

ferencz.andrea\_15\_22

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

TÉZISEI

---

**A VÉKONYBÉL AUTOTRANSZPLANTÁCIÓ  
KÍSÉRLETES VIZSGÁLATA  
ÉS  
KÜLÖNBÖZŐ KLINIKAI KÓRÁLLAPOTOK  
TERMOANALITIKAI MONITOROZÁSA**

**DR. FERENCZ ANDREA**



PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM  
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR  
SEBÉSZETI OKTATÓ ÉS KUTATÓ INTÉZET  
PÉCS



SEMMELWEIS EGYETEM  
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR  
VÁROSMAJORI SZÍV- ÉS ÉRGYÓGYÁSZATI KLINIKA  
KÍSÉRLETS ÉS SEBÉSZETI MŰTÉTTANI TANSZÉK  
BUDAPEST

2022

## TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4-6
1. ELŐSZÓ	7
2. BEVEZETÉS	8
3. CÉLKITŰZÉSEK	9
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	10-23
4.1. Vékonybél meleg I/R modell	11
4.1.1. Állatkísérleti engedély	11
4.1.2. Előkészítés, anesztézia, műtéti és mintavételi protokoll	11
4.1.3. Biokémiai vizsgálatok	11
4.1.4. Morfológiai vizsgálatok	12
4.1.5. Vérgáz analízis	12
4.1.6. Statisztikai módszer	12
4.2. Vékonybél hideg konzerválási és transzplantációs modell	12
4.2.1. Állatkísérleti engedély	12
4.2.2. Előkészítés, anesztézia, műtéti és mintavételi protokoll	12
4.2.3. Vérgáz analízis	13
4.3. A vékonybél ischaemiás prekondicionálási modell	14
4.3.1. Állatkísérleti engedély	14
4.3.2. Előkészítés, anesztézia, műtéti és mintavételi protokoll	14
4.3.3. Bélminta előkészítése és kemiluminescens NF-kappaB immunoassay vizsgálat	14
4.4. A vékonybél ischaemiás poszt-kondicionálási modelljei	15
4.4.1. Állatkísérleti engedély	15
4.4.2. Előkészítés, anesztézia, műtéti és mintavételi protokoll	15
4.5. A PACAP meleg és hideg I/R-s bélmodelljei	16
4.5.1. Állatkísérleti engedély	16
4.5.2. Előkészítés, anesztézia, műtéti és mintavételi protokoll	16
4.5.3. Radioimmunoassay (RIA)	17
4.5.4. Immunhisztokémiai vizsgálatok	18
4.5.5. Kemiluminescens Citokin Array	18
4.5.6. Luminex Multiplex Immunoassay	19
4.6. Kísérletes I/R-s modellek differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálatai	19
4.6.1. Állatkísérleti engedély	19
4.6.2. Meleg I/R-s kísérlet	20
4.6.3. Meleg ischaemiás kísérlet	20
4.6.4. Hideg ischaemiás kísérlet	20
4.6.5. Differenciál pásztázó kalorimetriás mérés	20
4.7. Humán differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálatok	21
4.7.1. A melanoma malignusos betegek vérplazmájának DSC vizsgálata	21
4.7.2. Az emlőtumoros betegek vérplazmájának DSC vizsgálata	21
4.7.3. Krónikus pancreatitises és pancreastumoros betegek vérének DSC mérései	22
4.7.4. Psoriasisban szenvedő betegek vérplazmájának DSC analízise	23
4.7.5. A DSC termikus görbék dekonvolúciója	23
5. EREDMÉNYEK	24-46
5.1. Vékonybél meleg I/R-s modellben kapott eredmények	24
5.1.1. Biokémiai vizsgálatok eredményei	24
5.1.2. Szöveti vizsgálatok eredménye	24
5.1.3. Vérgáz vizsgálatok eredménye	24
5.2. Vékonybél hideg konzerválási és transzplantációs modelljének eredményei	25

5.2.1. Szövettani vizsgálatok eredménye	25
5.2.2. Vérgáz vizsgálatok eredménye	26
5.3. A vékonybél ischaemiás prekondicionálási modelljének eredményei	27
5.3.1. Biokémiai vizsgálatok eredményei	27
5.3.2. Szövettani vizsgálatok eredménye	27
5.3.3. Kemiluminescens alapú ELISA módszer eredménye	27
5.4. A vékonybél ischaemiás posztkondicionálási modellekkel kapott eredmények	28
5.4.1. Biokémiai vizsgálatok eredményei a meleg I/R-s és IPO-s csoportokban	28
5.4.2. Szövettani vizsgálatok eredménye a meleg I/R-s és IPO-s csoportokban	28
5.4.3. Biokémiai vizsgálatok eredményei a hideg I/R-s és IPO-s csoportokban	29
5.4.4. Szövettani vizsgálatok eredményei a hideg I/R-s és IPO-s csoportokban	29
5.5. A PACAP meleg és hideg I/R-s bélmodelljeiben kapott eredmények	30
5.5.1. Endogén PACAP38 immunreaktivitása meleg I/R-s bélszövetben	30
5.5.2. Biokémiai vizsgálatok eredményei a meleg I/R-s és PACAP38 csoportokban	30
5.5.3. Szövettani vizsgálatok eredményei a meleg I/R-s és PACAP38 csoportokban	30
5.5.4. A bélszövet PACAP38 és PACAP27 immunreaktivitásának változása hideg	31
5.5.5. Biokémiai vizsgálatok eredményei a hideg I/R-s és PACAP38 csoportokban	31
5.5.6. Szövettani vizsgálatok eredményei a hideg I/R-s és PACAP38 csoportokban	31
5.5.7. Immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei a hideg I/R-s és PACAP csoportokban	32
5.5.8. Citokinaktivitás mérése	33
5.5.9. Biokémiai eredmények a meleg I/R-s PACAP vad és génhiányos csoportokban	33
5.5.10. Szövettani vizsgálatok eredményei a meleg I/R-s PACAP vad és KO csoportokban	34
5.5.11. Biokémiai eredmények a hideg I/R-s PACAP vad és génhiányos csoportokban	34
5.5.12. Szövettani eredmények a hideg I/R-s PACAP vad és génhiányos csoportokban	35
5.6. Kísérletes I/R-s modellek DSC vizsgálati eredményei	35
5.6.1. Meleg I/R-s kísérlet DSC eredményei	35
5.6.2. Meleg ischaemiás kísérlet DSC eredményei	36
5.6.3. Hideg ischaemiás kísérlet DSC eredményei	37
5.7. Humán DSC vizsgálatok eredményei	39
5.7.1. A melanomás betegek vérplazmájának DSC vizsgálataival kapott eredmények	39
5.7.2. Az emlőtumoros betegek vérplazmájának DSC mérési eredményei	40
5.7.3. A pancreatitis és pancreas tumoros betegek vérplazmájának DSC adatai	42
5.7.4. A psoriasisban szenvedő betegek vérplazmájának DSC analízise	43
6. KÖVETKEZTETÉSEK	47-48
7. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK	49
8. ÖSSZEFOGLALÁS	50
9. SUMMARY	51
10. KÖZLEMÉNYJEGYZÉK	52-61
10.1. Az értekezés alapjául szolgáló tudományos szakcikkek listája	52
10.2. A dolgozatban nem szereplő, in extenso közlemények	55
11. SZCIENTOMETRIA	62
12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	63

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

3D	3 dimension; háromdimenzió
Ø	átmérő
AFP	alfa-foetoprotein; alfa-fötöprotein
AIRS	autologous intestinal reconstructive surgery; autológ intestinalis rekonstruktív sebészet
ALG	antilymfocita-globulin; antilymfocita-globulin
AMI	acute mesenteris ischaemia, akut mesenterialis ischaemia
AMP	adenosine-monophosphate; adenzin-monofoszfát
AMS	a. mesenterica superior
ATP	adenosine-triphosphate; adenzin-trifoszfát
AU	arbitrary unit; tetszőleges egység
BAL	bioartificial liver assist device; biomesztárséges májműködést segítő eszköz
BU	Bergmayer Unit; Bergmayer egység
°C	Celzius fok
C <sub>p</sub>	hőkapacitás (állandó nyomáson)
cAMP	cyclic adenosine monophosphate; ciklikus adenzin-monofoszfát
KAT	catalase; kataláz
CA	carcioembryonic antigen; carcinoembrionális antigén
CEA	cultured epithelial allograft; epitheliális allograft sejtkultúra
CK5	cytokeratin 5
CT	computer tomographia
CyA	cyclosporin-A
DAMP	damage-associated molecular pattern; károsodással összefüggő molekuláris mintázat
DCIS	ductalis carcinoma in situ
DSC	differential scanning calorimetry; differenciál pásztázó kalorimetria
EC	Euro-Collins
EC	extracellular; extracelluláris
ECMO	extracorporal membrane oxigenator; extrakorporális membrán oxigenátor
EMSA	electrophoretic mobility shift assay; elektroforetikus mozgékonyági eltolódás vizsgálat
ERK1/2	extracellular signal-regulated protein kinase; extracelluláris szignál-regulálta kináz
ET	enterális táplálás
f	number of degrees of freedom, szabadságfok
FDA	Food and Drug Administration; Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hivatal (USA)
FTAB	finom tűs aspirációs biopszia
GIR	gastrointesztinális rendszer
GLOBOCAN	global cancer
GPx	glutathione-peroxidase; glutation-peroxidáz
GR	glutathione-reductase; glutation-reduktáz
GST	glutathione-s-transferase; glutation-s-transzferáz
GSH	reduced glutathione; redukált glutation
GVHD	graft-versus-host-disease; graft-kontra-gazdaszervezet közötti betegség
H	calorimetric enthalpy; kalorimetriás entalpia
H&E	haematoxylin and eosin; haematoxin és eozin
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	hydrogen peroxide; hidrogén-peroxid
HBD	heart-beating donor; dobogó-szívű donor
HES	hydroxyethyl starch; hidroxietil-keményítő
Her2	human epidermal growth factor receptor 2; emberi epidermális növekedési faktor receptor 2
HLA	human leucocyte antigens; humán leukocita antigének
HOCl	hypochlorous acid; hipoklórossav
HSP	heat shock protein; hőshock fehérje
HTK	hisztidin-triptofán-ketoglutarátt
HVGD	host versus graft disease, gazdaszervezet-kontra-graft közötti betegség

I/R	ischaemia/reperfusion; ischaemia/reperfúzió
IC	intracellular; intracelluláris
IFN	interferon
Ig	immunoglobuline; immunoglobulin
I-kappaB	inhibitor-kappaB
IL	interleukine; interleukin
ILC	invasive lobular carcinoma; invazív lobuláris carcinoma
im.	intramuscular; intramuscularis
ip.	intraperitoneal; intraperitoneális
IPC	ischemic preconditioning; ischaemiás prekondicionálás
IPO	ischemic postconditioning, ischaemiás poszt kondicionálás
IU	international unit; nemzetközi egység (NE)
iv.	intravenous; intravénás
JAK	Janus kinase, Janus-kináz
JNK	c-Jun N-terminal kinase; c-jun N-terminális kináz
K	kontroll
°K	Kelvin fok
KAT	catalase, kataláz
KO	knock out, génhányos
l	liter
L-selectin	L-szelektin (CD62L/LECAM-1)
mAb	monoclonal antibody; monoklonális antitest
MACI	matrix-induced autologous chondrocyte implantation; mátrix-serkentette autológ porcsejt beültetés
MALT	mucosal associated lymphatic tissue; mucosához kapcsolódó nyirokszövet
MAPK	mitogen-activated protein kinase; mitogén aktivált protein kináz
MDA	malondialdehyde; malondialdehyd
MM	melanoma malignum
MOF	multi organ failure; sokszervi elégtelenség
MPO	myeloperoxidase; myeloperoxidáz
MRI	magnetic resonance imaging; mágneses rezonancia képalkotás
MT	metallothioneine; metallothionein
MTX	metotrexate; metotrexát
mW	milliwatt
NADPH	nikotinamid-adenin-dinukleotid foszfát
NF-kappaB	nuclear factor-kappa B; nukleáris faktor-kappa B
NFRs	nitrogen free radicals; nitrogén eredetű szabadgyökök
nmol/mg	nanomól/milligramm = $\mu\text{mol/g}$
nmol/ml	nanomól/milliliter = $\mu\text{mol/l}$
NO•	nitrogen monoxid radical; nitrogén-monoxid gyök
NO <sub>2</sub> •	nitrogen dioxide radical; nitrogén-dioxid gyök
NOMI	nonocclusive mesenteric ischaemia, nem okkluzív mesenterialis ischaemia
OFRs	oxygen free radicals; oxigén eredetű szabadgyökök
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	singlet oxygen; szingulett oxigén
O <sub>2</sub> •-	superoxyl-anion radical; szuperoxid-anion gyök
O <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	peroxide-anion; peroxid-anion
O <sub>3</sub>	ozone; ózon
OH•	hydroxyl radical; hidroxilgyök
OH <sub>2</sub> •	hidroperoxyl radical; hidroperoxilgyök
PAC <sub>1</sub> R	PACAP 1 receptor
PACAP	pituitary adenylate cyclase activating polypeptide; hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid
PASI	psoriasis area and severity index; psoriasisos terület és súlyossági index
PET-CT	pozitronemissziós tomográfia - komputertomographia
PMNs	polymorphonuclear leukocytes; polymorphonuclearis leukocyták

PTE MÁB	Pécsi Tudományegyetem, Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság
PUVA	psoralen ultraviolet A; pszoralén és UVA együtt
R	Regnault constant; Regnault állandó
RANTES	regulated on activation normal T cell expressed and secreted chemokine (CCL5)
RBS	rövidbél-szindróma
RIA	radioimmunassay
RISK	reperfusion injury salvage kinase; reperfüziós károsodást megmentő kináz
RLU	relative light unit; relatív fényegység
RO•	alkoxilgyök
RO <sub>2</sub> •	peroxilgyök
ROS	reactive oxygen species; reaktív oxigén fajták
RNS	reactive nitrogen species; reaktív nitrogén fajták
S	sham operated; áloperált
SE	standard error; standard hiba
-SH group	sulfhydryl group; szulfhidril-csoport
sICAM-1	soluble intercellular adhesion molecule-1 (cd54); szolubilis intercelluláris adhéziós molekula-1
SOD	superoxid-dizmutase; szuperoxid-dizmutáz
T <sub>1/2</sub>	hőáram maximumának feléhez tartozó hőmérsékleti tartomány
TBA	thiobarbituric acid; tiobarbitursav
TBS	tris buffered saline; TRIS pufferolt sóoldat
TEBV	tissue engineered blood vessel; szövettenyésztéssel előállított vérerek
TIMP-1	tissue inhibitor of metalloproteinase-1; metalloproteináz-1 szöveti inhibitora
T <sub>m</sub>	maximal melting temperature; maximális denaturációs hőmérséklet
TNF $\alpha$	tumor necrosis factor alpha; tumor nekrozis faktor alfa
TOS	total oxidant status; teljes oxidáns állapot
TPT	teljes parenterális táplálás
TUNEL	terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick End Labeling
ttkg	testtömegkilogramm
UVA	ultraviolet A; ultraviola A
UVB	ultraviolet B; ultraviola B
UH	ultrahang
UW	University of Wisconsin
VEGF	vascular endothelial growth factor; vaszkuláris endotél növekedési faktor
V/K	villi/crypt ratio; villus/kripta hányados
VIP	vasoactive intestinal polypeptide; vazoaktív intestinális polipeptid
VMS	v. mesenterica superior
VPAC <sub>1</sub> R	a PACAP VIP-el közös receptora
vs	versus; =szemben, ellenben
WHO	World Health Organisation; Egészségügyi Világszervezet
WT	wild type; vad típus
XD	xantin-dehidrogenase; xantin-dehidrogenáz
XO	xantin-oxidase; xantin-oxidáz
$\mu\text{mol/g}$	mikromól/gramm = nmol/mg
$\mu\text{mol/L}$	mikromól/liter = nmol/ml

A dolgozatban szereplő idegen szavak és orvosi szakkifejezések írásakor a Fábán Péter és Magasi Péter főszerkesztőségével megjelent *Orvosi helyesírási szótár* (Akadémia Kiadó, Országos Orvostudományi Információs Intézet és Könyvtár, Budapest, 1992) írásmódját vettük alapul. Az ezt követően született és elterjedt elnevezések esetén a szerző a *National Library and Medicine* (<https://www.nlm.nih.gov>) által elfogadott nomenklatúrát követte és törekedett a napi gyakorlatban is használt magyar vagy angol terminológiát magába foglaló írásmód használatára.

## 1. ELŐSZÓ

---

*„It is a simple fact that basic scientists cannot be surgeons, so it is essential that surgeons be scientists.” azaz  
„Egyszerűen tény, hogy a kutatók nem lehetnek sebészek, ezért elengedhetetlen, hogy a sebészek legyenek kutatók.”*

Joseph E. Murray (1919-2012), amerikai sebésztől származik az idézet, aki 1954-ben elvégezte az első sikeres humán vesetranszplantációt, és 1990-ben E. Donnall Thomas-al közösen orvostudományi Nobel-díjat kapott "az emberi betegségek szerv- és sejttranszplantációval való kezeléséért".

---

Doktori művet írni könnyű és egyben nehéz feladat is. Könnyű, mert „csak” le kell írni a célkitűzéseket, a kísérleteket és vizsgálatokat, valamint a kapott eredményeket össze kell vetni mások tapasztalataival, szintetizálni kell a téma ismeretanyagát. Másrésztől nagyon nehéz, mert a szerző többnyire nem író (kivéve a nyelvtudományi/bölcsész vénájúakat és/vagy végzettségűeket) és az orvostudomány, a technológia rohamos fejlődése miatt hatalmas mennyiségű adat és eredmény áll rendelkezésre, ami rövid idő alatt változik, mint ahogy napjainkra a tudományos eredmények 2 évente duplikálódnak. Így egy-egy tudományterület el is tűnhet (pl. a fekélysebészet és kutatása nyomtalanul eltűnt, és a ma még egzisztáló onkosebészetre is ezt prognosztizálják, vagy akár több évtizednyi kutatómunka összefoglalása lehetetlenülhet el emiatt. Minezen hezitálások ellenére az elmúlt közel 200 évben mégis sok kutató ragadott tollat, írógépet vagy klaviatúrát, és foglalta össze doktori művét, egyben tudománytörténeti korrajzot is adva adott tudományterület aktuális eredményeiről. Most a szerző is erre tesz kísérletet.

Jelen dolgozat két fő témakört érint. Egyrészt a vékonybél átültetést, ugyanis a bél az egyik, ha nem a legkülönlegesebb a transzplantált szervek között. Transzplantálhatóságát fokozott immunogenitása mellett az is nehezíti, hogy az egyik legérzékenyebb szövet az ischaemiás/reperfúziós (I/R) károsodásokra. Az immunológiai problémákat kizárva kísérletes vékonybél autotranszplantációs modellekben vizsgáltuk az I/R károsodásokat és kivédési lehetőségeit. Kutatásaink célja egyrészt az oxidatív stressz paraméterek, az apoptózis jelátviteli útjainak, az ischaemiás pre- és poszt-kondicionálásnak, valamint a hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) oxidatív stresszre gyakorolt hatásainak vizsgálata volt meleg és hideg I/R modellekben. Kutatásunk másik részét különböző klinikai kórképekben (psoriasis, pancreatitis, pancreas daganat, melanoma malignum, emlőtumor) szenvedő betegek vérplazmájának differenciál pásztázó kalorimetriás (DSC) vizsgálataiból áll. Ezzel a termoanalitikai módszerrel monitoroztuk a betegek aktuális állapotát, a betegség súlyosságával, a gyógyszeres vagy műtéti kezeléssel való összefüggését. A mű szerteágazó és komplex sebészeti és metodikai protokollokat tartalmaz, melyek témája újnak tekinthető. Béltranszplantáció témában más állatkísérletes szintű kutatás sincs ezenkívül hazánkban. Emellett számos más érdekes és izgalmas témában is dolgoztam, melyek, noha saját vizsgálatok voltak, de didaktikailag nem illettek bele jelen mű témájába (lásd az in extenso közleményeket).

2020 márciusában, a hazánkat elérő Covid19 pandémia idején második alkalommal került kiírásra a „MTA doktora cím megszerzésére irányuló értekezés megírásának a 14 év alatti gyermeket nevelő kutatók támogatása...” című pályázati felhívás. Nagy öröm volt számomra a sikeres pályázat. Ezúton is köszönöm a bírálóknak, mellyel egy fontos ösztönzést, pozitív visszaigazolást és lehetőséget kaptam, hogy 3 gyermekes kutatóként az elmúlt 20 év kutatási eredményeit 2022-ben akadémiai doktori értekezésben összefoglaljam.

## 2. BEVEZETÉS

Napjainkban társadalmi szinten is egyre intenzívebb figyelmet kap a minőségi táplálkozás fontossága, az élelmiszerbiztonság és a fenntartható környezet viszonya. Összességében a bélrendszerünkre való odafigyelés hangsúlyosabb vált, a mikrobiom kutatás forradalma vagy a „back to the nature”, „az vagy amit megeszel” és a „legyen a táplálék a gyógyszered” szlogenek pedig már a prevenció fontosságát helyezik az emberek gondolkodásának fókuszába.

Egy szerv elégtelensége olyan fokú strukturális és ennek következtében maradandó funkciózavart jelent, mely lehetetlenné teszi a szerv további normál működését. A bélelégtelenség gyógyításának jelenlegi kezelési módszere az enterális és parenterális táplálás mellett a különböző bélhosszabító műtétek, valamint a vékonybél izolált vagy multiorgan allotranszplantációja. Kutatási fázisban vannak a különböző bél 3D-organoid struktúrák és a genetikailag módosított sertésszervek xenotranszplantációja.

A szervátültetés a XX. század orvostudományának egyik legnagyobb vívmánya volt. A szervtranszplantáció egyik fő követelménye a szerv parenchymájának és vasculaturájának minél jobb megőrzöttsége, mely a szerv funkcióját biztosítani képes a keringés helyreállítását követően. Bármely szerv átültetésekor, így a vékonybél transzplantációjakor is elkerülhetetlen a szerv különböző időtartamú hideg és meleg ischémiája, majd ezt követő reperfüziója, mely bár az egyetlen alternatívája a szerv túlélésének, mégis számos problémát rejt magában. A konzerváló oldatok tesztelése, a maximális ischaemiás idő meghatározása, illetve a különböző endogén vélemi és túlélési jelátviteli utak ativálásával létrehozott citoprotekció már a XXI. század eleji technológia által támogatott kutatások fókuszába került.

A szöveti károsodások kimutatásának egyik konvencionális módja a hisztológiai vizsgálat. Vékonybél összetett struktúrája esetén azt láttuk, hogy míg a mucosa károsodások jól követhetők, addig az izomrétegben bekövetkező változások nem jellegzetesek. A differenciál pásztázó kalorimetria (Differential Scanning Calorimetry: DSC) egy olyan termoanalitikai technika, amely egy minta és egy referencia hőáramlási sebességének különbségének mérésére használnak egy ellenőrzött hőmérséklet-tartományban. Ezeket a méréseket fázisdiagramok készítésére és olyan termoanalitikai információk gyűjtésére használhatjuk, mint például az átmeneti hőmérsékletek és entalpiák. A technikát először szervesetlen anyagok fizikai tulajdonságainak kutatására, majd az 1980-as és 1990-es évektől egyre több, különböző biológiai struktúra változásának ex vivo elemzésére alkalmazták.

Napjaink ismert vizsgálati módszerei mellett folyamatos az igény az új diagnosztikai módszerek fejlesztése és tesztelése iránt, mely lehetővé teszi korai stádiumban felismerni, nyomon követni a tumorokat vagy krónikus gyulladással járó betegségeket. Kutatásainkban a differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálati módszer által tesztelhető változásokat kerestük különböző daganatos és gyulladással járó betegségek klinikai beteganyagain.

A szerző 1998 óta kísérletes modellekben kutatja a vékonybél meleg és hideg I/R-s károsodását és kivédési lehetőségeit több pécsi intézettel történő kollaboráció során. A termoanalitikai vizsgálatok 2008-ban kezdődtek kezdetben bél és vese kísérletes munkákban, majd különböző daganatos és gyulladással járó kórképekben szenvedő betegek vérplazmájának tesztelése során.



### 3. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk 7 fő célkitűzése alapvetően a klinikai gyakorlattal összefüggő két kérdéskörbe sorolható. Egyrészt célunk volt kísérletes állatmodellekben a vékonybél meleg és hideg I/R károsodásának és kivédési lehetőségeinek vizsgálata. Másrészt célul tűztük ki különböző klinikai kórállapotokban a humán vérplazma differenciál pászttázó kalorimetriás vizsgálatát.

1. Célunk volt különböző időtartamú meleg I/R hatására fellépő oxidatív károsodás és hisztológiai változások vizsgálata patkány bélszövetben. Arra is kerestük a választ, hogy ez milyen hatással lesz a keringő vér sav-bázis egyensúlyára a reperfüzió alatt.

2. Immunológiai problémák kizárására vékonybél hideg konzerválást és autotranszplantációt magába foglaló kutyamodellben vizsgálni kívántuk, hogy a vékonybél különböző összetételű oldatban és különböző ideig tartó hideg tárolása milyen hisztológiai változásokat idéz elő, és milyen hatással lesz ez a vér sav-bázis paramétereinek egyensúlyára.

3. Célunk volt vizsgálni - a korábban már kutyakísérletben kimutatott klasszikus IPC után - az IPC késői hatását a bélszöveti oxidatív stresszre. Ebben a modellben tanulmányozni kívántuk az IPC korai, illetve késői hisztológiai hatásait. Különböző IPC ciklusokat alkalmazva patkánykísérletekben arra kerestük a választ, hogy a transzkripciós faktor NF-kappaB milyen ütemben aktiválódik a bélsejtek citoplazmájában és sejtmagjában, illetve, hogy mi a folyamat dinamikája.

4. Kísérleti célkitűzéseink között szerepelt nagyállatmodellben mind meleg I/R-s, mind hidegen konzervált és autotranszplantált vékonybél vizsgálata. Arra kerestük a választ, hogy az ischaemiás inzultus után alkalmazott ischaemiás posztkonkondicionálás javítja-e a szöveti oxidáns-antioxidáns állapotot és csökkenti-e a hisztológiai károsodásokat.

5. Vizsgálni kívántuk a bélszöveti neuropeptidek közül a PACAP38 és PACAP27 endogén immunreaktivitását, valamint az exogén módon intravénásan vagy a konzerváló oldathoz adott PACAP38 hatását az oxidatív vagy szöveti károsodásokra meleg I/R és hideg konzerválást követő autotranszplantációs rágszáló modellekben. Választ kerestünk azokra a kérdésekre is, hogy a hidegen konzervált vékonybélben milyen a jelátviteli kinázok aktiválódási üteme és milyen a szöveti citokin/kemokin expresszió mértéke. Célunk volt annak vizsgálata is, hogy a PACAP38 vad típusú és homozigóta PACAP-génhiányos egerek esetén milyen mértékű oxidatív károsodás lép fel, és hogyan változik a bél szöveti szerkezete meleg és hideg I/R során.

6. Célul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy a bélszövet meleg és hideg I/R okozta szerkezeti károsodása kimutatható-e DSC módszerrel patkánybélben. Ha igen, akkor tovább kívántuk vizsgálni, hogy van-e különbség az egyes bélfalrétegekben létrejövő változásokban.

7. Célunk volt annak vizsgálata, hogy DSC módszerrel detektálható -e eltérés a humán vérplazmákban különböző daganatos (MM, emlőcarcinoma, pancreas adenocarcinoma) és gyulladásos (pancreatitis, psoriasis) kórképek esetén az egészségesek vérmintáihoz képest. A daganatos kórképek esetén a termoanalitikai méréseket ki kívántuk terjeszteni annak vizsgálatára, hogy a primer daganatos és az áttéteket adó esetek között találunk-e különbséget a vérplazma komponensek termikus viselkedésében. A gyulladásos kórképek esetén vizsgálni kívántuk a változások összefüggését a betegség súlyosságával. Psoriasisban szenvedő betegeknél célunk volt annak vizsgálata, hogy a gyógyszeres kezelés esetén látható-e eltérés a plazma DSC-görbéjén. Végül, céljaink között szerepelt az egyes betegségeknek kapott DSC-görbék dekonvolúcióval történő „felbontása”, elemzése.

#### 4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

##### ANYAGOK

**A kísérletekben használt anyagok, kiték és szoftverek betűrendben:**

antitestek (foszfo-p44/42 MAPK [Thr202/Tyr204], foszfo-SAPK/JNK [Thr183/Tyr185], foszfo-p38 MAP kináz [Thr180/Tyr182], (Cell Signalling Technology Inc, Beverly, USA); avidin-biotin komplex reagens (Vectastain ASC Kit, Vector Lab. Inc., Burlingame, Kanada); EC oldat (Euro-Collins®, Fresenius Biotech, Bad Homburg, Németország); *Flurokine MAP Rat Base Kit* (R&D Systems, Biomedica, Magyarország); GenePix Pro 3.0 szoftvert (Molecular Devices LLC, USA); *Glutathione Assay Kit* (Calbiochem, Darmstadt, Németország); *GSH Assay Kit* (Abcam Cambridge, UK); HEPES puffer (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); *Lipid Peroxidation Assay Kit* (Calbiochem, Darmstadt, Németország); *Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit* (Abcam Cambridge, UK); Luminex 100 IS szoftver (Luminex Corp, USA); MicroCal Origin (ver. 8.0) program (Microcal Software, USA); *NF-kappaB enzim immunoassay* (Oxford Biomedical Research, Oxford, MI, USA); PACAP27 és PACAP38 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); PMSF proteáz inhibitor (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); *Rat Base kit Assay* (R&D Systems, Biomedica, Magyarország); *Rat Cytokine Array Panel A Array kit* (R&D Systems, Biomedica, Magyarország); Scion Image Software (Scion Corporation, USA); *Superoxide Dismutase Assay Kit* (Calbiochem, Darmstadt, Németország); *Superoxide Dismutase Activity Assay Kit* (Abcam Cambridge, UK); TE puffer (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) UW oldat (ViaSpan®, Bristol-Myers Squibb P. Ltd, Austria)

**Egyetemi Gyógyszertárból vagy állatgyógyászati patikából kerültek beszerzésre a felhasznált infúziók, oldatok és gyógyszerek:**

atropin (Atropinum Sulfuricum®, EGIS Gyógyszergyár Zrt., Budapest), azaperon (Stresnil®, Janssen Animal Health, Belgium), diazepam (Seduxen®, Richter G. Gyógyszergyár Zrt., Budapest), droperidol (Droperidol®, Richter G. Gyógyszergyár Zrt., Budapest), fentanyl (Fentanyl®, Richter G. Gyógyszergyár Zrt., Budapest), halotán (Narcotan®, Zentiva, Lengyelország), isofluran (Forane®, Baxtel Healthcare Corp., USA), ketamin-hidroklorid (Calypsol®, Richter G. Gyógyszergyár Zrt., Budapest), Nátrium-klorid 0,9 % Fresenius oldatos infúzió (Fresenius Kabi Hungary Kft., Budapest); Na-Heparin (Heparibene Na®, TEVA Gyógyszergyár Zrt., Debrecen), povidon-jód (Betadine oldat®, EGIS Gyógyszergyár Zrt., Budapest), thiopental (Thiopental Sandoz®, Sandoz GmbH, Ausztria), Ringer Laktát oldatos infúzió (TEVA Gyógyszergyár Zrt., Debrecen).

