1,711	p: 0,958 Odds ratio: 0,957
23. kérdés: Lassú/gyors szívverés	p: 0,959 Odds ratio: 0,917	p: 0,313 Odds ratio: 0,605	p: 0,123 Odds ratio: 2,089	p: 0,747 Odds ratio: 1,212
24. kérdés: Hörgő irritáció	p: 0,993 Odds ratio: 1,004	p: 0,583 Odds ratio: 1,284	p: 0,279 Odds ratio: 1,668	p: 0,665 Odds ratio:
25. kérdés: Nyálkahártya irritáció	p: 0,465 Odds ratio: 1,363	p: 0,322 Odds ratio: 1,548	p: 0,458 Odds ratio: 0,709	p: 0,83 Odds ratio: 1,136
26. kérdés: Szédülés	p: 0,233 Odds ratio: 1,647	p: 0,845 Odds ratio: 0,917	p: 0,188 Odds ratio: 1,827	p: 0,995 Odds ratio: 1,004
27. kérdés: Remegés	p: 0,270 Odds ratio: 2,115	p: 0,377 Odds ratio: 0,484	p: 0,581 Odds ratio: 0,66	p: 0,714 Odds ratio: 0,667
29. kérdés: Nyugtalanág	p: 0,842 Odds ratio: 1,092	p: 0,809 Odds ratio: 1,118	p: 0,537 Odds ratio: 1,336	p: 0,147 Odds ratio: 0,315
30. kérdés: Légszomj	p: 0,69 Odds ratio: 1,341	p: 0,284 Odds ratio: 2,2	p: 0,831 Odds ratio: 0,844	p:- Odds ratio:-
31. kérdés: Hányinger	p: 0,265 Odds ratio: 1,910	p: 0,724 Odds ratio: 0,8	p: 0,808 Odds ratio: 1,162	p: 0,345 Odds ratio: 0,361
32. kérdés: Ájulás érzés	p: 0,097 Odds ratio: 2,700	p: 0,723 Odds ratio: 0,80	p: 0,927 Odds ratio: 0,943	p: 0,397 Odds ratio: 0,4
33. kérdés: Önkontroll vesztes	p: 0,880 Odds ratio: 0,868	p: 0,543 Odds ratio: 0,50	p: 0,757 Odds ratio: 0,748	p: 0,189 Odds ratio: 3,524
34. kérdés: Halálfélelem	p: 0,424 Odds ratio: 2,698	p: 0,29 Odds ratio: 4,32	p:- Odds ratio:-	p:- Odds ratio:-
35. kérdés: Látászavar	p: 0,134 Odds ratio: 5,514	p: 0,584 Odds ratio: 0,536	p: 0,275 Odds ratio: 3,6	p: 0,856 Odds ratio: 1,217

*IX. táblázat
A kérdőívek statisztikai értékelésének eredményei II.*

	<p>17. kérdés: Milyen gyakran kerül közvetlen kapcsolatba altatógázokkal? A dolgozókat két csoportra osztottuk: 1., csop.: Hetente vagy ritkábban 2., csop.: Napi rendszerességgel</p>	<p>18. kérdés: Milyen gyakran érzi az altatógáz jellegzetes illatát? Szintén két csoportot vizsgáltunk: 1., csop.: Hetente vagy ritkábban 2., csop.: Napi rendszerességgel</p>
19. kérdés: Hatás, melyet az altatógáznak tud be	<p>p: 0,03 Odds ratio: 2,934</p>	<p>p: 0,001 Odds ratio: 4,877</p>
20. kérdés: Fáradtság, álmoság	<p>p: 0,083 Odds ratio: 2, 309</p>	<p>p: 0,002 Odds ratio: 4,318</p>
21. kérdés: Fejfájás	<p>p: 0,268 Odds ratio: 1,62</p>	<p>p: 0,141 Odds ratio: 1,950</p>
22. kérdés: Mellkas fájdalom	<p>p: 0,078 Odds ratio: 3,079</p>	<p>p:0,434 Odds ratio: 1,724</p>
23. kérdés: Lassú/gyors szívverés	<p>p: 0,155 Odds ratio: 1,892</p>	<p>p: 0,027 Odds ratio: 3,706</p>
24. kérdés: Hörgő irritáció	<p>p: 0,023 Odds ratio: 2,776</p>	<p>p: 0,109 Odds ratio: 2,300</p>
25. kérdés: Nyálkahártya irritáció	<p>p: 0,214 Odds ratio: 1,697</p>	<p>p: 0,017 Odds ratio: 3,688</p>
26. kérdés: Szédülés	<p>p: 0,685 Odds ratio: 0,844</p>	<p>p: 0,523 Odds ratio: 0,435</p>
27. kérdés: Remegés	<p>p: 0,305 Odds ratio: 0,477</p>	<p>p: 0, 18 Odds ratio: 4,267</p>
29. kérdés: Nyugtalanág	<p>p: 0,039 Odds ratio: 2,539</p>	<p>p: 0,007 Odds ratio: 5,814</p>
30. kérdés: Légzomj	<p>p: 0,997 Odds ratio: 0</p>	<p>p: 0,998 Odds ratio: 0</p>
31. kérdés: Hányinger	<p>p: 0,823 Odds ratio: 0,878</p>	<p>p: 0,34 Odds ratio: 1,93</p>
32. kérdés: Ájulás érzés	<p>p: 0, 823 Odds ratio: 0,878</p>	<p>p: 0,131 Odds ratio: 3,321</p>
33. kérdés: Önkontroll vesztés	<p>p: 0,796 Odds ratio: 0,785</p>	<p>p: 0,721 Odds ratio: 0,715</p>
34. kérdés: Halálfélelem	<p>p: 0,998 Odds ratio: 0</p>	<p>p: 0, 998 Odds ratio:0</p>
35. kérdés: Látászavar	<p>p: 0,796 Odds ratio: 1,209</p>	<p>p: 0,632 Odds ratio: 1,500</p>

X. táblázat
A kérdőívek statisztikai értékelése III.

XIII. Megbeszélés

A környezeti hatásokkal szemben a sejtek intracelluláris molekuláris válaszreakciók sorozatával reagálnak, egyrészt, hogy a megváltozott környezeti körülményekkel szemben fiziológiás működésüket változatlanul fentartsák, másrészt, hogy az őket ért környezeti hatásból fakadó funkcionális és strukturális károsodásokat kompenzálják. Az eddigi vizsgálatok azt igazolták, hogy a volatilis anesztetikumok számos ilyen specifikus molekuláris szintű változást képesek kiváltani. (4,5,7,) Bastian és munkatársai az Izoflurán expozíciót követő fokozott általános RNS transzkripciót igazolt Wistar patkányok májában. (20) Hamaya és kutatócsoportja a gyorsan aktiválódó c-jun és c-fos transzkripció faktorok kifejeződésének emelkedését mutatták ki Sprague-Dawley patkányok agy, tüdő és veseszöveiben Izoflurán expozíciót követően. (16)

A kísérleteink helyszínéül szolgáló Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Orvosi Népegészségtani Intézetében évtizedek óta folyik a környezeti expozíciók, különböző ágensek és egyéb stresszfaktorok molekuláris biológiai vizsgálata. Így a környezetünkben, a munkahelyeken vagy a táplálkozási szokások kapcsán potenciálisan megjelenő, karcinogenezisben szereppel bíró faktorok vizsgálatára, és hatásaik elemzésére egy in-vivo állatmodell alkalmazása történik eredményesen. A kémiai karcinogének, mint például a 7,12 Dimetilbenzantracén hatásának vizsgálata (122,123,127), az 1-Nitropirén rövid és hosszútávú expozíciójának kitett kísérleti állatok kulcsgéneinek vizsgálata (128,129,131), illetve a ciklofoszfamid és a ciklosporin onko-szuppresszor génexpressziókra kifejtett hatásának elemzése, általában CBA/Ca H-2^k haplotípusú egértörzs felhasználásával történt. (137,138,139) A „short-term” tesztrendszer kidolgozása során lehetővé vált, hogy az expozíciót követően néhány órával a vizsgált gének expresszójában változásokat detektáljunk. Az általunk kiválasztott *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* kulcsgének, illetve az apoptotikus és gyulladáshoz kapcsolódó markerek génexpresszióinak érzékeny változásai bizonyították a fenti kísérletek alapján, hogy azok, korai biológiai markerként alkalmasak a karcinogenezist befolyásoló környezeti expozíció monitorizálására és a sejtfunkciók változásának bizonyítására. (132,133) Ahhoz, hogy eredményeinket molekuláris epidemiológiai szempontból megfelelően tudjuk értékelni és értelmezni, meg kell ismernünk azokat a bonyolult szabályozási mechanizmusokat, kaszkádokat, jelátviteli rendszereket, melyeket az általunk vizsgált gének által kódolt fehérjék befolyásolnak. A gének overexpressziója legtöbbször a fehérje szintézis fokozódásával jár, máskor a sejthalál bekövetkezését generálják, vagy éppen ellenkezőleg,

antiapoptotikus hatásúak. Ezeknek a gyakran egymásra épülő, máskor egymás ellen ható mechanizmusoknak a megismeréséhez az alábbiakban részletesen bemutatásra kerülnek az általunk vizsgált gének tumorbiológiában betöltött funkciói, azok fókuszba állításával.

XIII.1. Szignál transzdukció

A sejtfelszíni receptorok egy csoportja transzmembrán jelátviteli funkcióját enzimaktivitása révén látja el. A katalitikus receptorok legfontosabb és legnépesebb családját olyan membránfehérjék alkotják, melyek tirozinspecifikus fehérjekináz aktivitással rendelkeznek.

A receptorfunkció kritikus lépése a receptor-célfehérje komplexek kialakulása. A növekedési faktor receptorokkal kölcsönhatásba kerülő fehérjék elsődleges szerkezetének vizsgálata kiderítette, hogy hasonló strukturális elemeket tartalmaznak. Az aktivált növekedési faktor receptorokból több szignáltranszdukciós út indul ki. Ezek között vannak, amelyek közvetlenül a receptorról erednek, több jelátviteli utat azonban egy monomer G-protein család, a Ras fehérjék közvetítenek.

A Ras-fehérjéket eredetileg, mint daganatkeltő RNS-vírusok onkoproteinjeit azonosították, majd normális sejtekben is megtalálták őket. Kisméretű, egyetlen polipeptidláncból álló monomer G-proteinek, melyek izoprenillánccal rögzülnek a sejtthártya belső felszínén. Egyéb guaninnukleotid-kötő fehérjékhez hasonlóan inaktív, GDP-kötő és aktív, GTP-kötő alakban léteznek. A Ras fehérjék aktivációját a növekedési faktor receptorához kötődése idézi elő. Az autofoszforylált receptor speciális adapterfehérje molekulát köt meg: ez SH2-doménjével a receptorhoz, SH3-doménjével pedig egy olyan enzimhez kapcsolódik, mely a Ras fehérjén a GDP-t GTP-re cseréli. Az aktivált Ras-GTP-komplex effektorfehérjékre továbbítja a jelet, majd saját GTPáz aktivitása segítségével visszatér a nyugalmi Ras-GDP formába. A Ras ciklus zavarai gyakran vezetnek fokozott sejtproliferációhoz, daganatképződéshez.

A Ras-GTP komplexhez a citoplazmából effektor fehérjék kötődnek és viszik tovább a jelet a sejt belsejébe. A három ilyen legfontosabb pálya közül az egyik az ERK-út.

Az 1990-es évek egyik legjelentősebb sejtbiológiai felfedezése olyan fehérje-foszforylációs láncolatok leírása volt, melyekben általában mitogén stimuláció hatására hierarchikus rendszerben egymásra épülő proteinkinázok egymást foszforylálva-aktiválva továbbítják a jelet a sejtmembrántól a sejtmag felé. Az elsőként azonosított, szerin/treonin specifikus mitogén-aktivált proteinkinázokról (MAPK) ezeket a rendszereket összefoglaló néven MAPK-kaszkádnak nevezzük. A növekedési faktor jelátvitel MAPK-ai az extracelluláris

szignál által regulált kinázok. Ezeket MAPK-kinázok (MAPKK-ok) aktiválják tirozinon és treoninon végrehajtott foszforilációval. A növekedési faktor jelátvitelben részt vevő MAPKK-ok neve: MEK (MAPK/ERK kináz). A kaszkád legproximálisabb elemei a MAPKK-kinázok (MAPKKK-ok): ebben a jelátviteli útban eredetileg onkoproteinként felfedezett Raf-fehérjék. Az aktivált Ras-GTP-komplex a membránhoz vonzza a Raf szerin/treonin-specifikus kináz fehérjéket és rajtuk keresztül stimulálja az egész proteinkináz kaszkádot. Az ERK enzimek számos célfehérjét foszforilálnak. Egyes molekulái a sejtmagba is transzlokálódnak és ott transzkripciós faktorokat is aktiválnak. A növekedési faktor jelátvitel egyik fontos célpontja a szérum-reszponzív elem nevű enhancer. Ehhez trimer szerkezetű transzkripciós faktor kapcsolódik, melynek egyik alegységét foszforilálja az ERK. Így az SRE-tartalmú célgének transzkripciója fokozódik. A génindukció gyorsan, néhány perccel a növekedési faktor receptorhoz kötődése után bekövetkezik. Az indukált gének (ún. korai válasz gének) közül sokan transzkripciós faktorokat kódolnak (pl. a Fos, Jun, Myc fehérjét), melyek szintézisüket követően a sejtmagba transzlokálódnak és egy második génindukciós hullámot idéznek elő. (8,12,14) Az úgynevezett késői válasz gének termékei (pl. ciklin fehérjék) hozzák létre a sejt biológiai változásait (pl. proliferáció, differenciáció). Emlős sejtekben több, hasonló szerkezetű, de eltérő funkciójú MAPK-kaszkádot azonosítottak az elmúlt években. Az ERK pálya jelentőségét aláhúzza, hogy a humán daganatok 85%-ában a normálisnál aktívabban működik. (98)

Genetikai és molekuláris biológiai módszerek segítségével további mitogén-aktivált proteinkináz izoenzimeket fedeztek fel. (73) Ezek egymással szekvencia-rokonságot mutatnak és szabályozásuk is az ERK-enzimekhez hasonló elvek alapján, MAPKK és MAPKKK enzimek által közvetített fehérje-foszforilációs kaszkád útján történik.

