

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

„Doktori (PhD) – értekezés tézisei”

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

Orvosi Népegészségtani Intézet



Pécs, 2012

Bevezetés

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 expozíciója és ezzel együtt a lehetséges egészségkárosodások kialakulása azonban a mai napig vizsgálatok tárgyát képezik. Az általunk tervezett vizsgálatokban arra igyekeztünk választ keresni, hogy az Izofluránnak, ennek a gyakran használt inhalációs anesztetikumnak van-e hatása olyan gének expressziójára, melyek szerepet játszanak a karcinogenezisben és a programozott sejthalálban. Ezekhez a vizsgálatainkhoz állatmodelleket használtunk. Bizonyítani kívántuk továbbá, hogy az altatógázok krónikus műtői expozíciója a tartósan érintett dolgozók esetében okozhat olyan szubjektív panaszokat és alakíthat ki esetlegesen krónikus betegségeket, melyek ennek a hatásnak tudhatóak be, és objektív alapokkal bír. Így, az általunk tervezett vizsgálatok végül, a munkahelyi prevenciót és az expozíció csökkentés lehetőségeinek bemutatását szolgálják.

Áttekintve az Izoflurán metabolizmusát és toxikológiáját az is érthetővé válik, hogy a feltételezett génexpressziós változások, milyen hatások miatt alakulnak ki, és a molekuláris változások, hogyan hozhatóak összefüggésbe a potenciális karcinogenezissel.

Az Izoflurán tulajdonságai, metabolizmusa és toxikológiája

Az Izoflurán egy nem gyúlékony folyadék, mely vaporizátorral adagolható, általánosan elterjedt anaesztetikus hatású szer. 1 kloro-2,2,2 trifluoroetil-difluorometil éter. Az Izoflurán egy tiszta, színtelen, stabil folyadék, mely nem tartalmaz sem kémiai stabilizátorokat, sem egyéb adalékanyagokat. Illata enyhén szúrós.

Az Izoflurán molekuláris szerkezete 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 az Izoflurán esetén is a trifluorecetsav 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 tehetőek felelőssé a DNS károsodásból, lipid peroxidációból, antioxidáns deplécióból és adduktum képződésből fakadó további biológiai hatásokért.

Az Izoflurán viszonylag kismértékben metabolizálódik az emberi szervezetben. A posztoperatív periódusban csak 0,17%-a mutatható ki a vizeletben metabolit formájában. 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.

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

A trifluoro-acil-difluoro-metil észter és a trifluoracetecetsav is képes a CF_3CO metabolit hapténon 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. 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. Körülbelül $50 \mu\text{M/L}$ az a szükséges fluorid szint, amely akut vesetoxicitás kialakulásához szükséges.

Molekuláris epidemiológiai megfontolások

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

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 rutinszerűen működő, munkahelyi biztonságot szolgáló prevenció intézkedéseket magába foglaló eljárás legyen, először állatkísérletekben kell a molekuláris epidemiológiai vizsgálatok munkahelyi expozícióra való érzékenységét és hatékonyságát bizonyítani, a megfelelő korai biológiai markereket felkutatni. Kézenfekvőnek tűnik az inhalációs altatószerek esetében is, a szervezetet ért bármilyen stressz kapcsán egyes onko/szuppresszor kulcsgének vizsgálata.

A módszer természetesen a betegséget előidéző tényezők (fizikai, kémiai, biológiai) és az emberi szervezet egyéni érzékenységét meghatározó tényezők (genetikai, epigenetikai, immunológiai, tápláltsági, stb.) vizsgálatára egyaránt alkalmas, így lehetőséget nyújt gyakorlatilag számos 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 sister chromatid exchange (SCE) alkalmazásával), a biológiailag hatásos dózist és az Izoflurán korai biológiai hatását jellemzik. Vizsgálatainkban az egyes onko/szuppresszor 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 válaszreakcióinak megismerésével a foglalkozás-egészségügy számára egy rutinszerűen és pontosan használható, prevenció jelleggel működő biológiai monitorizálási rendszert mutassunk be.

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 hosszú távú egészségügyi következményeket megállapítani.

Vizsgálatainkban molekuláris epidemiológiai módszereket alkalmazva, olyan, humán szövetekben általánosan aktiválódó gyulladási folyamatokban szereplő onko és szuppresszor gének, ezek közül is az úgynevezett kulcsgének expresszióját vizsgáltuk, melyek küszöbdózis alatti expozíció esetén is kimutathatóak és lehetséges biomarkerként értelmezhetők 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 illetően, és a fokozott rizikójú egyének azonosításában. 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 munkahygiénés rendszabályainak fokozott ellenőrzésével és alkalmazásával lehetőség lesz csökkenteni, illetve megelőzni a fokozott Izoflurán, és egyéb inhalációs narkotikum expozíció okozta egészségkárosodásokat.