## MÓDSZEREK

### 4.1. Vékonybél meleg I/R modell

#### 4.1.1. Állatkísérleti engedély

Kísérleteinket az 1998. évi XXVIII., „Az állatok védelméről és kíméletéről” szóló törvény előírásait betartva, a Pécsi Tudományegyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának (PTE MÁB) BA02/2000-20/2006 számú engedélye alapján végeztük.

#### 4.1.2. Előkészítés, anesztézia, műtéti és mintavételi protokoll

Vizsgálatainkban 250-300 g tömegű, hím Wistar patkányokat használtunk ( $\Sigma n=43$ , PTE ÁOK Központi Állatház, Pécs). Az állatok tartása standard körülmények közt, a napszaki változásokat követő mesterséges megvilágítás mellett, 22-24 °C-os szobahőmérsékleten történt. Az állatok tartásuk során a kereskedelmi forgalomban elérhető patkánytápot és csapvizet kaptak *ad libitum*. Műtéti előkészítésként a béltraktus székletmennyiségének csökkentése érdekében 16-24 óras preoperatív táplálékmegevonást alkalmaztunk, de a vizet szabadon elérték az állatok.

Az anesztéziát ketamin-hidroklorid (75 mg/ttkg) és diazepam (75 mg/ttkg) intraperitoneális (ip.) adásával végeztük. Az állatok 36,4-37,4 °C közötti maghőmérsékletét a hasfal többszöri ideiglenes zárásával és az állat testének fóliával történő takarásával biztosítottuk. A cirkadián ritmust befolyásoló hatások kiküszöbölése érdekében a műtéteket közel azonos időben végeztük.

Az áloperált (sham, S), 1.S. csoportban (n=3) az állatok median laparotomián estek át, melyet 6 órán át tartottunk fenn. A meleg I/R-s csoportokban a laparotomia után kipreparáltuk az a. mesenterica superiorit és atraumatikus klip segítségével leszorítottuk (n=40; n=10/csoport). A meleg ischaemiát az 1.1. csoportban 1 órán át, az 1.2. csoportban 2 órán át, az 1.3. csoportban 3 órán át, míg az 1.4. csoportban 6 órán át tartottuk fenn. A hasüreget rendszeres időközönként nedvesítettük. Az ischaemia végén a klipet eltávolítottuk és 3 órás reperfüziót indítottunk. Perifériás artériás és vénás vér és vékonybél szövetmintákat vettünk a műtétek kezdetén (kontroll, K), az ischaemia és a reperfüzió végén.

#### 4.1.3. Biokémiai vizsgálatok

A bélminták előkészítése során a bélfalat az antimesenterialis oldalon felvágtuk, majd a szövetet fiziológiás sóoldattal többször finoman lemostuk, hogy a rátapadt vér és faeces maradványokat eltávolítsuk. Majd Ultra-Turrax T8 készülékkel (IKA-Werke, Staufen, Germany) kb. 3 percig homogenizáltuk, mely lehetővé tette, hogy a bél kollagénben gazdag kötőszöveti rétegeit (t. serosa, tela submucosa stb.) a turrax eltávolítsa és a bélfal sejtjeinek homogén elegyét megkapjuk.

Az MDA koncentráció meghatározása *Lipid Peroxidation Assay Kit* vagy *Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit* segítségével történt. A mérés elméleti háttere, hogy oxidatív stressz során a szabadgyökök elektronokat vesznek el a lipidektől, ami a sejtmembránok lipidjeinek oxidatív lebomlását eredményezi, ami a sejtek dezorganizációját okozza. A lipidperoxidáció során reaktív aldehidek, például MDA képződik. A mérés lényege, hogy a kísérleti mintában lévő MDA reakcióba lép a kitből hozzáadott tiobarbitursavval (TBA), és MDA-TBA konjugátumot képez. A színes MDA-TBA-komplex colorimetrikusan, spektrofotometriás módszerrel számszerűsíthető (OD=532 nm). Eredményeinket a hemolizátumban  $\mu\text{mol/l}$  (nmol/ml,  $\mu\text{M}$ -ban), ill.  $\mu\text{mol/g}$  nedves szövet értékekben adtuk meg.

A scavenger GSH-szintjét *Glutathione Assay Kit* vagy *GSH Assay Kit* felhasználásával mértük. A módszer lényege, hogy a vizsgálati minta GSH molekulája egy kromofór thiollá alakul át, melynek abszorbanciáját 450 nm-es hullámhosszon mértük, és az eredményt hemolizátum esetén  $\mu\text{mol/l}$ -ben, szövet esetén  $\mu\text{mol/g}$  nedves szövet értékben adtuk meg.

Az endogén antioxidáns SOD enzim aktivitását *Superoxide Dismutase Assay Kit* vagy *Superoxide Dismutase Activity Assay Kit-el* határoztuk meg. A kit egyik reagense alkalikus autooxidáción megy át, mely átalakulást a mintában lévő SOD fokozza. Az autooxidáció eredményeképpen képződött kromofór abszorpciós maximuma 252 nm-en van. A SOD aktivitását hemolizátum esetén IU/ml-ben, szövet esetén IU/g nedves szövet értékben adtuk meg.

#### **4.1.4. Morfológiai vizsgálatok**

*Szövetteni feldolgozás.* A vékonybélmintákat 10 %-os formalinban való fixálást, dehidrációt követően paraffinba ágyasztuk. A 4 µm vastag metszeteket haematoxilin-eozin (H&E) módszerrel festettük.

*Szerkezeti károsodások meghatározása* H&E festett metszeteken 3 féle módon történt.

(1) Kvalitatív módon, a Park-féle hisztológiai klasszifikáció kritériumrendszerének felhasználásával fénymikroszkópos (Nicon Eclipse 80 Light Microscope, Kingston, Anglia; 100-szoros nagyítás) feldolgozás után.

(2) Kvantitatív módszerrel meghatároztuk a mucosa, a submucosa és az izomréteg vastagságát, valamint a kripták mélységét. A méréseket a minták 5-5 metszetén, metszetenként 5 különböző helyen végeztük 400-szoros nagyítás mellett Scion Image Software ver.2.0, majd ver.4.0 segítségével. Az eredményeket µm-ben adtuk meg. Ezeket a vizsgálatokat két, független, a kísérleti csoportokat nem ismerő anatómus kolléga végezte a vakpróba kritériumainak megfelelően.

(3) Villus/kripta (V/K) hányados kiszámításának módja az volt, hogy a mucosa vastagságából kivontuk a kripták mélységét, ezzel megkaptuk a villusok magasságát µm-ben. Majd a villusok µm-ben mért magasságát elosztottuk a kripták µm-ben mért mélységével, majd grafikusán a MicroCal Origin (8.0) program segítségével ábrázoltuk.

#### **4.1.5. Vérgáz analízis**

A műtéti előkészítés részeként artériás kanült helyeztünk be az a. femoralisba. A femoralis artériából vett vérmintákból (0,4±0,1 ml) vérgázanalizátor (Blood pH/Gas Analyser OP-216, Radelkis Elektronikai Műszergyártó Kft., Budapest) segítségével meghatároztuk a paramétereket a kontrol, az 1, a 2, a 3 és a 6 órás meleg ischaemiát követő reperfüzió 5. és 60. percében. A kinyert mennyiséget fiziológiás só beadásával azonnal pótoltuk.

#### **4.1.6. Statisztikai módszer**

Az eredmények értékelésekor átlagot és standard error (SE) számoltunk. Az adatokat ANOVA varianciaanalízissel dolgoztuk fel. A szignifikancia értéke \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 volt. Az adatok kiértékeléshez a MicroCal Origin (ver. 8.0) programot alkalmaztuk

### **4.2. Vékonybél hideg konzerválási és transzplantációs modell**

#### **4.2.1. Állatkísérleti engedély**

Kísérleteinket az 1998. évi XXVIII., „Az állatok védelméről és kíméletéről” szóló törvény előírásait betartva, a PTE MÁB 1301-7/1999 számú és BA02/2000-20/2006 számú engedélyei alapján végeztük.

#### **4.2.2. Előkészítés, anesztézia, műtéti és mintavételi protokoll**

Mindkét nemhez tartozó, felnőtt, kb. 23,3±14 kg tömegű keverék kutyán végeztük a vizsgálatokat (Σn=43). Az állatok tartása standard körülmények közt, a napszaki változásokat

követő, részben természetes, részben mesterséges megvilágítás mellett, 22-26 °C-os hőmérsékleten történt (PTE ÁOK Sebészeti Oktató és Kutató Intézet, állatház, Pécs). Az állatok tartásuk során a kereskedelmi forgalomban elérhető tápot és csapvizet kaptak. Műtéti előkészítésként a béltraktus székletmennyiségének csökkentése érdekében 16-24 órás preoperatív táplálékmegevonást alkalmaztunk, de a vizet ad libitum elérték az állatok.

Premedikációként im. droperidol (1,5 mg/ttkg), fentanyl (0,03 mg/ttkg) és atropin (1 mg) gyógyszerkeveréket alkalmaztunk. Anesztézia indukcióhoz iv. thiopentalt (5-10 mg/kg) adtunk, majd intubálást követően 70 % N<sub>2</sub>O és 30 % O<sub>2</sub> gázkeverékkel bevitt 0,5-1,0 vol%-os halotánal tartottuk fenn a narkózist. Folyadékpótlásként iv. Ringer Laktát infúziót adtunk a kísérlet teljes ideje alatt ( $\Sigma$  0,5-2 l/műtét). Kipreparáltuk az a. és v. femoralist perifériás vérvételek céljából. Az állatok 36,5-37,5 °C közötti maghőmérsékletét a mérések-mintavételek között a hasfal ideiglenes zárásával és az állat testének izoláló lepedőkkel történő takarásával biztosítottuk. Szükség esetén melegített infúziót adtunk. A műtéteket közel azonos időintervallumban végeztük.

Az áloperált 2.S. csoportban (n=3) az állatoknál csak median laparotomia történt, melyet 7 órán át tartottunk fenn. Teljes orthotop vékonybél autotranszplantációt végeztünk keverék kutyákon (n=40; n=10/csoport). Median laparotomiát követően a vékonybelet a Treitz-szagtól kb. 10 cm-re aboralisan a colon ascendensig reszekáltuk, a bél lumenét Betadinos fiziológiás sóoldattal mostuk át. Az állat szisztémásan 200 NE/kg Na-Heparint kapott és a beadás után számított kb. 2 perc után bulldog fogókkal leszorítottuk, majd átvágtuk az a. és v. mesenterica superiort (1. meleg ischaemiás idő: 10±5 sec volt), majd az AMS-on keresztül 1-1 liter hideg konzerváló oldattal (statikus módon) perfundáltuk a graft érrendszerét. A perfúzió után olvadó jég között, 4 °C-os EC vagy UW konzerváló oldatban tároltuk a szövetet. A konzerválás ideje és oldata alapján 4 csoportot hoztunk létre. A 2.1. csoportban 1 órán át EC oldatban, a 2.2. csoportban 3 órán át EC oldatban, a 2.3. csoportban 6 órán át EC csoportban, míg az 2.4. csoportban 3 órán át UW oldatban prezerváltuk a graftokat. Ennek végén a hasüregbe visszahelyeztük a belet és az AMS és VMS ércsonkjai között end-to-end anasztomózisokat hoztunk létre egyszerű tova futó varrattal, 6/0-s, monofil, polipropilén alapanyagú varróanyaggal. A 2. meleg ischaemiás idő 30±10 perc volt, melynek hatását azzal minimalizáltuk, hogy a varrás ideje alatt nagytörlőre helyezett zúzott jeget tettünk a béltraktusra. Ezt követően a centrális ércsonkokra helyezett vénás, majd az artériás bulldog fogókat felengedtük és 1 órás reperfüziót kezdtünk. Perifériás, vénás vért és vékonybél szövetmintákat vettünk a műtétek kezdetén, a konzerválás és a reperfüzió végén.

A morfológiai vizsgálatokat a 4.1.4.pontban, míg a statisztikai kiértékelést a 4.1.6.pontban leírt módon végeztük el.

#### 4.2.3. Vérgáz analízis

A műtéti előkészítés részeként artériás kanült helyeztünk be az a. femoralisba. A femoralis artériából vett vérmintákból (1,5±0,5 ml) vérgázanalizátor (Blood pH/Gas Analyser OP-216, Radelkis Elektronikai Műszergyártó Kft., Budapest) segítségével meghatároztuk a paramétereket a kontroll, az 1, a 3 és a 6 órás konzerválást követő reperfüzió 5. és 60. percében.

### **4.3. A vékonybél ischaemiás prekondicionálási modell**

#### **4.3.1. Állatkísérleti engedély**

Kísérleteinket az 1998. évi XXVIII., „Az állatok védelméről és kíméletéről” szóló törvény előírásait betartva, a PTE MÁB 1301-7/1999 számú és a BA02/2000-29/2001 számú engedélyei alapján végeztük.

#### **4.3.2. Előkészítés, anesztézia, műtéti és mintavételi protokoll**

##### **4.3.2.1. IPC kísérlet kutyán**

Mindkét nemhez tartozó, felnőtt, kb. 22,1±12 kg testtömegű keverék kutyán végeztük a vizsgálatokat ( $\Sigma n=40$ ). Az állatok tartási körülményei, előkészítése és anesztéziája a 4.2.2. pontban leírtak szerint történt.

Teljes orthotop vékonybél autotranszplantációt végeztünk keverék kutyákon. A műtét teljes mente megegyezett a 4.2.2. pontban leírtakkal. Az állatokat a konzerváló oldat és a prekondicionálás alapján 5 csoportba osztottuk ( $n=8$ /csoport). A 3.1. csoportban 3 órán át EC oldatban, a 3.2. csoportban 3 órán át UW oldatban történt a tárolás, a 3.3. csoportban a 3 órás EC konzerválás előtt korai IPC-t végeztünk, míg a 3.4. csoportban a 3 órás University of Wisconsin prezerváció előtt alkalmaztunk korai IPC-t. A 3.5. csoportban a 3 órás UW prezerváció előtt késői IPC-t végeztünk. Az IPC minden esetben 4 ciklusból állt, ciklusonként 5 perc ischaemia és 10 perc reperfüzió történt az AMS ideiglenes leszorításával és felengedésével. A korai IPC azt jelenti, hogy az ischaemiás hatás, jelen esetben a konzerválás előtt közvetlenül történt az IPC-s stimulusok alkalmazása. Míg a késői IPC esetén az első műtéti napon egy rövid műtéti beavatkozás történt: median laparotomia után kipreparáltuk az AMS-t és IPC-t végeztünk az állatokon, majd hasfalzárás után visszakerültek az istállóba. Majd ezt követően, 24 óra múlva re-laparotomiát végeztünk és ekkor a bélreszekció után történt maga a konzerválás és az autotranszplantáció a 4.2.2. pontban leírt lépések szerint. Perifériás, vénás vért és vékonybél szövetmintákat vettünk a műtétek kezdetén (kontroll), a konzerválás és a reperfüzió végén.

##### **4.3.2.2. IPC kísérlet patkányon**

A kísérletsorozatot 250-300 g testtömegű hím, Wistar patkányokon végeztük ( $\Sigma n=45$ ). Az állatok tartási körülményei, előkészítése és anesztéziája a 4.1.2. pontban leírtak alapján történt.

Az áloperált, 3.S. csoportban ( $n=5$ ) az állatoknál csak median laparotomia történt, melyet 3 órán át tartottunk fenn. A kísérleti csoportokban az AMS ideiglenes leszorításával és felengedésével különböző ciklusokkal IPC-t hoztunk létre. Az IPC protokollok szerint 8 csoportot (3.6.-3.13.) hoztunk létre ( $n=5$ /csoport). Bélbiopsziát vettünk a laparotomia után (kontroll), és 30, 60 és 120 perccel az IPC-t követően.

A biokémiai vizsgálatokat a 4.1.3. pont szerint, a morfológiai vizsgálatokat a 4.1.4.pontban, míg a statisztikai kiértékelést a 4.1.6.pontban leírt módon végeztük el.

#### **4.3.3. Bélminta előkészítése és kemiluminescens alapú NF-kappaB immunoassay vizsgálat**

A bélszövetet (100 mg) 1 ml 10  $\mu\text{mol/l}$  phenylmethyl-sulfonyl fluoride (PMSF) proteáz inhibitor tartalmazó Tris-EDTA (TE) pufferben homogenizáltuk a gyártó kitben történt előírásnak megfelelően. A sejtmagokat a citoszoltól (citoplazma frakció) 1400 g-vel 20 percig 4 °C-on centrifugálással választottuk el. Az utolsó pelletet 20 mmol/l HEPES-t tartalmazó pufferben reszuszpendáltuk, és 20 percig jéges hűtést alkalmaztunk. Majd 10 s centrifugálás után a felülúszót (sejtmag frakció) külön tároltuk.

Az *NF-kappaB* enzim immunoassay -t a gyártó protokollja szerint végeztük el. Ez a vizsgálat lehetővé teszi a citoplazmában az I-kappaB-vel kötött NF-kappaB teljes mennyiségének kimutatását, és az NF-kappaB aktivált, a sejtmagba transzlokálódó formáját egyaránt. A standardokat és az extrahált mintákat (citoplazma és sejtmag frakció) pufferben hígítottuk és a mintatartó mélyedésekbe pipettáztuk. A plate-et 25 °C-on inkubáltuk és 2 órán át enyhén, körkörösén ráztuk. Négy mosás után hígított specifikus antitestet adtunk minden egyes mintához, és 1 órán keresztül inkubáltuk. Három ismételt mosás után hozzáadtuk a hígított másodlagos antitest-enzimkonjugátumot, majd a lemezt hagytuk 1 órán át állni és minden egyes mélyedésbe hozzáadtuk a kemiluminescens szubsztrátot és kemiluminométerbe helyeztük (Multi Genius Bio Imaging System, Merck, Németország), majd a SynGene GeneTools 3.00.22-es verziójával elemeztük. Az aktiválódást relatív fényegységben határoztuk meg (Relative Light Unit: RLU). Az RLU mennyiségi növekedése korrelált az NF-kappaB aktivációjával.

#### **4.4. A vékonybél ischaemiás poszt kondicionálási modelljei**

##### **4.4.1. Állatkísérleti engedély**

Kísérleteinket az 1998. évi XXVIII., „Az állatok védelméről és kíméletéről” szóló törvény előírásait betartva, a PTE MÁB BA02/2000-20/2006 számú és a BA02/2000-9/2008 számú engedélyei alapján végeztük.

##### **4.4.2. Előkészítés, anesztézia, műtéti és mintavételi protokoll**

Kísérleteinket nagyfehér és a magyar lapály keresztezésével előállított (Large White crossed with Landrace), 25-30 kg tömegű sertéseken végeztük ( $\Sigma n=26$ ,  $n=2$ /csoport), melyeket stressztűrő képességük miatt több intézeti kutatók is használt kísérleteikhez. Az állatok tartási körülményei és műtéti előkészítése megegyezett a 4.2.2. pontban leírtakkal. Az állatokat im. adott azaperon (0,4 mg/ttkg) premedikáció és thiopenthal (0,1 mg/ttkg) anesztézia bevezetése után 0,5-1,0 vol%-os isofluran és N<sub>2</sub>O:O<sub>2</sub> 3:1 arányú gázkeverékével végzett intratracheális narkózisban operáltuk.

Az áloperált, 4.S. csoportban ( $n=2$ ) az állatoknál csak median laparotomia történt. A meleg I/R-s csoportokban median laparotomiát követően kipreparáltuk az AMS-t, majd atraumatikus klippel lezártuk és meleg ischaemiát hoztunk létre 1, 3 és 6 órán át. A 4.1., a 4.2. és a 4.3. csoportoknál az ischaemia után a klipet levettük és 3 órás reperfüziót tartottuk fenn. A 4.4., a 4.5. és a 4.6. csoportban a meleg ischaemia végén ischaemiás poszt kondicionálást végeztünk 3 ciklusban, ciklusonként 30 másodperc ischaemia és 30 másodperc reperfüzió alkalmazásával. Folyadékpótlásként iv. Ringer Laktát infúziót adtunk a kísérlet teljes ideje alatt ( $\Sigma$  0,5-3 l/műtét). Az állatokból vér és szövetmintát vettünk a laparotomia után (kontroll) és a reperfüziós periódusok végén. Az állatfelhasználás optimalizálása érdekében minden állattól a mintavételeknél 4-4 mintát vettünk, hogy a kapott eredmények statisztikailag értékelhetőek legyenek.

A hideg I/R-s csoportokban az ellátó erek kipreparálását követően a Treitz-szalagtól 10 cm-re aborálisan a vékonybelet reszekáltuk és lumenét povidon-jód és fiziológiás sóoldattal 1:1 arányú keverékével mostuk át. A graftokat 4 °C-os UW oldattal perfundáltuk, és 1, 3 és 6 órán át tároltuk. A konzerválást követően az éranasztomózisokat 6/0-s szintetikus, monofil, nem felszívódó, tova futó varratokkal rekonstruáltuk orthotopicus módon (autotranszplantáció). Bélanasztomózist nem készítettünk. A reperfüziót valamennyi csoportban 3 órán át tartottuk fenn. Az IPO protokollt 3 ciklusban, ciklusonként 30 másodperc ischaemia és 30 másodperc reperfüzió jelentette. Folyadékpótlásként iv. Ringer Laktát infúziót adtunk a kísérlet alatt ( $\Sigma$  0,5-3 l/műtét). Valamennyi állatból vér és szövetmintát vettünk a jejunumból a laparotomia

után (kontroll) és a reperfúziós periódusok végén. Az állatfelhasználás optimalizálása érdekében minden állattól a mintavételek során 4-4 mintát vettünk, hogy a kapott eredmények statisztikailag értékelhetőek legyenek.

A biokémiai vizsgálatokat a 4.1.3.pontban, a morfológiai vizsgálatokat a 4.1.4.pontban, a statisztikai kiértékelést a 4.1.6.pontban leírt módon végeztük el.

#### **4.5. A PACAP meleg és hideg I/R-s bélmodelljei**

##### **4.5.1. Állatkísérleti engedély**

Kísérleteinket az 1998. évi XXVIII., „Az állatok védelméről és kíméletéről” szóló törvény előírásait betartva, a PTE MAB BA02/2000-20/2006 számú és BA02/2000-9/2008 számú engedélyei alapján végeztük.

##### **4.5.2. Előkészítés, anesztézia, műtéti és mintavételi protokoll**

###### **4.5.2.1. Meleg I/R + iv PACAP38-al kezelt patkánykísérlet**

Kutatásunk során 250-300 g tömegű, hím Wistar patkányokat használtunk ( $\Sigma n=83$ ). Az állatok tartási körülményei, előkészítése és anesztéziája a 4.1.2. pontban leírtak alapján történt.

Az áloperált 5.S1. csoportban ( $n=3$ ) az állatok median laparotomián estek át, melyet 6 órán át tartottunk fenn. A meleg I/R-s csoportokban median laparotomia után kipreparáltuk az AMS-t és atraumatikus klip segítségével lezorítottuk ( $n=40$ ;  $n=10$ /csoport). A meleg ischaemiát 1, 2, 3 vagy 6 órán át tartottuk fenn. Az ischaemiás idő végén a klipet eltávolítottuk és minden csoportban 3 órás reperfúziót indítottunk. Az 5.5.-5.8. csoportokban ( $n=40$ ;  $n=10$ /csoport) az ischaemia után, a 3 órás reperfúzió alatt iv. infúziós pumpával 1 ml/h sebességgel fiziológiás sóoldatban oldott PACAP38 infúziót (20 nmol/ttkg bolusban, majd 160 pmol/ml/óra) adtuk. A kezelés során alkalmazott dózist a munkacsoport korábbi eredményei és irodalmi adatok alapján kalkuláltuk. Perifériás vénás vér és vékonybél szövetszövetmintákat vettünk a műtétek kezdetén (kontroll), valamint az I/R periódusok végén.

###### **4.5.2.2. Hideg konzerválás UW és UW+ PACAP38 oldatban patkányokon**

A hideg konzerválás és autotranszplantációs kísérletben  $250\pm 25$  g tömegű, hím Wistar patkányokat használtunk ( $\Sigma n=64$ ). A 4.1.2. pont adja meg az állatok tartási körülményeinek, előkészítésének és anesztéziájának részleteit.

A kísérleti és mintavételi protokoll a 4.13. ábrán, néhány műtéti kép a 4.14. ábrán látható. Teljes orthotop vékonybél autotranszplantációt végeztünk ( $n=40$ ;  $n=10$ /csoport). Median laparotomia után a vékonybelet (vastagbél nélkül) reszekáltuk, a bél lumenét povidon-jódos fiziológiás sóoldattal mostuk át. Az állat iv. Na-heparint (0,2 IU/g) kapott és a beadás után kb. 2 perc után klip segítségével lezorítottuk, majd átvágtuk az AMS-t és VMS-t. Majd az AMS-on keresztül hideg konzerváló oldattal perfundáltuk a graftot és olvadó jég között UW oldatban 1, 2, 3, és 6 órán át tároltuk. Az 5.13-5.16. csoportban a konzerváláshoz PACAP38-at tartalmazó UW oldatot (30  $\mu$ g PACAP38 30 ml UW-ban - 100  $\mu$ g PACAP38 100 ml UW oldatban, 1  $\mu$ g/ml koncentráció) használtunk. A kezelés során alkalmazott dózist a munkacsoport korábbi eredményei és irodalmi adatok alapján választottuk. Majd az AMS és VMS csomók között end-to-end anasztomózisokat hoztunk létre egyszerű csomós varrattal, 9/0-s, monofil, polyamin varróanyaggal és 3 órás reperfúziót kezdtünk. Perifériás vénás vért és vékonybél szövetszövetmintákat vettünk a műtétek kezdetén (kontroll), a konzerválás és a reperfúzió végén.



#### 4.5.2.3. Meleg I/R-s kísérlet PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú és PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos egereken

A kísérletben vizsgált vad típusú (PACAP<sup>+/+</sup>, wild type: WT) és homozigóta PACAP-génhiányos (PACAP<sup>-/-</sup>, knock out: KO) CD1 törzsbe tartozó, hím egerek ( $\Sigma n=72$ ) japán kollaborációs partnerünktől származtak. Ezek az egerek a PACAP mutált génjével rendelkeznek, mégpedig az 5. exonban található egy mutáció, aminek következtében a PACAP nem fejeződik ki. Az állatok szaporítása és gondozása a PTE ÁOK Központi Állatház ellenőrzött protokollja (BA02/2000-15024/2011) szerint, az Anatómiai Intézet ajánlásainak figyelembevételével történtek. Az állatokat 12 órás világos-sötét ciklusban tartották, táplálék és folyadék ad libitum biztosítva lett számukra. Az állatok altatásához ip. ketamin-hidroklorid (80 mg/ttkg) és xylazin (8 mg/ttkg) keveréket használtunk.

Az áloperált vad típusú, PACAP<sup>+/+</sup> állatok az 5.S2. csoportban (n=3) median laparotomián estek át, melyet 7 órán át tartottunk fenn. PACAP<sup>+/+</sup> állatokon meleg I/R-s csoportokat (n=5/csoport) hoztunk létre az AMS 1 órás (5.17. csoport), 3 órás (5.18. csoport) és 6 órás (5.19. csoport) elszorításával ( $\Sigma n=36$ ). Az okklúzív klip eltávolítása után a reperfúziót 1 órán keresztül követtük nyomon. A PACAP-génhiányos (PACAP<sup>-/-</sup>) állatoknak külön áloperált, 5.S3. csoportot (n=3) hoztunk létre, ahol a median laparotomiát követően 7 órán át tartottuk megfigyelés alatt az állatokat. PACAP<sup>-/-</sup> állatokon meleg I/R-s csoportokat (n=5/csoport) hoztunk létre az AMS 1 órás (5.20. csoport), 3 órás (5.21. csoport) és 6 órás (5.22. csoport) leszorításával. A klip eltávolítása után a reperfúziót 1 órán át tartottuk fenn. A bélbiopsziákat a laparotómia után (kontroll) és a reperfúziós periódusok végén vettük.

#### 4.5.2.3. Hideg I/R-s kísérlet PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú és PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos egereken

Az 5.S2. csoportba a csak median laparotomián átesett, áloperált állatok kerültek (n=3). Az 5.17.-5.22-es csoportokban Na-heparin (0,2 IU/g) adása mellett minden esetben vékonybélreszekció történt, majd a bél lumenét fiziológiás sóoldattal hígított Betadin oldattal mostuk át ( $\Sigma n=36$ , n=5/csoport). A graftok perfúziója az AMS-on keresztül valósult meg. Majd kb. 100 ml 4 °C-os UW oldatban tároltuk 1 órán (5.17. csoport), 3 órán (5.18. csoport) és 6 órán keresztül (5.19. csoport). A további graftokat 100 µg PACAP38-at tartalmazó 100 ml UW oldatban (1 µg/ml koncentráció) 1 órán (5.20. csoport), 3 órán (5.21. csoport) és 6 órán keresztül (5.22. csoport) statikus módon konzerváltuk. Ezt követően end-to-end anasztomózzal állítottuk helyre a mesenterialis erek folytonosságát. A reperfúzió minden esetben 1 órán át tartott. A laparotómia után (kontroll) és a reperfúzió végén szövetmintákat távolítottunk el.