Az új MAPK utak között vannak olyanok, melyek a sejt stresszválaszát közvetítik. A sejtet élete során számos stresszhatás érheti: sugárzások, hősokk, DNS-károsodás, oxidatív stressz, bizonyos extracelluláris ligandok, ozmotikus sokk, mérgező anyagok. A sejtnak ilyenkor két lehetősége van, hogy helyreállítsa a megbomlott egyensúlyt: túlélési regenerációs képességének fokozása vagy sejthalál indukálása. A túlélésben az ERK-út, a sejtpusztulás előidézésében más MAPK-kaszkádok: a JNK- és a p38-út játszanak szerepet.

A stresszválasz általában génexpresszió változásokkal jár. (15,72) Ezeket a hatásokat számos transzkripciós faktor közvetíti, közülük is talán a legjelentősebb az *NFκB* faktor család. Az NFκB fehérjét B limfocitákban, mint az immunglobulin kappa-lánc génjének regulátorát fedezték fel, innen származik az elnevezés: nukleár faktor KB. A faktorcsalád egyes tagjai azonban minden szövetünkben expresszálódnak, a stresszválaszon kívül a sejt túlélés és a

sejthalál szabályozásában is szerepet játszanak. (71) Nyugalmi sejtben az *NFκB*-heterodimer egy gátló fehérjével (IKB, inhibitor KB) alkot komplexet és a citoplazmában, tehát inaktív formában mutatható ki. Stresszhatásra (pl. sejtfelszíni receptorokon keresztül ható, gyulladást kiváltó fehérjék, oxidatív stressz, bizonyos vírusok hatására) az IKB-t specifikus fehérjekináz foszforilálja, aminek következtében a gátlófehérje proteasomális degradáció áldozatául esik. A felszabaduló *NFκB* transzlokálódik a sejtmagba és számos célgén transzkripcióját serkenti: gyulladási citokinek, immunreceptorok, sejtadhéziós fehérjék, a sejthalált szabályozó proteinek képződnek, ezek együttes hatása adja meg a sejt válaszát a környezeti behatásra. (74,99)

XIII.2. Apoptózis

Általánosan elfogadott nézet napjainkban az, hogy minden fiziológias sejthalál, de a patológias sejtpusztulások számos fajtája is apoptózissal megy végbe. Az apoptózist olyan, gyakran fiziológias hatások váltják ki, melyek önmagukban nem halálosak. A sejt maga „döntheti el”, hogy életben marad-e vagy pedig elpusztítja magát. Ez a fajta sejthalál tehát aktív, szabályozott folyamat, melynek lebonyolításában génexpressziós változások is szerepet játszanak. A programozott sejthalál rendkívül összetett folyamat, lebonyolításában több ezer fehérje vesz részt. A p53-fehérje a sejtek daganatos átalakulásának gátat szabó tumor szuppresszor fehérjék legfontosabbika. Transzkripciós faktor, mely számos apoptózist kiváltó (proapoptotikus) fehérje génjét indukálja. Stresszhelyzetben (DNS-károsodás, szérumeheztesítés, stb.) mennyisége megnő a sejtben. (100) Karcinogének hatására aktiválódik, megnő a szintézis, ezért egy expozíciót követő, korai biológiai hatás markereként jól használható. A p53 expressziójától függően bír jelentős szereppel az apoptózis gátlása, vagy proapoptotikus szabályozó tevékenységével a programozott sejthalál elősegítése révén a karcinogenezisben.

Ha egészséges sejtekben genotoxikus hatásokra DNS károsodások jönnek létre, azok egy bizonyos szint felett a sejt pusztulását eredményezik. A rosszindulatú daganatsejtek ezt a képességüket elveszítették: a genomban felhalmozódó mutációk nem vezetnek apoptózishoz. Ennek leggyakoribb oka a p53 fehérje funkciójának elvesztése.

XIII.3. Génmutáció és malignus transzformáció

A daganatok mutációs eredete széles körben elfogadott, tudományosan bizonyított tény. Az esetek egy részében, a sejt változását az okozza, hogy onkogén vírus transzformáló génje integrálódik genomjába, annak terméke pedig daganatos sejtburjánzást idéz elő. A daganatok nagyobbik hányadában azonban a vírusetiológia nem mutatható ki. Az első nonvirális eredetű humán celluláris onkogént egy emberi hólyagtumor sejtvonala DNS-ében azonosították. Ezután, transzfekciós kísérletsorozatokban azt találták, hogy az összes humán neoplázia mintegy 20-30 százalékában mutatható ki géntranszferrel onkogén szekvencia. A géntranszferrel kimutatható humán onkogének döntő többsége pontmutációval aktivált ras-gén. Az összes daganat 20-25 százalékában mutattak ki ras-mutációt. A mutáció következtében a Ras fehérje konstitutívan GTP-kötő állapotba kerül és folyamatosan küld mitogén szignálokat a sejt belsejébe. Az emlős sejtek háromféle ras-génje közül kettő (a rasH és a rasK) retrovirális megfelelője transzdukáló vírusban is jelen van. Természetesen más gének is aktiválódhatnak pontmutációval. A daganatképződés szempontjából természetesen lényeges, hogy milyen celluláris gént érint a mutációs esemény. Egy önmagában gyenge onkogenitású retrovírus, az avian leukémiavírus (ALV) integrációja a genomba, csak akkor okoz malignus transzformációt, ha ez a folyamat a genom meghatározott helyén megy végbe. A daganatképződés szempontjából tehát nyilvánvalóan lényeges, hogy milyen gént érint ez a mutációs esemény. Az ALV esetében ez egy transzkripció faktor kódoló protoonkogén, a c-myc. Ez a gén, növekedési faktorok és más mitogén ágensek által is hatásosan indukálható, melynek fontos szerepe van a normális sejtproliferáció szabályozásában.

A génamplifikáció során a gének sokszorozódása abnormális replikáció eredménye. Az amplifikáció legismertebb példája az N-myc gén sokszorozódása neuroblasztómában, de más gének, így a c-myc kópiaszáma is megnőhet különböző daganatokban. (101)

XIII.4. Onkogének és tumorszuppresszor gének által kódolt fehérjék

A celluláris onkogének a protoonkogének domináns hatású, aktivált formái, melyek proliferációt serkentő fehérjéket kódolnak.

Bizonyos sejtfüziós kísérletek eredményeiből arra lehet következtetni, hogy a normális sejtekben vannak olyan gének, melyek elnyomják a tumorsejtek transzformációjáért felelős

gének hatását, ezek az onkogének tehát recesszívek, hatásuk csak akkor érvényesül, ha a sejt elveszíti a normális alléleket. A recesszív onkogének normális, vad típusú alléljeinek funkciója tehát az, hogy meggátolja a sejtek malignus proliferációját, nevük ebből a hatásból származik: tumor szuppresszor gének. Ezt többféle mechanizmussal érhetik el: a sejtek G₀ fázisba vitelével, terminális differenciáció indukálásával, apoptózis kiváltásával.

A p53 fehérje, mely nevét molekulatömegéről kapta, klasszikus tumor szuppresszor fehérje. A humán daganatok több mint 50 százaléka mutáns p53 gént tartalmaz. A p53 daganatsejtekben expresszálva megszünteti azok tumorogenitását. A p53 fehérje egy ubikviter expressziójú transzkripció faktor, melynek szintje növekedési faktoral stimulált sejtekben nagyon alacsony. Ezért egy protoonkogén hatású fehérje, az Mdm2 felelős. A növekedési faktor jelátviteli utak az Mdm2 fehérjét indukálják és foszforilációval aktiválják is. Ez a fehérje egy p53-ubikvitináló enzim, melynek hatására a p53 fehérje gyorsan lebomlik. Génjét ugyanakkor a p53 transzkripció faktor is indukálni képes, így a két fehérje negatív feedback mechanizmussal szabályozza egymást.

A p53 fehérje mennyisége akkor nő meg a sejtben, ha azt a sejtszaporodást befolyásoló stresszhatások érik. Ezek közül a legfontosabbnak a DNS károsodása látszik. A DNS-ben a sugárzás vagy kémiai anyagok hatására létrejött sérüléseket speciális fehérjék ismerik fel, majd hatásukra megnő a p53 fehérje mennyisége, részben foszforiláció, részben fehérje-fehérje kölcsönhatások közvetítésével. A DNS károsodás mértékétől függően a p53 két különböző utat nyithat meg a sejt számára a krízishelyzetből való „menekülésre”. Enyhe károsodás esetén leállítja a sejtciklust, a sejt mindaddig G₀ fázisban marad, amíg a DNS károsodást ki nem javítja; ebben segít, hogy a p53 a DNS reparáció néhány génjét is indukálja. Ha a DNS károsodás olyan súlyos, hogy nincs remény a kijavítására, a p53 elsősorban proapoptotikus gének indukációjával apoptózist idéz elő.

A p53 fehérje mindkét hatása a genom integritásának megőrzését szolgálja. Ha ez a funkció elvész, akkor a sejtben mutációk halmozódnak fel, genetikai instabilitás lép fel. (102)

Szervezetünk számos mitogén hatású anyag, úgynevezett promóter hatásának van kitéve. Szerepük a természetes karcinogenezisben kiemelkedően fontos. Promóterhatás érvényesül a krónikus gyulladáshoz vezető daganatképződésre hajlamosító hatásában is. A hepatitisz B és C vírusok által kiváltott krónikus májgyulladásban, colitis ulcerosában és más gyulladáshoz vezető állapotban, az érintett sejtekben aktiválódik az NFκB jelátviteli út. Ez egyrészt fokozza a sejtproliferációt, másrészt gyulladáshoz vezető citokinek termelésére sarkallja a sejteket, így önmagát erősítő pozitív feedback szabályozáshoz vezet. Ilyen körülmények között megnő a gyorsan szaporodó sejtek malignus elfajulásának valószínűsége. (103)

XIII.5. A *GADD45* gének és az általuk kódolt fehérjék szerepe a karcinogenezisben

A *GADD45* (growth arrest and DNA damage induced gene-45) gének közé tartozik a *GADD45A* (alfa), melyet általánosan *GADD45*-ként említnek, a *GADD45B* (béta), mely MyD118 és a *GADD45G* (gamma), mely CR6 (cytokine response gene) néven ismert. Ezek a gének olyan stresszválaszok szabályozásában vesznek részt emlős szervezetek sejtjeiben, melyeket leginkább genototoxikus, de néha nem genotoxikus stressz (UV fény, röntgen és gamma sugárzás, toxikus kémiai ágensek) indukálnak, így szabályozva a tumor keletkezés mechanizmusát. A *GADD45* fehérjék a stresszválasz kialakítása során kölcsönhatásba lépnek egyéb stressz indukálta fehérjékkel, így a PCNA, p21, Cdc2/CyclinB1, MEKK4, és a p38 kinázzal.

A *GADD45* egy magfehérje, mely normál szövetekben leginkább nyugalmi fázisban lévő sejtekben expresszálódik. Mennyisége a G1 sejtciklusban a legmagasabb, és az S fázisban a leginkább redukált.

A sejtciklusban a növekedés gátlás az egyik legfontosabb sejtválasz, mely genotoxikus stressz során történik. A *GADD45*-nek, melynek expressziója a *p53* tumor szuppresszor és transzkripciófaktor által is szabályozott, egyik fő feladata, hogy DNS károsodást okozó különböző ágensek expozícióját követően a sejtciklus G(2)-M fázisát szabályozza. Azokban a sejtekben ahol nem expresszálódik megfelelő szinten a *p53*, ott a *GADD45* mRNS és fehérje szintjének növelését az EGF végzi. A *GADD45* fehérje középső aminosav szekvenciájával interakcióba lép a Cdc2 (cyclin dependent kinase) fehérjével és gátolja a Cdc2 kináz aktivitást. A *GADD45* indukálta G(2)-M sejtciklus gátlás viszont megszűnik, ha az említett Cdc2-höz kapcsolódó 65-84 aminosav szekvencia meg bomlik. A G(2)-M sejtciklus gátlása korrelál a *GADD45* által mediált sejtnövekedés szuppresszióval is.

A *GADD45* expresszióját a Myc fehérjék elnyomják, így erősen stimulálva a sejtproliferációt azzal, hogy a sejteket a G0/G1 fázisból kimozdítva a sejtciklusba lépteti azokat.

Mindhárom *GADD45* fehérje az MTK1 N terminális doménjéhez képes kapcsolódni. Ez egy olyan kináz, amely aktiválja a stresszválasz p38 és JNK mitogén aktivált fehérje-kináz útvonalakat, amelyek a sejtciklus és az apoptózis szabályozásában vesznek részt. A *GADD45* gének fokozott expressziója tehát programozott sejthalált indukál. (104,105)

XIII.6. Eredmények megbeszélése

Elvégzett kísérleteinkben kulcsgének, a *c-myc* és a *Ha-ras* onkogének, a *p53* tumor szupresszor gén, a sejttúlélést az apoptózis gátlása révén szabályozó *NFκB*, az egyszálú DNS károsodásra aktiválódó *GADD45α* és a vele szoros jelátviteli összeköttetésben álló, apoptózist indukáló *MAPK8* gén Izoflurán expozíciót követő expresszió változásait vizsgáltuk CBA/Ca egértörzsben. Molekuláris szempontból ennyire részletes, a tumorigenezisben szereplő fehérjéket kódoló géneknek, ilyen széleskörű vizsgálatát, irodalmi adatokat figyelembe véve, még soha nem végezték, inhalációs anesztetikum expozíciót követően. (50,51,52)

A *c-myc* és a *p53* gének fokozott kifejeződését találtuk 3 órával az expozíciót követően hím egyedek lépében, veséjében, timuszában, nyirokcsomójában és a csontvelőjében. Nőstényeknél a korai overexpressziót legkifejezettebben a lépben és a csontvelőben tapasztaltuk. A 24 órával az Izoflurán expozíciót követő vizsgálatok viszont, már mindkét nemből és szinte minden vizsgált szervben jeleztek fokozott génexpressziót. Ez alól kivétel csak a hímek vese és csontvelő mintája volt. Ebben a vizsgálati időpontban azonban már a *Ha-ras* onkogén overexpresszióját is több szerv és mindkét nem esetén tapasztalhattuk. Nőstényeknél a fokozott expresszió még 48 óra elteltével is fennállt. (116,117,118) Az exponált szervek élettani funkciójának, az Izoflurán ismert metabolizmusának és organotoxikus hatásainak ismeretében, vizsgálatunk az általunk várt eredményeket hozták.