Vizsgálati terv

- 1., Az Izoflurán in vivo génexpresszióra gyakorolt hatását vizsgáltuk a *p53*, *c-myc*, és a *Hras* gének kifejeződésére, H-2^k haplotípusú, kémiai karcinogénekkal szemben érzékeny CBA/Ca egértörzsből.
- 2., Az Izoflurán hatását az egyszálú DNS károsodást jelző *GADD45α*, az apoptózis szabályozásában kulcsszerepet játszó *NFκB*, és a *MAPK8* gének expressziójára, a CBA/Ca H-2^k egerek szerveiből vett mintákban végeztük.
- 3., Kérdőíves felméréssel statisztikai adatokat kívántunk nyerni arra vonatkozóan, hogy a műtői altatógáz expozíció van-e hatással az ott dolgozók egészségi állapotára, az esetlegesen előforduló szomatikus és neurohormonális megbetegedések előfordulására, a kognitív funkciók megváltozására?

Vizsgálataink alapján azt a feltételezést igyekszünk bizonyítani, hogy az Izoflurán küszöbdózis alatti krónikus expozíciója egészségkárosító hatású lehet a műtőben dolgozóakra, és ez monitorozható. Ezért is kiemelkedően fontos az altatógázok kezelésével, használatával kapcsolatos munkavédelmi jogszabályok hiányosságára felhívni a figyelmet, javaslatot tenni 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 legfontosabb célja.

Anyag és módszer

Az Izoflurán genomikai hatásainak jellemzésére tervezett kísérleti állatmodell

Kísérleteink során CBA/Ca, kémiai karcinogének iránt érzékeny H-2^k haplotípusú, 4-6 hetes egereket használtunk. Az állatok súlya 20-23,5g között volt. A CBA/Ca altörzs manapság 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. A CBA/Ca egereket gyakran használják leukémia kutatásában, mert karcinogénekre és ionizáló sugárzásra érzékenyek, emellett bennük a spontán módon kialakuló leukémia aránya alacsony.

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 tumorszuppresszor 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.

Az 1 órás Izoflurán narkózist követően, melyet 2 térfogatszázalék altatógáz belelegeztetésével 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 májban, a tüdőben, a lépben, a vesében, a csontvelőben, a nyirokcsomóban, és a timuszban 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 génextpressziójának átlagát ábrázoltuk.

Az Izoflurán csoportban mért génextpresszió 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.

Következő kísérletünk során hat csoportot különítettünk el. Három csoportnál az előző kísérletben végzett módon 1 órás Izoflurán narkózist alkalmaztunk, három csoportnál azonban kétszeresére hosszabítottuk az expozíciós időt, és az állatok narkózisát két órán keresztül végeztük. Az Izoflurán koncentrációját ennél a kísérletnél is 2%-ra állítottuk be. 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.

Boncolás során a tüdőt, a májat és a veséket távolítottuk el. Az eltávolított szervekből vett szövetmintából nagy tisztaságú teljes RNS-t izoláltunk. Quantitatív real-time PCR technikával kapilláris módszer alkalmazásával, Light Cycler RNA amplifikációs kit segítségével határoztuk meg a szövetek *GADD45a*, *NFκBI*, *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.

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 budapesti Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. Számú Sebészeti Klinikájáról, a Pécsi Orvostudományi Egyetem Idegsebészeti és Gyermeksebészeti Klinikájáról, a Baranya Megyei Kórházból, a nyíregyházi Jósza 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 érkeztek vissza a 40 kérdést tartalmazó kérdőívek, melyek értékelése Office Excel 2007 és IBM SpSS Statistics programokkal történt.