A biokémiai vizsgálatokat a 4.1.3.pontban, a morfológiai vizsgálatokat a 4.1.4.pontban, a statisztikai kiértékelést a 4.1.6.pontban leírt módon végeztük el.

#### 4.5.3. Radioimmunoassay (RIA)

A patkány bélszövet mintákat (600 mg) jég hideg vízben homogenizáltuk, majd 12 000-es fordulatszámra 30 percig 4 °C-os hőmérsékleten centrifugáltuk. Ezután a felülúszót a PACAP38-szerű és PACAP27-szerű immunreakciók vizsgálata céljából RIA analízisnek vetettük alá. Jelölt anyagként 125-ös jódizotóppal jelölt juhából származó PACAP38-at és PACAP27-et használtunk (csövenként 5000 cpm-et). A standardjaink juhából származó PACAP38 és PACAP27 voltak (0-1000 fmol/ml). A vizsgálatot 0,1 M NaCl-ot, 0,05 % nátrium-azidot és 0,25 % marha-szérumalbumint tartalmazó 7,4-es pH-jú 0,05 M-os 1 ml térfogatú foszfátpufferben végeztük. A vizsgálati elegy 100 µl antiszérumot (PACAP38-ból

1:10 000 hígítást, a PACAP27-ből 1:45 000 hígítást), 100 µl jelölt anyagot, 100 µl standardot vagy ismeretlen mintát tartalmazott a polipropilén csövekben. 48-72 órát követő 4 °C-on történő inkubáció után az (antiszérumból származó) antitesteket megkötő peptideket 100 µl szeparáló oldat segítségével elkülönítettük azoktól a peptidektől, amelyek nem kötöttek antitestet. A szeparáló oldat összetétele: 10 g aktív szén, 1 g dextrans és 0,2 g közönséges zsírmentes tejpor 100 ml desztillált vízben oldva. 4 °C-on 20 percig 3000-es fordulaton való centrifugálást követően a cső tartalmának felülúszóját óvatosan leöntöttük (= dekantáltuk), és a csőben maradó csapadék radioaktivitását gamma-számlálóval mértük. Az ismeretlen minta PACAP38-, illetve PACAP27-tartalmát kalibrációs görbe segítségével határoztuk meg. A PACAP38-szerű és PACAP27-szerű kötődés arányát femtomol/mg szövetértékben adtuk meg.

#### 4.5.4. Immunhisztokémiai vizsgálatok

Az immunhisztokémiai vizsgálatok során meghatározásra kerültek a szöveti MAPK aktivitások. A foszforilált-ERK1/2, c-JNK és a p-38 MAPK aktivációjának kimutatására elsődleges antitesteket (foszfo-p44/42 MAPK [Thr202/Tyr204]; foszfo-SAPK/JNK [Thr183/Tyr185]; foszfo-p38 MAP kináz [Thr180/Tyr182]) használtunk. Az anyagokat 3 %-os TBS-ben hígított szarvasmarha szérumalbuminban egy éjszakán át 4 °C-on tartottuk. A foszfo-ERK1/2, foszfo-JNK és foszfo-p38 MAPK elleni poliklonális antitesteket 1:200 (ERK1/2), 1:100 (JNK1/2) vagy 1:150 (p38 MAPK) hígításban használtuk. Az 1 órás inkubációt követően 1 ml avidin-biotin komplex reagenssel, 1 ml DAB reagenssel (6,7 l 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 10 ml H<sub>2</sub>O, 10 ml 1 mg/ml DAB foszfát pufferelt sóoldatban) blokkoltuk az endogén peroxidázt.

Az aktivitást 2 szövetben járatos szakember vakon értékelte, és az egyes kinázok esetében a kvantitatív érték Scion Image Software ver. 2.0 segítségével a grafikon függőleges tengelyén tetszőleges egységben (Arbitrary Unit: AU) került meghatározásra. Az egység csak arra szolgál, hogy több, hasonló környezetben végzett mérést összehasonlítsunk, mivel a mérés és a referencia közötti arány egy konzisztens és dimenzió nélküli mennyiség, függetlenül attól, hogy milyen tényleges egységeket használunk. Az ilyen jellegű egységeket gyakran használják például anyagkoncentráció/aktivitás jelölésre. Ha a referenciamérés pontosan meghatározott és nemzetközileg elfogadott, a tetszőleges egységek is lehetnek nyilvános összehasonlításra alkalmas mértékegységek. A nyilvánosan meghatározott önkényes mértékegység egyik példája a WHO nemzetközi mértékegysége, az International Unit (IU).

#### 4.5.5. Kemiluminescens Citokin Array

A 4.13. ábrán bemutatott kísérleti modellt használva a bélszövetből mintát (n=4/csoport) vettünk a műtét kezdetén (kontroll), a 6 órás UW oldatban történt hideg konzerválást követően (5.12. csoport), 6 órás PACAP38-at tartalmazó UW-oldatban való hideg tárolás után (5.16. csoport: I), majd az ezt követő 3 órás reperfüziós periódus végén (5.16. csoport: R). Ezeket a szövetmintákat PBS-ben proteáz inhibitorok jelenlétében homogenizáltuk. Majd 1 %-os koncentrációjú Triton X-100-at adtunk a szövetszuspenzióhoz és a mérésig -80 °C-on tároltuk. A mérésekhez *Rat Cytokine Array Panel A Array kit*-et használtunk a gyártó által megadott protokoll szerint.

A minták újbóli felolvasását követően 5 percig centrifugáltuk (10000 rpm), majd fehérjetartalmuk meghatározása után a citokinek/kemokinek elleni antitesteket kötött formában tartalmazó nitrocellulóz membránokat blokkoló pufferben 1 órán át inkubáltuk. A pufferben oldott, homogenizált bélmintákhoz 15 µl biotinilált antitestet adtunk, majd szobahőmérsékleten 1 órát inkubáltuk. A nitrocellulóz membránok blokkolását követően a biotinilált antitest-

homogenizált minta keveréket a membránokra helyeztük és 4 °C-on egy éjszakán keresztül inkubáltuk. Az inkubációs idő letelte után a membránokat pufferben 3x10 percig mostuk. A mosás után a membránokat pufferben oldott streptavidin-tormaperoxidázzal inkubáltuk szobahőmérsékleten 30 percig. 3x10 perc mosást követően kemiluminescens reagens (Amersham Biosciences, Magyarország) hozzáadása után az immunpozitív foltokat autoradiográfias kazetta felhasználásával vizualizáltuk. A foltok intenzitásának kiértékeléséhez GenePix Pro 3.0 szoftvert használtunk. A megjelenő foltok pixeltérfogatát normalizáltuk a kontrollra, a statisztikai kiértékelhetőség miatt a detektálást háromszor megismételtük. Az adatok statisztikai analizését ANOVA teszttel végeztük.

#### **4.5.6. Luminex Multiplex Immunoassay**

Az előző, citokin array metodikában meghatározott 3 „host” marker, az sICAM-1, az L-szelektin és a TIMP-1 került meghatározására a kiválasztott (kontroll, 5.12., 5.16.I, 5.16.R csoportok; 4.13. ábrán bemutatott kísérleti modellben) bélmintákban „*Flurokine MAP Rat Base Kit*” felhasználásával a gyártó utasításai szerint. A korábbi optimalizálások után minden mintát hígítatlanul, „vakon” teszteltünk és a minőségellenőrzés során a reagensek a várt tartományon belül voltak.

Standard görbe az sICAM-1 esetében 17-12 500 pg/ml, az L-szelektin esetében 100-73 000 pg/ml, a TIMP-1 esetében pedig 55-40 600 pg/ml volt. A „*Rat Base kit Assay*” gyöngyök medián fluoreszcenciaintenzitásának elemzéséhez Luminex100 készüléket és Luminex 100 IS szoftvert használtunk a gyártó metodikai leírásának megfelelően. Röviden, normalizált standardból sorozatos hígítások elvégzésével egy nyolcpontos standard görbét hoztunk létre (tételszám: 1279612). Erre azért volt szükség, hogy biztosítsuk, hogy a mátrixban használt standard görbe a lehető legjobban hasonlít a mintákéhoz (mivel az előzetes tesztek azt mutatták, hogy ez a módszer jobb, mint a standardok standard hígítóban történő hígítása). A bélmintákat RPMI-1640 (GIBCO) 1 %-os proteáz-inhibitor-koktélrt tartalmazó tápoldattal homogenizáltuk, és 20 mg/ml koncentrációban használtuk. A vizsgálatokat két sorozatban végeztük, ami összesen 6 koncentrációs ismétlést eredményezett. A 50 µl térfogatot adtunk minden egyes mintából, kontrollból vagy standardból egy 96 lyukú lemezbe, amely 50 µl antitesttel bevont fluoreszcens gyöngyöket tartalmazott. Biotinilált másodlagos és sztreptavidin-PE antitesteket adtunk a lemezhez váltva az inkubációs és mosási lépéseket. Az utolsó mosási lépés után, 100 µl mosópuffert adtunk a mélyedésekhez; a lemezt inkubáltuk, és a Luminex100 assay olvasó készülékkel leolvastuk. Egy négy-PL regressziós görbét használtunk a standard görbe felrajzolásához. Az adatokat ezt követően a Luminex100 menedzser szoftverrel elemeztük és statisztikailag értékeltük.

#### **4.6. Kísérletes I/R-s modellek DSC vizsgálatai**

##### **4.6.1. Állatkísérleti engedély**

Kísérleteinket az 1998. évi XXVIII., „Az állatok védelméről és kíméletéről” szóló törvény előírásait betartva, a PTE MAB BA02/2000-20/2006 számú és BA02/2000-9/2008 számú engedélyei alapján végeztük.

#### **4.6.2. Meleg I/R-s kísérlet**

Kutatásunk során 250-300 g tömegű, hím Wistar patkányokat használtunk ( $\Sigma n=20$ ). Az állatok tartási körülményei, előkészítése és anesztéziája a 4.1.2. pontban leírtak alapján történt.

Meleg I/R csoportokat hoztunk létre, ahol az ischaemiát az AMS lezárásával idéztünk elő. A 6.1. csoportban ( $n=10$ ) az 1 órás ischaemiát 3 órás reperfúzió követte. A 6.2. csoportban ( $n=10$ ) 3 óra ischaemiát és 1 órás reperfúziót alkalmaztunk. Bélmintákat a laparotómia után (kontroll) és a reperfúziós periódus végén vettük. A DSC mérésekhez a teljes bélfalat és annak szikepangéval szétválasztott rétegeit (mucosa, simaizom) használtuk fel.

#### **4.6.3. Meleg ischaemiás kísérlet**

Kutatásunk során 250-300 g testtömegű, hím Wistar patkányokat használtunk ( $\Sigma n=15$ ). Az állatok tartási körülményei, előkészítése és anesztéziája a 4.1.2. pontban leírtak alapján történt.

Meleg ischaemiás csoportokat hoztunk létre az AMS leszorításával. A 6.3. csoportban ( $n=5$ ) 1 órás ischaemiát, a 6.4. csoportban ( $n=5$ ) 3 órás, míg a 6.5. csoportban 6 órás ischaemiát hoztunk létre. Bélmintákat a laparotómia után (kontroll) és az ischaemiás periódusok végén vettük. A teljes bélfalat és annak szétválasztott rétegeit (mucosa, simaizom) használtuk fel a DSC méréseinkhez.

#### **4.6.4. Hideg ischaemiás kísérlet**

Kutatásunk során 250-300 g tömegű, hím Wistar patkányokat használtunk ( $\Sigma n=15$ ). Az állatok tartási körülményei, előkészítése és anesztéziája a 4.1.2. pontban leírtak alapján történt.

A kísérleti protokoll a 4.19. ábrán látható. Hideg konzerválást hoztunk létre 4 °C-os UW oldatban 1 órán keresztül (6.6. csoport,  $n=5$ ), 3 órán át (6.7. csoport  $n=5$ ), és 6 órán keresztül (6.8. csoport,  $n=5$ ). Bélbopsziát vettünk a laparotómia után (kontroll) és a konzerválási időszak végén. A teljes bélfalat és annak szétválasztott rétegeit (mucosa, simaizom) mértük a 4.6.5. pontban leírt DSC módszerrel.

#### **4.6.5. DSC mérés**

A vizsgálatokat SETARAM Micro DSCII kaloriméter készülékkel végeztük. A módszer maga az elektromos teljesítmény változását, azaz a hőáramot méri mW-ban a hőmérséklet (°C) függvényében. Hagyományos Hastelloy tartályokat (cellákat) használtunk a mérés során átlagosan 850  $\mu$ l mintatérfogattal. A vizsgálati anyagokon 0 °C és 100 °C között végeztük méréseinket. Valamennyi esetben a felfűtés üteme 0,3 °K volt percenként. A referencia mintaként meleg I/-s kísérletekben és a vérplazma mérések esetén fiziológiás sóoldatot (0,9 % NaCl), míg hideg konzerválás kísérleteinél UW oldatot alkalmaztunk. A minta és a referenciaminták tömege kiegyenlítésre került  $\pm 0,1$  mg pontossággal. A hőkapacitás szempontjából további korrekcióra nem volt szükség a két minta között. Az ismételt vizsgálat során a denaturált mintát használtuk referencia alapvonalként, amelyet kivontuk az eredeti DSC-görbéből. A kalorimetriás entalpiát a hőabszorpciós görbe alatti területből számoltuk ki a SETARAM csúcsintegráció kétpontos beállításával. Grafikusan a MicroCal Origin (ver. 8.0) program segítségével ábrázoltuk. A kalorimetriás entalpiaváltozás abszolút értékeit tüntettük fel az ábrákon és táblázatokban.

#### 4.7. Humán DSC vizsgálatok

##### 4.7.1. A melanoma malignumos betegek vérplazmájának termoanalitikai vizsgálata

*Betegek és módszerek.* Jelen vizsgálatba 36 beteget vontunk be (25 férfi; 11 nő; átlag életkor: 63,7 év), akiknél az eltávolított specimen szövettani vizsgálata során melanoma malignum igazolódott. Eltávolításra került maga a primer daganat, a sentinel nyirokcsomók, amelyeket patentkéssel festettek és <sup>99m</sup>Tc radiotracerrel jelöltek és intraoperatívan detektáltak. A műtétet és a betegek nyomonkövetését Dr. Fekecs Tamás sebész kolléga végezte a PTE ÁOK Bőr-, Nemikórtani és Onkodermatológiai Klinikán. A MM a fejen és a nyakon (11 %), a törzsön (39 %), a felső végtagokon (27 %) és az alsó végtagokon (23 %) helyezkedett el. Regionális (sentinel) nyirokcsomók 12 betegnél voltak pozitívak, míg távoli áttétet (tüdő, agy) 5 esetben diagnosztizáltak. A szövettani eredmény alapján a tumor vastagságot (Breslow: 0,5-8,3 mm, átlag vastagság: 3,03 mm), az invazivitást (Clark: II., III., IV.), a regionális nyirokcsomó érintettségét, illetve a távoli áttétek jelenlétét vizsgáltuk betegeinknél.

*Mintavétel.* A műtét előtt perifériás vérmintákat gyűjtöttünk a betegektől (n=36) és a korban illesztett egészséges kontrolloktól (n=5). A plazmafrakciónak a sejtkomponensektől való elkülönítése érdekében a vérmintákat EDTA-t tartalmazó Vacutainer csövekbe centrifugáltuk 1600 g-vel 15 percig 4 °C-on. A plazmát -80 °C-on tároltuk a DSC mérésig.

*DSC analízis.* A mérések leírása a 4.6.5. pontban olvasható.

*Kutatásetikai engedély.* A vizsgálatokat a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Regionális Kutatásetikai Bizottsága (PTE KK RIKEB) engedélyezte (3220/2008).

##### 4.7.2. Az emlőtumoros betegek vérplazmájának kalorimetriás vizsgálata

*Betegek és módszerek.* Az I. számú vizsgálatba prospektív módon 19 olyan nőbeteg került bevonásra, akiknél újonnan diagnosztizált, távoli áttétek nélküli, operábilis emlődaganatot diagnosztizáltak. A betegek átlagos életkora 55,4 év volt, a legfiatalabb 32, míg a legidősebb 79 éves volt. Az emlőtumor diagnózisa a klinikai vizsgálat, a mammográfia, az ultrahangvizsgálat és a finom tűs aspirációs biopszia (FTAB) citológiai vizsgálata alapján került meghatározásra. A műtéteket a PTE ÁOK Sebészeti Klinikáján végezték. A csoportokat az ismert TNM stádiumokkal összhangban igyekeztünk összeállítani úgy, hogy minél több T és N stádium legyen képviseltetve. A rutin szövettani paraméterek közül a daganatszövet maximális átmérője (5-75 mm) és az áttétes hónalj nyirokcsomók száma (0-10 db) került értékelésre. A betegeket a daganat átmérője szerint hat csoportra osztottuk: ≤ 10 mm (1. csoport), 11-20 mm (2. csoport), 21-30 mm (3. csoport), 31-40 mm (4. csoport), 41-50 mm (5. csoport), ≥ 51 mm (6. csoport). A betegeket az érintett nyirokcsomók száma alapján három csoportba osztottuk: 0 metasztatikus nyirokcsomó (A. csoport), 1-3 metasztatikus nyirokcsomó (sentinel nyirokcsomó pozitív) (B. csoport), 4-10 metasztatikus nyirokcsomó (C. csoport).

A II. vizsgálatba prospektív módon 11 operábilis emlődaganatos nőbeteget vontunk be. A betegeket a daganat típusa és stádiuma, valamint a műtét előtti (neoadjuváns) kemoterápiás kezelés alapján. Azok a betegek, akiknek lokális vagy távoli áttét nélküli DCIS tumorok (n=3) volt a primer tumor műtéti úton eltávolításra került, kemoterápiát nem kaptak. A másik csoportban a betegeknél invazív lobuláris carcinómája (ILC) (n=8) volt távoli áttét nélküli regionális nyirokcsomó-metasztázisokkal (II. stádium: T2N1M0, III. stádium: T3N2M0). Ezek a betegek preoperatívan, neoadjuváns módon intravénásan docetaxel (75 mg/m<sup>2</sup> testfelület) és epirubicin (75 mg/m<sup>2</sup> testfelület) kemoterápia kombinációt kaptak. A kezeléseket nemzetközi ajánlásoknak megfelelően a következők voltak: 6 cikluson keresztül 3 hetente megismételték a kezeléseket, a sebészeti beavatkozást 6 héttel az utolsó kemoterápiás ciklus után végezték el.

*Mintavétel.* A műtét előtt perifériás vérmintákat gyűjtöttünk a betegektől (I. vizsgálat: n=19; II. vizsgálat: n=11) és a korban illesztett egészséges kontrolloktól (n=10). A plazmafrakciók előállítását a 4.7.1.-es pontban leírtak szerint történt.

*DSC mérés.* A mérések leírása a 4.6.5. pontban olvasható.

*Kutatásetikai engedély.* A vizsgálatokat a PTE KK RIKEB engedélyezte (12736/2009).

### 4.7.3. Krónikus pancreatitis és pancreastumoros betegek vérének DSC mérései

*Betegek és módszerek.* A vizsgálatba két különböző típusú hasnyálmirigy-betegségben, nevezetesen krónikus hasnyálmirigy-gyulladásban és rosszindulatú hasnyálmirigy-daganatban szenvedő betegeket vontuk be. A klinikai adatokat a 4.1. táblázat foglalja össze, irányelveként az érvényes hazai protokollt vettük alapul. A krónikus hasnyálmirigy-gyulladásos betegek csoportjához (n=5) azok tartoztak, akiknél az évek óta fennálló pancreatitis szövődményei (pl. szövetelhalás, epevezeték- vagy nyombélhalás, szűkület) miatt bármilyen sebészi beavatkozásra sor került. Az újonnan diagnosztizált rosszindulatú hasnyálmirigyrákban szenvedő betegeket az R0 operálhatóság szerint két csoportba osztottuk: operálható (n=11) és nem operálható (n=5). A pancreastumor diagnózisa klinikai, radiológiai (CT-vizsgálat, endoszkópos ultrahang, mellkasröntgen) és laboratóriumi (CA 19,9) vizsgálatok alapján került meghatározásra. A nemzetközi és hazai irányelvek alapján az operabilitást (reszekálhatóságok) a tumoros daganat radikális és kuratív sebészi R0 reszekciójaként került meghatározásra standard nyirokcsomó-eltávolítással a tumor korai, I-es stádiumában, és néhány II. stádiumú esetben. Az operálhatóság kérdését egy multidiszciplináris onkológiai csapat döntötte el, amely hasnyálmirigy-sebész szakorvosból, onkológusból és radiológusból állt. A többi, előrehaladott esetenél palliatív megoldásként a gyomor-bélrendszer átjárhatósága biliodigestív kettős bypasssal került biztosításra (inoperábilis alcsoport). Minden műtét a PTE Sebészeti Klinikáján történt.

*Mintavétel.* Perifériás vénás vérmintákat gyűjtöttünk a betegektől (n=21) a műtét előtt, valamint 25 és 65 év közötti egészséges kontrolloktól (n=5). A vérmintákat EDTA-t tartalmazó Vacutainer-csővekbe gyűjtöttük és a vérplazma elválasztása érdekében 1 600 g-vel 15 percig 4 °C-on centrifugáltuk, majd a natív plazmákat -80 °C-on tároltuk a mérésig.

*DSC mérést a 4.7.1. pontban leírtak szerint végeztük.*

*Kutatásetikai engedély.* A vizsgálatokra a PTE KK RIKEB adott engedélyt (4425/2012).

### 4.1. táblázat. Krónikus hasnyálmirigy-gyulladásban, operábilis és nem operábilis rosszindulatú hasnyálmirigy adenocarcinómában szenvedő betegek klinikai adatai

jellemző	krónikus pancreatitis (n=5)	operábilis pancreas adenocarcinoma (n=11)	inoperábilis pancreas adenocarcinoma (n=5)
átlagéletkor	54 év (43-68 év)	60 év (49-76 év)	66 év (58-74 év)
férfi:nő arány	60 % : 40 %	45 % : 55 %	60 % : 40 %
diagnózis	Krónikus pancreatitis Ductus choledochus stenosis Duodenum stenosis	Daganat a pancreasban Daganat a Vater papillában	Daganat a pancreasban Daganat a Vater papillában
műtéti módszer	Hasnyálmirigy fej reszekciója Az epevezeték reszekciója Biliodigestív anasztomózis Wirsungo-jejunosztómia Gyomor reszekció (Billroth II)	Kuratív kezelés: Pylorus-megtartásos pancreatoduodenectomia Whipple-műtét: bal oldali reszekció	Palliatív terápia: Biliodigestív kettős bypass
posztoperatív komplikációk	40 % (hasi tályog, mentális zavartság)	45 % (sebfertőzés, hasnyálmirigy sipoly, tüdőgyulladás)	40 % (GIR vérzés, hasi tályog)
kórházi halálozás	0 %	0 %	20 %

#### 4.7.4. Psoriasisban szenvedő betegek vérplazmájának DSC analízise

*Betegek és módszerek.* Az első vizsgálatba 22 beteget vontunk be, akik közül 18 beteg nem kapott kezelést, míg 4 esetben gyógyszeres kezelést kaptak a betegek. A nem kezelt fehér bőrű (Fitzpatrick I-II) felnőtt személyek (8 férfi és 10 nő) átlagéletkora  $55,7 \pm 6,4$  év volt. Ezeknél a betegeknél teljes körű bőrvizsgálatot követően pikkelysömört diagnosztizáltak a PTE ÁOK Bőr-, Nemikórtani és Onkodermatológiai Klinikán. A tünetek súlyosságát figyelembe a PASI pontozási rendszer alapján 3 csoportba soroltuk a betegeket: tünetmentes: PASI = 0; enyhe/közepes tünetek: PASI = 1-15; súlyos tünetek: PASI >15. A tünetmentes betegek nem kaptak kezelést, míg enyhe/közepes (n=2) és súlyos tünetekkel (n=2) rendelkező betegek per os gyógyszeres kezelésben részesültek. A vizsgálatokba egészséges kontroll személyeket is bevontunk (n=5).

A második vizsgálatba 72 fehér bőrű (Fitzpatrick I-II) felnőtt beteget (35 férfi és 37 nő; átlagéletkor  $56,04 \pm 7,8$  év) vontunk be, akiknél psoriásist diagnosztizáltak. A tünetek súlyosságának a fent leírt módon határoztuk meg. A gyógyszeres kezelés szerint a betegeket kezelés nélküli (n=39) és szisztémás gyógyszeres kezelésben részesülők (n=33) csoportjaira osztottuk. A szisztémás gyógyszeres kezelést kapó csoportba olyan betegeket választottunk, akiket monoterápiában csak citosztatikummal (metotrexát, n=12), retinoidkezeléssel (acitretin, n=10) vagy valamelyik biológiai válaszmódosítóval (adalimumab, n=5; infliximab, n=5; ustekinumab, n=1) kezelték.

A harmadik vizsgálatba olyan betegeket vontunk be, akik a gyógyszeres kezelés mellett tünetmentesek voltak, enyhe-közepes tüneteket vagy súlyos tüneteket mutattak. Kezelésként monoterápiában szisztémásan citosztatikumot (metotrexát, n=10), retinoidot (acitretin, n=10) vagy biológiai válaszmódosítót (n=10) kaptak. Ezeknél a betegeknél a DSC mérések után a 4.7.5. pontban meghatározott módon elvégeztük a termikus görbék dekonvolúcióját is. A vizsgálatba egészséges kontrollokat is bevontunk (n=10). A gyógyszer típusát és dózisát az aktuális bőrgyógyászati protokolloknak megfelelően kapták a betegek. A 2. és 3. vizsgálat kezelt betegcsoportjai között részben van átfedés, az enyhe-közepes és súlyos tünetes betegekből került plusz 2 fő bevonásra.

*Mintavétel.* Perifériás vénás vérmintákat gyűjtöttünk a betegektől ( $\Sigma n=96$ ) és korban megfelelő egészséges kontrolloktól ( $\Sigma n=15$ ). A minták kezelése tekintetében a 4.7.1. pontban leírtak szerint jártunk el.

*DSC mérést a 4.7.1. pontban leírtak szerint végeztük el.*

*Kutatásetikai engedély.* A vizsgálatokat a PTE KK RIKEB engedélyezte (4077/2011).

#### 4.7.5. A DSC termikus görbék dekonvolúciója

A termikus görbék esetén mért hőáram a minta és a referencia közti hőegyensúly megtartásához szükséges befektetett kompenzációs hőfluxus elektromos teljesítménnyé alakítva, vagyis az entalpiaváltozás. A vérplazma DSC vizsgálatát követően a kapott DSC-görbét „bontottuk szét” „termikus tartományokra”, amelyek a különböző termikus doménekhez (a makromolekulán belül termikusan azonos módon viselkedő szerkezeti egységekhez) rendelhetők. A DSC-görbét Gauss-görbék összegére bontottuk úgy, összterületük közel azonos legyen az eredeti kísérleti görbével. Az elfogadható hibahatár <1 % alatt volt. A dekonvolálás során törekedtünk rá, hogy a legjobb illeszkedés érdekében öt vagy hét görbét alkalmazzunk, de néhány hozzájárulás kisebb volt, mint az entalpia hibája, de ezek nem befolyásolják a végső kiértékelésünket.

## 5. EREDMÉNYEK

### 5.1. Vékonybél meleg I/R-s modellben kapott eredmények

#### 5.1.1. Biokémiai vizsgálatok eredményei

A szövetminták MDA koncentrációja az áloperált csoportban jelentősen nem változott a kontrollértékhez képest (K:  $100,92 \pm 3,6$ ; 1.S.:  $105,1 \pm 3,1$   $\mu\text{mol/g}$ ). Ezzel szemben valamennyi meleg ischaemiás csoportban a kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan emelkedett az értéke a reperfüzió végére (1.1.:  $134,4 \pm 5,3$ ; 1.2.:  $143,6 \pm 7,2$ ; 1.3.:  $162 \pm 6,8$ ; 1.4.:  $172,8 \pm 4,5$   $\mu\text{mol/g}$ ). Az álműtét nem befolyásolta lényegében a bél GSH tartalmát (K:  $890 \pm 14,5$ ; 1.S.:  $883 \pm 11$   $\mu\text{mol/g}$ ). A bélszövet GSH-szintje meleg I/R hatására csökkent (1.1.:  $865 \pm 13$   $\mu\text{mol/g}$ ) Ez a csökkenés 2, 3 és 6 óra után szignifikáns volt (1.2.:  $842 \pm 12$ ; 1.3.:  $815 \pm 15$ ; 1.4.:  $711 \pm 10$   $\mu\text{mol/g}$ ). A szöveti SOD aktivitást önmagában az altatás nem befolyásolta számottevően (K:  $210 \pm 11$ ; 1.S.:  $206 \pm 12$  IU/g). De a meleg ischaemiás idő növekedésével arányosan szignifikáns csökkenést mutatott, sőt 6 óra után az aktivitás több mint felére csökkent (1.1.:  $165 \pm 11$ ; 1.2.:  $133 \pm 13$ ; 1.3.:  $114 \pm 10$ ; 1.4.:  $90 \pm 12$  IU/g).

#### 5.1.2. Szövettani vizsgálatok eredménye

A bél strukturális károsodásának megítélésére a Park-féle klasszifikációt vettük alapul, mely szerint a kontroll és áloperált (1.S.) csoportokban normál bélszöveti struktúra volt detektálható. Az 1 órás meleg ischaemiát követő reperfüzió végén a villusok kismértékű leválását figyeltük meg (grade 1), míg 2 órás ischaemia már a villusok közepes mértékű leválását okozta (grade 2). A 3 órás meleg ischaemia jelentősebb epithelleválást okozott (grade 4). Hat órás ischaemia után, a legmagasabb, 5-ös fokozatú károsodás alakult ki denudált villusokkal, a lamina propria és a kripták decellularizációjával és végső soron a bélstruktúra teljes szétesésével.

A V/K arány jelezte, hogy a kontroll 2,55-ös értékhez viszonyítva a 3 órás meleg ischaemia hatására az 1.3. csoportban ez 1,33-ra, míg 6 óra elteltével az 1.4. csoportban 0,05-re lecsökkent a hányados, mely mindkét esetben szignifikáns volt. Az 1 és 2 órás meleg ischaemia még nem idézett elő jelentős változást a V/K hányadosban (1.1.: 2,57; 1.2.: 2,7). A 3 órás csoportban mért érték szignifikánsan alacsonyabb volt az 1 órás arányhoz viszonyítva, illetve a 6 órás szignifikánsan eltért már a 3 órás csoport értékéhez képest is.