Kísérleteinkben a fokozott onkogén és szupresszorgén expressziót mutató szövetek megfelelnek a Kim és munkatársai által végzett kísérletben leírt, Izoflurán expozíciót követően DNS károsodást mutató szöveteknek. (62) A máj érintettsége mindkét nemből megjelent, ugyan nőstényeknél a hímekéhez képest később, azonban a kontroll csoporthoz viszonyítva mindkét nemből, mindhárom vizsgált gén tekintetében szignifikánsan változott az expresszió. A lép esetében igazán markáns különbségeket a szignifikancia tekintetében nem találtunk a két nem között, az expressziós mintázatban azonban volt kisebb mértékű eltérés. A májhoz hasonlóan azonban, először 3 óránál a *c-myc* és a *p53* gének expressziója növekszik egymás mellett paralell haladva, majd 24 óra elteltével a *Ha-ras* is szignifikáns emelkedést mutat, mely hímek esetében 48 óra után tovább nő. Már ekkor feltételezhető volt, mely a többi szerv esetén is bizonyítást nyert, hogy a *Ha-ras* indukciója később kezdődik, mint a másik két vizsgált kulcsgéné. A tüdő, mely legfőbb célszervként szerepel az inhalációs anesztetikum expozíció „keresztüzében”, hasonló mintázatú génkifejeződési reakciót

mutatott, mint a máj és a lép. 24 órával a narkózist követően egyszerre tapasztalhattuk a három vizsgált gén szignifikáns overexpresszióját hímekben, mely nőstény egyedekben is megjelent, azonban itt ekkor még nem szignifikánsan, azonban 48 óra elteltével itt is többszöröse lett mindhárom gén overexpressziója a kontroll csoportéhoz képest.

A timusz a csontvelő és a paraaortikus nyirokcsomó vizsgálata során több hasonló következtetést sikerült levonni. A három említett szerv immunrendszerben betöltött fontos szerepe és néhány ponton hasonló szövettani tulajdonságai magyarázatul szolgálhatnak az eredményeinkben bemutatott párhuzamos eltérésekre. A timusz állományának alapját egy úgynevezett hámrétikulumsejtekből álló hálózat képezi, melynek nyúlványos sejtjei között fejlődésben lévő T-limfociták töltik ki a teret. A csontvelő alapszöve, szintén retikuláris kötőszövet. A csontvelőből származó T-limfocita-előalakok, nagyrészt a timuszhormonok segítségével az érpályán keresztül eljutnak a timuszba, és annak állományába hatolnak, ahol vándorolni és osztódni kezdenek, majd TCR-génjeik átrendeződnek. A TCR (T-sejt-receptor) egy sejt felszíni kétláncú fehérje, melynek feladata az antigén-felismerés. Ezután a T-limfociták 0,5-1%-a $\gamma\delta$ -TCR-kifejezővé válik, majd visszakerül a keringésbe, és elhagyja a csecsemőmirigyét. Azonban a limfociták több mint 99%-a $\alpha\beta$ -TCR-, CD4- és CD8-expresszálóvá válik, majd ezt követően pozitív és negatív szelekción esik át. Az apoptózis több mint 90%-ban következik be. Végül a sejtek megszüntetik vagy CD4-, vagy CD8-expressziójukat, és kikerülnek a keringésbe. Az eztán CD8-at kifejező sejteket citotoxikus T-limfocitáknak nevezzük. Az organototoxicitásnál leírt, az Izoflurán alkalmazása során is bizonyított antigén-derivátumokkal operáló immunallergiás mechanizmusok szerepe ezen a ponton feltételezhető.

A timusz sejtjei egy eddig nem tapasztalt módon reagáltak az Izoflurán és az oxigén expozíciójára. A *p53* génexpressziója nőstény egerekben Izoflurán hatására emelkedik és oxigén esetében csökken, míg hímek esetében is szignifikáns a változás, de csak 24 óránál, az altatógáz tekintetében, míg a kontroll csoportban folyamatosan növekvő overexpresszió tapasztalható. Ennek a jelenségnek a magyarázata a gén „Janus-arcúságában” rejlik. A nyirokcsomóban, szintén nőstények esetében fokozottabb a génexpresszió, főleg 24 és 48 óránál, és ugyanez tapasztalható a csontvelőnél is a 24 órával az expozíciót követő vizsgálat során.

A két nemből észlelt különbség hátterében a neurohormonális különbségekből fakadó eltérések szerepe feltételezhető, melyek érinthetnek a DNS repair aktivitás szabályozásában és a jelátviteli szabályozásban is szerepet játszó géneket. (75,76) Vizsgálatunk az eddigi nemzetközi vizsgálatok eredményével egyhangúan azt támasztja alá, hogy az Izoflurán

expozíció a poszttranszkripcionális génkifejeződést serkenti, ez látható a *c-myc* és a *Ha-ras* onkogének vonatkozásában is, melyeknek a többlépcsős karcinogenezis folyamatában kulcsfontosságú szerep jut. Emellett fokozza a *p53* tumor szupresszor gén átíródását is, melynek a károsodott genetikai állományú sejtben a programozott sejthalál indukciójában van szerepe. (21) A karcinogenezisben ellentétes szerepet betöltő kulcsgének párhuzamos, fokozott mértékű expressziójának következményét vizsgálataink alapján nem lehet meghatározni. Az expressziókinetika különbségeinek oka valószínűsíthetően multifaktoriális eredetű, melyben bizonyosan szerepet játszik a nemenként eltérő hormonális szabályozás és a különböző testösszetétel is. (15,18,19)

A napjainkban különösen nagy hangsúlyt kapott epigenetikai kutatások mikroRNS-ek vizsgálatával bizonyították a környezeti hatások akár nemenként jelentősen eltérő, több stresszfaktor tekintetében bizonyíthatóan örökölhethető, a genomban megjelenő változásait.

A miRNS-ek kiemelkedő szerepet töltenek be a génexpresszió és ezáltal számos fontos, a sejt homeosztázisához elengedhetetlen biológiai folyamat szabályozásában. Minden egyes miRNS potenciálisan több száz kódoló gén expresszióját regulálja, befolyásolva azok működését. A target gén természetéből adódóan a miRNS-ek onkogénekként (onkomir) és tumorszupresszor génekként is funkcionálhatnak. Ugyanakkor az onkogének vagy szupresszorgének hatására is megváltozhat a miRNS expresszió, melyre példa a *p53*-miR-34 kapcsolata. (142) A mikroRNS-ek mindegyik, a vizsgálatunkban résztvevő kulcsgén expressziójára hatással vannak, így például *Ha-ras* esetén a miR-380, a *c-myc* onkogénnél a *let-7a*, a miR-34a, a miR-34c, a *p53* szupresszor gén kapcsán a miR-29 és a miR-140, vagy az *NFκB* esetében a miR-146a, miR-132 és a miR-155 hatása bizonyított tény. (125)

A gyulladáshoz köthető markerek vizsgálatára tervezett kísérlet eredményeiben 1 órás expozíciót követően a CBA/Ca egerek vese szöveteiben fokozott kifejeződést mutattak az egyszálú DNS károsodást jelző *GADD45α* és a vele párhuzamosan aktiválódó, a károsodott DNS tartalmú sejtek apoptózist serkentő *MAPK8* gének, míg a sejttúlélést serkentő, antiapoptotikus hatású *NFκB* csökkent kifejeződést mutatott. A tüdőben ezzel szemben 120 perces Izoflurán narkózist követően az *NFκB* gén fokozott expressziója és a *GADD45α*, valamint a *MAPK8* csökkent expressziója volt észlelhető. (51,52,91) Ezt a reciprok-szabályozást a tüdő és veseszövetben vizsgálataink alapján egyértelműen megmagyarázni nem tudjuk, de valószínűsíthetően a DNS károsodást közvetlenül kiváltó ionos és nem ionos fluoridtartalmú Izoflurán metabolitokkal hozható kapcsolatba, melyek koncentrációja – így a szövetek

expozíciója – eltérő, az ott zajló metabolizmus aktivitásától függően. A fluoridtartalmú metabolitok vesén át történő ürülésük következtében a vese szövetekben a többi szövethez képest jóval nagyobb koncentrációt érnek el. (5,31,66,67) Kísérletünkből kiderült, hogy az Izoflurán expozíció, jelentős mértékben befolyásolja a DNS károsodás következtében aktiválódó és a programozott sejthalál szabályozásában résztvevő géneket is.

Vizsgálataink felhívják a figyelmet arra, hogy az Izoflurán esetében szükség volna az apoptotikus-antiapoptotikus folyamatokban és ezen keresztül a karcinogenezisben betöltött szerepének részletes és pontos tisztázására, annál is inkább, mert kísérleteink számos más nemzetközi kísérlettel párhuzamosan jelzik az Izoflurán kimutatható biológiai hatását ezekre a folyamatokra. Ez a tény, a narkózison alkalmasszerűen áteső betegek szempontjából sem feltétlenül elhanyagolható, de elsősorban fokozott figyelmet kellene szentelni az altatógázokkal, így az Izofluránnal napi szinten exponálódó egészségügyi személyzet daganatkialakulási kockázatának.

Az általunk tervezett kérdőíves felmérés a dolgozók daganatkialakulási valószínűségét ugyan nem volt képes monitorizálni, azonban a szubjektív panaszok megjelenése szignifikáns összefüggést mutatott az Izoflurán expozícióval. Mint kórélettani tanulmányokból ismert, a tartósan fennálló szubjektív panaszok gyakran, végül szervi elváltozások képeiben is manifesztálódhatnak. Sajnos nem áll rendelkezésünkre olyan adatbázis, melyből bizonyítást nyerhetne, hogy a krónikus altatógáz expozíciónak kitett dolgozók között gyakoribb a tumor incidencia, így ezt nem is állíthatjuk. Állatkísérletek, és az általunk végzett génszintű kutatások azonban ennek a tézisnek a lehetőségét felvetik.

A megkérdezett dolgozók körében több olyan szubjektív panasz is volt, melyet nem lehetett bizonyíthatóan az inhalációs anesztetikum hatásának betudni, azonban volt olyan eltérés, például a hörgő irritáció és a nyálkahártya irritáció tekintetében, amely szignifikánsnak mutatkozott. Ezekben az esetekben nemcsak az illatot detektálók, de a napi kapcsolatba kerülők is, ilyen panaszokat gyakrabban éltek meg. A hörgő irritáció kialakulásához már a volatilis anesztetikummal napi kapcsolatba kerülés is szignifikáns eltérést hozott, a nyálkahártya irritáció pedig az illatot megérezők között 3,68-szor gyakrabban fordult elő, mely szignifikáns eltérés. A hörgő-rendszer és a nyálkahártya krónikus irritációja, esetleg eróziója, más ágensek esetében bizonyítottan malignus elfajulás origói lehetnek, így az Izoflurán mint irritatív anyag, ilyen jellegű mellékhatásával, tartós expozíció kapcsán gondolni kell.

A kérdőívek feldolgozása után jogosan vetődik fel az az igény, hogy a „láthatatlan” elváltozásokat, hogyan lehet időben, rutinszerűen végzett biológiai monitorizálással szűrni, ezzel jelentős alapot adva a preventív szemléletnek.

A korai biológiai hatásokat jelző markerek vizsgálatának fontosságára több, a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvosi Karának Népegészségtani Intézetében publikált eredmény is felhívta a figyelmet. A krónikus hatásként megjelenő, potenciális karcinogén „leleplezéséhez” több epidemiológiai, biológiai és genetikai alapú technika is rendelkezésre áll. Némelyik ezek közül, akár a perifériás vérből izolált fehérvérsejtekből extrahált RNS vizsgálatával bizonyított olyan - például etilén-oxid indukálta jelentős kulcsgén expresszió-változásokat, melynek háttérében semmilyen klinikai tünet egyebekben nem jelentkezett. Egy, a munkahelyen megjelenő feltételezhetően helyi expozíció okozta fokozott emlődaganat kialakulási incidenciára kapcsán megtervezett vizsgálat, szintén arra hívta fel a figyelmet, hogy az időben és megfelelően megtervezett biológiai monitorizálás, a dolgozókat ért feltételezett expozíció megszüntetése, vagy a veszélyeztetett dolgozó kiemelése a munkakörnyezetből, jelentősen csökkentette a karcinogenezisben szerepet játszó *c-myc* és *p53* kulcsgének expresszióját. (134,135,136) Hasonló, krónikus expozíciós, patkányokon végzett vizsgálatok, melyet intézetünkben végeztek, szintén ezt bizonyították. (130) Figyelembe véve a kémiai karcinogének okozta, akár több évtizedes lappangási időt, a korai onkogén és szuppresszorgén expressziójának vizsgálata rendkívül jelentős prediktív és diagnosztikus értékkel bír, hiszen bizonyítottan létezik összefüggés a korai génexpresszió változás és a későbbi daganat kialakulás között.

XIV. A műtői környezet monitorizálása

A levegő monitorozása a munkahelyi szennyeződések felmérésének egyik legfontosabb eszköze. Az alábbiakban összefoglalásra kerülnek azok a legfontosabb módszerek, melyekkel detektálhatjuk és mérhetjük az illékony anesztetikumok légköri koncentrációját.

A dolgozók expozíciójának felmérése céljából ajánlott félévente levegőmintákat gyűjteni az Occupational Safety and Health Administration szerint és egyben ellenőrizni kell a referenciamérések hatékonyságát is. Elegendő a leggyakrabban használatos ágenseket monitorozni, mivel az esetleges javító intézkedések a többi jelenlevő ágenszt is arányosan csökkenteni tudják.

Három alapvető típusú mintagyűjtés létezik a munkakörnyezet felmérésére: személyi, területi és forrásminták gyűjtése. A személyi minták gyűjtése a legjobb megközelítése a dolgozók összesített expozíciójának, mivel ezek reprezentálják a legjobban a dolgozó légzési zónájában

mérhető gázkoncentrációt a mintagyűjtés időszakában. (45,110) Ez tulajdonképpen a legpreferáltabb módszere a dolgozók idő szerint átlagolt expozíciójának, mind a műtőben, mind a posztoperatív örzőben.

A területi adatgyűjtés hasznos lehet egy helyiség összesített szennyeződésének meghatározására, illetve különböző helyiségek szennyeződésének összehasonlításában. Erre jó példa lehet egy ugyanolyan építészeti karakterű és egyforma technikai felszereltségű gyermekgyógyászati és felnőtt sebészeti műtő összehasonlítása, ahol az altatógépek is egyforma karakterisztikájúak, azonban az aneszteziológiai eljárások már specializáltságukban különböznek. Így ugyanolyan környezeti feltételek mellett bizonyítható, hogy a gyermeksebészeti profilon dolgozó aneszteziológusok műtői gáz expozíciója fokozottabb.

A forrás minták hasznosak lehetnek potenciális gázzivárgások detektálásában, illetve az elszívó berendezés hibájának vagy elégtelen működésének kiderítésében.