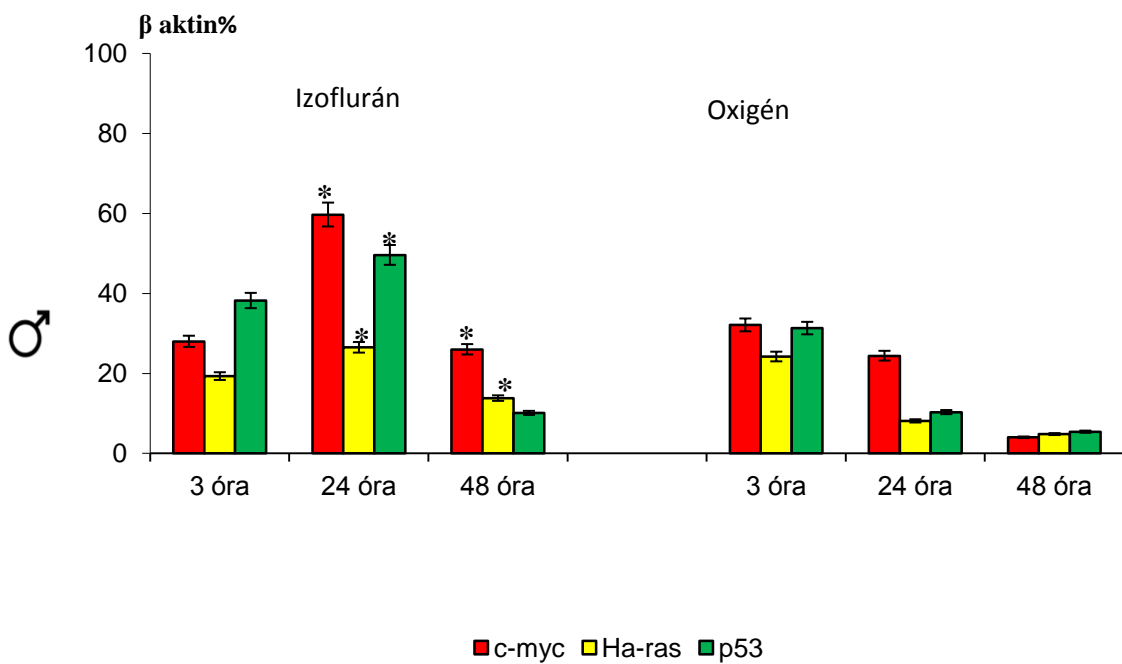
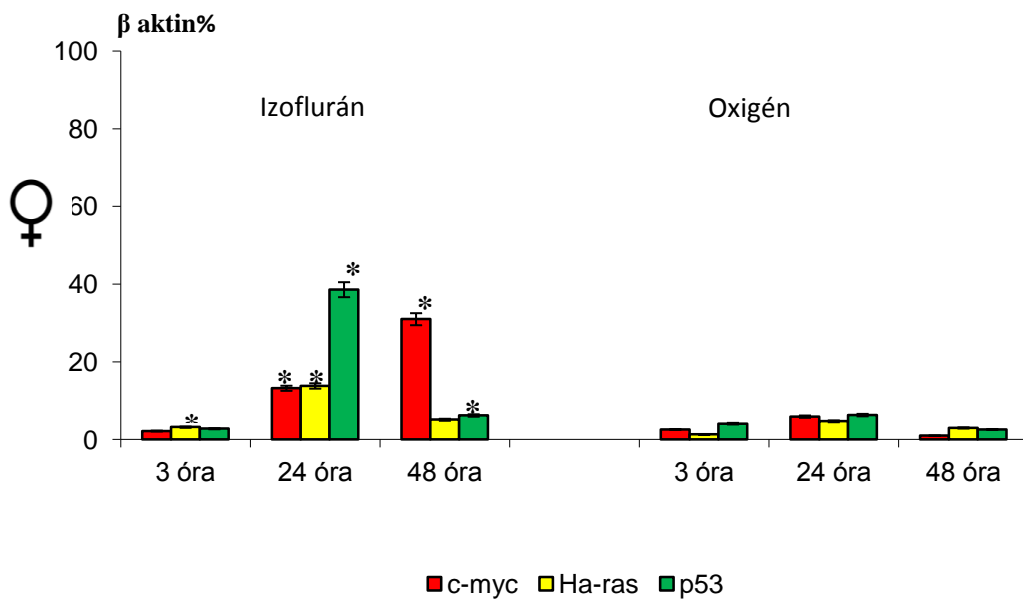
Eredmények

Az mRNS szintű génexpresszió vizsgálatok eredményei

Az Izoflurán és az oxigén expozíció elemzéséből készített diagrammokat, a szemléletesebb összehasonlíthatóság érdekében, egymás mellett ábráztuk. A nőstényeket, illetve a hímeket egymás alatt jelenítettük meg. Ezek alapján minden, a disszertációban bemutatott ábra, tulajdonképpen négy önálló diagrammot tartalmaz. (1-2. ábrák)