A Scion Image kvantitatív analízis szerint a szöveti sérülés mértéke egyenes arányban változott a meleg ischaemia idejével. Jelentős károsodás a mucosa, a submucosa és a kripták területén volt. A mucosa jelentősen sérült mind a kontroll (K:  $764 \pm 10$   $\mu\text{m}$ ), mind az áloperált (1.S.  $750 \pm 11$   $\mu\text{m}$ ) mintákhoz viszonyítva már 1 és 2 órás meleg ischaemia után is (1.1.:  $700 \pm 11$ ; 1.2.:  $650 \pm 20$   $\mu\text{m}$ ). A 3 és 6 órás mintáknál ez tovább fokozódott és a mucosa vastagsága nemcsak a kontroll vastagságot tekintve, hanem még az 1 és 2 órás ischaemiás mucosavastagsághoz képest is szignifikánsan csökkent (1.3.:  $380 \pm 30$ ; 1.4.:  $160 \pm 15$   $\mu\text{m}$ ). A submucosa vastagsága (K:  $58 \pm 3$ ; 1.S.:  $56 \pm 4$ ; 1.1.:  $47 \pm 2$ ; 1.2.:  $40 \pm 2$ ; 1.3.:  $37 \pm 4$ ; 1.4.:  $30 \pm 6$   $\mu\text{m}$ ) és a kripták mélysége (K:  $215 \pm 8$ ; 1.S.:  $210 \pm 6$ ; 1.1.:  $189 \pm 7$ ; 1.2.:  $175 \pm 4$ ; 1.3.:  $163 \pm 6$ ; 1.4.:  $152 \pm 4$   $\mu\text{m}$ ) is az ischaemiás idővel arányos módon, jelentősen csökkent a kontrollhoz viszonyítva. A bélfal muscularis rétege is csökkent, de ez csak a 3 és 6 órás minták esetén volt szignifikáns mértékű (K:  $129 \pm 10$ ; 1.S.:  $125 \pm 8$ ; 1.1.:  $112 \pm 6$ ; 1.2.:  $115 \pm 3$ ; 1.3.:  $108 \pm 4$ ; 1.4.:  $106 \pm 7$   $\mu\text{m}$ ).

#### 5.1.3. Vérgáz vizsgálatok eredménye

A patkány vér normál sav-bázis értékeit hasonló a humán értékekkel, de az artériás vér pH-jának 7,26-7,46-os - tágabb - tartományát tekintjük normál pH-nak. Ismert, hogy az altatószerek



is hatással vannak a vér sav-bázis paramétereire, de ebből a szempontból a kísérleti elrendezés homogén volt.

Korai (5 perc) és reperfúzió végi (60 perc) vérmintákat vettük és hasonlítottuk össze a kontroll (pH:  $7,33 \pm 0,1$ ) értékekkel. Az artériás vér pH-ja az 1 óras (1.1.) és a 2 óras (1.2.) meleg ischaemiás csoportoknál a normál tartományban maradt a reperfúzió teljes ideje alatt. Ezzel szemben a 3 óras (1.3. csoport) meleg ischaemia már savas irányba tolta el a pH-t, míg 6 óras ischaemia a reperfúzió elején enyhébb (pH:  $7,11 \pm 0,03$ ), majd 1 óra múlva súlyosbodó (pH:  $7,06 \pm 0,01$ ) acidózist okozott. Ez a kontroll és az 1 és 2 óras értékekhez viszonyítva is szignifikáns eltérés volt. A  $\text{PaO}_2$  minden csoportnál normál tartományban maradt. A parciális  $\text{CO}_2$  nyomás az 1 és 2 óras meleg ischaemiás csoportokban a normál tartományon belül volt a reperfúzió idején. Ezzel szemben 3 óra után a  $\text{PaCO}_2$  értéke  $35 \pm 3$  és  $36 \pm 4$  Hgmm-re csökkent a kontroll,  $45 \pm 2$  Hgmm-es nyomáshoz képest. A 6 óras ischaemia szignifikáns csökkenést eredményezett a reperfúzió idején mért  $\text{PaCO}_2$  nyomásértékekben ( $20 \pm 5$  Hgmm;  $22 \pm 2$  Hgmm). Ez mind az 1 és 2 óras ischaemiás, mind a kontrollértékeket tekintve is jelentős eltérés volt.

A  $\text{HCO}_3^-$  koncentráció a 3 óras csoportban  $14,9 \pm 4$  mmol/l, míg a 6 óras csoportban  $6,0 \pm 3$  mmol/l volt. Ez utóbbi szignifikáns volt a kontroll ( $22,9 \pm 2$  mmol/l), az 1.1. ( $20,9 \pm 2$  mmol/l) és az 1.2. ( $19 \pm 3$  mmol/l) csoportokkal összehasonlítva. A BE súlyos fokú negatív eltolódását kaptuk a 3 óras ischaemia utáni reperfúzió végére ( $-11 \pm 4$  mmol/l) és a 6 óras csoportban ( $-21,8 \pm 4$  mmol/l). Ez utóbbi a kontroll ( $-2,4 \pm 0,2$  mmol/l) és az 1 és 2 óras csoportokban mért koncentrációktól is szignifikánsan magasabb volt.

A Siggaard-Andersen nomogramon ábrázoltuk a meleg I/R-s modellben kapott értékeket, amely a pH változás és a  $\text{CO}_2$  parciális nyomásváltozás összefüggését mutatja egy koordinációs rendszerben. A kontroll, az 1 óras (1.1. csoport) és 2 óras (1.2. csoport) meleg ischaemia után a reperfúzió idején is közel a normál tartományban maradtak az értékek. Ezzel szemben a 3 óras csoport sav-bázis értékei már a metabolikus acidózis felé tértek el. A 6 óras ischaemia utáni reperfúziós minták már súlyos metabolikus acidózis értékeket mutattak.

## 5.2. Vékonybél hideg konzerválási és transzplantációs modelljének eredményei

A hideg konzerválási és transzplantációs kutya-modell eredményei közül azok kerülnek itt bemutatásra, melyek a Ph.D. dolgozat megírása után születtek.

### 5.2.1. Szöveti vizsgálatok eredménye

A hideg konzerválás a kontroll és áloperált (2.S.) csoportoknál tapasztalt ép struktúrához képest 1 óra múlva (2.1.) 1-es fokozatú károsodást eredményezett. A 3 óras EC oldatban történő hideg konzerválás (2.2.) 3-as, míg a 6 óras (2.4.) 4-es fokú károsodást okozott. A 3 óras UW oldatban történő prezerváció is 3-as szintű károsodást mutatott jelentősebb epithelleválással és helyenként előforduló kriptakárosodással. Az azonos idejű EC (2.2.) és UW (2.4.) oldatban történő konzerválás közel azonos minőségi változásokat okozott a szerkezetben.

A hidegen konzervált graftok kvantitatív analízise alapján a szöveti sérülés legjelentősebb a mucosa és a kripták területén volt. A mucosa vastagsága a kontroll (K:  $796 \pm 26$   $\mu\text{m}$ ) és az áloperált (2.S.  $788 \pm 21$   $\mu\text{m}$ ) minták viszonylatában szignifikánsan csökkent a 3 óras EC oldatban (2.2.:  $510 \pm 18$   $\mu\text{m}$ ) és UW oldatban (2.4.:  $580 \pm 18$   $\mu\text{m}$ ) való tárolás után, illetve 6 óras EC-ben (2.3.:  $410 \pm 20$   $\mu\text{m}$ ) való prezerváció hatására. A mucosával arányos módon és mértékben csökkent a submucosa rétege is (K:  $56 \pm 4$ ; 2.S.:  $55 \pm 3$ ; 2.1.:  $50 \pm 3$ ; 2.2.:  $43 \pm 4$ ; 2.3.:  $31 \pm 5$ ; 2.4.:  $49 \pm 3$   $\mu\text{m}$ ). A hideg tárolás a kripták szerkezetében is károsodást eredményezett, mely a 3 és 6 óras graftoknál szignifikáns volt (K:  $278 \pm 8$ ; 2.S.:  $270 \pm 6$ ; 2.1.:  $261 \pm 5$ ; 2.2.:  $188 \pm 4$ ;

2.3.:  $118 \pm 5$ ; 2.4.:  $205 \pm 8$   $\mu\text{m}$ ). Sőt a 6 órás EC-ben tárolt graftok esetén a mucosa vastagsága és a kripták mélysége szignifikánsan alacsonyabb maradt a graftok 3 órás tárolásával szemben (2.3. vs. 2.2.). A bélfal izomrétegének vastagságában enyhe csökkenés volt mérhető (K:  $285 \pm 10$ ; 2.S.:  $280 \pm 8$ ; 2.1.:  $278 \pm 2$ ; 2.2.:  $275 \pm 5$ ; 2.3.:  $268 \pm 3$ ; 2.4.:  $276 \pm 3$   $\mu\text{m}$ ).

A kontroll V/K arány kutyanál 1,86 volt. Az 1 és 3 órás EC, és a 3 órás UW oldatban történő hideg konzerválás jól megőrizte a kontrollhoz közeli értéket (2.1.: 1,95; 2.2.: 1,71; 2.4.: 1,82). Ezzel szemben a 2.3. csoport 6 órás EC oldatban tárolt graftoknál 2,47-re nőtt az arány, mely szignifikáns változás volt mind a kontroll, mind az 1 órás értékekhez képest is.

### 5.2.2. Vérgáz vizsgálatok eredménye

Artériás vérmintákat vettünk a korai reperfüzió időszakában (5 perc) és a reperfüzió végén (60 perc) és hasonlítottuk össze a műtét kezdetén mért kontrollértékkel (pH:  $7,37 \pm 0,01$ ). Az artériás vér pH-ja 1 órás EC oldatban való hideg konzerválás (2.1. csoport) után a normál tartományban maradt a reperfüzió teljes ideje alatt. Ezzel szemben EC oldatban való 3 órás (2.3. csoport) tárolás már savas érték felé tolta el a pH-t (pH: 7,3), illetve 6 órás prezerváció a reperfüzió elején (pH: 7,22) és 1 óra múlva is acidózis (pH: 7,25) mutatott. Ez a kontroll, illetve az 1 és 3 órás értékekhez képest is szignifikáns eltérés volt. A UW oldatban történő 3 órás tárolás utáni reperfüzióban normál pH-t ( $7,36$ ;  $7,37$ ) mértünk.

A  $\text{PaO}_2$  minden csoportban normál tartományban maradt. EC oldatban tárolt graftok esetén a parciális szén-dioxidnyomás 1 óra után normális volt ( $\text{PaCO}_2$ : 42 Hgmm), de 3 órás ( $\text{PaCO}_2$ : 33 Hgmm) és 6 órás ( $\text{PaCO}_2$ : 29 Hgmm) tárolást követő reperfüzió végén csökkenést mértünk, mely a 6 órás csoportnál a kontroll, az 1 és 3 órás csoportok esetén is szignifikáns változást jelentett. A UW oldatban való 3 konzerválás csupán enyhe  $\text{PaCO}_2$  csökkenést okozott a reperfüzió végére ( $7,37 \pm 0,01$ ).

Hasonló eltéréseket kaptunk a  $\text{HCO}_3^-$  koncentráció és a bázistöbblet vonatkozásában. A  $\text{HCO}_3^-$  koncentráció az 1 órás EC csoportban 22,9 mmol/l volt, mely megőrizte a kontrollértéket. Koncentrációját az EC oldatban történő 3 és 6 órás konzerválás 15,7 és 12,3 mmol/l-re csökkentette a reperfüzió végére. Ez utóbbi érték szignifikáns csökkenés volt a kontroll ( $\text{HCO}_3^-$ : 22,9 mmol/l), az 2.1. ( $\text{HCO}_3^-$ :  $22,9 \pm 2$  mmol/l) és a 2.2. ( $\text{HCO}_3^-$ :  $19 \pm 3$  mmol/l) csoportok aktuális bikarbonát koncentrációival összehasonlítva. A bázistöbblet súlyos fokú negatív irányú változását kaptuk az EC oldatban tárolt 3 órás (BE:  $-9,5 \pm 0,2$  mmol/l), illetve a 6 órás csoport reperfüziójakor (BE:  $-13,3 \pm 0,5$  mmol/l). Ez utóbbi mind a kontroll (BE:  $-2,4 \pm 1,1$  mmol/l), mind az 1 és 3 órás csoportokban mért koncentrációktól is szignifikánsan magasabb volt. A UW oldatban történő 3 órás tárolás (2.4. csoport) utáni reperfüzióban normál  $\text{HCO}_3^-$  koncentrációt ( $\text{HCO}_3^-$ :  $23,5 \pm 1,5$  mmol/l), és bázistöbbletet (BE:  $-1,3 \pm 0,3$  mmol/l) mértünk.

A Siggaard-Andersen nomogramon ábrázoltuk a hideg I/R-s modellben kapott értékeket, amely a pH változás és a  $\text{CO}_2$  parciális nyomásváltozás összefüggését mutatja egy koordinációs rendszerben. A kontroll, az EC oldatban való 1 órás (2.1. csoport) és a UW oldatban való 3 órás (2.4. csoport) konzerválás után a reperfüzió idején közel a normál tartományban maradtak az értékek. Ezzel szemben az EC oldatban való 3 órás csoport vérmintáinak sav-bázis értékei már a metabolikus acidózis felé tértek el. A 6 órás ischaemia utáni reperfüziós minták már a kialakult, súlyos metabolikus acidózis értékeit mutatta. Összességében az 5 perces, korai reperfüziós értékek nagyobb károsodást mutattak, mint amit a 60 perces méréseknél tapasztaltunk.

### 5.3. A vékonybél ischaemiás prekondicionálási modelljének eredményei

#### 5.3.1. Biokémiai vizsgálatok eredményei

A szövetminták MDA koncentrációja a kontrollértékhez viszonyítva a késői IPC csoportban csak kismértékű emelkedést mutatott (K:  $103,2 \pm 4,6$ ; 3.5.:  $108 \pm 5$   $\mu\text{mol/g}$ ). Lényeges eltérés volt a klasszikus IPC csoportoknál kapott korábbi eredményekhez viszonyítva (PhD tézis tartalmazza), illetve szignifikánsan kisebb lipidperoxidációt okozott a korábban mért, nem-prekondicionált hideg I/R-s kísérletek eredményeihez viszonyítva (3.2.:  $129 \pm 3$   $\mu\text{mol/g}$ ). A szöveti GSH-szint szignifikánsan emelkedett a késői IPC után a kontrollhoz képest, értéke hasonló volt a klasszikus IPC után kapott szintekhez (K:  $364 \pm 15$ ; 3.5.:  $480 \pm 15$   $\mu\text{mol/g}$ ). Söt koncentrációja szignifikánsan magasabb volt a nem prekondicionált szövet GSH-szintjéhez viszonyítva is (3.2.:  $370 \pm 15$   $\mu\text{mol/g}$ ). A késői IPC csoportban a szöveti SOD aktivitása csökkent a kontrollbélmintáéhoz képest, de szignifikánsan magasabb értéket kaptunk az IPC nélküli kísérletekhez viszonyítva (K:  $280 \pm 18$ ; 3.5.:  $200 \pm 15$  IU/g; 3.2.:  $110 \pm 10$  IU/g).

#### 5.3.2. Szövettani vizsgálatok eredménye

A hideg konzerválás előtt alkalmazott korai és késői IPC is javította a graftok mucosa, submucosa rétegének vastagságát és a kripták mélységét a metszetek kvantitatív kiértékelése során. A mucosa vastagsága szignifikánsan csökkent a kontroll (K:  $796 \pm 26$   $\mu\text{m}$ ) és az áloperált (2.S.  $788 \pm 21$   $\mu\text{m}$ ) mintákkal szemben a 3 órás EC oldatban (3.1.:  $505 \pm 18$   $\mu\text{m}$ ) és 3 órás UW oldatban (3.2.:  $555 \pm 12$   $\mu\text{m}$ ) való tárolás után. A kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan alacsonyabb, de az előbb említett értékekhez képest magasabb mucosalis réteget mértünk a korai IPC (3.3.:  $581 \pm 16$   $\mu\text{m}$ ; 3.4.:  $658 \pm 14$   $\mu\text{m}$ ) és a késői IPC csoportban (3.5.:  $678 \pm 11$   $\mu\text{m}$ ) egyaránt. A submucosa méretének változása ezzel párhuzamos tendenciát mutatott (K:  $56 \pm 4$ ; 2.S.:  $55 \pm 3$ ; 3.1.:  $42 \pm 2$ ; 3.2.:  $43 \pm 3$ ; 3.3.:  $47 \pm 4$ ; 3.4.:  $53 \pm 4$   $\mu\text{m}$ ). A hideg tárolás után alkalmazott korai és késői IPC is csökkentette a kripták szerkezetében bekövetkező szignifikáns károsodást (K:  $278 \pm 8$ ; 2.S.:  $270 \pm 6$ ; 3.1.:  $188 \pm 5$ ; 3.2.:  $205 \pm 4$ ; 3.3.:  $199 \pm 3$ ; 3.4.:  $220 \pm 8$   $\mu\text{m}$ ). Értékét tekintve a késői IPC jobban megőrizte a mucosa, submucosa és a kripták szerkezetét, mint a korai IPC (3.5. vs. 3.4.). Az izomvastagság minimálisan csökkent, de ez nem volt szignifikáns egyik csoportban sem a kontrollhoz viszonyítva (K:  $285 \pm 10$ ; 2.S.:  $280 \pm 8$ ; 3.1.:  $275 \pm 6$ ; 3.2.:  $276 \pm 5$ ; 3.3.:  $279 \pm 5$ ; 3.4.:  $281 \pm 7$   $\mu\text{m}$ ).

A V/K arány az 1,86-as kontrollérték közelében maradt valamennyi csoportnál. Enyhe csökkenés volt a UW oldatban 3 órát tárolt graftok esetén (3.1.: 1,68; 3.2.: 1,70). A korai és késői IPC hatására kissé nőtt is a V/K arány (3.3.: 1,91; 3.4.: 1,99).

#### 5.3.3. Kemiluminescens alapú ELISA módszer eredményei

Az ischaemiás és reperfüziós periódusok ideje, valamint a ciklusok száma alapján 8 különböző IPC protokollt alkalmaztunk patkánykísérletekben. Az aktiválódást relatív fényegységben határoztuk meg. A gyártó kísérletei alapján az RLU mennyiségi növekedése korrelált az NF-kappaB aktivációjával. Eredményeink alacsony és állandó RLU-t mutattak az áloperált csoport (3.S.) összes citoplazmatikus és nukleáris mintájában. Az IPC csoportokban (3.6.-3.13.) a citoplazma teljes NF-kappaB mennyisége szignifikánsan emelkedett 30 perccel az IPC után ( $p < 0,05$ ). Hatvan perccel az IPC után az NF-kappaB aktiváció a kontrollszintre csökkent. Érdekes módon 120 perccel az IPC után ez az aktiváció ismét jelentősen megnőtt ( $p < 0,05$ ). Ez a változás következetesen minden prekondicionált csoportban bekövetkezett, függetlenül az IPC-ciklusok számától. A prekondicionált csoportokban a sejtmagban mért NF-kappaB aktiváció a citoplazmában tapasztalt aktivációval párhuzamosan változott. Az alkalmazott IPC stimulusok az NF-kappaB kétfázisú aktivációját váltották ki mind a citoplazmában, mind a sejtmagban valamennyi kísérleti csoportban.

## 5.4. A vékonybél ischaemiás posztkondicionálási modellekben kapott eredmények

### 5.4.1. Biokémiai vizsgálatok eredményei a meleg I/R-s és IPO-s csoportokban

A bélszövetben mért lipidperoxidáció a kontroll és az áloperált csoportokban is hasonló értéket mutatott (K:  $102 \pm 4$ ; 4.S.:  $104 \pm 3$   $\mu\text{mol/g}$ ). Ezzel szemben valamennyi meleg ischaemiás csoportban a kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan emelkedett MDA értéket mértünk a reperfúzió végére (4.1.:  $132 \pm 8$ ; 4.2.:  $159 \pm 7$ ; 4.3.:  $168 \pm 6$   $\mu\text{mol/g}$ ). Az IPO csoportokban is emelkedett a lipidperoxidáció 3 és 6 órás meleg ischaemia hatására, de értékében alacsonyabb maradt, sőt a 6 órás csoportokban szignifikánsan alacsonyabb volt a nem posztkondicionált csoportokhoz képest (4.4.:  $124 \pm 7$ ; 4.5.:  $138 \pm 8$ ; 4.6.:  $145 \pm 5$   $\mu\text{mol/g}$ ). Az álműtétkor mért szöveti GSH koncentrációja a kontrollértéken maradt (K:  $893 \pm 9$ ; 1.S.:  $880 \pm 8$   $\mu\text{mol/g}$ ). A bélszövet GSH-szintje 3 és 6 órás meleg I/R hatására csökkent (4.1.:  $868 \pm 7$ ; 4.2.:  $810 \pm 10$ ; 4.3.:  $700 \pm 9$   $\mu\text{mol/g}$ ). Az IPO csoportokban 3 és 6 órás meleg ischaemia után mind a kontroll, mind az azonos idejű nem posztkondicionált csoportokhoz képest is szignifikánsan emelkedett (4.4.:  $900 \pm 13$ ; 4.5.:  $999 \pm 10$ ; 4.6.:  $1100 \pm 8$   $\mu\text{mol/g}$ ). A szöveti SOD aktivitást önmagában az altatás nem befolyásolta az áloperált csoportban (K:  $232 \pm 7$ ; 4.S.:  $228 \pm 8$  IU/g). A minták SOD aktivitása a meleg ischaemiás idő növekedésével drámai módon, szignifikánsan csökkent (4.1.:  $168 \pm 11$ ; 4.2.:  $100 \pm 10$ ; 4.3.:  $78 \pm 10$  IU/g). Az IPO csoportok közül a 3 és 6 órás mintákban is csökkenés látható az aktivitásban, de az IPO nélküli csoportokat tekintve szignifikánsan jobban megőrződött az aktivitás (4.4.:  $184 \pm 6$ ; 4.5.:  $151 \pm 8$ ; 4.6.:  $125 \pm 5$  IU/g).

### 5.4.2. Szövettani vizsgálatok eredménye a meleg I/R-s és IPO-s csoportokban

A kontroll és áloperált (4.S.) csoportokban károsodás nélküli, normál szöveti szerkezetet láttunk (grade 0). Egy órás meleg ischaemiát (4.1.) követő reperfúzió végén a sertés modellben a villusok közepes mértékű leválását tapasztaltuk (grade 2), míg 3 órás (4.2.) ischaemia már jelentősebb epithelleválást okozott (grade 3). Denudált villusok, a lamina propria és a kripták decellularizációja, valamint a bél dezorganizációja jelezte 6 óra után (4.3.) az 5-ös súlyosságú károsodást. Az IPO csoportokban (4.4., 4.5., 4.6.) a károsodás egy fokozattal enyhébb volt, mint az azonos időtartamú IPO nélküli csoportokban. Ezek közül is kiemelendő a kripták jobb megőrzöttsége a reperfúzió végére.

A kontrollhoz viszonyítva az áloperált állatok strukturális szöveti értékei nem változtak jelentősen (mucosa K:  $964 \pm 10,5$ ; 4.S.:  $920 \pm 21$ ; submucosa K:  $56 \pm 3$ ; 4.S.:  $55 \pm 2$ ; kripta K:  $210 \pm 6$ ; 4.S.:  $207 \pm 4$ ; izom K:  $127 \pm 8$ ; 4.S.:  $120 \pm 8$   $\mu\text{m}$ ). Meleg ischaemia után alkalmazott IPO csökkentette a bélfal szöveti károsodását, mely valamennyi rétegnél megfigyelhető volt. A mucosa vastagsága 1, 3 és 6 órás meleg ischaemia után szignifikánsan csökkent a kontrollhoz képest (4.1.:  $750 \pm 11$ ; 4.2.:  $610 \pm 19$ ; 4.3.:  $410 \pm 13$   $\mu\text{m}$ ), miközben az IPO csoportokban ennek a rétegnek a vastagsága szignifikánsan magasabb maradt (4.4.:  $840 \pm 14$ ; 4.5.:  $700 \pm 18$ ; 4.6.:  $510 \pm 16$   $\mu\text{m}$ ). A submucosa változása hasonló trendet mutatott, miközben a 3 órás mintáknál szignifikánsan jobb eredmény volt az IPO csoportban összehasonlítva a posztkondicionálás nélküli mintákkal (4.1.:  $46 \pm 2$ ; 4.2.:  $42 \pm 1$ ; 4.3.:  $32 \pm 3$ ; 4.4.:  $49 \pm 2$ ; 4.5.:  $47 \pm 2$ ; 4.6.:  $33 \pm 3$   $\mu\text{m}$ ). Az IPO csökkentette a kripták szerkezetében bekövetkező károsodást, a 3 és 6 órás mintáknál ez szignifikáns volt (4.1.:  $180 \pm 6$ ; 4.2.:  $168 \pm 4$ ; 4.3.:  $157 \pm 5$ ; 4.4.:  $195 \pm 6$ ; 4.5.:  $181 \pm 4$ ; 4.6.:  $172 \pm 3$   $\mu\text{m}$ ). Az izomvastagság a meleg I/R után csökkent, ami 3 és 6 óra után szignifikáns volt, miközben az IPO csoportokban az izomszerkezet kevésbé károsodott (4.1.:  $110 \pm 6$ ; 4.2.:  $108 \pm 5$ ; 4.3.:  $106 \pm 4$ ; 4.4.:  $115 \pm 8$ ; 4.5.:  $111 \pm 4$ ; 4.6.:  $110 \pm 6$   $\mu\text{m}$ ).

Meleg ischaemiát követően fellépő patomorfológiai változások a V/K aránynak a kontrollértékhez képesti szignifikáns csökkenését okozták (K: 3,59; 4.1.: 3,16; 4.2.: 2,6; 4.3.: 1,6). Ezzel szemben a meleg ischaemia utáni IPO csoportokban a kontrollhoz közelebbi értékeket kaptunk (4.4.: 3,3; 4.5.: 2,86; 4.6.: 1,96).

### 5.4.3. Biokémiai vizsgálatok eredményei a hideg I/R-s és IPO-s csoportokban

A bélszövetben mért lipidperoxidáció a kontroll és áloperált csoportokban nem változott jelentősen (K:  $102\pm 4$ ; 4.S.:  $104\pm 3$   $\mu\text{mol/g}$ ). A hideg konzerválás során is emelkedett a szöveti MDA koncentráció, ez 3 és 6 óras tárolás után volt szignifikáns növekedés a kontrollmintákhoz képest (4.7.:  $125\pm 4$ ; 4.8.:  $130\pm 5$ ; 4.9.:  $140\pm 7$   $\mu\text{mol/g}$ ). De a hideg konzerválás mérsékelte a lipidperoxidációt az azonos idejű meleg I/R-hoz viszonyítva, ez 6 óras csoportok között szignifikáns is volt. Az IPO csoportok közül csak 6 óra után volt szignifikáns az emelkedés, de ez szignifikánsan alacsonyabb maradt, mint az azonos idejű, nem IPO-s csoportok értéke (4.10.:  $108\pm 4$ ; 4.11.:  $110\pm 6$ ; 4.12.:  $125\pm 2$   $\mu\text{mol/g}$ ). A kontrollminták és az álműtétkor mért GSH koncentrációk hasonló szinteket mutattak (K:  $893\pm 9$ ; 1.S.:  $880\pm 8$   $\mu\text{mol/g}$ ). A bélszövet GSH-szintje hideg I/R hatására is csökkent, de ez csak a 6 óras csoportban volt szignifikáns (4.7.:  $870\pm 17$ ; 4.8.:  $865\pm 20$ ; 4.9.:  $810\pm 12$   $\mu\text{mol/g}$ ). Az IPO csoportokban emelkedett a szöveti GSH tartalom, de ez csak a 6 óras ischaemiás és IPO-n átesett mintáknál volt szignifikáns a kontrollhoz, a meleg I/R-s csoporthoz és a nem IPO-s csoporthoz képest (4.10.:  $868\pm 19$ ; 4.11.:  $899\pm 16$ ; 4.12.:  $1002\pm 15$   $\mu\text{mol/g}$ ). A szöveti SOD aktivitás az áloperált csoportban a kontrollhoz közeli aktivitáson maradt (K:  $232\pm 7$ ; 4.S.:  $228\pm 8$  IU/g). A bélminták SOD aktivitása hideg ischaemia alatt is szignifikánsan csökkent, de a 3 és 6 óras konzerválás során szignifikánsan magasabb értéken maradt, mint a meleg I/R-s csoportokban (4.7.:  $179\pm 12$ ; 4.8.:  $165\pm 11$ ; 4.9.:  $108\pm 11$  IU/g). Az IPO-s csoportokban magasabb maradt a SOD aktivitása, ez a 6 óras mintákban szignifikáns volt a kontrollhoz, az azonos idejű meleg I/R-s csoporthoz és az azonos idejű nem IPO-s csoporthoz viszonyítva (4.10.:  $184\pm 12$  4.11.:  $175\pm 11$ ; 4.12.:  $157\pm 10$  IU/g).

### 5.4.4. Szöveti vizsgálatok eredményei a hideg I/R-s és IPO-s csoportokban

A UW oldatban történő hideg konzerválás a kontroll és áloperált (4.S.) csoportok normál struktúrájához (grade 0) képest károsodást okozott a szöveti szerkezetben. Ez a tárolás idejével arányos mértékű volt. Egy óras hideg ischaemiát követő reperfúzió végén a villusok kismértékű leválását tapasztaltuk (grade 1), míg 3 óras ischaemia már jelentős epithelleválást okozott (grade 3). Hat óras konzerválás 4-es károsodást eredményezett villus denudációval. Az 1 óras tárolástól eltekintve az IPO csoportokban a szöveti károsodás egy fokozattal enyhébb volt, mint az IPO nélküli konzervált csoportokban. A kvalitatív értékelés szerint a hideg konzerválás segítette a szöveti struktúra jobb megőrzését, melyet a reperfúzió előtti IPO tovább javított.