A mintavétel lehet kumulatív jellegű vagy „real time” is. Az utóbbinál az anesztetikum koncentrációjának direkt, azonnali leolvasása egy hordozható infravörös spektrofotométerrel történik, melynek elve, hogy az altatógáz molekulái a koncentráció arányában elnyelik az infravörös sugarakat. Mivel ez a módszer folyamatosan mér és azonnali visszajelzést szolgáltat, szivárgások előfordulása, illetve a kontrolláló tényezők hatékonysága rögtön mérhető.

Németországban és Svájcban Meier és munkatársai egy multigáz monitort használtak a halogénezett anesztetikumok mérésére az aneszteziológusok légzési zónájában, 114 esetben. Az elszívó berendezés hatékonyságát a légzőkör kilégzési szelepe mellett történő szivárgás detektálásával vizsgálták. A méréseket alacsony frissgáz áramlás mellett végezték. Eredményeik szerint hatékony elszívó berendezés működtetésével a személyzet expozíciója 85 százalékkal volt csökkenthető. (111)

Egy másik kísérletben végzett monitorozás eredménye azt mutatta, hogy a műtő légtartalmának óránként tízszer történő kicserélésével a személyzet expozíciója 50%-os csökkenést mutatott. (43,44,45)

XV. Javaslatok a műtői munkahelyi biztonság növelésére

A mérési eredményeink adatai szempontként szolgálhatnak a megfelelő építészeti tervezésekhez és kivitelezésekhez, munkafolyamatok átszervezéséhez vagy bizonyos megszokott szakmai gyakorlatok megváltoztatásához és egy ellenőrzési rendszer

kidolgozásához, annak adminisztratív hátterének megteremtéséhez. Az előbbieken felsoroltak az altatógázok lehető legalacsonyabb szinten való tartását szolgálják nemcsak a műtőkben, hanem a posztoperatív örzőkben és az intenzív osztályokon is.

XV.1. Technológiai javaslatok a műtői légszennyeződés csökkentésére

1., Elszívórendszer. Az elszívórendszer a légzőkör kilégző szára végén található túlfolyásos szelepeken kilépő levegő/gáz keveréket távolítja el, megelőzve annak a műtő légterébe kerülését. A szívóhatást a központi vákuum biztosítja, ideális esetben állandó erősséggel. A szerkezet három legfontosabb eleme a rezervoár, a szíváserősség szabályozó, valamint a negatív és pozitív túlnyomásos szelepek. A rezervoár lehet egy ballon, melynek tágulása a rendszeren belüli nyomásfokozódás indikátoraként szolgál, vagy egy merev falú golyós szelepes tartály, melyben a golyó emelkedése jelzi, illetve puffereket a rendszerben fellépő túlnyomást. Az elszívó rendszerben a légáramlás, illetve a légnyomás nem állandó, az a kilégzési fázisban jelentősen megnövekszik. A rezervoár ezt a nyomás-ingadozást hivatott puffereket. A túlnyomásos szelep három esetben léphet működésbe: ha a központi vákuum túlságosan alacsony, ha a szívás erőssége tévesen alul van szabályozva, vagy ha a szívás teljesen el van zárva. A feladata az, hogy megakadályozza a túlságosan magas nyomás kialakulását a légzőkörben, ezáltal elkerülve a barotrauma kialakulását. A szelep már 5 vízcm nyomás mellett is kioldódhat, ekkor a felesleges gázmennyiség a műtő légterébe kerül, az ott dolgozók fokozott expozícióját okozva.

Egy taiwani kutatócsoport egy olyan kisebb elszívó eszköz innovációján dolgozott, melynek célja a beteg szájüregéből és orrjárataiból távozó szennyező altatógázok elszívása. Egy flexibilis cső vége kerül a beteg arca elé 20 cm-es közelségbe. A cső egy makrorészecske szűrő rendszerhez csatlakozik (high efficiency particulate air HEPA system), mely erős vákuumal üzemel. Ez a technológia az aneszteziológus légzési zónájában infravörös spektrofotométerrel mérhető részecskeszámot drasztikusan csökkentette, jóval a NIOSH által elvárt szint alá. A vizsgált N_2O 8,7 ppm, a Szevoflurán 0,06 ppm volt az eszköz használata esetén, ez 87%-os csökkenést eredményezett a halogénezett anesztetikumok addigi műtői expozícióját tekintve. (25)

2., Légcirkulációs rendszer. Bár a légtér szennyeződés csökkentésének legfontosabb eszköze a fentebb leírt, hatékony elszívórendszer jelenléte, azonban jelentőségében a második helyen a légkondicionáló rendszereket kell említenünk. A mennyezet magasságában beáramló friss

levegő részben felhígulás, részben pedig szétoszlás révén már önmagában is az altatógázok koncentrációjának csökkenését eredményezi a műtő légtérben, amely a levegő beáramlásával válik teljessé.

A két eljárás, tehát az elszívó rendszerek és a légcirkulációs eszközök együttes alkalmazásával, az anesztetikus gázok koncentrációja a műtői légtérben radikálisan csökkenthetőek. Ezt szemlélteti a XI. táblázat.

Légtisztítás mechanizmusa	Altatógáz légtéri koncentrációja az aneszteziológus légzési zónájában (ppm)
Légekondicionáló berendezés nélkül	N ₂ O:1000-3000 Halogénezett anesztetikum: 10-35
Légekondicionáló berendezéssel	N ₂ O:200-500 Halogénezett anesztetikum:2-5
Elszívó mellett, légekondicionáló nélkül	N ₂ O:100-300 Halogénezett anesztetikum:1-4
Elszívó és légekondicionáló mellett	N ₂ O:10-35 Halogénezett anesztetikum:0.2-0.5

XI. táblázat

A műtő felszereltsége és az anesztetikum expozíció közötti összefüggés (95)

A posztoperatív örzőkben, ahol a betegek exhalációja révén történik a légszennyeződés, a gázelimináció elérésére egyedül a légcirkulációs rendszer alkalmazása elérhető. Napjainkban a recirkulációs légcserélő rendszerek terjedtek el. A helyiségből távozó levegőnek így csak egy része kerül a kültérbe, a nagyobb része bizonyos szűrési procedurát követően a recirkulációban vesz részt. Ha ugyanaz a levegő jutna vissza, abban az esetben az altatógázok hatékony eliminálása nem lenne elégséges. Az ilyen rendszert ezért úgy kell kiépíteni, hogy a műtőből vagy posztoperatív örzőből távozó levegő, biztonságos távolságra legyen elvezetve és ezáltal a recirkulációban ne vehessen részt.

Optimálisnak számít az a kapacitás, mely a műtőhelyiség légtartalmát legalább óránként 15-ször képes kicserélni. Természetesen nem mindegy a légmozgatás iránya sem. A levegő beáramlása a helyiség egy magasabb, míg kiáramlása egy lehetőleg alacsonyabb szintjén menjen végbe.

XV.2. A halogénezett gázok újrahasznosítása és recirkulációja

Doyle és munkatársai hatékonyan demonstrálták, hogy a szilika zeolit (Deltazite®) megfelelően abszorbeálja az Izofluránt az elszívó rendszerből, és az így megkötött ágens később gőzös extrakcióval és fracionált desztillációval visszaalakítható újrafelhasználásra, így jelentősen csökkenthető a volatilis anesztetikumok atmoszférába kerülése. (96)

Thomson és munkatársai a hőpára cserélő elvét alapul véve egy zeolit szűrőt helyeztek el az Y szárra, így több mint a felére csökkent az kibocsátott gáz mennyisége. (106) Ezen az elven alapulva fejlesztették ki az úgynevezett anesztetikum konzerváló egységet. (107,108)

A rendszer zárt a halogénezett anesztetikumok, de nyitott a levegő-oxigén keveréke számára. A gáz adagolása cseppfolyós formában, perfúzoron keresztül történik magába az egységbe, mely az endotracheális tubus és az Y cső között található. A kilégzés alatt felfogott altatógáz a belégzési fázisban újra a tüdőbe áramlik. Végeredményben akár 75%-al is csökkenhet a gázfelhasználás és ezáltal az atmoszféra és a munkahelyi környezet szennyeződése, így a módszer hatékony alternatívája lehet az alacsony áramlású rendszereknek. Az anesztetikum konzerváló egység az elmúlt néhány évben nyert alkalmazást az intenzív osztályos betegek szedálásában AnaConDa® néven. (109)

XV.3. A műtői személyzet expozíciójának csökkentése

Az alábbiakban néhány gyakorlati szempontból fontos teendőre hívnám fel a figyelmet, amelyekkel a műtői személyzet altatógáz expozíciója csökkenthető.

Check lista alkalmazásával mindig ellenőrizzük a légzőkör szelepeit és illesztéseit negatív és pozitív nyomás mellett egyaránt. A mai modern altatógépek ezt az üzembehelyezéskor a kötelező ellenőrzés keretében minden alkalommal automatikusan, software vezérléssel önállóan elvégzik.

Győződjünk meg arról, hogy a helyiség légcserélő berendezései megfelelően működnek. (41)

Ellenőrizzük, hogy a szívóberendezés megfelelően van csatlakoztatva, az altatógép és a vákuum felöli oldalon egyaránt.

Vizsgáljuk meg a szívás erősségének mértékét és a szívórendszer túlnyomásos szelepeinek érzékenységét. (13)

A vaporizátorok feltöltése altatógázzal mindig a narkózisok közötti időszakban történjen. (36)

Kerüljük a túl magas frissgáz áramlást, ezt csak az indukcióhoz alkalmazzuk, majd térjünk át az altatógép teljesítményét figyelembe véve „low flow” (2 l/min), vagy „minimal flow” (0,5 l/min) anesztéziára. A narkózis felfüggesztésekor természetesen elkerülhetetlen a magas frissgáz áramlás, ez általában 100%-os oxigén. Ilyenkor a nem megfelelő technika és az eszközök hiánya miatt az altatógáz expozíció jelentősen emelkedhet, ezért a légzőkör diszkonnekcióját lehetőség szerint csak akkor végezzük, ha az inhalációs anesztetikum már eliminálódott belőle. Ezt a modernebb altatógépek gázmonitorán követni lehet.

Csecsemők és gyermekek anesztéziája során a mandzsetta nélküli tubus alkalmazása esetén győződjünk meg arról, hogy a tubus légmentesen, teljesen kitöltse a tracheát.

Supraglottikus légútbiztosítási eszközök (laringeális maszk, Combitube[®]) alkalmazásakor, minél effektívebb garat tamponádot alkalmazzunk és törekedjünk a helyes méret választásra.

Inhalációs anesztetikummal történő narkózis bevezetésnél, vagy maszkos inhalációs narkózis végzésénél a hagyományos maszk helyett célszerű az úgynevezett kettős maszk használata.

Az egészségügyben jelenleg tapasztalt forráshiány nem enged jelentős technikai fejlesztést, illetve beruházást, így egyre nagyobb hangsúlyt kell kapnia a munkahelyi prevenciónak, a kockázati csoportok kiemelésének, melyre hatékony módszerek tűnik az általunk javasolt biológiai monitorizálás.

XV.4. Biológiai monitorizálás

A disszertáció célja többek között az volt, hogy amennyiben bizonyíthatóvá válik az, hogy a műtői altatógázoknak, így a mai magyarországi gyakorlatban leggyakrabban használt Izofluránnak, van bármilyen egészségkárosító hatása, az hogyan bizonyítható, illetve léteznek-e olyan károsodást jelző korai biológiai markerek, melyek akár rutinszerűen mérhetőek lennének.

Ahogy az eddig elvégzett vizsgálatokból kiderült, a halogénezett anesztetikumok okozhatnak testi és szellemi fáradtságot, fejfájást, légúti és nyálkahártya irritációt, bizonyítottan negatív hatással vannak a kognitív és memória funkcióira. (43) A műtőben töltött idő, az inhalációs narkózisok frekvenciája és a munkaévek között is lehetett összefüggést kimutatni az említett panaszok tekintetében. A félévente rendszeresen elvégzendő, kötelező munkaegészségügyi szűrővizsgálatot sajnos nem minden munkáltató biztosítja, illetve kéri számon alkalmazottaitól, pedig ezzel a laboratóriumi eltérések megjelenése, humán kérdőíves vizsgálatunk eredményei szerint 50%-al csökkenthető lenne.

A munkaegészségügyben előírt, rutin fizikális és laboratóriumi vizsgálatok nem jelzik időben a fokozott anesztetikum expozíció egészségkárosító hatását.

A NIOSH ajánlásában a vizeletben kimutatható Szevoflurán mennyiségének normál értékét meghatározza ugyan, ez az érték azonban nem követte megfelelően a műtői expozíció, akár a légköri határértéket jelentősen meghaladó, szennyező gáz szintjét. (33)

Érzékenyebb paraméternek tűnik a vizeletben kimutatható anorganikus fluorid szint.

A Szevoflurán jelentősebb mértékben transzformálódik fluoridra, mint az Izoflurán. A fluorid vonatkozásában a biológiailag tolerálható értéket 4,0-7,0 mg F⁻ per gram kreatininben határozták meg.

Az anorganikus fluorid mérése ionszelektív elektróddal történik, melyet nátrium fluorid vizes oldatával kalibrálnak. Polietilén csőbe, mely 0,2 g EDTA-t tartalmaz, 50 ml vizeletmintát kell venni. A minta 4 °C-on 2 hétig stabil marad, lefagyasztva ennél jóval tovább. A laboratóriumok általában olyan kontroll mintákat is alkalmaznak, melyek bizonyítottan nem exponált egyéntől származnak. A F⁻ ion ionszelektív beméréséhez a vizeletmintát azonos volumenű TISAB oldattal hígítják, mely egy fluorid puffer. A mérési tartomány 0,1-100 mg/l. Megbízhatósági tartomány 0,04mg/l-re adódik. Az ionszelektív elektródokat az oldatba mártva a F⁻ eredménye 2-3 perc után leolvasható, melyet egy kalibrációs görbe felhasználásával végül F⁻/g vizelet kreatininben fejezhetünk ki.

A teljes vizelet fluor kimutatása vékonyréteg kromatográfiával történhet, és mivel az ionizált fluor csak egy kis frakciója a vizeletben ürített fluor tartalomnak, ezért a fent leírt mérés kapcsán kapott magas érték, kifejezetten nagy organikus és anorganikus fluor-terhelésnek felel meg. Magyarországon az Országos Munkahigiénés és Foglalkozás Egészségügyi Intézet képes ilyen vizsgálat elvégzésére. A határértéket jelentősen meghaladó pozitív lelet esetén a vizsgálat ismételt elvégzésére a dolgozó csökkentett műtői altatógáz expozíciója után kerülne sor.