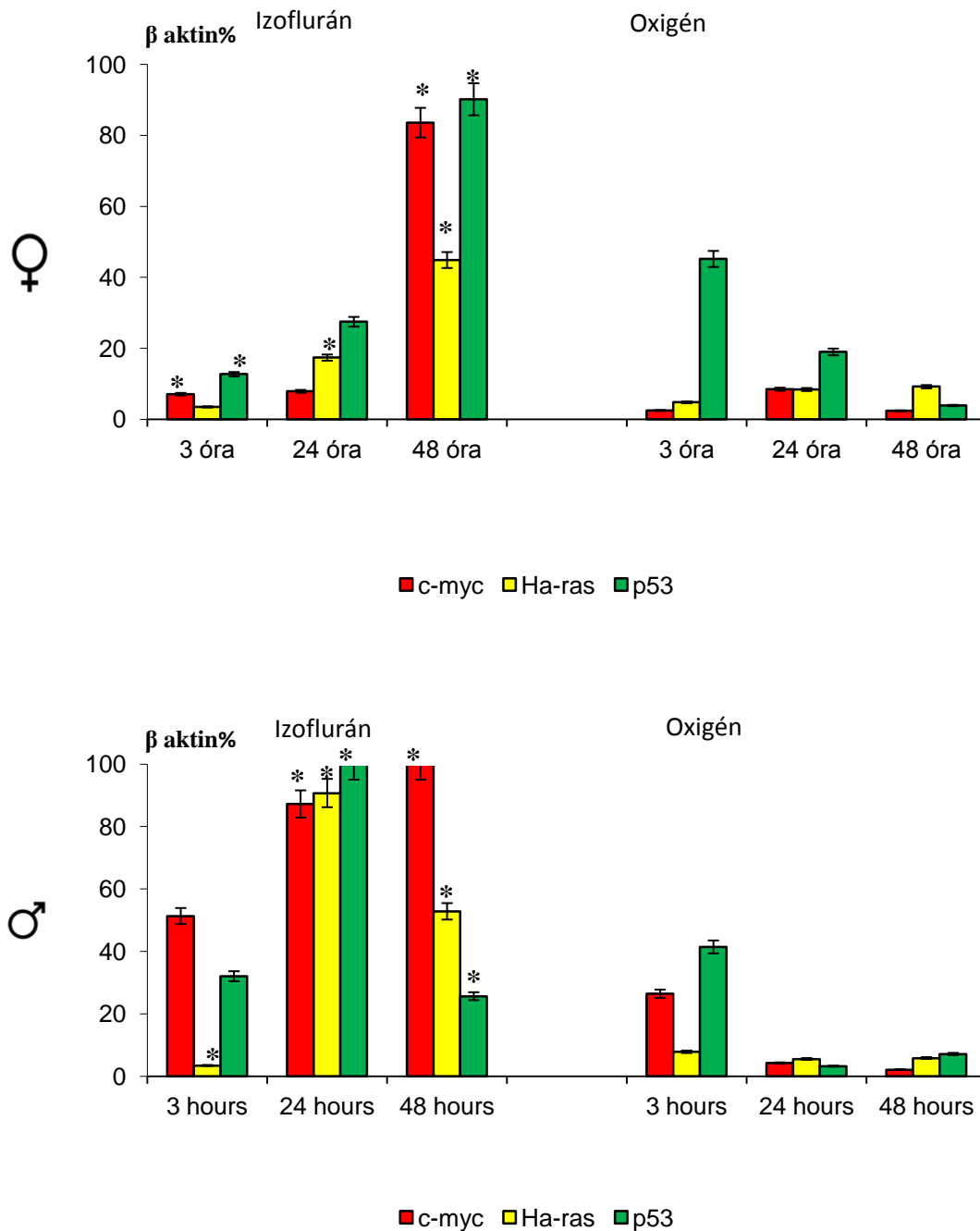
A hét leginkább exponált, illetve az altatógáz metabolizmusában, vagy a szerv funkcióját tekintve bizonyítottan érintett, máj, lép, tüdő, vese, timusz, nyirokcsomó és csontvelő szöveteiből izolált onko- és szuppresszorgének expresszióját hasonlítjuk össze, illetve az adott szervek szöveti funkcióját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

Az inhalációs anesztetikumok organotoxicitását vizsgálva bizonyított tény a máj gyakori érintettsége, így az Izoflurán is indukálhat májkárosodást, akár hepatitiszt is. A máj génszintű érintettsége az általunk elvégzett vizsgálatban szintén markánsan és szignifikánsan reprezentálódott. (1. ábra)



1. 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
 májából*

Ahogy azt a kísérletünk megtervezésekor már feltételeztük, a belélegzett gáz expozíciójának leginkább kitett tüdőkben, jelentős és szignifikáns eltéréseket észleltünk a vizsgált onkoszuppresszor gének overexpressziójának tekintetében. (2. ábra)