Az áloperált állatok bélszövetének szerkezete a kontrollhoz közel azonos értékeken maradt a kísérlet végére. A hideg konzerválás részben mérsékelte a mucosa réteg sérülését (4.7.:  $870\pm 20$ ; 4.8.:  $690\pm 15$ ; 4.9.:  $562\pm 25$   $\mu\text{m}$ ), melyet az 1, 3 és 6 óras prezerváció után alkalmazott IPO tovább csökkentett (4.10.:  $890\pm 10$ ; 4.11.:  $720\pm 21$ ; 4.12.:  $660\pm 14$   $\mu\text{m}$ ). A submucosa vastagsága is csökkent hideg ischaemia után, melyet a 6 óras konzerválás utáni IPO szignifikáns mértékben javított (4.7.:  $45\pm 3$ ; 4.8.:  $43\pm 4$ ; 4.9.:  $31\pm 4$ ; 4.10.:  $49\pm 2$ ; 4.11.:  $46\pm 3$ ; 4.12.:  $42\pm 3$   $\mu\text{m}$ ). A kripták szerkezete - szemben a meleg I/R-s mintákkal - jobban megőrződött a reperfúzió végére, mely a 3 és 6 óras IPO csoportokban szignifikánsan jobban megmaradt (4.7.:  $45\pm 3$ ; 4.8.:  $43\pm 4$ ; 4.9.:  $31\pm 4$ ; 4.10.:  $49\pm 2$ ; 4.11.:  $46\pm 3$ ; 4.12.:  $42\pm 3$   $\mu\text{m}$ ). Az IPO csökkentette a kripták szerkezetében bekövetkező károsodást, a 3 és 6 óras mintáknál ez szignifikáns volt (4.7.:  $185\pm 3$ ; 4.8.:  $181\pm 4$ ; 4.9.:  $170\pm 5$ ; 4.10.:  $195\pm 5$ ; 4.11.:  $190\pm 3$ ; 4.12.:  $185\pm 2$   $\mu\text{m}$ ). Az izomvastagság a kontrollhoz képest valamennyi csoportban enyhén csökkent, de az IPO-s csoportoknál nagyobb maradt az értéke (4.7.:  $115\pm 2$ ; 4.8.:  $109\pm 9$ ; 4.9.:  $109\pm 3$ ; 4.10.:  $113\pm 4$ ; 4.11.:  $110\pm 4$ ; 4.12.:  $109\pm 3$   $\mu\text{m}$ ). A hideg konzerválás szignifikánsan csökkentette a V/K hányadost 3 és 6 óras tárolás után a kontrollértékhez viszonyítva (K: 3,59; 4.7.: 3,7; 4.8.: 2,8; 4.9.: 2,3). A prezerváció után alkalmazott IPO csoportjaiban a kontrollhoz közelebbi értékeket kaptunk (4.10.: 3,56; 4.11.: 2,78; 4.12.: 2,56).

## 5.5. A PACAP meleg és hideg I/R-s bélmodelljeiben kapott eredmények

### 5.5.1. Endogén PACAP38 immunreaktivitása meleg I/R-s bélszövetben

A radioimmunoassay vizsgálatok kimutatták, hogy a bélszövetben jelenlévő „endogén” PACAP38 immunreaktivitása minden csoportban csökkent meleg I/R hatására a kontrollmintákkal összehasonlítva (K:  $17 \pm 2,9$ ; 5.1.:  $11 \pm 1,4$  fmol/mg). Ezek a változások szignifikánsak voltak 2, 3 és 6 óra ischaemiát követő reperfúziós periódusok végére (5.2.:  $6,2 \pm 1$ ; 5.3.:  $4,5 \pm 1,3$ ; 5.4.:  $2,3 \pm 1,1$  fmol/mg).

### 5.5.2. Biokémiai vizsgálatok eredményei a meleg I/R-s és PACAP38 csoportokban

A szöveti MDA koncentrációt nem növelte az áloperáció összehasonlítva a kontroll koncentrációval (K:  $101 \pm 2$ ; 5.S1.:  $106 \pm 3$   $\mu$ mol/g). A modell valamennyi meleg ischaemiás csoportjában szignifikánsan emelkedett az MDA értéke a reperfúzió végére (5.1.:  $132 \pm 8$ ; 5.2.:  $141 \pm 7$ ; 5.3.:  $159 \pm 6$ ; 5.4.:  $170 \pm 6$   $\mu$ mol/g). A reperfúzió során adott PACAP38 csoportjaiban is emelkedett a szöveti lipidperoxidáció, de értékében alacsonyabb maradt a PACAP38-at nem kapó csoportokhoz képest és ez a 3 és 6 órás csoportok esetén szignifikáns volt (5.5.:  $130 \pm 7$ ; 5.6.:  $140 \pm 5$ ; 5.7.:  $145 \pm 6$ ; 5.8.:  $150 \pm 5$   $\mu$ mol/g). Az álműtétek szöveti GSH koncentrációja a kontrollértéket mutatta (K:  $893 \pm 15$ ; 5.S1.:  $880 \pm 10$   $\mu$ mol/g). A vékonybél GSH tartalma a 2 óránál magasabb meleg I/R esetén szignifikánsan csökkent (5.1.:  $868 \pm 12$ ; 5.2.:  $840 \pm 15$ ; 5.3.:  $810 \pm 12$ ; 5.4.:  $700 \pm 13$   $\mu$ mol/g). A PACAP38-at kapó csoportokban magasabb maradt a GSH koncentráció és csak a 6 órás meleg ischaemia után csökkent szignifikánsan, illetve értékét tekintve is szignifikánsan emelkedett szemben a PACAP38-at nem kapó csoportok értékeivel (5.5.:  $880 \pm 11$ ; 5.6.:  $870 \pm 12$ ; 5.7.:  $840 \pm 14$ ; 5.8.:  $800 \pm 15$   $\mu$ mol/g). A szöveti SOD aktivitása a kontroll és áloperált csoportban is közel azonos volt (K:  $215 \pm 13$ ; 5.S1.:  $200 \pm 10$  IU/g). A minták SOD aktivitása a meleg ischaemiás idő növekedésével szignifikánsan csökkent (5.1.:  $164 \pm 9$ ; 5.2.:  $141 \pm 11$ ; 5.3.:  $115 \pm 6$ ; 5.4.:  $81 \pm 8$  IU/g). A PACAP38-at kapó csoportban 2, 3 és 6 órás mintákban is szignifikánsan alacsonyabb volt a SOD aktivitás a kontrollhoz képest. A 3 és 6 órás meleg I/R csoportokhoz viszonyítva a PACAP38-at kapó mintáknál szignifikánsan magasabb maradt az aktivitás (5.5.:  $186 \pm 5$ ; 5.6.:  $160 \pm 7$ ; 5.7.:  $145 \pm 6$ ; 5.8.:  $120 \pm 8$  IU/g).

### 5.5.3. Szövettani vizsgálatok eredményei a meleg I/R-s és PACAP38 csoportokban

A kontroll és áloperált (5.S2.) szövettel szemben a legkisebb károsodás az 1 órás csoportban volt (grade 1), míg a bél legnagyobb szerkezeti károsodását 6 óra után lehetett mérni (grade 5). Reperfúziókor adott iv. PACAP38 csoportjai közül az 1 órás (5.5.) és 2 órás (5.6.) meleg ischaemiás csoportokban azonos stádiumú károsodást lehetett detektálni a PACAP38-at nem kapó szövetekhez képest (5.1. és 5.2.). A PACAP38 iv adása a reperfúzió alatt javította a szöveti szerkezetet, jobban megőrződött mind a 3 órás (5.7.), mind a 6 órás (5.8.) mintákban.

A Scion Image kvantitatív mérés eredményei szerint a bél mucosarétegének vastagsága 1, 2, 3 és 6 órás meleg ischaemia után időarányos módon csökkent a kontroll és áloperált csoportokhoz viszonyítva (K:  $764 \pm 11$ ; 5.S1.:  $755 \pm 14$ ; 5.1.:  $680 \pm 12$ ; 5.2.:  $650 \pm 15$ ; 5.3.:  $387 \pm 16$ ; 5.4.:  $162 \pm 16$   $\mu$ m). Az iv adott PACAP38 javította az értékeket, ez a 3 és 6 órás mucosavastagságnál szignifikáns volt (5.5.:  $709 \pm 16$ ; 5.6.:  $550 \pm 12$ ; 5.7.:  $475 \pm 15$ ; 5.8.:  $232 \pm 12$   $\mu$ m). A meleg ischaemia a submucosát is károsította, 6 óra után mintegy felére csökkent a mérete a kontrollhoz képest (K:  $58 \pm 2$ ; 5.S1.:  $56 \pm 3$ ; 5.1.:  $47 \pm 3$ ; 5.2.:  $40 \pm 4$ ; 5.3.:  $38 \pm 3$ ; 5.4.:  $30 \pm 3$   $\mu$ m). A PACAP adása javította a submucosa struktúráját és ez a 3 és 6 órás mintáknál jelentős volt (5.5.:  $50 \pm 2$ ; 5.6.:  $48 \pm 3$ ; 5.7.:  $46 \pm 2$ ; 5.8.:  $38 \pm 3$   $\mu$ m). A bélfal izomrétegének vastagsága is csökkent meleg ischaemia hatására, ez 3 és 6 óra után szignifikáns volt a kontrollhoz képest, melyet a számértékeket tekintve - ha nem is jelentősen, de - védett a PACAP38 adása (K:  $129 \pm 10$ ; 5.S1.:  $125 \pm 5$ ; 5.1.:  $117 \pm 5$ ; 5.2.:  $115 \pm 3$ ; 5.3.:  $108 \pm 4$ ; 5.4.:  $106 \pm 7$ ; 5.5.:  $114 \pm 4$ ; 5.6.:  $117 \pm 6$ ; 5.7.:  $112 \pm 3$ ; 5.8.:  $110 \pm 5$   $\mu$ m).

Az ép szövetnél mért értékekkel szemben meleg ischaemia hatására drámai módon csökkent a V/K arány (K: 2,55; 5.1.: 2,59; 5.2.: 2,71; 5.3.: 1,37; 5.4.: 0,065). Ezzel szemben a meleg ischaemia utáni reperfúziókor adott PACAP38 csoportjaiban a V/K arány szignifikánsan közelebb volt a kontrollértékhez (5.5.: 2,71; 5.6.: 2,02; 5.7.: 1,65; 5.8.: 0,38). Kiemelendő, hogy a 6 órás csoportok értékei drámai módon csökkentek, illetve a 3 és 6 órás PACAP38-at kapó csoportokban ez a hányados szignifikánsan magasabb volt az 5.3. és 5.4. csoportok eredményeivel szemben.

#### **5.5.4. A bélszövet PACAP38 és PACAP27 immunreaktivitásának változása hideg UW és UW+PACAP38 oldatban konzervált és autotranszplantált graftok esetén**

A RIA vizsgálatok alapján a UW oldatban történő hideg ischaemia hatására a tárolási idővel arányos módon csökkent a bél PACAP38 és PACAP27 immunreaktivitása a kontrollmintákkal összehasonlítva (PACAP38 K: 57,3±3,5; 5.S1.: 55±2,5; 5.9.: 50,4±3,5; 5.11.: 40,1±5,5; 5.12.: 32,6±3 fmol/mg) (PACAP27 K: 4,2±0,2; 5.S1.: 4±0,5; 5.9.: 2±0,2; 5.11.: 1,6±0,3; 5.12.: 0,9±0,2 fmol/mg). Ezek közül a PACAP38 6 órás, illetve a PACAP27 1, 3 és 6 órás konzerválás utáni érték tért el szignifikánsan a kontrolltól. A UW konzerváló oldathoz adott „exogén” PACAP38 hatására a konzervált és autotranszplantált bélben emelkedett a PACAP38 és PACAP27 immunreaktivitása és ez valamennyi csoportnál szignifikánsan emelkedett a csak UW oldatos tároláshoz képest (PACAP38 K: 57,3±3,5; 5.S1.: 55±2,5; 5.13.: 65,2±3,4; 5.15.: 55,6±4,2; 5.16.: 48,9±3,2 fmol/mg) (PACAP27 K: 4,2±0,2; 5.S1.: 4±0,5; 5.13.: 3,5±0,3; 5.15.: 3±0,2; 5.16.: 2,6±0,15 fmol/mg).

#### **5.5.5. Biokémiai vizsgálatok eredményei a hideg I/R-s és PACAP38 csoportokban**

A bélminták kontrollhoz viszonyított MDA koncentrációja nem változott jelentősen az áloperált csoportban (K: 101±2; 5.S1.: 106±3 μmol/g). A hideg konzerválás mérsékelte a szöveti lipidperoxidációt, csak a 6 órás tárolás után emelkedett szignifikánsan az értéke a kontrollhoz képest (5.9.: 116±4; 5.10.: 119±6; 5.11.: 120±5; 5.12.: 128±3 μmol/g). A konzerváló oldathoz adott PACAP38 csökkentette a szöveti lipidperoxidációt valamennyi csoportban. Ez szignifikáns volt 3 és 6 órás tárolás esetén a kontrollhoz viszonyítva és a PACAP38-at nem kapó 6 órás konzervált csoporthoz képest is (5.13.: 108±3; 5.14.: 110±5; 5.15.: 112±3; 5.16.: 114±2 μmol/g). Az álműtétek szöveti GSH koncentrációja a kontrollértékhez közeli szinteket mutattak (K: 893±15; 5.S1.: 880±10 μmol/g). A bélminta GSH koncentrációját 3 és 6 órás UW oldatban történő konzerválás szignifikánsan csökkentette (5.9.: 875±10; 5.10.: 861±15; 5.11.: 840±15; 5.12.: 789±10 μmol/g). A PACAP38-at tartalmazó konzerváló oldat mérsékelte a GSH-szint csökkenését és ez a 6 órás csoportnál szignifikáns volt (5.13.: 885±17; 5.14.: 878±18; 5.15.: 862±8; 5.16.: 825±10 μmol/g). A bélminták SOD aktivitása nem változott jelentősen az áloperált csoportban (K: 215±13; 5.S1.: 200±10 IU/g). A szöveti SOD-aktivitás a hideg konzerválás során is csökkenő tendenciát mutatott, mely 2, 3 és 6 órás tárolás után szignifikáns volt (5.9.: 178±11; 5.10.: 155±10; 5.11.: 125±8; 5.12.: 98±5 IU/g). A PACAP-ot tartalmazó konzerválás 2, 3 és 6 órás mintákban szignifikánsan magasabb SOD aktivitást eredményezett a csak UW oldatos tárolással szemben (5.13.: 182±5; 5.14.: 164±7; 5.15.: 136±8; 5.16.: 124±6 IU/g).

#### **5.5.6. Szövettani vizsgálatok eredményei a hideg I/R-s és PACAP38 csoportokban**

A kontroll és áloperált (5.S.) szövetminták normál struktúrájához képest az 1 órás konzerválást (5.9.) követő reperfúzió alatt a villusok ép kripták melletti kismértékű megemelkedését detektáltuk. Ha az 1 órás konzerváláskor a UW oldatba PACAP38-at is tettünk (5.13.), akkor a

károsodás azonos mértékű volt. A 2 órás konzerválás csoportjaiban (5.10. és 5.14.) sem volt kvalitatív módszerrel kimutatható különbséget, azaz a károsodás grade 2 volt. A prezerváció 3 órás időtartama után az 5.11. csoportban jelentősebb epithelleválás és helyenként előforduló kriptakárosodás volt megfigyelhető. Ezzel szemben a PACAP38-at tartalmazó konzerválás (5.15.) azt eredményezte, hogy a villusok leválása és a kriptakárosodás is kisebb mértékű volt. A 6 órás konzerválás (5.12) okozta denudációval járó szöveti sérülést a PACAP38-al kiegészített oldatban (5.16) való tárolás grade 3-ra javította.

A hisztológiai minták kvantitatív eredményei szerint a kontrollbéliszövetben mért mucosaréteg vastagságához képest csökkenés volt mérhető az 1, 2, 3 és 6 órás UW oldatban történt konzerválás után (K:  $764\pm 11$ ; 5.S1.:  $755\pm 14$ ; 5.9.:  $720\pm 20$ ; 5.10.:  $655\pm 15$ ; 5.11.:  $520\pm 15$ ; 5.12.:  $350\pm 25$   $\mu\text{m}$ ). Ezt mérsékelte a PACAP38-at tartalmazó UW oldatban való tárolás (5.13.:  $750\pm 10$ ; 5.14.:  $690\pm 20$ ; 5.15.:  $590\pm 21$ ; 5.16.:  $485\pm 14$   $\mu\text{m}$ ). A submucosa vastagsága és a kripták mélysége hideg konzerválás hatására hasonló ütemben csökkent. Miközben a 3 és 6 órás prezervációt tekintve szignifikáns eltérés volt a UW oldatban való konzerválás és a UW+PACAP38 oldatban való tárolás között (submucosa: K:  $58\pm 2$ ; 5.S1.:  $56\pm 3$ ; 5.9.:  $58\pm 5$ ; 5.10.:  $48\pm 2$ ; 5.11.:  $43\pm 3$ ; 5.12.:  $33\pm 3$ ; 5.13.:  $52\pm 3$ ; 5.14.:  $50\pm 2$ ; 5.15.:  $49\pm 2$ ; 5.16.:  $40\pm 3$   $\mu\text{m}$ ) (kripta: K:  $215\pm 8$ ; 5.S1.:  $210\pm 6$ ; 5.9.:  $175\pm 3$ ; 5.10.:  $125\pm 4$ ; 5.11.:  $110\pm 4$ ; 5.12.:  $58\pm 5$ ; 5.13.:  $185\pm 5$ ; 5.14.:  $150\pm 6$ ; 5.15.:  $145\pm 5$ ; 5.16.:  $110\pm 5$   $\mu\text{m}$ ). A bél musculáris rétegének vastagságát csökkentette a UW oldatban végzett hideg tárolás, ezt a hatást az oldat PACAP38 tartalma csökkentette az 5.13.-5.16.-os csoportokban (K:  $129\pm 10$ ; 5.S1.:  $125\pm 5$ ; 5.9.:  $118\pm 2$ ; 5.10.:  $115\pm 5$ ; 5.11.:  $110\pm 3$ ; 5.12.:  $108\pm 3$ ; 5.13.:  $121\pm 4$ ; 5.14.:  $120\pm 3$ ; 5.15.:  $122\pm 2$ ; 5.16.:  $110\pm 3$   $\mu\text{m}$ ).

A 5.31. ábrán a V/K hányados változásai láthatók UW és PACAP38-at tartalmazó UW oldatban történő konzerválás és autotranszplantáció csoportjaiban. Az 1, 2, 3 és 6 órás hideg konzerválás növelte a V/K arányt az ép szerkezetű kontrollbélminta számaihoz képest (K: 2,55; 5.9.: 3,11; 5.10.: 4,24; 5.11.: 3,72; 5.12.: 5,03). A konzerváló oldathoz adott PACAP38 ezt a hányados a kontrollérték felé közelítette (5.13.: 3,05; 5.14.: 3,6; 5.15.: 3,06; 5.16.: 3,4).

### 5.5.7. Immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei a hideg I/R-s és PACAP csoportokban

A bél vizsgálatkor az ERK1/2 foszforilációs szintjének a kontrollhoz viszonyított fokozódása kvalitatív módon főként az 5.13. és 5.14. csoportokban volt látható.

A Scion Image képanalízis során mérhető volt, hogy a UW oldatban konzervált graftok esetén csökkent az ERK1/2 foszforilációs szintje és ez a 6 órás csoportban szignifikáns volt (K:  $3400\pm 150$ ; 5.12.:  $2198\pm 110$  AU). Az ERK1/2 foszforilációs szintje valamennyi PACAP38-at tartalmazó UW oldatban történő konzerválás és autotranszplantáció hatására nőtt a kontrollértékhez viszonyítva (5.13.:  $3998\pm 123$ ; 5.14.:  $3547\pm 89$ ; 5.15.:  $2362\pm 145$ ; 5.16.:  $2598\pm 120$  AU). Ezek közül a kontrollhoz képest szignifikáns növekedés az 1 óráig konzervált mintáknál volt. A 6 órás PACAP38-at tartalmazó UW oldatban történő konzerválás szignifikánsan növelte a szöveti ERK1/2 foszforilációs szintjét összehasonlítva a PACAP38-at nem tartalmazó prezervációs eredményekkel (5.12.  $2198\pm 110$ ; 5.16.:  $3458\pm 105$  AU).

Az immunhisztokémiai vizsgálat kvalitatív értékelésekor a JNK foszforiláció fokozódása az 5.9., az 5.11. és 5.12. csoportok mintáiban határozható meg nagy valószínűséggel.

A vizsgálat digitális kiértékelésekor a kontrollhoz képest emelkedett JNK foszforilációs szint volt mérhető a kísérleti csoportokban. Ez szignifikánsan emelkedett a UW-ban való tárolás után 1, 3 és 6 óra után (K:  $2100\pm 120$ ; 5.9.:  $3102\pm 115$ ; 5.11.:  $4298\pm 135$ ; 5.12.:  $4652\pm 98$ ). A PACAP38-at tartalmazó UW oldatban történő konzerváláson átesett graftok esetén emelkedett a kontrollhoz viszonyított JNK foszforiláció, de jóval alacsonyabb mértékben (5.13.:  $2560\pm 89$ ; 5.14.:  $2200\pm 117$ ; 5.15.:  $2362\pm 145$ ; 5.16.:  $2598\pm 120$  AU). A 3 és 6 órás tároláskor a



foszforilációs szint értékében szignifikáns különbség volt a UW és a PACAP38-at tartalmazó UW oldatban konzervált graftok esetén (5.15. vs. 5.11.; 5.16. vs. 5.12.).

Az immunhisztokémiai módszerrel feldolgozott minták kvalitatív kiértékeléskor emelkedett p38MAPK foszforilációs szint az 5.11. és 5.12. csoportokban volt.

A metszetek digitális elemzésekor a p38MAPK foszforilációs szint esetén a kontrollhoz képest szignifikáns emelkedés volt minden UW oldatban történő konzerválás után (K:  $1600 \pm 150$ ; 5.9.:  $2998 \pm 180$ ; 5.10.:  $2578 \pm 135$ ; 5.11.:  $3997 \pm 145$ ; 5.12.:  $4895 \pm 190$ ). A PACAP38-at tartalmazó UW oldatban tárolt graftok esetén enyhe emelkedés volt a kontrollhoz viszonyítva, sőt a 2 és 3 órás csoportokban kissé a kontrollszint alá csökkent (5.13.:  $1620 \pm 189$ ; 5.14.:  $1426 \pm 110$ ; 5.15.:  $1550 \pm 89$ ; 5.16.:  $1723 \pm 129$  AU). A p38MAPK foszforilációs szintje vonatkozásában valamennyi PACAP38-at tartalmazó UW oldatban konzervált csoport esetén szignifikáns különbség volt az azonos idejű, de csak UW-ban prezervált bélszövet értékeihez viszonyítva (5.13. vs. 5.9.; 5.14. vs. 5.10.; 5.15. vs. 5.11.; 5.16. vs. 5.12.).

### 5.5.8. Citokinaktivitás mérése

A Citokin Array módszerrel végzett kemiluminescens vizsgálatok igazolták, hogy a citokinek közül a szolubilis intercelluláris adhéziónak molekulája (sICAM-1, CD54) és az L-szelektin (CD62L/LECAM-1) normál aktivitása volt detektálható a kontrollbélszövetben. Az 5.12. csoportban expressziójuk nem változott 6 órás UW oldatban történő konzerválás és az azt követő reperfüziós periódus végére. A 5.16. csoportban mind a 6 órás PACAP38-at tartalmazó UW oldatban történő konzerválás, mind az azt követő 3 órás reperfüzió jelentősen csökkentette a citokinaktivitást. A RANTES (CCL5) szintek minden csoportban megemelkedtek. A kontrollmintákban a mátrix-metalloproteináz szöveti inhibitorának (TIMP-1) aktivitása nem volt mérhető. Jelentős aktivitást mértünk az 5.12. csoportban a 6 órás PACAP38 nélküli UW oldatban való konzerválást követően. Az 5.16. csoportban a PACAP38-at tartalmazó hideg konzerválás csökkentette ezen aktivitások szintjét.

Az előbbi méréseket a Luminex Immunoassay-el kapott eredmények is megerősítették. Az sICAM és az L-szelektin expressziója hasonló volt a kontroll és az ischaemiás csoportokban, míg mindkét esetben szignifikáns csökkenés volt megfigyelhető a PACAP38-al tárolt graftoknál. A TIMP expressziója a kimutatási határon volt a kontrollmintákban, és jelentős emelkedés volt a hideg ischaemia után. Az emelkedett TIMP-szinteket mérsékelte a PACAP38-at tartalmazó konzerválás.

### 5.5.9. Biokémiai eredmények a meleg I/R-s PACAP vad és génhányos csoportokban

A szöveti MDA koncentráció közel változatlan maradt az áloperáció után a PACAP<sup>+/+</sup> vad (K:  $100 \pm 3$ ; 5.S2.:  $105 \pm 2$   $\mu\text{mol/g}$ ) és PACAP<sup>-/-</sup> génhányos csoportokban (K:  $104 \pm 5$ ; 5.S3.:  $106 \pm 4$   $\mu\text{mol/g}$ ). A modell valamennyi meleg ischaemiás csoportjában emelkedett az MDA értéke, mely a 3 és 6 órás mintákban szignifikáns volt. Sőt szignifikánsan magasabb volt az értéke a génhányos csoportokban a vad típusúakhoz képest is (5.17.:  $120 \pm 5$ ; 5.18.:  $130 \pm 7$ ; 5.19.:  $136 \pm 8$ ; 5.20.:  $121 \pm 3$ ; 5.21.:  $145 \pm 7$ ; 5.22.:  $169 \pm 5$   $\mu\text{mol/g}$ ). A szöveti GSH-szintben nem volt különbség a PACAP<sup>+/+</sup> vad és génhányos csoportok kontroll és áloperált mintái között (K:  $893 \pm 9$ ; 5.S2.:  $880 \pm 8$   $\mu\text{mol/g}$ ; K:  $890 \pm 5$ ; 5.S3.:  $878 \pm 8$   $\mu\text{mol/g}$ ). A GSH koncentrációja csökken meleg ischaemia hatására és ez a génhányos állatok mintáinál szignifikáns volt 3 és 6 óra után (5.17.:  $871 \pm 7$ ; 5.18.:  $862 \pm 10$ ; 5.19.:  $855 \pm 8$ ; 5.20.:  $868 \pm 13$ ; 5.21.:  $840 \pm 10$ ; 5.22.:  $700 \pm 9$   $\mu\text{mol/g}$ ). A szöveti SOD aktivitás a kontroll és áloperált csoportban közel azonos volt (K:  $215 \pm 11$ ; 5.S2.:  $200 \pm 5$   $\mu\text{mol/g}$ ; K:  $206 \pm 7$ ; 5.S3.:  $200 \pm 6$  IU/g). Három és 6 órás meleg ischaemia után a minták SOD aktivitása szignifikánsan csökkent a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú egyedekben (5.17.:  $164 \pm 11$ ;

5.18.:  $152 \pm 10$ ; 5.19.:  $133 \pm 8$  IU/g). A PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos állatok mintáiban minden csoportban szignifikánsan alacsonyabb volt a SOD aktivitás a kontrollhoz és a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú mintákhoz viszonyítva (5.20.:  $112 \pm 11$ ; 5.21.:  $104 \pm 10$ ; 5.22.:  $81 \pm 8$  IU/g).

#### 5.5.10. Szöveti vizsgálatok eredményei a meleg I/R-s PACAP vad és KO csoportokban

A Park-szerinti klasszifikációt alapul véve a legnagyobb károsodást a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos egerek 6 órás meleg I/R-s mintáinál kaptuk, ahol denudált villusok, a lamina propria és a kripták decellularizációja a bélstruktúra jelentős szétesését mutatta (5.22. grade 5). A legkisebb károsodást a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú állatok 1 órás meleg ischaemiája okozta a villusok kismértékű emelkedésével (5.17. grade 1). Ezzel szemben a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos egerekben az 1 órás meleg ischaemia a villusok közepes mértékű leválását okozta részleges kriptakárosodással (5.20. grade 2). A 3 órás ischaemia epithelleválás melletti villus denudációt idézett elő a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos egerekben (5.21. grade 4), míg a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusúakban kisebb fokú volt a kriptakárosodás melletti epithelleválás (5.18. grade 3). A PACAP<sup>+/+</sup> állatok bélszövege kevésbé károsodott 6 óra meleg ischaemia után, mint a génhiányos állatoké (5.19. grade 4 vs. 5.22. grade 5).

A Scion Image kvantitatív mérések alapján a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú egerekben 1, 3 és 6 órás meleg ischaemia után időarányosan csökkent a mucosa vastagsága a kontroll és áloperált csoportokhoz képest (K:  $970 \pm 9$ ; 5.S2.:  $960 \pm 8$ ; 5.17.:  $845 \pm 8$ ; 5.18.:  $700 \pm 10$ ; 5.19.:  $510 \pm 8$   $\mu\text{m}$ ). Azonos ischaemiás idők mellett szignifikánsan alacsonyabb maradt a mucosa vastagsága a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos egerek minden csoportjában (K:  $965 \pm 6$ ; 5.S3.:  $962 \pm 8$ ; 5.20.:  $745 \pm 13$ ; 5.21.:  $600 \pm 10$ ; 5.22.:  $410 \pm 9$   $\mu\text{m}$ ). A submucosa és kripták mérete is csökkent meleg I/R hatására a vad típusú állatokban, melynek további csökkenését tapasztaltuk a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos mintákban, és ezen belül is a 6 órás minták között volt szignifikáns az eltérés (submucosa K:  $55 \pm 3$ ; 5.S2.:  $50 \pm 2$ ; 5.17.:  $45 \pm 2$ ; 5.18.:  $43 \pm 3$ ; 5.19.:  $40 \pm 3$ ; K:  $54 \pm 3$ ; 5.S3.:  $49 \pm 5$ ; 5.20.:  $43 \pm 3$ ; 5.21.:  $38 \pm 2$ ; 5.22.:  $30 \pm 2$   $\mu\text{m}$ ) (kripta K:  $220 \pm 11$ ; 5.S2.:  $210 \pm 5$ ; 5.17.:  $190 \pm 11$ ; 5.18.:  $185 \pm 10$ ; 5.19.:  $180 \pm 8$ ; K:  $215 \pm 7$ ; 5.S3.:  $195 \pm 2$ ; 5.20.:  $172 \pm 11$ ; 5.21.:  $162 \pm 10$ ; 5.22.:  $143 \pm 8$   $\mu\text{m}$ ). Az izomrétegben nem volt jelentős eltérés a vizsgált csoportokban (K:  $122 \pm 6$ ; 5.S2.:  $120 \pm 7$ ; 5.17.:  $118 \pm 7$ ; 5.18.:  $115 \pm 6$ ; 5.19.:  $108 \pm 7$ ; K:  $123 \pm 5$ ; 5.S3.:  $120 \pm 5$ ; 5.20.:  $117 \pm 7$ ; 5.21.:  $110 \pm 3$ ; 5.22.:  $108 \pm 4$   $\mu\text{m}$ ).