Megismételt pozitív lelet esetén kromoszómális eltéréseket, mutációs analízist és testvér kromatid kicserélődés vizsgálatának elvégzését javasoljuk. Ha genotoxicitás ezek alapján felmerül, akkor onko/szupresszor, gyulladáscsökkentő és apoptotikus gének PCR technikával történő vizsgálatát ajánlatos elvégezni. Ezt natív vérből nyert fehérvérsejt, illetve limfocita izolálás után, vagy bronchus váladékból nyert makrofágokból, molekuláris biológiai laboratóriumokban rövid idő alatt elvégezhető. (17,130) Ezeknek a laboratóriumoknak a kiépítése és fejlesztése egyéb molekuláris epidemiológiai és népegészségügyi szempontból is kívánatos lenne.

A korai biológiai hatást jelző markerek vizsgálata lehetőséget nyújt arra, hogy egy munkahelyi, esetünkben műtői expozíció, figyelembe véve az epigenetikai tényezőket is, okoz-e az általunk vizsgált kulcsgének esetében expresszió változást. A karcinogenezisben az általunk állatkísérletben vizsgált *c-myc*, *p53*, *Ha-ras*, *NFκB*, *GADD45a* és *MAPK8* gének humánban is ugyanolyan fontos szereppel bírnak. Mivel ezek egyszeri vér-mintavétel után vizsgálhatóak, így a molekuláris epidemiológiai vizsgálat olyan diagnosztikus eljárássá válhat, amely alapján a korai karcinogén hatás génszintű megjelenése és az esetlegesen később kialakuló tumorok közötti összefüggések bizonyíthatóak és a daganatok kialakulása a munkahelyi expozícióból történő kiemeléssel megelőzhetőek. Pontos vizsgálat elvégzése után szóba kerülhet kemoprevenció vagy immunprofilaxis a daganat-megelőzés céljából. (134)

A mikroRNS-ek expressziós profiljának vizsgálata során, a klinikai tünetet még nem okozó daganatos szöveteket lehet még pontosabban elkülöníteni a normál szövetektől. Ebből kiindulva, biológiai markerként történő alkalmazásuk indokolt lenne. Korai vagy differenciálatlan daganat esetén segítenek a primeren érintett szövetek identifikálásában és az altípusok elkülönítésében. Szintén nagy előny, hogy bizonyos szervekre koncentrálnak is kimutathatóak a véráramban szövetspecifikus miRNS-ek, így például valamilyen gyógyszer, esetleg Izoflurán okozta májkárosodás esetén is. (140,141,142)

XVI. Összefoglalás, új megállapítások

1., A műtőkben dolgozók inhalációs anesztetikum expozíciójának mérésére több lehetőség áll rendelkezésre. Ezek részben ismertek voltak, azonban kevésbé alkalmazták eddig Magyarországon. Ez a hiányos jogszabályi háttér, illetve a munkáltatók és munkavállalók nem kellően gondos, egészség és környezetvédelmet gyakran hanyagoló viselkedéséből adódik.

2., Az Izoflurán, mint leggyakrabban alkalmazott inhalációs anesztetikum organotoxicitását magyarázó modellek a küszöbértéket sokszorosán meghaladó expozíció után alkalmazhatóak. Vizsgálatunk olyan biológiai monitorizálási lehetőséget mutat be, mely tartós küszöb alatti dózisok akár rövid ideig tartó alkalmazása esetén, a legérzékenyebb apoptotikus, antiapoptotikus, onko és tumorszupresszor gének szintjén képes a károsító ágens egészségre kifejtett hatását jelezni.

3., Két, egymástól technikailag eltérő, de molekuláris epidemiológiai szempontból egyaránt fontos kísérletsorozatunkkal egyedülállóan bizonyítottuk azt, hogy a daganatok

kialakulásában és a programozott sejthalálban kulcsszerepet játszó gének expressziója az Izoflurán hatására több vizsgált szervben is megváltozik. Ez azt jelenti, hogy az Izoflurán krónikus, akár határérték alatti expozíciójának kitett, műtőben dolgozó szakemberek érintettek, és emiatt fokozott munka-egészségügyi kockázatnak vannak kitéve.

4., A munkakörülményeket, a dolgozók műtői tevékenységét és az ezzel összefüggésbe hozható szubjektív panaszok kialakulását és laboratóriumi értékekben tapasztalt eltéréseket kérdőíves módszerrel vizsgáltuk. Szignifikáns eltérések azok között jelentkeztek bizonyíthatóan, akik napi rendszerességgel kerülnek kapcsolatba altatógázokkal, és megérik annak illatát. Ilyen szignifikáns eltérés volt az altatógáznak betudható hatás, a fáradtság, álmoság, lassú vagy gyors szívverés, nyálkahártya irritáció, nyugtalanság. A napi 8 óránál több időt altatógép mellett tartózkodó dolgozók közül több panasz kialakulásának esélyhányadosa jelentősen emelkedett, bár nem volt szignifikáns. Ilyen tünet a fejfájás, fáradtság, álmoság, légszomj, nyugtalanság, remegés, szédülés, halálfélelem, nyálkahártya irritáció és az ájulásérzés.

5., Kísérleteink során a *c-myc* és *Ha-ras* onkogének, illetve a *p53* tumor szupresszor gén fokozott kifejeződését igazoltuk több vizsgált szervben, Izoflurán expozíciót követően.

6., Az apoptózis gátlásában résztvevő *NFκB*, az egyszálú DNS károsodására aktiválódó *GADD45α* és az apoptózist indukáló *MAPK8* gének expressziója tüdőben, májban és vesében a vizsgált inhalációs anesztetikum hatására szignifikánsan megváltoztak. Ez azt igazolja, hogy az Izoflurán expozíció jelentősen befolyásolja a DNS károsodás következtében aktiválódó és a programozott sejthalál szabályozásában fontos szerepet játszó géneket is.

7., Kísérleteink elvégzése után, az ismert eredmények birtokában arra kell felhívni a figyelmet, hogy a műtőben dolgozók fokozott munkahelyi ártalomnak, altatógáz expozíciónak vannak kitéve, melynek csökkentése technológiai változtatásokkal, munkafolyamatokat érintő eljárásrendek bevezetésével lehetséges és szükséges.

8., Az aneszteziológiai munkakörben dolgozók biológiai monitorizálására ajánlott vizsgálati sorunk első eleme a vizeletben mérhető anorganikus fluorid tartalom meghatározása. A határértéket meghaladó eredmény esetén a vizsgálat megismétlése javasolt, a dolgozó expozícióból kiemelése után. Ezt követően kromoszomális eltérések bizonyítása, mutációs analízis, testvérkromatid kicserélődés, mint a genotoxicitást igazoló eltérések vizsgálata szükséges, melyet a kísérleteinkben használt onko/szupresszor, gyulladáscsökkentő, apoptotikus és antiapoptotikus gének PCR technikával történő vizsgálata lehetővé tesz.

XVII. Irodalomjegyzék

- 1., Stachnik J: Formulary review, inhaled anesthetic agents. *Am J Health-Syst Pharm* 63: 623-634, 2006.
- 2., Yentis SM, Hirsch NP, Smith GB: *Anesthesia and Intensive care A-Z. An Encyclopaedia of Principles and Practice.* Butterworth Heinemann, (ed). 3rd ed. Oxford: pp 295, 2004.
- 3., Van Dyke RA, Chenoweth MB: Metabolism of volatile anesthetics. *Anesthesiology* 26: 348-357, 1965.
- 4., Zumbiel MA, Fiserova-Bergerova V, Malinin TI, Holaday DA: Glutathione depletion following inhalation anesthesia. *Anesthesiology* 49: 102-108, 1978.
- 5., Kharasch ED, Thummel KE: Identification of cytochrome P450 2E1 as the predominant enzyme catalyzing human microsomal defluorination of sevoflurane, isoflurane, and methoxyflurane. *Anesthesiology* 79(4): 795-807, 1993.
- 6., Koblin DD: Mechanism of Action. In: *Anesthesia.* Miller RD, (ed). 5th ed. New York: Churchill Livingstone, pp 48-73, 2000.
- 7., Hemmings HC Jr., Adamo AI: Effects of Halothane and propofol on purified brain protein kinase C activation. *Anesthesiology* 81: 147-155, 1994.
- 8., Ryder K, Nathans D: Induction of protooncogene c-jun by serum growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 8464-8467, 1988.
- 9., Hallen B, Ehrner-Samuel H, Thomason M: Measurements of Halothane in the atmosphere of an operating theatre and in expired air and blood of the personnel during routine anaesthetic work. *Acta Anaesth Scand* 14: 17-27, 1970.
- 10., Cohen EN, Bellwille JW, Brown BW: Anesthesia, pregnancy, and miscarriage: a study of operating room nurses and anesthesiologists. *Anesthesiology* 35: 343-347, 1971.

- 11., Piotr Pałaszkiwicz, Roman Szulc: Occupational exposure to inhalation anaesthetics in operating rooms in Poland. A survey. *Anestezjologia Intensywna Terapia*, XLII. 2: 52-56, 2010.
- 12., Ryseck RP, Bravo R: *C-JUN*, *JUN B* and *JUN D* differ in their binding affinities to AP-1 and CRE consensus sequences: effect of FOS proteins. *Oncogene* 6: 533-542, 1991.
- 13., Aneszteziológia Szerk: Dr. Bogár Lajos, Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi és Egészségtudományi Centrum Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet 2004.
- 14., Papavassiliou AG: Molecular medicine: transcription factors. *N Engl J Med* 332: 45-47, 1995.
- 15., Das DK, Maulik N, Moraru II: Gene expression in acute myocardial stress: induction by hypoxia, ischemia, reperfusion, hyperthermia and oxidative stress. *J Mol Cell Cardiol* 27: 181-193, 1995.
- 16., Hamaya Y, Takeda T, Dohi S, Nakashima S, Nozawa Y: The effects of pentobarbital, Isoflurane, and propofol on immediate-early gene expression in the vital organs of the rat. *Anesth Analg* 90: 1177-1183, 2000.
- 17., Ember I, Gyöngyi Z, Kiss I, Ghodrattollah N, Arany I: The possible relationship between onco/suppressor gene expression and carcinogen exposure in vivo: Evaluation of a potential biomarker in preventive and predictive medicine. *Anticancer Res* 22: 2109-2116, 2002.
- 18., Qiu H, Tian B, Resuello RG, Natividad FF, Peppas A, Shen YT, Vatner DE, Vatner SF, DePre C: Sex specific regulation of gene expression in the aging monkey aorta. *Physiol Genomics* 29: 169-180, 2007.
- 19., Kadowaki K, Fukino K, Negishi E, Ueno K: Sex differences in *PPAR γ* expressions in rat adipose tissues. *Biol Pharm Bull* 30: 818-820, 2007.
- 20., Bastian C: The effect of Halothane, Enflurane and Isoflurane on RNA synthesis in isolated rat liver cell nuclei. *Anesth Analg* 67: 564-569, 1988.

- 21., Song L, Li J, Zhang D, Liu ZG, Ye J, Zhan Q, Shen HM, Whiteman M, Huang C: IKK β programs to turn on the *GADD45 α -MKK4-JNK* apoptotic cascade specifically via p50 *NFKB* in arsenite response. *J Cell Biol* 175:607-617, 2006.
- 22., Y. Huang, Z. Zuo: Effects of isoflurane on oxygen-glucose deprivation induced changes of gene expression profiling in glial-neuronal cocultures. *Acta Anaesthesiol Scand* 49:1544-1551, 2005.
- 23., Conzen PF, Kharasch ED, Czerner FA, Artru AA, Reichle FM, Michalowski P, Rooke A, Weiss BM, Ebert TJ: Low-flow Sevoflurane compared with low-flow Isoflurane Anesthesia in patients with stable renal insufficiency. *Anesthesiology* 97: 578-84, 2002.
- 24., E. Koscianska, J. Starega-Roslan, LJ. Sznajder, M. Olejniczak, P. Galka-Marciniak: Northern blotting analysis of microRNAs, their precursors and RNA interference triggers *BMC Molecular Biology* 12:14, 2011.
- 25: Li Sh, Li SN, Shih HY, Chiou SF, Yi HD: A local scavenging system to remove waste anesthetic gases during general anesthesia. *Acta Anaesthesiol Taiwan* jun 42. (2): 61-67, 2004.
- 26., Eger EI: The pharmacology of Isoflurane. *Br J Anaesth* 56; Suppl 1: 71-99. 2nd. 1984.
- 27, K. Hoerauf, G. Wiesner: Waste anaesthetic gases induce sister chromatid exchanges in lymphocytes of operating room personnel. *British Journal of Anaesthesia* 82 (5): 764-766, 1999.
- 28, G. Summer, P. Lirk, K. Hoerauf, U. Riccabona: Sevoflurane in Exhaled Air of Operating Room Personnel. *Anesth Analg*; 97: 1070 –1073, 2003.
- 29, Gentili A, Accorsi A, Pigna A, Bachiocco V, Domenichini I, Baroncini S, Violante FS: Exposure of personnel to Sevoflurane during paediatric anaesthesia: influence of professional role and anaesthetic procedure. *British Journal of Anaesthesia* 78: 378–380, 1997.

- 30, K. Hoerauf, M. Harth, K. Wild, J. Hobbhahn: Occupational exposure to Desflurane and Isoflurane during cardiopulmonary bypass: is the gas outlet of the membrane oxygenator an operating theatre pollution hazard? *British Journal of Anaesthesia* 78: 378-80, 1997.
- 31, M.E. Goldberg, J. Cantillo, G.E. Larijani, M. Torjman, G. Vekeman, H. Schieren: Sevoflurane versus Isoflurane for Maintenance of Anesthesia: Are serum inorganic Fluoridion concentrations of concern? *Anesth Analg* 82: 1268-72, 1996.
- 32., Kupczewska-Dobecka M, Soćko R. Zakład: Assessment of health risk of sevoflurane and isoflurane exposure among surgical staff: a problem for employers. *Med Pr.* 57(6): 557-566, 2006.
- 33., Imbriani M, Zadra P, Negri S, Alessio A, Maestri L, Ghittori S.: Biological monitoring of occupational exposure to sevoflurane. *Med Lav.* May-Jun; 92(3): 173-80, 2001.
- 34., Unceta-Barrenechea Orúe B, Vicinay Pinedo S, Garrán Sabando B, Serna de Andrés A, Seoane de Lucas A.: Occupational exposure of the anesthesiologist to nitrous oxide and halothane. *Control measures Rev Esp Anesthesiol Reanim.* Sep-Oct; 36 (5): 267-275, 1989.
- 35., Hoerauf K, Hosemann W, Wild K, Hobbhahn J.: HNO. Exposure of operating room personnel to anesthetic gases during ENT interventions *Oct*; 44 (10): 567-71, 1996.
- 36., Sangyo Eiseigaku Zasshi, Koda S, Kumagaj S: A study of waste anesthetic gases monitoring and working environmental controls in hospital operating rooms. *Jan*; 39 (1): 38-45, 1997.
- 37., Byhahn C., Wilke HJ.: Occupational exposure to volatile anaesthetics: epidemiology and approaches to reducing the problem. *CNS Drugs.* 15(3): 197-215, 2001.
- 38., Irwin MG, Trinh T, Yao CL.: Occupational exposure to anaesthetic gases: a role for TIVA. *Expert Opin Drug Saf.* Jul; 8 (4): 473-83, 2009.