2. 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*

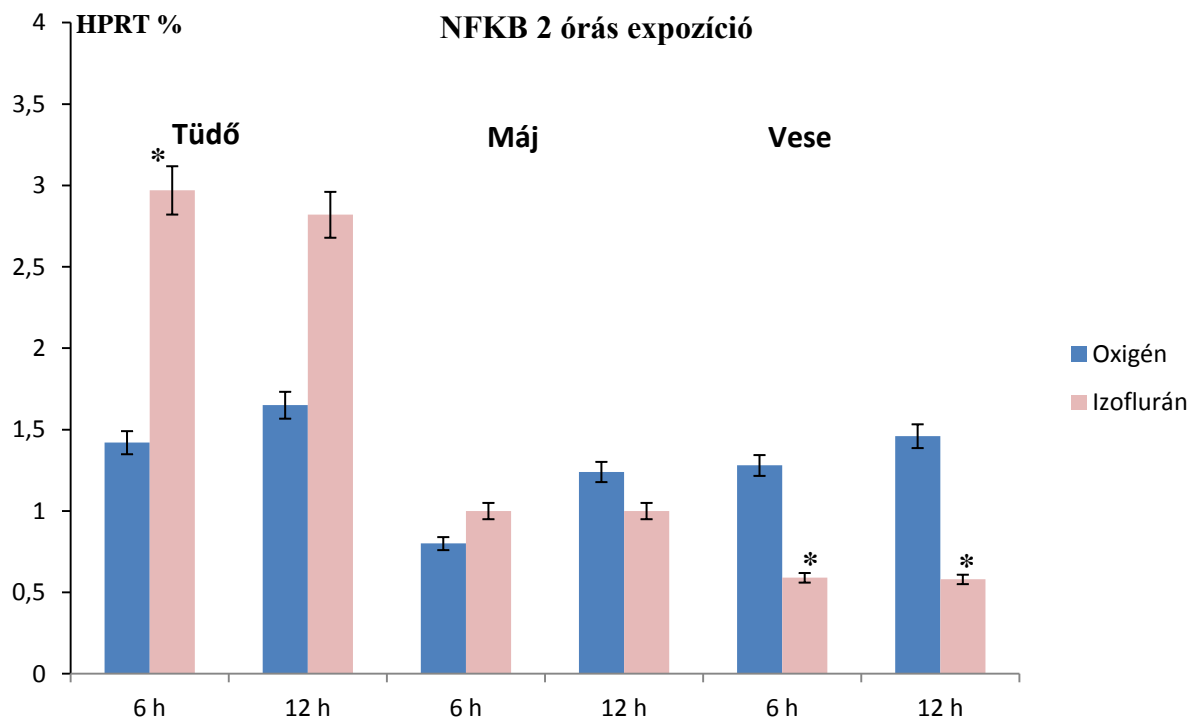
A gyulladáshoz kapcsolódó markerek génexpressziójának vizsgálati eredményei

Az 1 és 2 órás 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.

Hat órával az Izoflurán expozíció követően a tüdő és veseszövetekben mindhárom gén jelentős expresszió változását észleltük a kontroll csoporthoz képest. Ez a változás az *NFκB* esetében a 2 órás, míg a *GADD45α* és a *MAPK8* esetében az 1 órás expozíció követően volt a tüdő esetében szignifikáns. Hat órával az Izoflurán expozíció követően, a tüdőben az *NFκB* expresszió duplájára emelkedett a 2 órás 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 órás 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 órás időpontban az *NFκB* expresszió a kontrollhoz viszonyítva csökkent, ez a redukció a 2 órás 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 órás 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 órás expozíció követően 12 óra múlva eltávolított szövetben is kifejezetten emelkedett volt, azonban a szignifikancia küszöböt nem érte el.

Kísérleteinkben a *GADD45α* és a *MAPK8* expresszió gyakran párhuzamos, míg az *NFκB* többször is ezekkel ellentétes irányú génexpresszió változást mutatott.