A V/K hányados meleg ischaemia hatására csökkenő értéket mutatott az ischaemiás idővel arányos módon mind a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú, mind a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos egerekben (PACAP<sup>+/+</sup> K: 3,40; 5.17.: 3,44; 5.18.: 2,78; 5.19.: 1,83) (PACAP<sup>-/-</sup> K: 3,48; 5.20.: 3,33; 5.21.: 2,7; 5.22.: 1,86). Szignifikáns eltérés a 3 és 6 órás csoportokban volt a kontrollhoz képest. Hasonló tendenciát láttunk és hasonló értékeket kaptunk a kétféle mintacsoportban.

#### 5.5.11. Biokémiai eredmények a hideg I/R-s PACAP vad és génhiányos csoportokban

A bélminták MDA koncentrációja változatlan maradt az áloperáció után a PACAP<sup>+/+</sup> vad (K:  $100 \pm 3$ ; 5.S2.:  $105 \pm 2$   $\mu\text{mol/g}$ ) és PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos csoportokban (K:  $104 \pm 5$ ; 5.S3.:  $106 \pm 4$   $\mu\text{mol/g}$ ). A konzerválás hatására a szöveti MDA értéke a reperfüzió végére minden PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú csoportban emelkedett, mely a 6 órás mintákban szignifikáns volt. Ez a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos mintákban 3 és 6 órás mintákban is szignifikánsan nőtt (5.23.:  $118 \pm 6$ ; 5.24.:  $120 \pm 3$ ; 5.25.:  $129 \pm 2$ ; 5.26.:  $125 \pm 6$ ; 5.27.:  $135 \pm 3$ ; 5.28.:  $142 \pm 7$   $\mu\text{mol/g}$ ). A bél GSH tartalmában nem volt különbség a PACAP<sup>+/+</sup> vad és génhiányos csoportok kontroll és áloperált mintái között (K:  $893 \pm 9$ ; 5.S2.:  $880 \pm 8$   $\mu\text{mol/g}$ ; K:  $890 \pm 5$ ; 5.S3.:  $878 \pm 8$   $\mu\text{mol/g}$ ). A GSH koncentrációja csökken hideg ischaemia hatására és ez a génhiányos állatok mintáinál szignifikáns volt 3 és 6 óra után (5.23.:  $850 \pm 12$ ; 5.24.:  $838 \pm 10$ ; 5.25.:  $810 \pm 8$ ; 5.26.:  $840 \pm 15$ ; 5.27.:  $800 \pm 12$ ; 5.28.:  $750 \pm 10$   $\mu\text{mol/g}$ ). A szöveti SOD aktivitása közel azonos volt a kontroll és az áloperált csoportokban

(K: 215±11; 5.S2.: 200±5  $\mu\text{mol/g}$ ; K: 206±7; 5.S3.: 200±6 IU/g). A hideg konzerválás mind a vad, mind a génhiányos egyedekben csökkentette a szöveti SOD aktivitását. Ez 6 órás konzerválás esetén volt szignifikáns a kétféle szövettípus között (5.23.: 187±2; 5.24.: 178±8; 5.25.: 156±4; 5.26.: 190±3; 5.27.: 159±7; 5.28.: 110±9 IU/g).

### 5.5.12. Szövettani eredmények a hideg I/R-s PACAP vad és génhiányos csoportokban

A hideg I/R-s kvalitatív vizsgálatok a legsúlyosabb szövetkárosodást a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos egerek 6 óráig konzervált bélmintáiban mutatott (5.28. grade 4), míg a legenyhébb károsodást a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú állatokban találtunk (5.23. grade 1). A PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos állatok bélszövege 3 órás prezerváció után 3-as stádiumú károsodást mutatott, jelentős epithelleválással és helyenként károsodott kriptákkal (5.27. grade 3). Ezzel szemben a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú mintákban a szövetkárosodás enyhébb szintű volt, a villusok közepes mértékű leválása mellett részleges kriptakárosodás volt megfigyelhető (5.24. grade 2). Legpregnánssabb változást a 6 órás tárolás hozta. A PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú graftok (5.25.) károsodása csak 3-as stádiumú volt, addig a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos (5.28.) szöveteké grade 4 fokú sérülést okozott.

A bélszövet metszeteinek digitális analízise során azt tapasztaltuk, hogy a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú egerekben 1, 3 és 6 órás UW oldatos konzerválás hatására időarányosan csökkent a mucosa vastagsága a kontroll és áloperált csoportokhoz képest (K: 970±9; 5.S2.: 960±8; 5.23.: 890±12; 5.24.: 725±10; 5.25.: 685±8  $\mu\text{m}$ ). Azonos konzerválási idők mellett szignifikánsan alacsonyabb maradt a mucosa vastagsága a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos egerek minden csoportjában (K: 965±6; 5.S3.: 962±8; 5.26.: 754±15; 5.27.: 625±12; 5.28.: 445±10  $\mu\text{m}$ ). A submucosa és kripta méretek is csökkentek a konzerválás ellenére. Ez a vad típusú állatok 6 órás mintáinál, míg a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos állatok 3 és 6 órás mintáiban volt szignifikáns eltérés (submucosa K: 55±3; 5.S2.: 50±2; 5.23.: 48±2; 5.24.: 46±3; 5.25.: 43±2; K: 54±3; 5.S3.: 49±5; 5.26.: 48±1; 5.27.: 46±2; 5.28.: 40±2  $\mu\text{m}$ ) (kripta K: 220±11; 5.S2.: 210±5; 5.23.: 195±2; 5.24.: 190±8; 5.25.: 185±4; K: 215±7; 5.S3.: 195±2; 5.26.: 190±3; 5.27.: 185±7; 5.28.: 175±9  $\mu\text{m}$ ). Az izomréteg vastagságában enyhe csökkenést mértünk minden csoportban (K: 122±6; 5.S2.: 120±7; 5.23.: 119±7; 5.24.: 118±5; 5.25.: 115±4; K: 123±5; 5.S3.: 120±5; 5.26.: 117±6; 5.27.: 116±3; 5.28.: 115±3  $\mu\text{m}$ ).

A hideg konzerválás mérsékelte a V/K aránynak a kontrollhoz viszonyított eltérését a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú állatokban (PACAP<sup>+/+</sup> K: 3,40; 5.23.: 3,56; 5.24.: 2,81; 5.25.: 2,7) (. A kontrollhoz képest szignifikáns eltérést a 3 és 6 órás csoportokban volt. Ezzel szemben a PACAP<sup>-/-</sup> génhiányos egerekben jelentős eltérés alakult ki mind az ép szövet, mind a vad típusú szöveti szerkezetet tekintve (PACAP<sup>-/-</sup> K: 3,48; 5.26.: 2,96; 5.27.: 2,37; 5.28.: 1,54). Az 1, 3 és 6 órás minták között is szignifikáns eltérés volt a genetikailag eltérő csoportokban.

## 5.6. Kísérletes I/R-s modellek DSC vizsgálati eredményei

### 5.6.1. Meleg I/R-s kísérlet DSC eredményei

A bélszövet mucosa rétegének kontroll DSC-görbéje - feltételezhetően a sejtekben lévő sok kötött víz miatt - leginkább egy folyadék-kristályhoz hasonló szerkezet viselkedését mutatja a vizsgálat során ( $T_m$ : 55,6±0,4 °C;  $\Delta H$ : -4,1±0,22 J g<sup>-1</sup>).

Előkísérleteinkben különböző I/R-s periódusokat alkalmazva vizsgáltuk a bélfal rétegeit. A 6.1. csoportban az 1 órás meleg ischaemiás görbén a 20-70 °C közti exotherm folyamat egy szerkezeti átalakulást követő fázisváltásra utal, ami azt jelenti, hogy az eredeti mucosaszervezet meg bomlik. De maga a  $T_m$  nem változik lényegesen az 1 órás ischaemiát követő 3 órás reperfüzió végére. Eközben a mucosa kalorimetriás entalpiája -3,41±0,3 J g<sup>-1</sup> értékre csökkent. A natív és denaturált állapot közötti különbség még kisebb volt 3 órás

ischaemiát követő reperfúzió végére, tehát a  $T_m$   $48,7 \pm 0,3$  °C lett, míg az entalpia a kontrollhoz és a 6.1. csoportokhoz viszonyítva is még tovább,  $-2,67 \pm 0,2$  J g<sup>-1</sup>-ra csökkent a 6.2. csoport mucosa mintáiban (5.3. táblázat).

### 5.3. táblázat. A mucosa, az izomréteg és a teljes bélfal denaturációs hőmérséklete és kalorimetrikus entalpiája vékonybél meleg I/R-s kísérletben

$T_m$  maximális denaturációs hőmérséklet,  $\Delta H$  kalorimetrikus entalpiaváltozás exoterm folyamat; Átlag $\pm$ SE

bélminta	$T_m/^\circ\text{C}$		$T_{1/2}/^\circ\text{C}$		$\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	
	6.1. csoport 1 óra	6.2. csoport 3 óra	6.1. csoport 1 óra	6.2. csoport 3 óra	6.1. csoport 1 óra	6.2. csoport 3 óra
<b>kontroll</b> (n=10)	55,6 $\pm$ 0,4 (mucosa) 58,9 $\pm$ 0,5; 65 $\pm$ 0,5 (izom) 50,1 $\pm$ 0,3 (teljes bélfal)		20,3 $\pm$ 0,2 (mucosa) 2,8 $\pm$ 0,1 (izom) 15,1 $\pm$ 0,2 (teljes bélfal)		-4,1 $\pm$ 0,22 (mucosa) 0,11 $\pm$ 0,01 (izom) 0,42 $\pm$ 0,05 (teljes bélfal)	
<b>mucosa</b> (n=10)	55,6 $\pm$ 0,4	48,7 $\pm$ 0,3	27,3 $\pm$ 0,3	30,2 $\pm$ 0,3	-3,41 $\pm$ 0,3	-2,67 $\pm$ 0,2
<b>izom</b> (n=10)	61,05 $\pm$ 0,5	61,7 $\pm$ 0,4	3,2 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,1	0,33 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,02
<b>teljes bélfal</b> (n=10)	60,2 $\pm$ 0,4	59,8 $\pm$ 0,3	3,1 $\pm$ 0,1	2,9 $\pm$ 0,1	2,28 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,03

A kontrollbéliszövet izomrétegének vizsgálatakor 2 fő termikus átmenetet lehetett azonosítani. A kb. 60 °C-nál detektálható első átmenet a miozinnak, míg a 65 °C-nál lévő az aktinnak tulajdonítható. A további termikus csúcsok eredete nem határozható meg pontosan. A 6.1. csoport 1 órás ischaemiát és 3 órás reperfúziót követően az izom DSC-görbéjének jelentős mértékben elkeskenyedő endoterm csúcsa lett és mély  $T_m$  mérhető (61,5 °C). Az entalpia a kontrollérték (0,11 $\pm$ 0,01 J g<sup>-1</sup>) háromszorosára, 0,33 $\pm$ 0,03 J g<sup>-1</sup>-ra nő. A 3 órás 6.2. minta denaturációs hőmérséklete már nem változott jelentősen, miközben a kalorimetrikus entalpia csökkent az 1 óráshoz képest és DSC-görbéje jóval laposabb volt, illetve a kezdeti és a végpont meghatározásával szélesebb alapra fektethető az egyenesünk (H), melyből a biológiai minta megbontásához szükséges energiát számoljuk ki (5.3. táblázat).

A teljes bélfal kontroll DSC-görbéjén az első jelentősebb exoterm kiugrást a mucosa adja, míg a második, kisebb mértékűt az izom termikus válaszána tekintethető. A kalorimetriás entalpiája ennek a mintának alacsony (0,42 $\pm$ 0,05 J g<sup>-1</sup>). Az 1 órás meleg I/R jelentős entalpiánövekedést okozott (6.1.: 2,28 $\pm$ 0,02 J g<sup>-1</sup>). A 3 órás ischaemiát követően az entalpia drámai módon, a kontrollérték alá csökkent (6.2: 0,33 $\pm$ 0,03 J g<sup>-1</sup>) (5.3. táblázat).

#### 5.6.2. Meleg ischaemiás kísérlet DSC eredményei

A kontrollmucosa kalorimetriás mérése exoterm folyamatot eredményezett, ahol a  $T_{ms}$  55,6 °C és a teljes kalorimetrikus entalpiaváltozás  $-4,1 \pm 0,22$  J g<sup>-1</sup> volt.

Csak ischaemiás hatásnak kitett bélvizsgálatkor az 1 órás meleg ischaemia hatására a denaturációs hőmérséklet nem változott, de az entalpia  $-3,41 \pm 0,3$  J g<sup>-1</sup> értékre csökkent. A 3 órás ischaemia után a mucosaminták átmeneti hőmérséklete és kalorimetrikus entalpiája is jelentősen csökkent ( $T_{ms}$ :  $48,7 \pm 0,3$  °C;  $-1,7 \pm 0,2$  J g<sup>-1</sup>). Hat órás ischaemia hatására a mucosa esetén a  $T_{m1}$ :  $41,1 \pm 0,2$  °C, a  $T_{m2}$ :  $46,3 \pm 0,2$  °C volt, a  $\Delta H$  pedig a kontrollérték fölé emelkedett ( $-5,2 \pm 0,3$  J g<sup>-1</sup>) (5.4. táblázat).

#### 5.4. táblázat. A mucosa, az izomréteg és a teljes bélfal DSC adatai 1, 3 és 6 órás meleg ischaemiát követően

$T_m$  maximális denaturációs hőmérséklet,  $\Delta H$  kalorimetrikus entalpiaváltozás; Átlag $\pm$ SE

	mucosa		izom		teljes bélfal	
	$T_m/^\circ\text{C}$	$\Delta H/\text{J g}^{-1}$	$T_m/^\circ\text{C}$	$\Delta H/\text{J g}^{-1}$	$T_m/^\circ\text{C}$	$\Delta H/\text{J g}^{-1}$
<b>kontroll</b> (n=5)	55,6 $\pm$ 0,2	-4,1 $\pm$ 0,22	52,8 $\pm$ 0,2 58,1 $\pm$ 0,2 59,9 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,03 0,58 $\pm$ 0,03	17,5 $\pm$ 0,2 50 $\pm$ 0,2	0,46 $\pm$ 0,03 0,45 $\pm$ 0,03
<b>1 óra meleg ischaemia</b> (n=5)	55,6 $\pm$ 0,4	-3,41 $\pm$ 0,3	49,5 $\pm$ 0,5 61,5 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,2	23 $\pm$ 0,4 50,5 $\pm$ 0,4 60,2 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,07 0,28 $\pm$ 0,02
<b>3 óra meleg ischaemia</b> (n=5)	48,7 $\pm$ 0,3	-1,7 $\pm$ 0,2	61,7 $\pm$ 0,4	0,8 $\pm$ 0,06	59,8 $\pm$ 0,3	0,28 $\pm$ 0,02
<b>6 óra meleg ischaemia</b> (n=5)	41,1 $\pm$ 0,2 46,3 $\pm$ 0,2	-5,2 $\pm$ 0,3	52 $\pm$ 0,5 59 $\pm$ 0,5	3,1 $\pm$ 0,2	58 $\pm$ 0,3	0,58 $\pm$ 0,03

A kontroll izomminta endoterm denaturációs átmenetet mutatott 52,8 $\pm$ 0,2 °C (miozin fej) és 59,9 $\pm$ 0,2 °C (miozin farok + aktin)  $T_{ms}$  értékkel, 0,4 $\pm$ 0,03 és 0,58 $\pm$ 0,03 J g<sup>-1</sup> kalorimetrikus entalpiával együtt (5.4. táblázat). Az 1 órás meleg ischaemia esetén a miozin hozzájárulása nem oldható fel, mert a fő denaturációs csúcs a hagyományos aktin denaturációs tartományba (61,5 $\pm$ 0,5 °C) tolódott. Három órás meleg ischaemia után csak egy  $T_m$  értéket lehetett detektálni 61,7 $\pm$ 0,4 °C-on, miközben a kalorimetriás entalpia 0,8 $\pm$ 0,06 J g<sup>-1</sup>-re nőtt a kontrollhoz képest. Ez azt jelenti, hogy az aktomiozin komplexben a miozin farok hozzájárulása nem oldható fel, azaz kisebb entalpiával jelentősebb szerkezeti hatást mutat, mint a 6 órás minták (52 $\pm$ 0,5 °C; 59 $\pm$ 0,5 °C; 3,1 $\pm$ 0,2 J g<sup>-1</sup>).

A teljes bélfal DSC-görbéjén látható a réteges szerkezetből adódó (mucosa, izom) eltérő, de mégis beazonosítható termikus viselkedés, az egyes termikus hozzájárulások helye. Az 1 órás meleg ischaemia során a miozin és az aktin molekulák hozzájárulása a fő denaturációs hőmérséklet növekedésével (50,5 $\pm$ 0,4 °C; 60,2 $\pm$ 0,4 °C) jelentősebben elvált egymástól, ahol a miozin rúd hozzájárulása nem volt elkülöníthető az aktintól. Ez utóbbi esetben a nyálkahártya termikus hozzájárulása jól látható (23 $\pm$ 0,4 °C). A 3 órás ischaemia hatása egyértelműbb volt a nyálkahártyán, ahol a kezelés csak egy fő átmenetet mutatott (59,8 $\pm$ 0,3 °C), és látható volt a mucosa hozzájárulása. Továbbá a meleg ischaemia az aktomiozin rendszer legnagyobb kalorimetrikus entalpiáját eredményezte (5.4. táblázat).

#### 5.6.3. Hideg ischaemiás kísérlet DSC eredményei

A DSC eredményeket a bélfal réteges szerkezete és a hideg konzerválási időtartamok alapján ábrázoltuk. Egy óra hideg ischaemia hatására a nyálkahártya esetén alacsonyabb denaturáció jelentkezett  $T_m=30,4\pm 0,2$  °C-kal, és a magasabb átmenet eltolódott 59,3 $\pm$ 0,2 °C-ra, míg a teljes kalorimetrikus entalpia -5,94 $\pm$ 0,4 J g<sup>-1</sup>-ra nőtt a kontrollhoz képest. A 3 órás hideg prezerváció különböző átmeneti hőmérsékleteket és kalorimetrikus entalpiákat eredményezett: 2,2 °C-kal növelte az első átmenetet az 1 órás hűtéshez viszonyítva, csökkent entalpiával (2,67 J g<sup>-1</sup>). Hat órás hideg ischaemia után az entalpia tovább csökkent -1,96 $\pm$ 0,2 J g<sup>-1</sup>-ra (5.5. táblázat).

A bélfal izomkomponense a kontroll denaturációs átmenetéhez képest 2 denaturációs hőmérsékletet mutatott 53,5 $\pm$ 0,2 °C-os és 56 $\pm$ 0,2 °C-os  $T_{ms}$  értékekkel együtt 2,21 J g<sup>-1</sup> kalorimetrikus entalpiával (5.5. táblázat). A 3 órás hideg prezerváció a denaturációs hőmérsékletek, valamint a kalorimetrikus entalpia növekedését okozták az izomrétegben ( $T_{ms}$  53,6 $\pm$ 0,2 °C és 58 $\pm$ 0,2 °C;  $\Delta H=3,4\pm 0,1$  J g<sup>-1</sup>). A 6 órás hideg konzerválás hatására az izom kalorimetrikus entalpiája tovább nőtt 3,8 $\pm$ 0,1 °C-ra.

A teljes bélfal vizsgálatok az 1 órás hűtőkonzerválás a fő átmeneti hőmérsékletet eltolta a magasabb hőmérsékleti tartományba, és a nyálkahártya hozzájárulása nem látható. A nyálkahártya termikus hozzájárulása egyértelműen látható ez utóbbi esetben (23 °C). A 3 órás kezelés hatása a nyálkahártyán kifejezettebb volt hideg ischaemia esetén. Az izomfehérjék esetében a hideg ischaemia okozta a legnagyobb szerkezeti változást (53±0,2 °C; 55±0,2 °C; 59,6±0,2 °C). Hat órás konzerválás esetében a nyálkahártya hozzájárulása világosan látható, és ez tette a legjelentősebb változásokat az aktin/miozin hozzájárulásban. Eközben a kalorimetrikus entalpia a konzerválási idővel arányosan emelkedett az egyes csoportokban (5.5. táblázat).

**5.5. táblázat. A mucosa, az izomréteg és a teljes bélfal termikus adatai 1, 3 és 6 órás hideg ischaemiát követően**

	mucosa		izom		teljes bélfal	
	$T_m/^\circ\text{C}$	$\Delta H/\text{J g}^{-1}$	$T_m/^\circ\text{C}$	$\Delta H/\text{J g}^{-1}$	$T_m/^\circ\text{C}$	$\Delta H/\text{J g}^{-1}$
<b>kontroll</b> (n=5)	55,6±0,2	-4,1±0,22	50±0,2 59,9±0,2	0,4±0,2 0,58±0,2	17,5±0,2 50±0,2	0,45±0,2 0,46±0,2
<b>1 óra hideg ischaemia</b> (n=5)	30,4±0,2 59,3±0,2	-5,94±0,4	53,5±0,2 56±0,2	2,21±0,2	56±0,2	0,38±0,2
<b>3 óra hideg ischaemia</b> (n=5)	32,6±0,2 59,7±0,2	-2,67±0,2	53,6±0,2 58,3±0,2	3,4±0,1	53±0,2 55±0,2 59,6±0,2	0,4±0,02
<b>6 óra hideg ischaemia</b> (n=5)	47,9±0,2 58,8±0,2	-1,96±0,2	53,6±0,2 57,9±0,2	3,8±0,1	41±0,2 57,9±0,2 58,6±0,2	0,764±0,08

## 5.7. Humán DSC vizsgálatok eredményei

### 5.7.1. A melanomás betegek vérplazmájának DSC vizsgálataival kapott eredmények

A DSC mérés eredményeként az 5.57. ábrán látható a hőáram görbéi a hőmérséklet függvényében. Összehasonlítva az egészséges személyek vérplazmájának DSC-görbéit a termoanalitikai vizsgálata során két különböző hőmérsékleti csúcsot észleltünk a denaturáció eredményeképpen. Ezek közül az első átmeneti hőmérséklet ( $T_{m1}$ ) nem mutatott összefüggést a Breslow- és Clark-féle stádiumbeosztással. Értéke a kontrollcsoportnál mért 56 °C körül volt. Ezzel szemben a különböző Breslow tumorvastagság és a Clark-féle szintek tekintetében eltérés volt a vérplazma DSC-görbék második átmeneti hőmérséklete ( $T_{m2}$ ) vonatkozásában. Hasonlóan a kalorimetriás entalpia is összefüggést mutatott a tumorvastagsággal az 1 mm-től 8 mm-ig tartó tartományban (5.6. táblázat), illetve a Clark II-IV-es szintű tumorterjedés esetén (5.7. táblázat).

5.6. táblázat. DSC eredmények a Breslow szerinti tumorvastagság alapján

	$T_{m1}/^{\circ}\text{C}$	$T_{m2}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J g}^{-1}$
<b>kontroll</b>	56±0,2	63,3±0,3	1,53±0,02
<b>Breslow (mm)</b>			
<b>0,5-1,0</b>	55,8±0,2	64,1±0,3	1,13±0,02
<b>1,1-1,5</b>	56,3±0,3	63,5±0,02	1,61±0,01
<b>1,6-2,0</b>	55,75±0,3	67,15±0,4	1,30±0,02
<b>2,1-3,0</b>	56,16±0,2	62,18±0,02	1,45±0,03
<b>3,1-4,0</b>	55,8±0,04	63,2±0,2	1,37±0,02
<b>4,1-6,0</b>	55,7±0,2	63,9±0,4	1,25±0,01
<b>6,1-8,5</b>	55,8±0,01	64,5±0,1	1,23±0,04

5.7. táblázat. DSC eredmények a Clark-féle beosztás szerint

	$T_{m1}/^{\circ}\text{C}$	$T_{m2}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J g}^{-1}$
<b>kontroll</b>	56±0,2	63,3±0,3	1,53±0,02
<b>Clark I. szint</b>	55,2±0,3	64,6±0,1	1,14±0,02
<b>Clark II. szint</b>	55,8±0,03	63±0,01	1,45±0,04
<b>Clark III. szint</b>	55,7±0,4	64,63±0,2	1,28±0,03
<b>Clark IV. szint</b>	56,05±0,2	60,4±0,02	1,43±0,03

A betegség előrehaladtával az áttétes mintákban elkülöníthető egy harmadik termikus komponens ( $T_{m3}$ ) az első és a második  $T_m$  között. Ez 62 °C körül van, és a regionális metasztázisok esetén magasabb hőmérsékletre tolódott. A távoli metasztázisokkal rendelkező melanomás betegek esetén a vérplazma denaturációja a második  $T_{m2}$  emelkedését okozta, és emellett a kalorimetrikus entalpia csökkenését detektáltuk.

Tovább vizsgálva az áttét nélküli MM-os betegek dekonvolált vérplazma összetevőit a  $T_{m1}$ - $T_{m4}$  komponens hőmérséklete csökkent a kontroll-hőmérsékletekhez képest. Ez főként a második átmenetet adó albumin átalakulási pontja esetén volt jelentős (56 °C vs. 62,5 °C) (5.8. táblázat). Az MM-ás betegeknél a magas hőmérsékleti tartományokban megjelent az egészségeseknél hiányzó három új denaturációs hőmérséklet, a  $T_{m5}$ ,  $T_{m6}$  és a  $T_{m7}$ .

Az egyes átmeneti hőmérsékletekhez tartozó kalorimetriás entalpiák ( $T_{m4}$ -et kivéve) jelentősen csökkentek az áttét nélküli MM-os betegcsoportban az egészséges önkéntesek értékeihez képest. Az fibrinogén hozzájárulása a kalorimetrikus entalpiákhoz az entalpia meghatározási hibatarományán (~5 %) belül volt, és a MM esetén két termikus tartományt lehetett elkülöníteni (5.8. táblázat). A betegeknél megjelenő új termikus átmenetekhez ( $T_{m5}$ - $T_{m7}$ ) tartozó kalorimetriás entalpia közül a  $T_{m5}$ -höz tartozó volt jelentős ( $\Delta H$ : 0,41 J g<sup>-1</sup>). A teljes kalorimetriás entalpia ( $H_T$ ) csökkent a kontrollokhoz viszonyítva (1,29±0,06 J g<sup>-1</sup> vs. 1,14 J g<sup>-1</sup>).

**5.8. táblázat. Vérplazma dekonvolált denaturációs hőmérséklete és kalorimetrikus entalpiája egészséges egyéneknél és áttét nélküli MM-os betegekben**

csoport	termikus paraméterek (Átlag±SE)							
	$T_{m1}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m2}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m3}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m4}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m5}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m6}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m7}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$\Delta H_T/\text{Jg}^{-1}$
<b>kontroll</b> (n=10)	56±0,2 0,04±0,2	62,5±0,3 0,39±0,3	65,3±0,3 0,70±0,3	74,8±0,2 0,17±0,2	-	-	-	1,29±0,06
<b>MM áttét nélküli</b> (n=15)	52,5±0,1 0,01±0,1	56±0,1 0,059±0,1	60±0,2 0,08±0,2	63,4±0,2 0,39±0,2	67,5±0,3 0,41±0,3	74,1±0,3 0,15±0,3	87±0,2 0,02±0,2	1,14±0,02

### 5.7.2. Az emlőtumoros betegek vérplazmájának DSC mérési eredményei

Az egészséges kontrollszemélyek és az emlődaganatos betegek DSC-görbéit összehasonlítva, a mérések eltérő termikus doméneket ( $T_m$  és a görbék lefutása alapján) mutattak a tumor méretétől és az áttétes nyirokcsomók számától függően a denaturáció alatt. A tumor nagyságával összefüggésben - a nyirokcsomó-státuszhoz hasonlóan - a betegség progressziójával azonos tendenciájú eredményeket találtunk. Az 5.59. ábrán a 11-20 mm-es (2. csoport) és ehhez képest kétszeres tumorátmérőjű csoportot (4. csoport) emeltük ki, hogy a DSC-görbék különbsége jól érzékelhető legyen. Méréseink alapján a  $T_{m3}$  és a  $T_{m4}$  jó indikátorai lehetnek a betegség progressziójának (5.9. táblázat). Egy új csúcs, a  $T_{m4}$  jelent meg a kontrollcsoporthoz viszonyítva a 10 mm-nél nagyobb, de 50 mm-nél kisebb daganatátmérőjű betegekben. Mindezt megerősítik a plazma kalorimetriás entalpiájának csökkenő karakterisztikája is.

**5.9. táblázat. A humán vérplazma DSC adatai az emlődaganatos betegekben**

Átlag±SE csak  $n \geq 5$  esetén; (a csoportok leírását a 4.7.2. pont tartalmazza)

humán vérplazma	$T_{m1}$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_{m2}$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_{m3}$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_{m4}$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\Delta H$ ( $\text{J g}^{-1}$ )
<b>kontroll</b> (n=10)	56,2±0,1 (n=10)	60,2 (n=3)	63±0,1 (n=10)	-	1,2±0,06
<b>tumorátmérő szerinti csoportok (n=19)</b>					
<b>1. csoport</b> (n=3)	55,7 (n=3)	61 (n=2)	65,2 (n=3)	-	1,17
<b>2. csoport</b> (n=7)	55,9±0,1 (n=7)	61±0,1 (n=6)	66,2±0,1 (n=7)	76 (n=3)	1,19±0,06
<b>3. csoport</b> (n=4)	55,7 (n=4)	60,3 (n=3)	66,4 (n=3)	70,5 (n=2)	1,07
<b>4. csoport</b> (n=3)	55,6 (n=3)	60,1 (n=1)	66,1 (n=3)	78,2 (n=1)	1,1
<b>5. csoport</b> (n=1)	55 (n=1)	-	65,9 (n=1)	77,8 (n=1)	1,35
<b>6. csoport</b> (n=1)	56,6 (n=1)	61,4 (n=1)	66,6 (n=1)	-	1,11

Az áttétes nyirokcsomók száma alapján kialakított betegcsoportok eredményeit a 5.10. táblázat mutatja. A kontrollminták esetében három fő átalakulási hőmérséklet különíthető el ( $T_{m1}$ ,  $T_{m2}$ ,  $T_{m3}$ ), a  $T_{m1}$  és a  $T_{m3}$  minden mintában megjelent, míg a  $T_{m2}$  csak egy esetben (5.10. táblázat). Ezzel szemben a  $T_{m2}$  termikus átmenet főként a betegekben jelent meg: az A. csoportban 80 %-os, a B. csoportban 100 %-os, míg a C. csoportban 60 %-os gyakorisággal fordult elő szemben a kontrollmintabeli 33,3 %-os megjelenésével. A  $T_{m3}$  esetében a kontroll 100 %-os gyakoriságával szemben 80-100-100 %-os megjelenést tapasztaltunk. A  $T_{m3}$  átalakulási csúcs szignifikánsan eltérő hőmérsékletet mutatott a kontrollcsoporthoz képest.