- 39., Peduto VA, Napoleone M.: Poisoning caused by chronic exposure to volatile anesthetics. Molecular mechanisms and risk anesthetics. *Minerva Anesthesiol.* Dec; 55 (12): 487-500, 1989.
- 40., Marx T.: Pollution of the work environment by volatile anesthetics and nitrous oxide. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* Sep; 32 (9): 532-540, 1997.
- 41., Smith JA.: Anesthetic pollution and waste anesthetic gas scavenging. *Semin Vet Med Surg (Small Anim).* May;8 (2): 90-103, 1993.
- 42., JC Smith, B Bolon: Isoflurane leakage from non-rebreathing rodent anaesthesia circuits: comparison of emissions from conventional and modified ports. *Laboratory Animals* 40. 2006.
- 43., Tankó B., Kovács Gy., Szelei E, Fülesdi B, Molnár Cs.: A halogénezett volatilis anesztetikumok által okozott munkahelyi ártalmak és megelőzésük. *Aneszteziológia és Intenzív Terápia* 41 (2): 74-81, 2011.
- 44., Pasquini R, Scassellati-Sforgolini G, Fatigoni C, Marcarelli M, Monarsa S, Donato F, Cenucetti S, Cerami FM: Sister Chromatid Exchanges and Micronuclei in lymphocytes of operating room personnel occupationally exposed to enflurane and nitrous oxide *J. Environ Pathol. Toxicol Oncol.* 20: 119-126, 2001.
- 45., Horeauf K, Lierz M, Wiesner G, Schrogendorfer K, Lierz P, Spacek A, Brunnberg L, Nüsse M: Genetic damage in operating room personnel exposed to isoflurane and nitrous oxide. *Occup Environ Med.* 56: 433-437, 1999.
- 46., Vaisman AL: Working Condition in surgery and their effect on the health of anaesthesiologist. *Experimentalnaja Khirurgija i Anesteziologija* 12: 44-49, 1967.
- 47., Bruce DL, Bach MJ: Psychological studies of human performance as affected by traces of enflurane and nitrous oxide. *Anesthesiology* 42: 194-196, 1975.

- 48., Zachny JP, Sparacino G, Hoffman PM, et al.: The subjective behavioral and cognitive effects of subanesthetic concentrations of isoflurane and nitrous oxide in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 114: 409-416, 1994.
- 49., Zachny JP, Yajnik S, Lichtor JL, et al.: The acute and residual effects of subanaesthetic concentrations of isoflurane/nitrous oxide combinations on cognitive and psychomotor performance in healthy volunteers *Anesth Analg* 82: 153-157, 1996.
- 50., B. Kádár, K. Gombos, E. Szele, A. Beregi, Zs. Varga, A. Sebestyén, I. Ember: Effects of Isoflurane Exposure on Oncogene and Tumour Suppressor Gene Expressions in Vital Organs of CBA/Ca Mice *In Vivo* 21: 861-866, 2007.
- 51., Kádár B, Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Az Isoflurane in vivo hatástani vizsgálata *Magyar Epidemiológia*, V. évf. 3-4 szám: 181-190, 2008.
- 52., B. Kádár, K. Gombos, E. Szele, I. Ember, J.L. Iványi, R. Csejtej, G. Pajkos: Effects of Isoflurane on *NFKB1*, *GADD45A*, *JNK1* Expressions in the Vital Organs of CBA/Ca Mice *In Vivo* 25; 241-244, 2011.
- 53., JR. Sneyd, A. Carr, WD. Byron, AJT. Bilski: A meta-analysis of nausea and vomiting following maintenance of anaesthesia with propofol or inhalational agents. *European Journal of Anaesthesiology* Vol. 15 (4): 433-445, 1998.
- 54., B. Brown: Sevoflurane: Introduction and Overview *Anaesth Analg* 81; 1-3, 1995.
- 55., J. Lerman: Sevoflurane in Pediatric Anesthesia *Anaesth Analg* 81; 4-10, 1995.
- 56., T.J. Ebert, C.P. Harkin, M. Muzi: Cardiovascular Responses to Sevoflurane *Anaesth Analg* 81; 11-22, 1995.
- 57., WB. Green: The Ventilatory Effects of Sevoflurane *Anaesth Analg* 81; 23-26, 1995.
- 58., ED. Kharasch: Biotransformation of Sevoflurane *Anaesth Analg* 81; 27-38, 1995.

- 59., EJ. Frink: The Hepatic Effects of Sevoflurane *Anaesth Analg* 81; 46-50, 1995.
- 60., JR. Kenna, RM. Jones: The Organ Toxicity of Inhaled Anesthetics *Anaesth Analg* 81; 51-66, 1995.
- 61., Eger EI II, Eisenkraft JB, and Weiskopf RB: *The Pharmacology of Inhaled Anesthetics*. Baxter Healthcare Corporation, USA, 2002.
- 62., Kim H, Oh E, Im H, Mun J, Yang M, Khim JY, Lee E, Lim SH, Kong MH, Lee M and Sul D: Oxidative damages in the DNA, lipids, and proteins of rats exposed to isofluranes and alcohols. *Toxicology* 220 (2-3): 169-178, 2006.
- 63., Wade JG and Stevens WC: Isoflurane: an anesthetic for the eighties? *Anesth Analg*. 60(9): 666-682, 1981.
- 64., Holaday DA, Rudofsky S and Treuhart PS: The metabolic degradation of methoxyflurane in man. *Anesthesiology* 33 (6): 589-593, 1970.
- 65., Holaday DA, Fiserova-Bergerova V, Latta IP and Zumbiel MA: Resistance of isoflurane to biotransformation in man. *Anesthesiology* 43(3): 325-332, 1975.
- 66., Mazze RI, Cousins MJ and Barr GA: Renal effects and metabolism of isoflurane in man. *Anesthesiology* 40 (6): 536-542, 1974.
- 67., Goldberg ME, Cantillo J, Larijani GE, Torjman M, Vekeman D and Schieren H: Sevoflurane versus isoflurane for maintenance of anesthesia: are serum inorganic fluoride ion concentrations of concern? *Anesth Analg* 82 (6): 1268-1272, 1996.
- 68., Culley DJ, Yukhananov RY, Xie Z, Gali RR, Tanzi RE and Crosby G: Altered hippocampal gene expression 2 days after general anesthesia in rats. *Eur J Pharmacol* 549 (1-3): 71-78, 2006.
- 69., Rampil IJ, Moller DH and Bell AH: Isoflurane modulates genomic expression in rat Amygdala. *Anesth Analg* 102: 1431-1438, 2006.

- 70., Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, Yasuda T, Ebina T, Muraoka M, Matsuki A: Expression of genes for proinflammatory cytokines in alveolar macrophages during propofol and isoflurane anesthesia. *Anesth Analg* 89 (5): 1250-1256, 1999.
- 71., Boost KA, Leipold T, Scheiermann P, Hoegl S, Sadik CD, Hofstetter C, Zwissler B: Sevoflurane and isoflurane decrease TNF-alpha-induced gene expression in human monocytic THP-1 cells: potential role of intracellular I-kappa B-alpha regulation. *Int J Mol Med* 23 (5): 665-671, 2009.
- 72., Greten FR, Karin M. The IKK/NF-kappaB activation pathway-a target for prevention and treatment of cancer. *Cancer Lett.* 206 (2): 193-199, 2004.
- 73., Pelech SL, Charest DL and Mordret GP: Networking with mitogen-activated protein kinases. *Mol Cell Biochem* 127-128: 157-169, 1993.
- 74., Ghosh S and Karin M: Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. *Cell.* 109: 81-96, 2002.
- 75., Solan NJ, Miyoshi H, Carmona EM, Bren GD and Paya CV: RelB cellular regulation and transcriptional activity are regulated by p100. *J Biol Chem* 277 (2): 1405-1418, 2002.
- 76., Sanchez-Perez I, Benitah SA, Martinez-Gomariz M, Lacal JC and Perona R: Cell stress and MEKK1-mediated c-Jun activation modulate *NFKB1* activity and cell viability. *Mol Biol Cell* 13: 2933-2945, 2002.
- 77., Hoerauf KH, Hartmann T, Acimovic S, Kopp A, Wiesner G, Gustorff B, Jellinek H and Krafft P: Waste gas exposure to sevoflurane and nitrous oxide during anaesthesia using the oesophageal-tracheal Combitube small adult. *Br J Anaesth* 86 (1): 124-126, 2001.
- 78., Hoerauf KH, Schrögendorfer KF, Wiesner G, Gruber M, Spacek A, Kress HG and Rüdiger HW: Sister chromatid exchange in human lymphocytes exposed to isoflurane and nitrous oxide in vitro. *Br J Anaesth.* 82 (2): 268-270, 1999.

79., Sessler DI and Badgwell JM: Exposure of postoperative nurses to exhaled anesthetic gases. *Anesth Analg* 87 (5): 1083-1088, 1998.

80., Kary B. Mullis, La Jolla, Michael Smith: Decisive progress in gene technology through two new methods: the polymerase chain reaction (PCR) method and site-directed mutagenesis. Press Release 13 October 1993.

81., A Chien, DB Edgar, J M Trela: Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile *Thermus aquaticus*. *J. Bacteriol.* 127(3): 1550, 1976.

82., Saiki R.K, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA: Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491, 1988.

83., Cho RJ, Campbell MJ, Winzeler EA, Steinmetz L, Conway A, Wodicka L, Wolfsberg TG, Gabrielian AE, Landsman D, Lockhart DJ, Davis RW: A genome-wide transcriptional analysis of the mitotic cell cycle. *Mol Cell.* Jul;2 (1): 65-73, 1998.

84., Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, Watson R.: Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology (N Y).* Sep;11 (9): 1026-1030, 1993.

85., Alwine JC, Kemp DJ, Parker BA, Reiser J, Renart J, Stark GR, Wahl GM: Detection of specific RNAs or specific fragments of DNA by fractionation in gels and transfer to diazobenzoyloxymethyl paper. *Methods Enzymol* 68, 220-242, 1979.

86., Schena M., Shalon D., Davis R. W., Brown P. O.: Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270: 467-470, 1995.

87., Lockhart D. J., Dong H., Byrne M. C.: Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. *Nature Biotechnol* 14, 1675-1680. 1996.

88., Ding C, Maier E, Roscher AA, Braun A, Cantor CR: Simultaneous quantitative and allele-specific expression analysis with real competitive PCR. *BMC Genetics* 5: 8, 2004.

89., T. R. Golub, D. K. Slonim, P. Tamayo, C. Huard, M. Gaasenbeek, J. P. Mesirov, H. Coller, M. L. Loh, J. R. Downing, M. A. Caligiuri, C. D. Bloomfield, E. S. Lander: Molecular Classification of Cancer: Class Discovery and Class Prediction by Gene Expression Monitoring. *Science* 15 October Vol. 286 no. 5439 pp. 531-537, 1999.

90., AA Alizadeh, Michael B., Eisen RE. Davis, Chi Ma, IS Lossos, A Rosenwald, JC Boldrick, H Sabet, T Tran, Xin Yu, J I Powell, L Yang, GE Marti, T Moore, J Hudson, L Lu, DB Lewis, R Tibshirani, G Sherlock, WC Chan, TC Greine, DD Weisenburger, JO Armitage, R Warnke, R Levy, W Wilson, MR Grever, JC Byrd, D Botstein: Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling *Nature* vol. 403 (3) february 2000.

91., Harkin DP, et al: Induction of *GADD45* and *JNK/SAPK*-dependent apoptosis following inducible expression of *BRCA 1*. *Cell* 97; 575-586, 1999.

92., Xin Chen, ST Cheung, S So, ST Fan, C Barry, J Higgins, Kin-Man Lai, J Ji, S Dudoit, IOL Ng, Matt van de Rijn, D Botstein, PO Brown: Gene Expression Patterns in Human Liver Cancers. *Mol Biol Cell*. June; 13 (6): 1929–1939, 2002.

93., Cronkite EP, Drew RT, Inoue T, Hirabayashi Y, Bullis JE.: Hematotoxicity and carcinogenicity of inhaled benzene. *Environ Health Perspect* 82: 97–108, 1989.

94., Byung-IL Yoon, Guang-Xun Li, Kunio Kitada, Yasushi Kawasaki, Katsuhide Igarashi, Yukio Kodama, Tomoaki Inoue, Kazuko Kobayashi, Jun Kanno, Dae-Yong Kim, Tohru Inoue, Yoko Hirabayashi: Mechanisms of Benzene-Induced Hematotoxicity and Leukemogenicity: cDNA Microarray Analyses Using Mouse Bone Marrow Tissue *Environmental Health Perspectives* vol. 111: 11, August 2003.

95., Rejger V. Burm AGL., Spierdik J.: Working in operating rooms, an unhealthy existence? *Acta Anesthesiologica Belgica* 26; 174-181, 1975.

96., D.J. Doyle, R. Byrick, D. Filipovic, F. Cashin: Silica zeolite scavenging of exhaled isoflurane: a preliminary report. *CAN J ANESTH* 49: 8; 799–804, 2002.