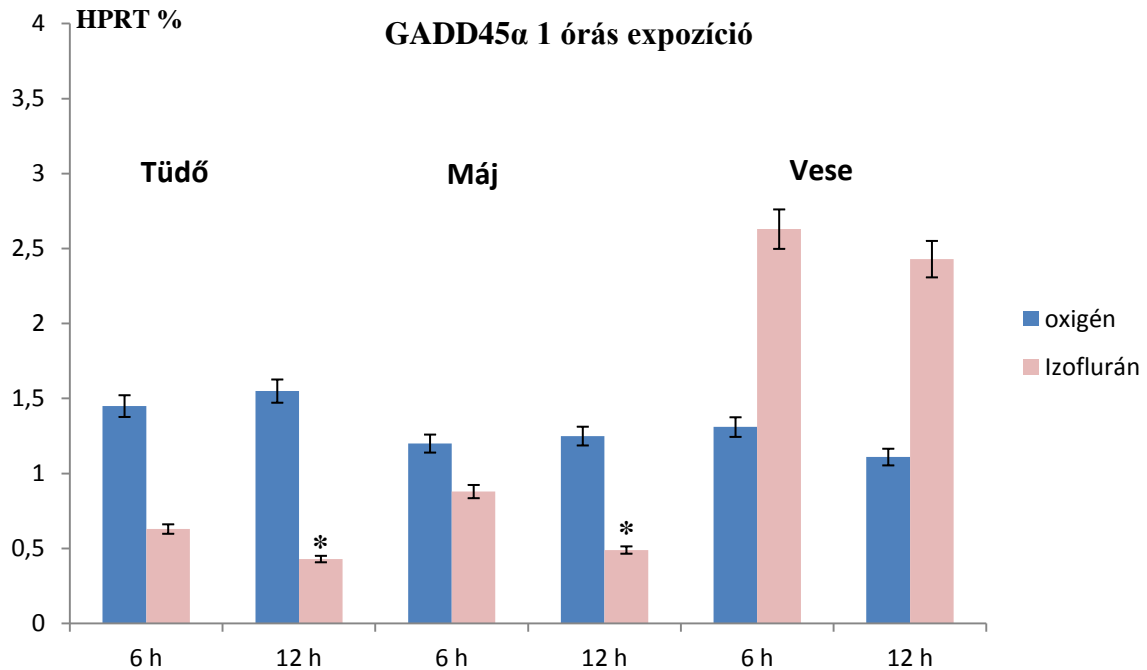
A sejttúlélést az apoptózis gátlása révén szabályozó *NFκB* gén expressziója, az Izoflurán altatógáz expozícióknak leginkább kitett tüdő szövetéből nyert mintákban, 6 órával a narkózist követően, mindkét csoportban emelkedett volt, a kontroll csoportban számított értékekhez képest. A két órás expozíciót követően, ez több mint kétszeresére változott és szignifikáns volt ($p=0,0025$). (3. ábra)



3. ábra

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

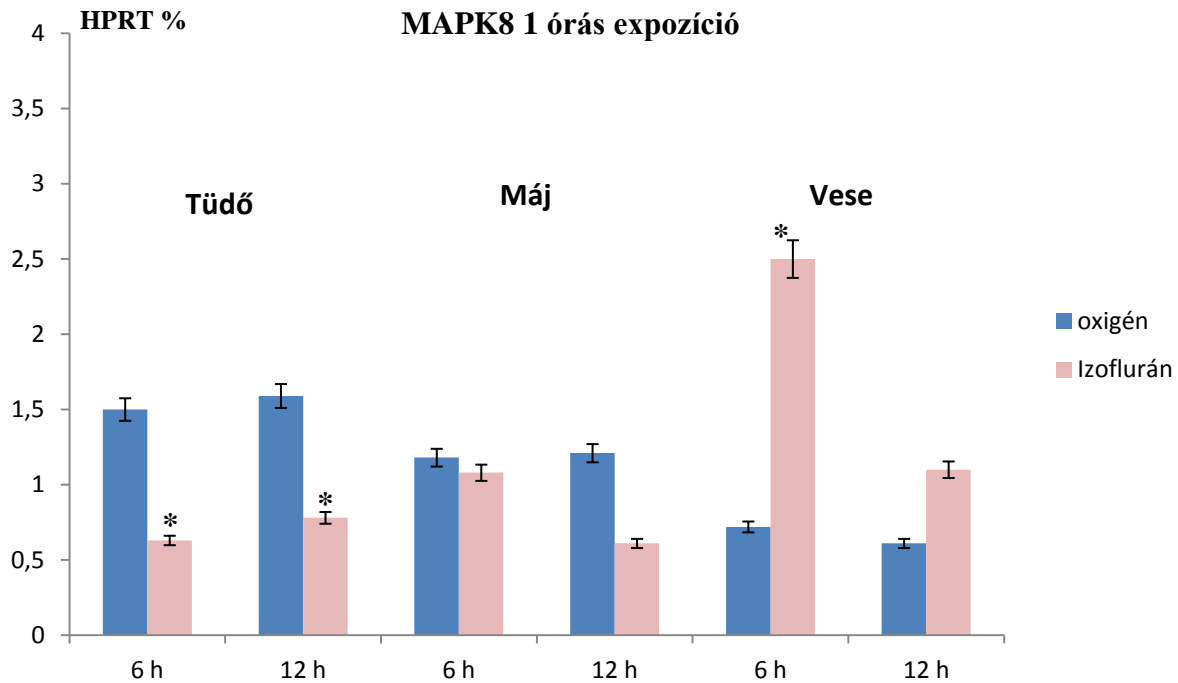
Az egyszálú DNS károsodására aktiválódó *GADD45α* gén vizsgálata, az előzőekben leírt *NFκB* antiapoptotikus génnél tapasztaltakkal több ponton ellentétes irányú változásokat mutatott. (4. ábra)



4. ábra

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

A *GADD45α*-val szoros jelátviteli összeköttetésben álló, apoptózist indukáló *MAPK8* génextpressziójának mintázata több ponton is jelentősen hasonlít a *GADD45α* génnél leírtakhoz. (5. ábra)



5. ábra

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

Kérdőíves humán vizsgálat statisztikai értékelése

A kitöltött kérdőívek összegyűjtése után, 104 kérdőív értékelése történt meg. 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.