**5.10. táblázat. Vérplazma DSC adatai egészséges kontrollokban és a nyirokcsomók érintettsége alapján a különböző stádiumú emlődaganatos betegeknél**

Átlag±SE csak n≥5 esetén; (a csoportok leírását a 4.7.2. pont tartalmazza)

humán vérplazma	$T_{m1}$ (°C)	$T_{m2}$ (°C)	$T_{m3}$ (°C)	$T_{m4}$ (°C)	$T_{m5}$ (°C)	$\Delta H$ (J g <sup>-1</sup> )
<b>kontroll</b> (n=10)	56,2±0,1 (n=10)	60,2 (n=3)	63±0,1 (n=10)	-	-	1,2±0,06
<b>nyirokcsomó érintettség</b> (n=19)						
<b>A. csoport</b> (n=10)	55,6±0,1 (n=10)	60,8±0,1 (n=8)	66±0,1 (n=8)	75,4 (n=2)	-	1,16±0,5
<b>B. csoport</b> (n=4)	55,9 (n=4)	60,4 (n=4)	66,6 (n=4)	-	-	0,94
<b>C. csoport</b> (n=5)	55,7±0,1 (n=5)	60,9 (n=3)	66,2±0,1 (n=4)	70,4 (n=2)	77,7 (n=2)	1,19±0,06

Az egészséges kontrollesekben két fő denaturációs hőmérséklet ( $T_{ms} \sim 56$  és  $63$  °C) volt, míg a DCIS-es neoadjuváns kemoterápia nélküli betegeknél három denaturációs pont ( $T_{ms} \sim 55,5$ ;  $60,6$  és  $65,5$  °C) jelent meg (5.11. táblázat). A neoadjuváns kemoterápiás kezelésben részesülő ILC betegeknél négy hőmérsékleti csúcsot regisztráltunk ( $T_{ms} \sim 56,3$ ;  $60,9$ ;  $66,3$  és  $74,4$  °C). A plazma  $T_{1/2}$  értéke megnövekedett mind a neoadjuváns kemoterápiában nem részesülő DCIS-es esetekben, mind a kemoterápiát kapó betegeknél. A harmadik fontos paraméter, a kalorimetrikus entalpia, csökkenő tendenciát mutatott a DCIS ( $\Delta H \sim 1,01$  J g<sup>-1</sup>) és az ILC betegeknél ( $\Delta H=1,07$  J g<sup>-1</sup>) is az egészséges kontrollokhoz képest ( $\Delta H \sim 1,16$  J g<sup>-1</sup>).

**5.11. táblázat. Humán vérplazma DSC adatai egészséges kontrolloknál, kemoterápiát nem kapó DCIS-es betegeknél, valamint neoadjuváns kemoterápiában részesült ILC-s betegeknél**

$T_m$  maximális denaturációs hőmérséklet,  $\Delta H$  kalorimetrikus entalpiaváltozás; Átlag±SE (ha, n≥5)

humán vérplazma minta	termodinamikus paraméterek				
	$T_{m1}/^{\circ}\text{C}$	$T_{m2}/^{\circ}\text{C}$	$T_{m3}/^{\circ}\text{C}$	$T_{m4}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J g}^{-1}$
<b>egészséges kontroll</b> (n=5)	56,5	63,3	-	-	1,38
<b>DCIS neoadjuváns kemoterápia nélkül</b> (n=3)	55,7	60,1	66,8	-	0,88
	55,6	61,2	65,8	-	1,03
	56,1	-	65,3	-	1,12
<b>ILC neoadjuváns kemoterápia után</b> (n=8)	56,3±0,3	60,9±0,4	66,3±0,8	74,4±0,2	1,07±0,1

Az áttét nélküli emlőtumoros betegek dekonvolált vérplazmaösszetevői közül a  $T_{m3}$  kivételével valamennyi komponens denaturációs pontja csökkent a kontroll-hőmérsékletekhez képest. Igaz volt ez a  $T_{m2}$ -t adó, fő plazmaprotein albumin denaturációs pontja esetén is ( $61$  °C vs.  $62,5$  °C) (5.12. táblázat). Az emlőcarcinómás betegeknél megjelent egy új,  $T_{m3}$  denaturációs hőmérséklet  $85$  °C-nál. A daganatos eseteknél a  $T_{m4}$  komponens kalorimetriás entalpiáján kívül valamennyinél csökkenés volt megfigyelhető. A  $H_T$  csökkent a daganatos betegeknél az egészségesekhez viszonyítva ( $1,29\pm 0,06$  J g<sup>-1</sup> vs.  $1,16$  J g<sup>-1</sup>).

**5.12. táblázat. A vérplazma denaturációs hőmérséklete és kalorimetrikus entalpiája egészséges egyéneknek és áttét nélküli emlődaganatos betegeknél**

$T_m$  maximális denaturációs hőmérséklet,  $\Delta H$  kalorimetrikus entalpiaváltozás; Átlag±SE

Csoportok	$T_{m1}/^{\circ}\text{C}$	$T_{m2}/^{\circ}\text{C}$	$T_{m3}/^{\circ}\text{C}$	$T_{m4}/^{\circ}\text{C}$	$T_{m5}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_T/\text{Jg}^{-1}$
	$\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	
<b>egészséges kontroll</b> (n=10)	56,0±0,2 0,04±0,01	62,5±0,2 0,39±0,02	65,3±0,1 0,70±0,03	74,8±0,1 0,17±0,01	-	1,29±0,06
<b>emlődaganat áttét nélkül</b> (n=10)	55,6±0,2 0,073±0,01	61±0,2 0,146±0,02	66,4±0,1 0,375±0,03	71,9±0,1 0,56±0,01	85±0,1 0,006±0,001	1,16±0,05

### 5.7.3. A pancreatitis és pancreas tumoros betegek vérplazmájának DSC adatai

A krónikus hasnyálmirigy-gyulladás előfordulási gyakorisága az életkorral nő és ebben a vizsgálatban a betegek átlagéletkora 54 év volt (43-68 év között) (lásd 4.1. táblázat). A férfiak gyakrabban betegedtek meg, a férfi:nő arány 60:40 volt. Sebészeti javallatot főként a pancreas-vezeték és a peripancreaticus régió képleteinek (choledochus, duodenum) szűkülete vagy elzáródása jelentett, valamint egyéb tünetek (pl. krónikus fájdalom). A sebészeti beavatkozások között volt gyomor-bél traktus reszekciós és rekonstrukciós beavatkozások (pl. pancreasfej reszekciója, epevezeték reszekciója, biliodigestív anasztomózis, Wirsungo-jejunosztómia, Billroth II. szerinti gyomorreszekció). A betegek 40 %-ánál posztoperatív szövődmények léptek fel (hasi tályog, mentális zavartság) kórházi halálozás nélkül. A nemi megoszlás hasonló volt a daganatos csoportokban, de az átlagéletkor magasabbnak volt (4.1. táblázat). A preoperatív diagnózis a pancreasban vagy a papilla Vateriben lévő daganat volt. A reszekálhatóság szerint az operábilis csoportban kuratív műtétek (pylorus-megtartásos pancreatoduodenectomia, Whipple-műtét, pancreas bal oldali reszekciója, hasnyálmirigyfej reszekció) történtek. Valamennyi inoperábilis betegeknél biliodigestív kettős bypass került megvarrásra palliatív terápiaként. A műtét utáni szövődmények 45 és 40 %-ban fordultak elő, amelyek főként sebfertőzés, pancreas-fistula, pneumonia, bélrendszeri fertőzés, vérzés és hasi tályog volt. A kórházi halálozás az operábilis betegeknél 0 %, az inop esetekben 20 % volt.

A vérplazma termikus denaturálásának eredményei az 5.63. és 5.64. ábrán, valamint az 5.13. táblázatban láthatók. A hőkezelés során legalább három különböző termikus átmenetet azonosítottunk. Az első két csúcsot tekintve, ezek a betegség minden szakaszában jelentősen eltolódnak az alacsonyabb hőmérsékleti tartományokba (több mint 7 °C-kal) a kontrollokhoz képest. Ez jelzi, hogy a plazma alkotóelemekben egyfajta szerkezeti fellazulás volt. Ezzel ellentétben a harmadik denaturálódási hőmérséklet legalább 5 °C-kal emelkedett, ami azt bizonyítja, hogy ez a szerkezeti tartomány erősebb/sűrűbbé vált, a szerkezeti változás elindításához több hőenergiát kellett alkalmaznunk. A hőkezelés során a kalorimetrikus entalpia a hőkezelés mértékegysége az egész rendszer általános hőstabilitásának mérőszáma. Értéke csökkenő tendenciát mutatott (kivéve az operálható hasnyálmirigy daganatos csoportot), amely a plazmakomponensek szerkezeti destrukcióját, ezzel a betegség súlyosbodását mutatta.

**5.13. táblázat. A plazma denaturációs hőmérsékletei és kalorimetrikus entalpiája egészséges kontrolloknál, krónikus hasnyálmirigy-gyulladásban szenvedő betegeknél, operálható és nem operálható hasnyálmirigyekben**

human vérplazma minták		$T_m/^\circ\text{C}$ (Átlag $\pm$ SE)		$\Delta H/\text{J g}^{-1}$ (Átlag $\pm$ SE)
Egészséges kontroll (n=5)	56,2 $\pm$ 0,2	63,1 $\pm$ 0,2	68 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,07
krónikus hasnyálmirigy-gyulladásban szenvedő betegek (n=5)	48,8 $\pm$ 0,2	61,8 $\pm$ 0,2	68 $\pm$ 0,2	1,15 $\pm$ 0,07
operábilis hasnyálmirigy adenocarcinómás betegek (n=11)	48,2 $\pm$ 0,2	61,5 $\pm$ 0,2	67,6 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,08
inoperábilis hasnyálmirigy adenocarcinómás betegek (n=5)	48,1 $\pm$ 0,2	62,4 $\pm$ 0,2	69 $\pm$ 0,2	1,11 $\pm$ 0,06

Az áttét nélküli, operábilis hasnyálmirigy adenoma DSC-görbéinek dekonvolúciója során 5 denaturációs hőmérsékletet detektáltunk. Minden átmenet alacsonyabb hőmérsékleten volt a betegeknél, mint a kontrollmintákban. Ezek közül is az első (fibrinogén) és második (albumin) denaturációs hőmérséklete csökkent a betegeknél (56 °C vs. 48 °C; 62,5 °C vs. 55 °C) (5.14. táblázat).

Az pancreas adenomás eseteknél megjelent egy új,  $T_{m5}$  denaturációs hőmérséklet 81 °C-nál. A daganatos eseteknél a  $T_{m4}$  komponens kalorimetriás entalpiáján kívül valamennyinél

csökkenés volt megfigyelhető. A  $H_T$  csökkent a daganatos betegekben az kontrollokhöz képest ( $1,29 \pm 0,06 \text{ J g}^{-1}$  vs.  $1,3 \text{ J g}^{-1}$ ).

#### 5.14. táblázat. Vérplazma denaturációs hőmérsékletei és kalorimetrikus entalpiája egészséges kontrolloknál és áttét nélküli, operálható hasnyálmirigyrákban

csoportok	termikus paraméterek (Átlag $\pm$ SE)							
	$T_{m1}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m2}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m3}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m4}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m5}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m6}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m7}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$\Delta H_T/\text{Jg}^{-1}$
egészséges kontroll (n=10)	56,0 $\pm$ 0,2	62,5 $\pm$ 0,2	65,3 $\pm$ 0,1	74,8 $\pm$ 0,1	-	-	-	1,2 $\pm$ 0,06
	0,04 $\pm$ 0,0	0,39 $\pm$ 0,2	0,70 $\pm$ 0,03	0,17 $\pm$ 0,01				
pancreas adeno-carcinóma áttét nélkül (n=10)	48,4	55	61,2	67,5	81	-	-	1,3 $\pm$ 0,08
	0,046	0,03	0,362	0,736	0,126			

#### 5.7.4. A psoriasisban szenvedő betegek vérplazmájának DSC analízise

A vizsgálat első részében az egészséges kontrollok, a kezelés nélküli és a gyógyszeresen kezelt psoriasisos betegek DSC-görbéit elemeztük. Az egészséges egyéneknél az átlagos denaturációs hőmérséklet  $63^{\circ}\text{C}$  körüli értéket mutatott, míg a kalorimetrikus entalpia az ilyen biológiai anyagok esetében szokásos tartományban volt ( $\Delta H \sim 1,25 \text{ J g}^{-1}$ ). A DSC-vizsgálatok a gyógyszeres kezelés nélküli betegek esetében a bőrbetegség súlyosságával arányos termodinamikai eltéréseket mutatott csökkenő denaturációs hőmérsékletekkel és a kalorimetrikus entalpia csökkenéssel. A kezelést kapó esetekben határozott hőkapacitásváltozást láthattunk a natív és a denaturált állapotok között, ami a szérumfehérjék eltérő vízmegkötésének jele lehet. Ezen eredmények pontos magyarázata azonban még nem ismert. Az enyhe/közepes tüneteket mutatók gyógyszeres kezelése emelte a denaturációs hőmérsékletet és csökkentette a kalorimetrikus entalpiát a kezelés nélküli értékekhez képest. Míg a kezelés ellenére súlyos tünetekkel rendelkezőknél jelentős emelkedés volt az átmeneti hőmérséklet és az entalpia tekintetében is. A vérplazma denaturációjának termodinamikai adatai a 5.15. táblázatban láthatóak.

A második részben a vérplazma termikus változásait nagyobb esetszámban vizsgáltunk mind a kezelés nélküli, mind a gyógyszeres kezelés alatt álló psoriasisos betegekben. Minden csoportot alcsoportokra osztottunk tünetmentes, enyhe/közepes és súlyos tünetekkel járó esetekre. A szisztémás gyógyszeresen kezelt csoportokba citosztatikumot, retinoidot és biológiai válaszmódosító kezelést monoterápiaként kapó betegeket válogattunk be. A vérplazma termodinamikai adatait és eredményeit a 5.16. táblázat mutatja.

A minták denaturálódása során - függetlenül a csoportosításuktól - a legtöbb esetben 3 denaturációs hőmérsékletet ( $T_{m1}$ :  $55,50$ - $59,50^{\circ}\text{C}$ ;  $T_{m2}$ :  $63$ - $69,5^{\circ}\text{C}$  közötti tartományokban; valamint  $T_{m3}$ :  $67,3^{\circ}\text{C}$  és  $89,5^{\circ}\text{C}$  között) lehetett megfigyelni. A kalorimetrikus entalpia értékek a folyékony biológiai minták szokásos tartományában voltak ( $\Delta H \sim 1,3$ - $2,0 \text{ J g}^{-1}$ ).

A gyógyszeres kezelés nélküli betegek DSC vizsgálatai egyértelműen bizonyítják a bőrbetegség súlyosságának termodinamikai következményeit: a  $T_{m1}$  növekedése, csökkenő  $T_{m2}$  denaturációs hőmérséklet, a  $T_{m3}$  hiánya és a kalorimetrikus entalpiák növekedése a tünetmentes esetek adataihoz képest. Súlyos tünetek esetén csak az első denaturációs hőmérséklet és a kalorimetrikus entalpia változott a tünetmentes értékekhez viszonyítva.

A II/A csoportban a metotrexát, mint citosztatikus szer szedése jelentősen növelte a kalorimetriás entalpiát az összes beteg vérplazmájában (Kontroll:  $1,25 \pm 0,07 \text{ J g}^{-1}$  vs. kezelés nélküli súlyos tünetes beteg:  $1,4 \pm 0,06 \text{ J g}^{-1}$  vs. gyógyszeresen kezelt súlyos tünetes eset:  $1,6 \pm 0,06 \text{ J g}^{-1}$ ). Szignifikáns növekedést ( $p < 0,05$ ) figyeltünk meg az összes  $T_{ms}$ -ben az

enyhe/közepes tüneteket mutató esetekben, míg a súlyos stádiumban a hatása megjelent a kalorimetrikus entalpia növekedésében és a  $T_{m3}$  hiánya tekintetében is. A növekedés a plazma hőstabilizációjának növekedése ebben a kezelésben érvényesül, függetlenül a referenciától (összehasonlítva az I. Kezelés nélküli psoriasisos betegek vagy a II/A. Citosztatikus kezelésben részesülő csoport tünetmentes betegeinek eredményeivel, lásd 5.16. táblázat I. és II/A. csoport).

A II/B. csoportban acitretin (retinoid) kezelés hatására az enyhe/közepes tüneteket mutató esetekben  $T_{m3}$  értéke és a kalorimetrikus entalpia nagysága emelkedett szignifikánsan az egészséges kontrollesekhez képest (Kontroll:  $T_{m3}$ :  $-^{\circ}\text{C}$ ,  $\Delta H$ :  $1,25 \pm 0,07 \text{ J g}^{-1}$  vs. kezelés nélküli enyhe/közepes eset  $T_{m3}$ :  $-^{\circ}\text{C}$ ,  $\Delta H$ :  $1,4 \pm 0,06 \text{ J g}^{-1}$  vs. acitretin kezelés kapó enyhe/közepes tünetekkel bíró eset:  $T_{m3}$ :  $82,2 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ,  $\Delta H$ :  $1,4 \pm 0,06 \text{ J g}^{-1}$ ). A súlyos tünetekkel rendelkező retinoid kezelésben részesülő betegek esetén a  $T_{m1}$  értéke enyhén emelkedett a kezeletlen esetekhez viszonyítva ( $T_{m1}$ :  $55,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  vs.  $55,8 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ), de alacsonyabb értéket kaptunk a metotrexát kezeléshez képest ( $T_{m1}$ :  $55,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  vs.  $56,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ). Az acitretin kezelés után a második átmeneti hőmérséklet magasabb hőmérsékleti tartományba kerül a kezelés nélküli ( $T_{m2}$ :  $63,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  vs.  $63,4 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ) és a metotrexát kezeléssel összehasonlítva ( $T_{m2}$ :  $63,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  vs.  $63,3 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ). A súlyos tüneteket mutató acitretin kezelés kapó esetekben a kezeletlen esetekhez képest megjelent a  $T_{m3}$ :  $83,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ -on. A kalorimetriás entalpia  $\Delta H$ :  $1,5 \pm 0,06 \text{ J g}^{-1}$  értékű volt szemben a kezelés nélküli esetekével ( $\Delta H$ :  $1,4 \pm 0,06 \text{ J g}^{-1}$ ) és a metotrexáttal kezelt betegek eredményével ( $\Delta H$ :  $1,6 \pm 0,06 \text{ J g}^{-1}$ ). Súlyos tünetek esetén az összes termikus paraméter jelentősen megváltozott. Nem volt elegendő esetszám a tünetmentes és kezelt csoportban, de a termikus paraméterek változásának tendenciája hasonló volt, mint a súlyos tünetek esetében (kivéve a  $T_{m2}$ -t, lásd az 5.15. táblázat II/B. részét).

Összesen 11 beteget kezeltünk 3 féle biológiai válaszmódosító szerrel, így 1-1 gyógyszer esetén az eredmények száma kevés volt a statisztikai értékeléshez. De az adatok alapján egy javuló termikus vplazmastabilitási tendencia volt látható az összes termodinamikai paraméter esetén (5.15. táblázat II/C. dőlt betűs számok). Meglepő volt, hogy a betegek mintegy felénél a  $T_{m3}$  csúcs hiányzott. Ezek a megállapítások a kezelésnek a plazma szerkezeti stabilizációjára való hatására utal (ez részben érvényes a kezelés nélküli tünetmentesekre is).

A harmadik vizsgálat sorozatban pikkelysömörben szenvedő, különböző gyógyszeres kezelést kapó személyek vérplazma DSC-görbéihez tartozó értékeket az 5.15. táblázat foglalja össze. A kontrollminták 4 elválasztható plazmaösszetevőt mutattak. A fibrinogén átmeneti hőmérséklete ( $T_{m1}$ )  $56^{\circ}\text{C}$ -on volt. Az albumin markáns hozzájárulása ( $T_{m2}$ )  $62,5^{\circ}\text{C}$ -on jelent meg. A  $65,3^{\circ}\text{C}$ -on azonosított átmenet az Ig-hez és az albumin farkához való hozzájárulás ( $T_{m3}$ ). Míg a C3, az IgA és IgG denaturációja, valamint az IgG és az albumin farkrészek ( $T_{m4}$ )  $74,8^{\circ}\text{C}$ -on denaturálódtak (5.16. táblázat).

A különböző gyógyszeres kezelésekre (1) a tünetmentes betegek vérplazmájának  $T_{m1}$  hőmérséklete enyhén csökkent a citosztatikus terápia alatt ( $54,5^{\circ}\text{C}$  vs kontroll:  $56,0^{\circ}\text{C}$ ), míg a csökkenés ugyanolyan mértékű volt a retinoid és a biológiai gyógyszeres kezelés mellett, és mindezt kisebb mértékű volt, mint a citosztatikus kezelés esetén ( $54,5^{\circ}\text{C}$  vs.  $55,5^{\circ}\text{C}$ ). (2) A  $T_{m2}$ ,  $T_{m3}$  és  $T_{m4}$  denaturációs hőmérsékletek általában minden tünetmentes betegnél emelkedtek a kontrollértékekhez képest, sőt a citosztatikus gyógyszeradagolás után  $T_{m5}$   $80^{\circ}\text{C}$ -on, míg a retinoid kezelés mellett  $T_{m5}$   $77^{\circ}\text{C}$ -on és  $T_{m6}$   $85,5^{\circ}\text{C}$ -os denaturációs hőmérsékletek is megjelentek ezekben a csoportokban. (3) A biológiai válaszmódosító kezelés hatására a tünetmentes betegeknél csak 4 termikus átmenet ( $55,5^{\circ}\text{C}$ ;  $62,7^{\circ}\text{C}$ ;  $68,6^{\circ}\text{C}$ ;  $75^{\circ}\text{C}$ ) volt kimutatható, és ezzel ez volt a leginkább hasonló a kontrollvérplazma denaturációs hőmérsékleti értékekhez ( $56^{\circ}\text{C}$ ;  $62,5^{\circ}\text{C}$ ;  $65,3^{\circ}\text{C}$ ;  $74,8^{\circ}\text{C}$ ).

A gyógyszeres kezelésekre mellett jelentkező enyhe-közepes vagy súlyos tünetekkel rendelkező betegek vérplazmájának dekonvolált DSC-görbéi között figyelhető meg, hogy konzekvensen több termikus átmenetre bontható.

Citosztatikus kezelés hatására a  $T_{m1}$  hőmérséklet szignifikánsan csökkent (51,0 °C vs. kontroll: 56,0 °C; vs. tünetmentes: 54,5 °C). Ezen felül a súlyos tünetek esetén a  $T_{m2}$ ,  $T_{m3}$  és  $T_{m4}$  denaturációs hőmérsékletek jelentősen csökkentek a kontrollértékekhez képest ( $T_{m2}$ : 55,5 °C vs. kontroll: 62,5 °C;  $T_{m3}$ : 58 vs. 65,3 °C, stb). A citosztatikummal kezelt enyhe-közepes tüneteket adó csoportnál a  $T_{m5}$  extrém magas, 90 °C hőmérsékleten jelent meg. A retinoid kezelés mellett enyhe-közepes tüneteket mutató betegknél a  $T_{m2}$ ,  $T_{m3}$  és  $T_{m4}$  is emelkedett hőmérsékleti tartományba kerül a kontrollhoz képest, ez utóbbinál szignifikáns volt az eltérés. A biológiai kezelés hatására 6 termikus átmenet volt az enyhe-közepes tüneteket adó csoportban, melyek közül a  $T_{m5}$  és  $T_{m6}$  újaknak tekinthetők az egészségesekhez viszonyítva (5.16. és 5.17. táblázat). A biológiai válaszmódosító kezelés enyhe-közepes eseteiben is csökkenő tendencia látszik a  $T_{m2}$ ,  $T_{m3}$  és  $T_{m4}$  vonatkozásában, és ezeknél a betegknél is megjelenik a  $T_{m5}$  és  $T_{m6}$  denaturációs hőmérsékletek.

Gyógyszer mellett is súlyos tüneteket adó betegknél a citosztatikum hatására 7, míg retinoid és biológiai kezelés után 6 termikus átmenet volt mérhető. Ezeknek a hőmérsékleti értéke a citosztatikus kezelés után csökkent a kontrollhoz hőmérsékletekhez képest (51 °C vs. 56 °C; 55,5 °C vs. 62,5 °C; 58 °C vs. 65,3 °C; 64 °C vs. 74,8 °C) (5.16. és 5.17. táblázat).

Gyógyszeres kezelés hatására a kalorimetriás entalpia értéke minden esetben jelentősen megnőtt a kontrollhoz képest. Ezek közül a biológiai kezeléseknél az érték állt legközelebb a kontrollhoz. A dekonvolált görbéknek az entalpiához való %-os hozzájárulását összegző táblázat mutatja, hogy a kezeléseknél döntően a  $T_{m3}$  és  $T_{m4}$  átmeneti hőmérsékletek a fő komponensek az entalpia vonatkozásában (5.18. táblázat).