- 97., Gyógyszer Kompendium 2006. 767-768. CMPMedica Információs Kft.
- 98., Szeberényi József: Molekuláris sejtbiológia; Szignáltranszdukció III.: Jelátvitel, Tirozin-proteinkináz Receptorokról 46. fejezet 272-277, Dialóg Campus Kiadó 2011.
- 99., Szeberényi József: Molekuláris sejtbiológia; Szignáltranszdukció V.: Stressz- és Integrin-Jelátvitel, 48. fejezet 288-289, Dialóg Campus Kiadó 2011.
- 100., Szeberényi József: Molekuláris sejtbiológia; Programozott sejthalál 51. fejezet 306-308, Dialóg Campus Kiadó 2011.
- 101., Szeberényi József: Molekuláris sejtbiológia; Daganatbiológia IV.: Celluláris Onkogének 55. fejezet 331-338, Dialóg Campus Kiadó 2011.
- 102., Szeberényi József: Molekuláris sejtbiológia; Daganatbiológia V.: Tumor Szupresszor Gének 56. fejezet 340-345, Dialóg Campus Kiadó 2011.
- 103., Szeberényi József: Molekuláris sejtbiológia; Daganatbiológia VI.: A Karcinogenezis Többlépéses Mechanizmusa 57. fejezet 349-350, Dialóg Campus Kiadó 2011.
- 104., <http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?key=gadd45>
- 105., Jin S, Antinore MJ, Lung FD, Dong X, Zhao H, Fan F, Colchagie AB, Blanck P, Roller PP, Fornace AJ Jr, Zhan Q.: The GADD45 inhibition of Cdc2 kinase correlates with *GADD45*-mediated growth suppression. *J Biol Chem.* Jun 2; 275(22): 16602-16608, 2000.
- 106., Thomasson R, Luttrupp HH, Werner O.: A reflection filter for isoflurane and other anaesthetic vapours. *Eur J Anaesthesiol* 6: 89-94, 1989.
- 107., Enlund M, Wiklund L, Lambert H.: A new device to reduce the consumption of a halogenated anaesthetic agent. *Anaesthesia* 56: 429-32, 2001.

108., Tempia A, Olivei MC, Calza E, Lambert H, Scotti L, Orlando E, Livigni S, Guglielmotti E.: The anesthetic conserving device compared with conventional circle system used under different flow conditions for inhaled anesthesia. *Anesth Analg* 96: 1056-1061, 2003.

109., Enlund M, Kietzmann D, Bouillon T, Züchner K, Meineke I.: Population pharmacokinetics of sevoflurane in conjunction with the AnaConDa: toward target-controlled infusion of volatiles into the breathing system. *Acta Anaesthesiol Scand.* Apr; 52: 553-560, 2008.

110., Tankó B, Molnár Cs, Búdi T, Petó Cs, Novák L, Fülesdi B: The relative exposure of the operating room staff to sevoflurane during intracerebral surgery. *Anesthesia & Analgesia* 109: 1187-1192, 2009.

111., Meier A, Jost M, Rüegger M, Knutti R, Schlatter C: Narcotic gas burden of personnel in pediatric anesthesia. *Anaesthesist.* 44: 154-62, 1995.

112., Pázsit E, Kádár B, Ember I: Importance of HPV screening in the prevention of cervical dyspeasia VII. International Conference of Anticancer Research, Corfu Anticancer Research Vol.24, Number 5D, September-October 2004. pp: 3597.

113., Gergely P., Kádár B., Ember Á., Nádas E., Varjas T., Orsós Zs., Szanyi I., Kiss I.: Flavin -7 állatkísérletes vizsgálata különös tekintettel kulcs, onko és szupresszorgének expressziójára Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2. *Magyar Epidemiológia Supplementum*, II. évfolyam 1.szám pp: 42, 2005.

114., Herczeg M., Brunner Zs., Szanyi L., Kiss I., Orsós Zs., Zólyomi A, Csontos Zs, Molnár K., Gergely P., Kádár B., Ember I.: Stimulin BLT fantázianevű készítmény állatkísérletes vizsgálata Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2. *Magyar Epidemiológia Supplementum*, II. évfolyam 1. szám pp: 44, 2005.

115., Kádár B., Gergely P., Durniev A., Seredenin A., Ember Á., Pázsit E., Zólyomi A.:
”Afobasol” egy új szintetikus atioxidáns hatásának “short-term” in vivo vizsgálata Magyar
Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005.
április 1-2. Magyar Epidemiológia Supplementum, II. évfolyam 1. szám pp: 46, 2005.

116., Kádár B, Beregi A, Bujdosó L, Molnár K, Ember Á, Gergely P, Herczeg M, Brunner Zs,
Kvarda A, Ember I: Examination of the impact of Isoflurane on onco/suppressor gene
expression in animal experiment / 362 Hersonissos, Crete, Greece, 12-14 October, 2006.
International Journal of Molecular Medicine, Supplement vol. 18: 362, 2006.

117., Kádár B, Beregi A, Herczeg M, Brunner Zs, Ember I: Isoflurane hatásának vizsgálata az
onko/szuppresszor génexpresszióra állatkísérletekben IIIrd Congress of the Society of the
Hungarian Molecular and predictive Epidemiology, 3-4 November 2006. Pécs
Magyar Epidemiológia Supplementum, III. évfolyam pp: 49, 2006.

118., Kádár B, Gombos K, Szele E, Beregi A, Varga Zs, Sebestyén A, Ember I: Az Izoflurán
onko- tumor szuppresszor génekre kifejtett hatásának vizsgálata CBA NETT XVI.
Nagygyűlése Pécs, 2008. április 17-19. Magyar Epidemiológia Supplementum, V. évfolyam,
pp: 55, 2008.

119., Kádár B, Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Effects of Isoflurane on
NFKB1, *GADD45α*, *JNK1* expressions in the vital organs of CBA/Ca mice 8th International
Conference of Anticancer Research Greece, Kos 17-22 October, 2008. Anticancer
Research 28: 5C, September-October 2008. 3296: A231

120., Kádár B, Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Az Isoflurane hatása az
NFKB1, *JNK1* és *GADD45α* gének expressziós mintázatára IVth Congress of the Society of
the Hungarian Molecular and predictive Epidemiology Pécs, 28-29. November, 2008. Magyar
Epidemiológia Supplementum V. évfolyam, pp: S.150, 2008.

121., Barbu V, Dautry F: Northern blot normalization with a 28S rRNA oligonucleotide
probe. Nucleic Acids Res. Sep 12; 17 (17): 7115, 1989.

122., P. Perjési, I. Ember, R.E. Bozak, E. Nádas, Z. Rozmer, T. Varjas, R.J. Hicks: Effect of the Chalcone Analog E,E-bis(2-Hydroxybenzylidene) acetone on the 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene-induced *Ha-ras* gene action in vivo In Vivo 20: 141-146, 2006.

123., I. Szanyi, L. Lujber, I. Gerlinger, J. Pytel, M. Bauer, A. Csejte, E. Szele, K. Gombos, I. Kiss, S. Seredenin, M. Yarkova, I. Ember: In vivo effects of Afobazole (2-Mercaptobenzimidazole Derivate) on the 7,12-Dimethylbenz [a] anthracene-induced oncogene and suppressor gene expression In Vivo 21: 1059-1063, 2007.

124., F. Budán, T. Varjas, G. Nowrasteh, I. Prantner, Zs. Varga, Á. Ember, J. Cseh, K. Gombos, E. Pázsit, Gy. Göbel, M. Bauer, T. Gracza, I. Arany, P. Perjési, I. Ember, I. Kiss: Early modification of *c-myc*, *Ha-ras* and *p53* expressions by chemical carcinogens (DMBA, MNU) In Vivo, 23 (4): 591-598, 2009.

125., K. Juhász, K. Gombos, M. Szirmai, P. Révész, I. Magda, K. Gócze, I. Ember: DMBA induces deregulation of miRNA expressions of let-7, miR-21 and miR-146a in CBA/Ca mice In Vivo 26 (1): 113-118, 2012.

126., I. Ember, I. Kiss, Zs. Pusztai: Effect of 7,12-Dimethylbenz(a) - anthracene on onco/suppressor gene action in vivo: a short term experiment. Anticancer Research, 18: 445-448, 1998.

127., P. Perjési, Zs. Bayer, I. Ember: Effect of E-2-(4-Methoxybenzylidene)-1-benzosuberone on the 7,12-Dimethylbenz (a) anthracene-induced Onco/Suppressor Gene Action in Vivo I: A 24-hour Experiment. Anticancer Research 20: 475-482, 2000.

128., Zs. Pusztai, A.Selyes, I. Ember: Short-term effects of 1-nitropyrene on chromosomes and on oncogene/suppressor gene expression in vivo. Anticancer Research, Vol.:18, 6/a, pp.: 4489-4492, 1998.

129., I. Ember, Zs. Pusztai, Z. Gyöngyi, I. Kiss: 1-Nitropyrene induces elevated expression of oncogenes and tumor suppressor genes 24 hours after treatment in CBA/Ca mice. Anticancer Research 20: 1563-1566, 2000.

130., I. Ember, I. Kiss, Z. Gyöngyi, Cs. Varga: Comparison of early onco/supressor gene expressions in peripheral leukocytes and potential target organs of rats exposed to the carcinogene 1-nitropyrene. *European Journal of Cancer Prevention* 9, 439-442, 2000.

131., Z. Gyöngyi, E. Nadasi, Cs. Varga, I. Kiss, I. Ember: “Long-term” effects of 1-nitropyrene on oncogene and tumor suppressor gene expression. *Anticancer Research*, 21: 3937-3940, 2001.

132., Budán F., Varjas T., Varga Zs., Cseh J., Polyák É., Perjési P., Gyöngyi Z., Ember I.: Környezeti metil-nitrozo-urea expozíció lehetséges molekuláris biomarkereinek vizsgálata *Magyar Epidemiológia*, V. évf. 1. szám 55-62, 2008.

133., F. Budán, T. Varjas, G. Nowrasteh, Zs. Varga, I. Boncz, J. Cseh, I. Prantner, A. Tibold, E. Pázsit, Gy. Göbel, M. Bauer, T. Gracza, P. Perjési, I. Ember, Z. Gyöngyi: Early modification of *c-myc*, *Ha-ras* and *p53* expressions by N-methyl-N-nitrosourea *In vivo*, 22: 793-798, 2008.

134., Ember I., Kiss I., Gombkötő Gy., Müller E., Szeremi M.: Onkogén és szupresszor gén vizsgálatok etilén-oxid exponált populációban. *Kórház és Orvostechnika*, 33 (2): 82-91, 1995.

135., I. Ember, I. Kiss, I. Málovics: Oncogene and tumor suppressor gene expression changes in persons exposed to ethylene oxide. *European Journal Cancer Prev.*, 7. 167-168, 1998.

136., I. Ember, I. Kiss, Gy. Gombkötő, E. Müller, M. Szeremi: Oncogene and suppressor gene expression as a biomarker for ethylene oxide exposure. *Cancer Det. and Prevention*, 22: 241-245, 1998.

137., I. Ember, I. Kiss: *In vivo* effects of cyclophosphamide on oncogen and suppressor gene expression in “follow up” study *Anticancer Research*, 17.: 3593-3598, 1997.

138., I. Ember, I. Kiss, E. Vermes: Early Effect of Cyclophosphamide on Oncogene Expression, *in vivo*. *In Vivo*, 12 (2): 201-208, 1998.

139., I. Ember, I. Kiss, E. Dezsényi, P. Kertai: Early effect of Cyclosporin A in vivo oncogene expression. *Anticancer Res.*, vol.14, No. 3A, May-June, pp. 1095-1096, 1994.

140., Heneghan HN, Miller N, Kerin MJ: MiRNAs as biomarkers and therapeutic targets in cancer. *Current Opinion in Pharmacology* 10: 543-550, 2010.

141., Ke Zen, Chen-Yu Zhang: Circulating MicroRNAs: A novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers. *Medical Research Reviews*, 32, No. 2, 326-348, 2012.

142., Gőcze K, Gombos K, Juhász K, Ember I: MikroRNS-ek jelentősége a molekuláris epidemiológiában. *Orv Hetil.* Apr 17; 152 (16): 633-641, 2011.

143., http://www.criver.com/FR-FR/PRODSERV/BYTYPE/RESMODOVER/RESMOD/Pages/CBA_Mouse.aspx

144., Jantzen JP.: Forene[®] Inhalationsanästhetikum Isofluran Kompendium, Einführung 1.2-1.3, Wissenschaftliche Verlagsabteilung Abbot GmbH, Wiesbaden 1990.

145., Ember István, Kiss István: Daganatok és daganatmegelőző állapotok molekuláris epidemiológiája: A korai behatároló biomarkerek alkalmazása a prevencióban 28. old., *Medicina* 2005.

Közlemények és előadások listája

Megjelent:

B. Kádár, K. Gombos, E. Szele, A. Beregi, Zs. Varga, A. Sebestyén, I. Ember:
Effects of Isoflurane Exposure on Oncogene and Tumour Suppressor Gene Expressions
in Vital Organs of CBA/Ca Mice In Vivo 21: 861-866, 2007.
imp. f.: 1,273

Kádár B., Gombos K., Szele E., Göbel Gy., Szanyi I., Ember I.,
Az Isoflurane hatása az *NFKB1*, *JNK1* és *GADD45a* gének expressziós mintázatára
Az Isoflurane in vivo hatástani vizsgálata
Magyar Epidemiológia, V. évf. 3-4 szám: 181-190, 2008.

B. Kádár, K. Gombos, E. Szele, I. Ember ,
Effects of Isoflurane on *NFKB1*, *GADD45A*, *JNK1* Expressions in the Vital Organs of
CBA/Ca Mice In Vivo 25; 241-244, 2011.

Kádár B., Skarbit N., Kunetz Zs.
Császármetszés prehospitalis körülmények között.
Egy új protokoll bevezetése, eseteink elemzését követően
Aneszteziológia és Intenzív Terápia 41.évf. 3. szám 117-120, 2011.

F. Budán, I. Szabó, T. Varjas, G. Nowrasteh, T. Dávid, P. Gergely, Zs. Varga, K. Molnár, B. Kádár, Zs. Orsós, I. Kiss, I. Ember: Mixtures of Uncaria and Tabebuia extracts are potentially chemopreventive in CBA/Ca mice – A long-term experiment Phytotherapy Research 25 (4): 493-500, 2011.
imp. f.: 1,878

Citálható absztrakt:

E. Pázsit, B. Kádár, I. Ember: Importance of HPV screening in the prevention of cervical dysplasia VII. International Conference of Anticancer Research, Corfu Anticancer Research Vol.24, Number 5D, September-Oktober pp: 3597, 2004. imp. f.: 1,347

Gergely P., Kádár B., Ember Á., Nádas E., Varjas T., Orsós Zs., Szanyi I., Kiss I.: Flavin -7 állatkísérletes vizsgálata különös tekintettel kulcs, onko és szupresszorgének expressziójára Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2. Magyar Epidemiológia Supplementum, II. évfolyam 1. szám pp: 42, 2005.