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 altatógéptel tartózkodnak. A kérdőív összeállításakor azokra a kérdésekre szeretnénk 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.

Megbeszélés

A környezeti hatásokkal szemben a sejtek intracelluláris molekuláris válaszreakciók sorozatával reagálnak, egyrészt, hogy a megváltozott környezeti körülményekkel szemben fiziológiás működésüket változatlanul fenntartsák, másrészt, hogy az őket ért környezeti hatásból fakadó funkcionális és strukturális károsodásokat kompenzálják. A Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Orvosi Népegészségtani Intézetében évtizedek óta folyik a környezeti expozíciók, daganatot okozó ágensek és egyéb stresszfaktorok molekuláris epidemiológiai vizsgálata. Így a környezetünkben, a munkahelyeken vagy a táplálkozási szokások kapcsán potenciálisan megjelenő, karcinogenezisben szereppel bíró faktorok vizsgálatára, és hatásaik elemzésére egy in-vivo állatmodellt fejlesztettek ki. A „short-term” tesztrendszer alkalmazása során lehetővé vált, hogy az expozíció követően néhány órával a vizsgált gének expresszójában változásokat detektáljunk. Az általunk kiválasztott *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* onko/szuppresszor gének, illetve az apoptotikus és gyulladáshoz kapcsolódó markerek génexpresszióinak érzékeny változásai bizonyították a fenti kísérletek alapján, hogy azok, korai molekuláris epidemiológiai markerként alkalmasak a karcinogenezist befolyásoló környezeti expozíció monitorizálására és a sejtfunkciók változásának bizonyítására.

Ahhoz, hogy eredményeinket molekuláris epidemiológiai szempontból megfelelően tudjuk értékelni és értelmezni, ismernünk kell azokat a bonyolult szabályozási mechanizmusokat, kaskádokat, 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.

Elvégzett kísérleteinkben kulcsgének, a *c-myc* és a *Ha-ras* onkogének, a *p53* tumor szuppresszor 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 expozíció követő expresszió változásait vizsgáltuk CBA/Ca egértörzsben. Molekuláris szempontból ennyire részletes, a karcinogenezisben szereplő fehérjéket kódoló géneknek, ilyen széleskörű vizsgálatát, irodalmi adatokat figyelembe véve, még soha nem végezték inhalációs anesztetikum expozíció követően.

A nőstényeknél a korai overexpressziót legkifejezettebben a lépben és a csontvelőben tapasztaltuk. A 24 órával az Izoflurán expozíció követő vizsgálatok viszont, már mindkét nemből és szinte minden vizsgált szervben jeleztek fokozott génexpressziót. Ebben a vizsgálati időpontban azonban már a *Ha-ras* onkogén overexpresszióját is több szerv és mindkét nem esetén tapasztalhattuk. Az exponált szervek élettani funkciójának, az Izoflurán ismert metabolizmusának és organotoxikus hatásainak ismeretében, vizsgálataink az általunk várt eredményeket hozták. A *c-myc* és a *p53* gének fokozott kifejeződését találtuk 3 órával az expozíció követően hím egyedek lépében, veséjében, timuszában, nyirokcsomójában és a csontvelőjében. A máj érintettsége mindkét nemből megjelent.

A többi szerv esetén is bizonyítást nyert, hogy a *Ha-ras* indukciója később kezdődik, mint a másik két vizsgált géné. A tüdő, mely legfőbb célszervként szerepel az inhalációs anesztetikum expozíció „keresztműzében”, hasonló mintázatú génkifejeződési reakciót mutatott, mint a máj és a lép. 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 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.

A gyulladássos 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 apoptózisát serkentő *MAPK8* gének, míg a sejt túlélést 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. Kísérletünkéből kiderült, hogy az Izoflurán expozíció, jelentős mértékben befolyásolja a DNS károsodás következtében aktiválódó és a programozott sejthalál szabályozásában résztvevő géneket is.

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. 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. 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.

Javaslatok a mütői munkahelyi biztonság növelésére, a biológiai monitorizálás

A disszertáció célja többek között az volt, hogy amennyiben bizonyíthatóvá válik az, hogy a mütői 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. A mütőben 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.

Érzékeny paraméternek tűnik azonban a vizeletben kimutatható anorganikus fluorid szint.

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, eredménye 2-3 perc után leolvasható, melyet egy kalibrációs görbe felhasználásával végül F⁻/g vizelet kreatininben fejezhetünk ki.

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 mütői 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, gyulladásozó és apoptotikus gének PCR technikával történő vizsgálatát lenne ajánlatos elvégezni. Ezt natív vérből nyert fehérvérsejt, illetve limfocita izolálás után, vagy bronchus váladékból nyert makrofágokból, molekuláris biológiai laboratóriumokban rövid idő alatt elvégezhető. Ezeknek a laboratóriumoknak a kiépítése és fejlesztése egyéb molekuláris epidemiológiai és népegészségügyi szempontból is kívánatos lenne.

A korai biológiai hatást jelző molekuláris epidemiológiai markerek vizsgálata lehetőséget nyújt arra, hogy egy munkahelyi, esetünkben mütői 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*, *GADD45α* és *MAPK8* gének emberben is ugyanolyan fontos szereppel bírnak. Mivel ezek egyszeri vér-mintavétel után vizsgálhatóak, így a molekuláris epidemiológiai vizsgálat olyan kockázat becslő 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.

Összefoglalás, új megállapítások

1., A mütőkben dolgozók inhalációs anesztetikum expozíciójának mérésére több lehetőség áll rendelkezésre. Ezek részben ismertek, 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 először bizonyítottuk, 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, mütőkben dolgozó szakemberek érintettek, és emiatt fokozott munka-egészségügyi kockázatnak vannak kitéve.

4., A munkakörülményeket, a dolgozók mütői tevékenységét és az ezzel összefüggésbe hozható szubjektív panaszok kialakulását és a 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, testvérkromatida kicserélődés, mint a genotoxicitást igazoló eltérések vizsgálata szükséges, melyet a kísérleteinkben használt onko/szupresszor, gyulladáscsökkentő, apoptotikus és antiapoptotikus gének PCR technikával történő vizsgálata tesz lehetővé.

Köszönetnyilvánítás

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.

A technikai háttér biztosítását köszönöm Dr. Beregi Attila docens úrnak, aki a Szent István Egyetem Állatorvostudományi Karának gyakorló állatorvosa és kutatójaként segített az általunk használt kísérleti állatok altatását elvégezni.

A laboratóriumi munkákban Brunner Zsuzsanna és Herczeg Mónika segítő munkájára számíthattam.

Nélkülözhetetlen segítséget nyújtott Dr. Gombos Katalin és Dr. Szele Eszter szerzőtársaim és Dr. Juhász Krisztina.

A szakmai háttér-szervezet képviselőjeként a Magyar Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Társaság vezetősége éveken át segítette tudományos munkámat.

A Borsod Abaúj Zemplén Megyei Kórház és Egyetemi Oktató Kórház főigazgatójával, Dr. Csiba Gáborral tanulmányi szerződést kötöttem, külföldi kongresszusokra így, az intézmény segítségével jutottam el, köszönöm neki.

Dr. Ökrös Ilona főorvosnő a gyakorló aneszteziológus szemével nézve adott tanácsokat előadásaim elkészítéséhez, melyet ezúton köszönök.

Köszönöm Dr. Túri Péternek a Magyar Légimentő Nonprofit Kft. ügyvezető igazgatójának, hogy támogatta szakmai fejlődésemet.

Az Országos Mentőszolgálat főigazgatója Dr. Mártai István támogatott azzal, hogy a tudományos munka miatti távolléteimet engedélyezte.

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

Mit sem ér azonban ezek megléte, 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.

Publikációk

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

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 GADD45 α 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)
imp. f.: 1,264

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.: 2,086

Impakt faktor: 4,623

Az értekezés témájában készült idegen nyelvű konferencia absztraktok

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 2004 pp:3597
imp. f.: 1,347

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 2006 vol. 18: 362
imp. f.: 2,09

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 imp. f.: 1,39

Az értekezés témájában készült magyar nyelvű konferencia absztraktok

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.

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 szuppresszor gének expressziójára
Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2. Magyar Epidemiológia Supplementum, II. évfolyam 1. szám 2005 pp:42

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 2005 pp:44

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 2005 pp:46

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 2006, pp: S49

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

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.

Az értekezés témájában készült idegen nyelvű előadások és poszterek

I. Ember, I. Kiss, Zs. Faluhelyi, A. Csejtej, 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, Spain, May. 17. 2004.

I. Kiss, Zs. Orsós, Zs. Faluhelyi, Á. Ember, A. Csejtej, 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, 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.

Az értekezés témájában készült magyar nyelvű előadások és poszterek

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.

Kádár B., Gombos K., Szele E., Beregi A., Varga Zs., Sebestyén A., Ember I.:

Az Izoflurán onko- tumor szuppresszor génekre kifejtett hatásának vizsgálata CBA/Ca
egereken
NETT XVI. Nagygyűlése, Pécs, 2008. április 17-19.

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 szuppresszorgének
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 fantázianévű 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.

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

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.

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
2009. április 17-18. Marosvásárhely