Herczeg M., Brunner Zs., Szanyi L., Kiss I., Orsós Zs., Zólyomi A., Csontos Zs., Molnár K., Gergely P., Kádár B., Ember I.: Stimulin BLT fantázianevű készítmény állatkísérletes vizsgálata Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2. Magyar Epidemiológia Supplementum, II. évfolyam 1. szám pp: 44, 2005.

Kádár B., Gergely P., Durniev A., Seredenin A., Ember Á., Pázsit E., Zólyomi A.: "Afobasol" egy új szintetikus atioxidáns hatásának "short-term" in vivo vizsgálata Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2. Magyar Epidemiológia Supplementum, II. évfolyam 1. szám pp: 46, 2005.

B. Kádár, a. Beregi, L. Bujdosó, K. Molnár, Á. Ember, P. Gergely, M. Herczeg, Zs. Brunner, A. Kvarda, I. Ember: Examination of the impact of Isoflurane on onco/suppressor gene expression in animal experiment / 362 Hersonissos, Crete, Greece, 12-14 October, 2006. International Journal of Molecular Medicine, Supplement vol. 18: 362, 2006. imp. f.: 2,09

B. Kádár, A. Beregi, M. Herczeg, Zs. Brunner, I. Ember: Isoflurane hatásának vizsgálata az onko/szuppresszor gén expresszióra állatkísérletekben IIIrd Congress of the Society of the Hungarian Molecular and predictive Epidemiology, 3-4 November 2006, Pécs Magyar Epidemiológia Supplementum, III. évfolyam pp: S49, 2006.

Kádár B., Gombos K., Szele E., Beregi A., Varga Zs., Sebestyén A., Ember I.: Az isoflurán onko- tumor szuppresszor génekre kifejtett hatásának vizsgálata CBA NETT XVI. Nagygyűlése Pécs, 2008. április 17-19. Magyar Epidemiológia Supplementum, V. évfolyam, pp:55, 2008.

B. Kádár, K. Gombos, E. Szele, Gy. Göbel, I. Szanyi, I. Ember: Effects of Isoflurane on NFKB1, GADD45 α JNK1 expressions in the vital organs of CBA/Ca mice 8th International Conference of Anticancer Research Greece, Kos 17-22 October, 2008. Anticancer Research 28:5C, September-October 2008, 3296: A231

Kádár B., Gombos K., Szele E., Göbel Gy., Szanyi I., Ember I.: Az Isoflurane hatása az *NFKB1*, *JNK1* és *GADD45 α* gének expressziós mintázatára IVth Congress of the Society of the Hungarian Molecular and predictive Epidemiology Pécs, 28-29 November, 2008. Magyar Epidemiológia Supplementum V. évfolyam, pp: S.150, 2008.

Kádár B., Gombos K., Szele E., Göbel Gy., Szanyi I., Ember I.: Az Isoflurane hatása apoptotikus jelátviteli gének expressziójára NETT XVII. Nagygyűlése Marosvásárhely, 2009. április 17-19. Magyar Epidemiológia VI. évf. 1. szám: S53, 2009.

B. Kádár, A. Valint, P. Turi: „Children’s year” – a paediatric prevention program at the Hungarian Air Ambulance Service International Conference of Preventive Medicine and Public Health Pécs, 19-20. November 2010. Magyar Epidemiológia VII. évf. 4. szám: S34, 2010.

Magyar előadások:

Kádár B., Dr. Breitenbach G.,

I-Stat vérgáz analízátor használata az oxyológiai gyakorlatban
Magyar Oxyológiai Társaság Szimpóziuma, Debrecen, 1998.

Kádár B., Csomós Á., Ökrös I.,

Használható-e a SAPS II az intenzív osztályra kerülő idegsebészeti betegek állapotának felmérésére A Magyar Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Társaság XXXI. Nemzeti Kongresszusa, Siófok, 2002. május 29-június 1.

Dr. Kádár B., Szalontai L.,

Jobb vagy baloldal ? Nemcsak politikai kérdés...
Magyar Resuscitációs Társaság IV. Kongresszusa, Hajdúszoboszló, 2005.09.15-17.

Dr. Kádár B., Dr. Kazacsay F.,

A polytraumatizált sérültellátással szerzett tapasztalataink
Magyar Oxyológiai Társaság IV. Szimpóziuma, Lillafüred, 2005. november 25-26.

Dr. Kádár B., Dr. Palotai P.

Légútbiztosítás, shocktalanítás: mi (nem) történik a helyszíntől, az intenzív osztályig
MOT-MSOTKE Kongresszus, Szeged, 2006. április 20-22.

Kádár B., Beregi A., Ember I., Ökrös I.:

Isoflurane hatása az onko-/szuppresszor gén expresszió változására állatkísérletekben.
Magyar Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Társaság Országos Kongresszusa, Szeged, 2006. május 19-21.

Dr. Kádár B., Dr. Szabó Zs., Dr. Ökrös I.,

A Borsod Abaúj Zemplén Megyei Kórházba szállított polytraumatizált sérültek számának és első 24 órás túlélésének változása az elmúlt tíz évben Magyar Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Társaság XXXV. Kongresszusa, Debrecen, 2007. május 18-19.

Dr. Kádár B., Dr. Szedlák B., Dr. Ökrös I.,

Újraélesztés napjainkban (referátum) MAITT Észak-Kelet Magyarországi Szekcióülés, Eger, 2008. április 11-12.

Kádár B., Gombos K., Szele E., Beregi A., Varga Zs., Sebestyén A., Ember I.:
Az isoflurán onko- tumor szuppresszor génekre kifejtett hatásának vizsgálata CBA NETT XVI. Nagygyűlése, Pécs, 2008. április 17-19.

Dr. Kádár B., Dr. Túri P., Dr. Kunetz Zs.,

Vég(?)sebesség VII. Magyar Sürgősségi Orvostani Kongresszus, Pécs, 2008. november 7-8.

Dr. Kádár Balázs

Mit gondolok, ha indul a helikopter?

I. Országos Légimentő Vándorgyűlés, Miskolc,
2009. szeptember 11-13.

Dr. Szabó Tímea, Dr. Kádár Balázs

Fájdalomcsillapítás égen és földön

I. Országos Légimentő Vándorgyűlés, Miskolc,
2009. szeptember 11-13.

Dr. Kádár Balázs

Mit gondolok ha indul a helikopter?

Magyar Oxyológiai Társaság XV. Vándorgyűlése, Aggtelek,
2010. május 13-14.

Dr. Kádár Balázs

Húsz kérdés, ezer válasz, avagy milyen érzésekkel várnak ránk?

II. Országos Légimentő Vándorgyűlés, Debrecen,
2010. szeptember 10-12.

Dr. Kádár Balázs

Agykoponya sérültek prehospitális ellátása

Oftex továbbképző tanfolyam. B.-A.-Z. Megyei Kórház, Idegsebészeti Osztály,
Miskolc, 2010. október 7. és 2011. november 10.

Dr. Kádár Balázs

Húsz kérdés, ezer válasz, avagy milyen érzésekkel várnak ránk?

Magyar Oxyológiai Társaság Kongresszusa, Bükfürdő
2010. október 8.

Dr. Kádár Balázs

Újraélesztések és folyadékok. Referátum

III. Országos Légimentő Vándorgyűlés, Balatonfüred
2011. szeptember 9-11.

Dr. Kádár Balázs

Terhes nő újraélesztése. A helyszíni császármetszés Irányelvek és esetismertetés

Oftex akkreditált tanfolyam, Budapest,
2011. november 8.

Dr. Kádár Balázs

Kapnometria, kapnográfia reanimáció alatt. Van-e prediktív értéke?

Magyar Oxyológiai Társaság XVI. Kongresszusa, Budapest
2012. május 11-12.

Nemzetközi előadások:

I. Ember, I. Kiss, Zs. Faluhelyi, A. Csejtei, P. Gergely, B. Kádár, E. Pázsit:
A new “risk assessment” software in the primary prevention of cancer European School
of Oncology Advanced School Grand Canaria, Maj. 17. 2004.

Gergely P., Kádár B., Ember Á., Nádasi E., Varjas T., Orsós Zs., Szanyi I., Kiss I.:
Flavin -7 állatkísérletes vizsgálata különös tekintettel kulcs, onko és szupresszorgének
expressziójára Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II.
Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2.

Herczeg M., Brunner Zs., Szanyi L., Kiss I., Orsós Zs., Zólyomi A., Csontos Zs., Molnár K.,
Gergely P., Kádár B., Ember I.: Stimulin BLT fantázianevű készítmény állatkísérletes
vizsgálata Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi
Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2.

Kádár B., Gergely P., Durniev A., Seredenin A., Ember Á., Pázsit E., Zólyomi A.:
”Afobasol” egy új szintetikus atioxidáns hatásának “short-term” in vivo vizsgálata
Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi
Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2.

I. Kiss, Zs. Orsós, Zs. Faluhelyi, Á. Ember, A. Csejtei, B. Kádár, P. Gergely, A. Tibold, I.
Ember: Colorectal cancer risk in relation to polymorphisms of the *XRCC1* and *p53* genes
19th meeting of the EACR Budapest, 1-4 July 2006

B. Kádár, a. Beregi, L. Bujdosó, K. Molnár, Á. Ember, P. Gergely, M. Herczeg, Zs. Brunner,
A. Kvarda, I. Ember: Examination of the impact of Isoflurane on onco/suppressor gene
expression in animal experiment 11th World Congress on Advances in Oncology and 9th
International Symposium on Molecular Medicine Hersonissos, Crete, Greece, 12-14
October, 2006.

B. Kádár, A. Beregi, M. Herczeg, Zs. Brunner, I. Ember:
Isoflurane hatásának vizsgálata az onko/szuppresszor gén expresszióra
állatkísérletekben IIIrd Congress of the Society of the Hungarian Molecular and
predictive Epidemiology Pécs, 3-4 November 2006,

B. Kádár, Zs. Szabó, F. Kazacsay,

Improvement of rescue, transportation and medical care of polytrauma patients in a big
trauma center in Hungary 1st Joint Congress EATES and ETS Graz, May 23-26. 2007.

B. Kádár, K. Gombos, E. Szele, Gy. Göbel, I. Szanyi, I. Ember,
Effects of Isoflurane on *NFKB1*, *GADD45a*, *JNK1* expressions in the vital organs of
CBA/Ca mice 8th International Conference of Anticancer Research Greece, Kos 17-
22 October, 2008.

B. Kádár, P. Túri, Zs. Kunetz,

Introducing Hungary: It's an emerging trend using high speed motorbikes - it's a new
possibility in emergency care: the high level air rescue 9th European Congress of
Trauma and Emergency Surgery in Budapest, Budapest, May 24 th to 27 th. 2008.

Kádár B., Gombos K., Szele E., Göbel Gy., Szanyi I., Ember I.:
Az Isoflurane hatása az *NFKB1*, *JNK1* és *GADD45a* gének expressziós mintázatára
IVth Congress of the Society of the Hungarian Molecular and predictive Epidemiology
Pécs, 28-29 November, 2008.

Kádár B.: Videóbemutató: Végsebesség IVth Congress of the Society of the Hungarian
Molecular and predictive Epidemiology Pécs, 28-29. November, 2008.

Kádár Balázs, Gombos Katalin, Szele Eszter, Göbel Gyula, Szanyi István, Ember István,
Az Isoflurane hatása apoptotikus jelátviteli gének expressziójára
Népegészségügyi Tudományos Társaság XVII. Nemzetközi Kongresszusa,
Marosvásárhely 2009. április 17-18.

Dr. Kádár Balázs, Dr. Válint Andrea, Dr. Túri Péter

“Children’s year” – a pediatric prevention program at the Hungarian Air Ambulance Service International Conference of Preventive Medicine and Public Health Pécs, 19-20. november 2010.

Dr. Kádár Balázs

Hogyan kellene monitorizálni a polytraumatizáltakat? És miért nem tesszük?
XV. Mentésügyi Kongresszus Székelyudvarhely, 2012. május 25-26.

Könyv, könyvfejezet:

Magyar Légimentő Nonprofit Kft. Diagnosztikus és Terápiás Protokollkönyv 2011.
Szerkesztette: Dr. Kádár Balázs

Diagnosztikus és terápiás eljárások a prehospitalis gyakorlatban
Trustair Kft. 2011. ISBN: 978-963-08-1410-2 Szerk: Dr. Kádár Balázs

Kádár B., Túri P.:

Eljárásrend a kivonulásról, a helyszín megközelítése, betegvizsgálat, dokumentációs kötelezettségek

Magyar Légimentő Nonprofit Kft. Diagnosztikus és Terápiás Protokollkönyv (9-15.)

Kádár B., Dombovári Z.:

Allergiás reakció, anafilaxiás sokk

Diagnosztikus és terápiás eljárások a prehospitalis gyakorlatban

Trustair Kft. 2011. ISBN: 978-963-08-1410-2 Szerk: Dr. Kádár Balázs
(137-142.)

Kádár B., Horváth A.:

Akut Koronária Szindróma és ST-Elevációs Miokardiális Infarktus

Diagnosztikus és terápiás eljárások a prehospitalis gyakorlatban

Trustair Kft. 2011. ISBN: 978-963-08-1410-2 Szerk: Dr. Kádár Balázs
(33-40.)

Szedlák B., Kádár B.:

Légútbiztosítás

Diagnosztikus és terápiás eljárások a prehospitális gyakorlatban

Trustair Kft. 2011. ISBN: 978-963-08-1410-2 Szerk: Dr. Kádár Balázs (17-20)

Sóti Á., Kádár B.:

Kardiogén sokk

Diagnosztikus és terápiás eljárások a prehospitális gyakorlatban

Trustair Kft. 2011. ISBN: 978-963-08-1410-2 Szerk: Dr. Kádár Balázs (45-50.)

Horváth A., Kádár B.:

Ritmuszavarok

Diagnosztikus és terápiás eljárások a prehospitális gyakorlatban

Trustair Kft. 2011. ISBN: 978-963-08-1410-2 Szerk: Dr. Kádár Balázs
(51-56.)

Sárkány A., Kádár B.:

Toxikológiai kórképek

Diagnosztikus és terápiás eljárások a prehospitális gyakorlatban

Trustair Kft. 2011. ISBN: 978-963-08-1410-2 Szerk: Dr. Kádár Balázs
(129-136.)

Szabó T., Kádár B.:

Szülészeti sürgősségi kórképek

Diagnosztikus és terápiás eljárások a prehospitális gyakorlatban

Trustair Kft. 2011. ISBN: 978-963-08-1410-2 Szerk: Dr. Kádár Balázs
(167-176.)