### 5.15. táblázat. Kezelés nélküli és gyógyszeresen kezelt psoriasisos betegek DSC adatai

A vastagon kiemelt számok a kezelés nélküli tünetmentes adatokhoz képest szignifikáns ( $p < 0,05$ ) különbséget jelölnek, ha  $n \geq 4$ . A dőlt számok a kezelés nélküli tünetmentesek értékeinek tartományán kívül eső adatokat jelentik.  $T_m/^\circ\text{C}$  maximális denaturációs hőmérséklet;  $\Delta H/J\text{ g}^{-1}$  kalorimetrikus entalpia a minta teljes tömegére normalizálva

kezelés	tünetek	$T_m/^\circ\text{C}$			$\Delta H/J\text{ g}^{-1}$
		$T_{m1}$	$T_{m2}$	$T_{m3}$	
<b>I. kezelés nélküli psoriasisos betegek (n=39)</b>					
	tünetmentes (n=8)	55,60±0,10	63,5±0,10	67,30 (n=2)	1,30±0,06
	enyhe/közepes (n=16)	<b>56,00±0,10</b>	<b>63,00±0,20</b>	-	<b>1,40±0,06</b>
	súlyos (n=15)	55,80±0,10	63,40±0,10	-	<b>1,40±0,06</b>
<b>II. szisztémás gyógyszeres kezelésben részesülő betegek (n=33)</b>					
<b>II/A. citosztatikus kezelés</b>					
methotrexat (n=12)	tünetmentes (n=2)	55,70	63,20	85,10	1,50
	enyhe/közepes (n=6)	<b>56,00±0,10</b>	<b>64,60±0,10</b>	<b>86,80±0,10</b>	<b>1,60±0,06</b>
	súlyos (n=4)	<b>56,00±0,10</b>	63,30±0,10	-	<b>1,60±0,06</b>
<b>II/B. retinoid kezelés</b>					
acitretin (n=10)	tünetmentes (n=2)	55,90	63,30	85,40	1,70
	enyhe/közepes (n=4)	55,50±0,10	63,50±0,10	<b>82,20±0,10</b>	<b>1,40±0,06</b>
	súlyos (n=4)	<b>55,90±0,10</b>	<b>63,90±0,10</b>	<b>83,00±0,10</b>	<b>1,50±0,06</b>
<b>II/C. biológiai válaszmódosító kezelés</b>					
adalimumab (n=5)	tünetmentes (n=3)	56,30	64,50	84,50 (n=2)	1,40
	enyhe/közepes (n=1)	55,40	64,60	-	1,40
	súlyos (n=1)	55,70	64,40	88,10	1,40
infliximab (n=5)	tünetmentes (n=3)	55,60	64,00	83,30 (n=2)	1,40
	enyhe/közepes (n=1)	56,10	63,70	-	1,50
	súlyos (n=1)	55,90	63,80	-	1,20
ustekinumab (n=1)	tünetmentes (n=1)	59,50	69,50	-	2,00

### 5.16. táblázat. Termikus paraméterek különböző szisztémás gyógyszeres terápiában részesült tünetmentes, enyhe-közepes és súlyos tüneteket adó pikkelysömörös betegekben

$\Delta H_T$  az eredeti kísérleti görbe teljes entalpiáját jelöli. Cél volt a legjobb illeszkedés elérése az átlagos kísérleti és a dekonvolált görbék összege között ( $R \sim 0,99$ ). Ez néhány elhanyagolható hozzájárulást eredményezett az entalpiában (az összérték kevesebb mint 3-4 %-a) vagy a denaturációs hőmérsékletben, amelyeket az irodalom alapján nem lehet azonosítani, így ezeket levettük. Az SE csak a kísérleti átlagos (teljes) entalpia esetében van feltüntetve, ha az adatok száma nagyobb volt, mint 4. A vastag kiemelés az irodalmi adatokkal való egyezést jelzi

csoport	tünet	termikus paraméterek							
		$T_{m1}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m2}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m3}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m4}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m5}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m6}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m7}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$\Delta H_T/\text{Jg}^{-1}$
kontroll (n=15)	egészséges	56,0 0,04	<b>62,5</b> 0,39	65,3 0,70	<b>74,8</b> 0,17	-	-	-	1,29 $\pm 0,06$
	tünetmentes	54,5 0,07	58,5 0,05	64,8 0,98	<b>72,0</b> 0,28	80,0 0,12	-	-	1,50
	enyhe-közepes	<b>51,0</b> 0,04	<b>62</b> 0,50	66,0 0,57	72,0 0,43	90,0 0,06	-	-	1,60 $\pm 0,08$
retinoid kezelés (n=10)	súlyos	51 0,01	55,5 0,06	58 0,02	64,0 0,90	<b>71,0</b> 0,48	77,0 0,08	86,0 0,05	1,60 $\pm 0,08$
	tünetmentes	55,5 0,08	58 0,01	64,0 1,00	<b>71,0</b> 0,52	77,0 0,12	85,5 0,04	-	1,70
	enyhe-közepes	55,5 0,08	63,0 0,77	68,0 0,41	<b>75,0</b> 0,14	-	-	-	1,40 $\pm 0,07$
biológiai válasz- módosító kezelés (n=10)	súlyos	55,5 0,06	63,5 0,90	67,2 0,07	<b>70,5</b> 0,31	<b>76,0</b> 0,12	89,0 0,04	-	1,50 $\pm 0,07$
	tünetmentes	55,5 0,09	<b>62,7</b> 0,75	68,6 0,45	<b>75,0</b> 0,20	-	-	-	1,49
	enyhe-közepes	56,0 0,06	61,0 0,20	63,6 0,39	66,5 0,27	70,6 0,50	85,5 0,03	-	1,45
biológiai válasz- módosító kezelés (n=10)	súlyos	51 0,01	56,0 0,07	63,6 0,60	68,2 0,36	<b>74,0</b> 0,20	<b>81,0</b> 0,06	-	1,30

### 5.17. táblázat. A dekonvolált görbék %-os hozzájárulásai az entalpiához különböző gyógyszeres kezelés után a tünetmentes, enyhe-közepes és súlyos psoriasisos betegekben

A vastag kiemelés szignifikáns különbséget jelez a kontrollértékhez képest.  $\Delta H_T$  az eredeti kísérleti görbe teljes entalpiáját jelöli. Azok a hozzájárulások, amelyek a tényleges SE vagy a berendezés felbontóképessége alatt vannak, valamint amelyek nem azonosíthatók az irodalom alapján, azok (-) jellel adtuk meg. Az SE csak a kísérleti átlagos (teljes) entalpia esetében van feltüntetve, ha az adatok száma nagyobb volt, mint 4.

csoport	tünet	termikus paraméterek							
		$T_{m1}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m2}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m3}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m4}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m5}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m6}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$T_{m7}/^{\circ}\text{C}$ $\Delta H/\text{Jg}^{-1}$	$\Delta H_T/\text{Jg}^{-1}$
kontroll (n=15)	egészséges	-	30 %	54,3 %	13,2 %	-	-	-	1,29 $\pm 0,06$
citosztatikus kezelés (n=10)	tünetmentes	-	-	65,3 %	<b>18,7 %</b>	8 %	-	-	1,50
	enyhe-közepes	-	31,3 %	<b>35,6 %</b>	27 %	-	-	-	1,60 $\pm 0,08$
	súlyos	-	-	-	56,3 %	<b>30 %</b>	-	-	1,60 $\pm 0,08$
retinoid kezelés (n=10)	tünetmentes	-	-	58,8 %	<b>30,6 %</b>	7 %	-	-	1,70
	enyhe-közepes	6 %	55 %	<b>29,3 %</b>	10 %	-	-	-	1,40 $\pm 0,07$
	súlyos	-	60 %	-	<b>20,7 %</b>	8 %	-	-	1,50 $\pm 0,07$
biológiai válasz- módosító kezelés (n=10)	tünetmentes	6 %	50,3 %	<b>30,2 %</b>	13,4 %	-	-	-	1,49
	enyhe-közepes	-	13,5 %	<b>26,9 %</b>	18,6 %	34,5 %	-	-	1,45
	súlyos	-	-	46,2 %	<b>27,7 %</b>	15,4 %	-	-	1,30

## 6. KÖVETKEZTETÉSEK

1. Vékonybél 1, 2, 3 és 6 órás meleg I/R modelljében az ischaemiás idő előre haladtával arányos módon, szignifikánsan emelkedett a szöveti lipidperoxidáció mértéke, miközben a szöveti scavenger GSH koncentrációja, és az antioxidáns enzim, SOD aktivitása drámai módon csökkent. Mindez azt mutatta, hogy az ischaemiás idővel arányos oxidatív szövetkárosodás jött létre. A bélfal szerkezetében bekövetkező károsodás kimutatható volt mind a Park-féle kvalitatív meghatározás, mind a Scion Image kvantitatív képanalízis, mind a villusmagasság/kriptamélység arányának mérése során. A szöveti eredményeket támasztotta alá az artériás vér sav-bázis értékeinek a reperfúziókor kapott eredményei, mely szerint az ischaemiás idővel arányosan csökkent a pH, a PaCO<sub>2</sub>, a HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> és a BE. A 3 órás mintáknál már jól látható a csökkenő tendencia, de a 6 órás csoport 1 órás reperfúziójakor már súlyos metabolikus acidózis volt mérhető.

2. A bél 1, 3 és 6 órás hideg konzerválása utáni autotranszplantációs modellben a Park-féle klasszifikáció szerint az azonos idejű EC és UW oldatban történő konzerválás azonos változásokat okozott. A szöveti sérülés legjelentősebb a mucosa és a kripták területén volt. A graftok biokémiai vizsgálata, a szöveti szerkezet kvantitatív analízise és a V/K arány meghatározása alapján is a UW oldatban való konzerválás hozott jobb eredményeket. A vérgáz analízis megerősítette, hogy a hideg tárolás csökkentette az artériás vér acidotikus eltolódását. Ez az EC-ben tárolt 3 órás csoportoknál közepes, míg a 6 órás csoportoknál szignifikáns volt. A UW oldatban történt tárolás után nem volt jelentős Astrup megingás.

3. A vékonybél késői IPC modelljében, az IPC után másnap a konzervált és autotranszplantált bél esetén a szöveti MDA koncentráció szignifikánsan alacsonyabb volt, a scavenger GSH koncentrációja szignifikánsan megemelkedett, miközben a SOD aktivitás csökkent ugyan, de jóval kisebb mértékben, mint az IPC nélküli szövetben. Hideg konzerválás előtti korai és késői IPC (4 ciklusban 5 perc ischaemia+10 perc reperfúzió) is javította a graftok mucosa, submucosa rétegének vastagságát és a kripták mélységét a szövettani metszetek kvantitatív vizsgálata és a V/K arány meghatározásakor. Kemiluminescens alapú ELISA módszerrel kimutattuk, hogy a különböző I/R-s ciklusú IPC protokollok kiváltották az NF-kappaB transzkripciós faktor aktivációját. A mucosa sejtek citoplazma és nukleáris mintáiban is bifázisos aktiváció volt 30 és 120 perccel az IPC után.

4. A meleg I/R-s és a hidegen konzervált és autotranszplantált modellekben a 3 ciklusú, rövid IPO protokoll csökkentette a szöveti oxidatív stressz mértékét, a kvalitatív és kvantitatív módon detektált hisztológiai elváltozásokat. A két csoport összehasonlításában a hideg konzerválás segítette a szöveti struktúra védelmét, melyet az IPO tovább javított, és ezen belül is kiemelendő a kripták jobb megőrzöttsége a reperfúzió végére.

5. Az endogén PACAP38 immunreaktivitása szignifikánsan csökkent 2, 3 és 6 órás meleg I/R hatására a bélben. Ha a meleg I/R-s modellben a reperfúzió során iv. PACAP38-at adtunk, akkor a bél oxidáns-antioxidáns státusza és hisztológiai paraméterei egyaránt jobbak voltak. A hidegen konzervált és autotranszplantált modellben a szöveti PACAP38 és PACAP27 immunreaktivitása a tárolási idővel arányos módon csökkent. Ha a UW konzerváló oldathoz „exogén” PACAP38-at adtunk, akkor a bélben emelkedett a PACAP38 és PACAP27

immunreaktivitása, csökkent a szöveti lipidperoxidáció és javult a bél antioxidáns státusza, valamint a többrétű szövettani elemzés alapján is kisebb szöveti károsodás alakult ki. Ebben a kísérletsorozatban a UW oldathoz adott PACAP38 a jelátviteli kinázok közül az ERK1/2 foszforilációs szintjét növelte, míg a JNK és p38MAPK foszforilációs szintjét csökkentette, a gyulladással kapcsolatos citokinek közül az sICAM-1, L-Selectin és TIMP-1 expresszióját szignifikánsan csökkentette. Eredményeink megerősítését szolgálja, hogy meleg I/R-s és hideg konzerválást követő autotranszplantációs modellekben kimutattuk, hogy a PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú egerekben szignifikánsan kisebb mértékű szöveti oxidatív stressz és szöveti szerkezeti károsodás alakult ki a PACAP<sup>-/-</sup> génihiányos állatok eredményéhez képest.

6. Meleg és hideg ischaemiás és reperfüziós kísérletek thermoanalitikai vizsgálataival kimutattuk, hogy a mucosa - feltételezhetően a sejtekben lévő sok kötött víz miatt - leginkább egy folyadékkristályhoz hasonló szerkezet viselkedését mutatja. I/R hatására a mucosa szerkezete megbomlott, az ischaemiás idővel arányos módon csökkent a kalorimetriás entalpiája. A bélfal szétválasztott rétegeit DSC módszerrel vizsgálva kimutattuk, hogy az előző szövettani méréseink esetén lényeges szerkezeti elváltozást nem mutató izomrétegben is változások mérhetők, melyet az időarányosan emelkedett a kalorimetriás entalpia jelzett. Az izomfehérjék esetében a hideg ischaemia okozta a legnagyobb szerkezeti változást, eközben a kalorimetrikus entalpia a konzerválási idővel arányosan emelkedett.

7. Differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálataink során melanomás betegeknél elsőként sikerült szoros korrelációt kimutatni a termikus változások, valamint a tumor vastagság, a helyi tumor invázió, a regionális nyirokcsomó érintettség és a távoli metasztatikusok között.

Különböző stádiumú operábilis emlődaganatos beteg vérplazmájának DSC elemzése alapján kimutattuk, hogy a termogrammok átmeneti hőmérsékletei és a kalorimetriás entalpiaváltozása összefüggést mutatott a tumor méretével, valamint az áttétes axilláris nyirokcsomó érintettségével.

A krónikus hasnyálmirigy-gyulladásban szenvedő betegek vérplazma DSC-görbéinél a termikus átmenetek a kontrollokhhoz képest jelentősen eltolódtak az alacsonyabb hőmérsékleti értékek felé. Vagyis egy lokális gyulladás szisztémás gyulladással járó folyamatokat tükröz a keringő vérplazma átmeneti hőmérsékletének vizsgálatakor. Emellett a plazma kalorimetrikus entalpiájának enyhe csökkenése valószínűleg a globulinok destabilizálódását tükrözheti, melyeknek hangsúlyos szerepük van a gyulladás során. Pancreas tumor esetén új és magasabb hőmérsékleti tartományba tolódott denaturációs hőmérsékletek jelentek meg és a kalorimetrikus entalpia, mint indikátor, az egész rendszer általános hőstabilitásának mutatójaként csökkenő tendenciát mutatott főként az inoperábilis esetekben.

Psoriasisos betegeknél kimutattuk, hogy a PASI pontozási rendszer alapján különböző súlyosságú betegek vérplazmájában thermoanalitikusan kimutatható különbségek (átmeneti hőmérséklet, kalorimetrikus entalpia) vannak. Thermoanalízisünk azt mutatta, hogy a hagyományos szisztémás gyógyszeres (citosztatikum, retinoid) kezeléssel szemben a biológiai válaszmódosító szerek a plazma hőstabilitásának javulását okozták minden mérhető termodinamikai paraméter tekintetében. A vérplazma komplex DSC-görbéinek legújabb dekonvolúciós elemzéseiben részben feltárták az adatok mögötti biológiai változásokat, de az eredmények pontos magyarázatát még nem ismerjük.



## 7. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

A fentiek alapján az alábbi új megállapítások tehetők:

1. Meleg I/R hatására a vékonybélben az ischaemiás idővel arányos súlyosságú oxidatív stressz és a bélfal minden rétegét érintő strukturális károsodás alakul ki, csökken az endogén PACAP38 neuropeptid immunreaktivitása és súlyos metabolikus acidózis alakul ki. A reperfüziókor alkalmazott ischaemiás poszt kondicionálás és az intravénásan adott exogén PACAP38 egyaránt mérsékli a káros következményeket.

2. A hideg konzerválás a prezerváció idejével arányos módon önmagában is csökkentette a bél szöveti károsodását. Az EC oldattal szemben a UW oldatban való konzerválás előnyösebb volt a szöveti szerkezet és a vér sav-bázis értékei tekintetében egyaránt.

3. A konzervált és autotranszplantált bélszövet károsodásait az ischaemiás prekondicionálás klasszikus és késői formája, valamint az ischaemiás poszt kondicionálás is csökkenti. Ennek hátterében az NF-kappaB transzkripciós faktor által aktivált sejtvédelem áll.

4. Hideg konzerválás csökkenti a bél endogén PACAP38 és PACAP27 immunreaktivitását. A konzerváló oldathoz adott „exogén” PACAP hatására a bélben emelkedik az immunreaktivitása, csökken az oxidatív stressz és a szöveti károsodás mértéke azáltal, hogy aktiválja a túlélés intracelluláris kináz útvonalait, illetve gátolja a gyulladáshoz kapcsolódó citokinek-expresszióját.

5. Különböző klinikai kórképekben (melanoma malignum, emlőtumor, pancreas tumor, pancreatitis, psoriasis) a betegek vérplazmáinak differenciál pásztázó kalorimetriás mérései során kapott egyedi, de a betegségekre jellemző DSC-görbék összefüggést mutattak a betegség súlyosságával, előrehaladottságával vagy a kezelésre adott válasszal. Továbbfejlesztését követően a DSC-görbék dekonvolúciós analízise felveti a lehetőségét a daganatos vagy gyulladáshoz kapcsolódó kórképek korai diagnosztizálásának, a betegség monitorozásának, vagy az alkalmazott terápia hatékonyságának egy csepp vérből való tesztelésére.

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérletes kutatásunk két, alapvetően a klinikai gyakorlattal összefüggő kérdéskört vizsgált.

A dolgozat első része a vékonybél átültetés problémájával foglalkozik egy olyan szerv esetén, mely transzplantálhatóságát fokozott immunogenitása mellett az I/R-s károsodások iránti nagyfokú érzékenysége is nehezíti. Az immunológiai problémák kizárására kísérletes vékonybél autotranszplantációs kis- és nagyállatmodelleket alkalmaztunk. A téma komplexitása miatt konzekvens párhuzamossággal vizsgáltuk a béltraktus meleg I/R-s és hideg konzerválás és autotranszplantáció okozta I/R-s károsodásait és azok kivédési lehetőségeit.

A vékonybélben a meleg ischaemiás idővel arányos mértékű oxidatív stressz alakul ki, mely a bélfal szerkezetében kvalitatív, kvantitatív és termoanalitikai módon is detektálható elváltozásokat eredményez, csökken a bél „endogén” PACAP38 neuropeptid immunreaktivitása és 6 óra ischaemia szisztémás hatásaként súlyos metabolikus acidózist alakul ki a szervezetben. E káros következmények csökkenthetők a reperfüzió kezdetekor végzett ischaemiás poszt kondicionálással vagy „exogén” PACAP38 intravénás adásával.

A bél hideg konzerválása utáni autotranszplantációs modellben a hideg tárolás önmagában is mérsékelte a szöveti károsodást és a vér sav-bázis paramétereinek zavarát. Értékeit tekintve ez a UW oldatban való konzerválás során eredményesebb volt, mint az EC oldatban prezerváció során. A bélfal izomrétegének - hagyományos szövettani vizsgálattal nem detektálható - változásait a bélfal szétválasztott rétegeinek DSC termoanalízise igazolta. Béltranszplantációs modelljeinkben az ischaemiás prekondicionálás klasszikus (korai) és késői formája, valamint az ischaemiás poszt kondicionálás is csökkentette a szöveti destrukciót. Ennek hátterében az NF-kappaB transzkripciós faktor aktivációja után kialakult citoprotekció áll. Ebben a modellben - a tárolási idővel arányos módon - csökkent az „endogén” szöveti PACAP38 és PACAP27 immunreaktivitása. A konzerváló oldathoz adott „exogén” PACAP hatására a bélben megemelkedett az immunreaktivitás, csökkent az oxidatív és szöveti károsodás mértéke azáltal, hogy aktiválta a túlélés intracelluláris kináz útvonalait, illetve gátolta a gyulladáshoz vezető citokinek és kemokinek expresszióját. Eredményeinket kísérleti modelljeink PACAP<sup>+/+</sup> vad típusú és PACAP<sup>-/-</sup> génihiányos egereken való elvégzése is megerősítették.

A dolgozat második része különböző klinikai kórképekben (melanoma malignum, emlőtumor, pancreas tumor, pancreatitis, psoriasis) szenvedő betegek vérplazmájának differenciál pásztazó kalorimetriás vizsgálatait tartalmazza. Összesen 181 betegen végzett termoanalitikai mérés során kimutattuk, hogy a vérplazmák egyedi, de a betegségre jellemző DSC-görbéinek termikus paramétereinek és karakterisztikájának összefüggést mutatott a betegség súlyosságával, előrehaladottságával vagy a kezelésre adott válasszal. Továbbfejlesztését követően a DSC-görbék dekonvolúciós analízise felveti a lehetőségét a daganatos vagy gyulladáshoz vezető kórképek korai diagnosztizálásának, a betegség monitorozásának, vagy az alkalmazott terápia hatékonyságának néhány csepp vérből való tesztelésére.

## 9. SUMMARY

Our experimental research looked at two issues that are fundamentally related to clinical practice.

The first part of this thesis focuses on the problem of small intestine transplantation in an organ whose transplantability is complicated by its increased immunogenicity and high sensitivity to I/R damage. To exclude intestinal immunological problems small and large experimental autotransplantation animal models were used. Due to the complexity of the topic, we investigated the I/R damage and its prevention in the intestinal tract caused by warm I/R and cold preservation and autotransplantation in consistent parallelism.

In the small intestine, oxidative stress develops in proportion to the warm ischaemic time, resulting in qualitative, quantitative and thermoanalytical detectable changes in the intestinal wall structure, a decrease in the immunoreactivity of the intestinal "endogenous" neuropeptide PACAP38 and the systemic effect of 6 h of ischaemia, which leads to severe metabolic acidosis. These adverse consequences can be reduced by ischaemic postconditioning at the beginning of reperfusion or by intravenous administration of "exogenous" PACAP38.

In the autotransplantation model, the cold intestinal preservation itself attenuated the tissue damage and disturbance of blood acid-base parameters compared to warm I/R samples. Regarding its values, this was more effective during preservation in UW solution than in EC storage. Changes in the muscle layer of the intestinal wall, undetectable by conventional histology, were confirmed by DSC thermoanalysis in the separated layers. In our intestinal transplantation models, both classic (early) and late forms of ischemic preconditioning and ischemic postconditioning reduced tissue destruction. This is due to cytoprotection after activation of the NF-kappaB transcription factor. In this model, immunoreactivity of the tissue "endogenous" PACAP38 and PACAP27 has reduced in the preservation time-dependent manner. The "exogenous" PACAP added to the preservation solution increased its immunoreactivity in the intestine, reduced oxidative and tissue damage, and was shown to activate intracellular survival kinase pathways and to inhibits the expression of inflammatory cytokines. Our results were confirmed by performing our experimental models on PACAP<sup>+/+</sup> wild-type and PACAP<sup>-/-</sup> gene-deficient mice.

The second part of the thesis contains the Differential Scanning Calorimetric analysis of blood plasma from patients with various clinical conditions (melanoma malignum, breast tumor, pancreatic tumor, pancreatitis, psoriasis). Our measurements showed that individual but disease-specific curves obtained from DSC measurements of patients' blood plasma were associated with disease severity, progression or response to treatment. Following its further development, deconvolution analysis of DSC curves raises the possibility of early diagnosis of tumor or inflammatory syndromes, monitoring of diseases, or testing the efficacy of the therapy from a drop of blood.

## 10. KÖZLEMÉNYJEGYZÉK

### 10.1. Az értekezés alapjául szolgáló tudományos szakcikkek listája (ΣIF: 50,064)

Az értekezés alapját képező közlemények összes idézettsége 503, ebből független 310 az összes citáció disszertáció és egyéb típusúak nélkül 489, ebből független 291

#### Az eredmények 1. fejezetéhez kapcsolódó közlemények:

1. Nedvig K, Ferencz A, Róth E, Lőrinczy D. DSC examination of intestinal tissue following warm ischemia and reperfusion injury.  
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2009;95:775-9.  
IF: 1,587 Citáció: 23; független: 4

#### Az eredmények 2. fejezetéhez kapcsolódó közlemények:

2. Ferencz A, Nedvig K, Lőrinczy D. DSC examination of intestinal tissue following cold preservation.  
Thermochimica Acta 2010e;497:41-5.  
IF: 1,908 Citáció: 13; független: 3

#### Az eredmények 3. fejezetéhez kapcsolódó közlemények:

3. Ferencz A, Szántó Z, Kalmár-Nagy K, Horváth ÖP, Róth E. Mitigation of oxidative injury by classic and delayed ischemic preconditioning prior to small bowel autotransplantation.  
Transplantation Proceedings 2004;36:286-8.  
IF: 0,511 Citáció: 18; független: 14
4. Ferencz A, Rác B, Cserepes B, Róth E. A korai és késői ischémiás prekonkondicionálás hatása az oxidatív stresszre vékonybél autotranszplantációs modellben.  
Magyar Sebészet 2005;58:245-9.  
IF: 0 Citáció: 6; független: 6
5. Ferencz A, Rác B, Gasz B, Benkő L, Jancsó G, Kürthy M, Róth E. Intestinal ischemic preconditioning in rats and NF-κB activation.  
Microsurgery 2006a;26:54-7.  
IF: 0,882 Citáció: 26; független: 25
6. Ferencz A, Rác B, Gasz B, Kalmár-Nagy K, Horváth ÖP, Róth E. Threshold level of NF-κB activation in small bowel ischemic preconditioning procedure.  
Transplantation Proceedings 2006b;38:1800-2.  
IF: 0,962 Citáció: 9; független: 9

#### Az eredmények 4. fejezetéhez kapcsolódó közlemények:

7. Ferencz A, Takács I, Horváth Sz, Ferencz S, Jávor Sz, Fekecs T, Schanava K, Balatonyi B, Wéber Gy. Examination of protective effect of ischemic postconditioning after small bowel autotransplantation.  
Transplantation Proceedings 2010a;42:2287-9.  
IF: 0,993 Citáció: 15; független: 14
8. Nedvig K, Völgyi E, Wéber Gy, Róth E, Ferencz A. Az ischaemiás posztkondicionálás hatása az oxidatív stresszre és a szöveti struktúrára vékonybél meleg ischaemiás és autotranszplantációs modellekben.  
Magyar Sebészet 2011;64:294-300.  
IF: 0 Citáció: 2; független: 2

**Az eredmények 5. fejezetéhez kapcsolódó közlemények:**

9. **Ferencz A**, Rácz B, Tamás A, Reglődi D, Lubics A, Németh J, Nedvig K, Kalmár-Nagy K, Horváth ÖP, Wéber Gy, Róth E. Influence of PACAP on oxidative stress and tissue injury following small bowel autotransplantation.  
Journal of Molecular Neuroscience 2009a;37:168-76.  
IF: 2,72 Citáció: 28; független: 5
10. **Ferencz A**, Reglődi D, Kalmár-Nagy K, Horváth ÖP, Róth E, Wéber Gy, Rácz B. Influence of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide on the activation of mitogen activated protein kinases following small bowel cold preservation.  
Transplantation Proceedings 2009b;41:60-2.  
IF: 0,994 Citáció: 8; független: 1
11. **Ferencz A**, Wéber Gy, Helyes Zs, Hashimoto H, Baba A, Reglődi D. Presence of endogenous PACAP-38 ameliorated intestinal cold preservation tissue injury.  
Journal of Molecular Neuroscience 2010b;42:428-34.  
IF: 2,922 Citáció: 20; független: 7
12. **Ferencz A**, Kiss P, Wéber Gy, Helyes Zs, Shintani N, Baba A, Reglődi D. Comparison of intestinal warm ischemic injury in PACAP knockout and wild-type mice.  
Journal of Molecular Neuroscience 2010c;42:435-42.  
IF: 2,922 Citáció: 32; független: 9
13. Nedvig K, Wéber Gy, Németh J, Kovács K, Reglődi D, Kemény A, **Ferencz A**. Changes of PACAP immunoreactivities and cytokine levels after PACAP-38 containing intestinal preservation and autotransplantation.  
Journal of Molecular Neuroscience 2012;48:788-94.  
IF: 2,891 Citáció: 9; független: 0
14. Nedvig K, Szabó Gy, Csukás D, Sándor J, Németh J, Kovács K, Reglődi D, Kemény Á, Wéber Gy, **Ferencz A**. A PACAP-38 citoprotektív és antiinflammatorikus hatásának vizsgálata vékonybél-autotranszplantációs modellben.  
Magyar Sebészet 2013;66:250-5.  
IF: 0 Citáció: 4; független: 3
15. Horváth G, Illés A, Heimesaat M, Bárdosi A, Bárdosi S, Tamás A, Fülöp D, Opper B, Németh J, **Ferencz A**\*, Reglődi D\*. Protective intestinal effects of Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide. In: Reglődi Dóra; Tamás Andrea (szerk.) Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide — PACAP. Cham, Svájc: Springer International Publishing (2016) 840 p. pp. 271-88. (\*megosztott utolsó szerzők)  
Citáció: 14; független: 2

**Az eredmények 6. fejezetéhez kapcsolódó közlemények:**

16. **Ferencz A**, Nedvig K, Lőrinczy D. DSC, as a new method to verify the exact warm and cold ischemic injury during small bowel surgery.  
Thermochimica Acta 2010d;509:50-5.  
IF: 1,908 Citáció: 6; független: 3
17. **Ferencz A**, Nedvig K, László E, Magyarlaci T, Lőrinczy D. DSC examination of kidney tissue following warm ischemia and reperfusion injury.  
Thermochimica Acta 2011b;525:161-6.  
IF: 1,805 Citáció: 9; független: 7
18. **Ferencz A**, Nedvig K, Lőrinczy D. DSC examination of the intestinal tissue following ischemic injuries. In: Lőrinczy D (szerk.), Thermal analysis in medical application, Budapest, Magyarország, Akadémiai Kiadó, 2011c;pp. 255-270.  
IF: 0 Citáció: 2; független: 0

**Az eredmények 7. fejezetéhez kapcsolódó közlemények:**

19. Zapf I, Fekecs T, **Ferencz A**, Tizedes Gy, Pavlovics G, Kálmán E, Lőrinczy D. DSC analysis of human plasma in breast cancer patients. *Thermochimica Acta* 2011;524:88-91.  
IF: 1,805 Citáció: 53; független: 38
20. **Ferencz A**, Fekecs T, Lőrinczy D. Differential scanning calorimetry as a new method to monitor human plasma in melanoma patients with regional lymph node or distal metastases. In: Yaguang, Xi (szerk.) *Skin Cancer Book*, Rijeka, Croatia, InTech (2011a) pp. 141-52.  
IF: 0 Citáció: 20; független: 12
21. Zapf I, Fekecs T, Moezzi M, Tizedes Gy, Pavlovics G, Kálmán E, Horváth ÓP, **Ferencz A**. Emlődaganatos betegek vérplazmájának differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálata. *Magyar Onkológia* 2012;56:274-9.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0
22. Fekecs T, Moezzi M, Zapf I, **Ferencz A**. Humán plazma differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálata melanoma malignusos betegekben. *Egészség-Akadémia* 2012a;3:34-40.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0
23. Fekecs T, Zapf I, **Ferencz A**, Lőrinczy D. Differential scanning calorimetry (DSC) analysis of human plasma in melanoma patients with or without regional lymph node metastases. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2012b;108:149-52.  
IF: 1,982 Citáció: 50; független: 40
24. Moezzi M, Fekecs T, Zapf I, **Ferencz A**, Lőrinczy D. Differential scanning calorimetry (DSC) analysis of human plasma in different psoriasis stages. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2013;111:1801-4.  
IF: 2,206 Citáció: 38; független: 28
25. Moezzi M, **Ferencz A**, Lőrinczy D. Evaluation of blood plasma changes by Differential Scanning Calorimetry in psoriatic patients treated with drugs. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2014;116:557-62.  
IF: 2,042 Citáció: 21; független: 11
26. Zapf I, Medhi M, Fekecs T, Nedvig K, Lőrinczy D, **Ferencz A**. Influence of oxidative injury and monitoring of blood plasma by DSC on breast cancer patients. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2016;123:2029-35.  
IF: 1,953 Citáció: 24; független: 17
27. Moezzi M, Zapf I, Fekecs T, Nedvig K, Lőrinczy D, **Ferencz A**. Influence of oxidative injury and monitoring of blood plasma by DSC on patients with psoriasis. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2016;123:2037-43.  
IF: 1,953 Citáció: 16; független: 12
28. **Ferencz A**, Zapf I, Lőrinczy D. Harmful effect of neoadjuvant chemotherapy monitoring by DSC on breast cancer patients' blood plasma. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2016a;126:55-9.  
IF: 1,953 Citáció: 7; független: 6
29. **Ferencz A**, Moezzi M, Lőrinczy D. Differential Scanning Calorimetry (DSC) as a new diagnostic and screening method on patients with psoriasis. In: Lambert W (szerk.) *Psoriasis: Epidemiology, Diagnosis and Management Strategies*, Hauppauge (NY), USA, Nova Science Publishers (2016b). pp. 45-64.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0
30. **Ferencz A**, Lőrinczy D. DSC measurements of blood plasma on patients with chronic pancreatitis, operable and inoperable pancreatic adenocarcinoma. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2017;127:1187-92.  
IF: 2,209 Citáció: 12; független: 9

31. Lőrinczy D, Moezzi M, **Ferencz A**. Deconvoluted plasma DSC curves on patients with psoriasis.  
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2020a;142:789-96.  
IF: 4,626 Citáció: 0; független: 0
32. Lőrinczy D, **Ferencz A**. Comparison of deconvoluted plasma DSC curves on patients with solid tumors.  
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2020b;142:1243-8.  
IF: 4,626 Citáció: 1; független: 1
33. **Ferencz A**, Lőrinczy D. Surgical stress detection in human blood plasma by DSC.  
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2020;142:783-8.  
IF: 4,626 Citáció: 3; független: 3

## 10.2. A dolgozatban nem szereplő, in extenso közlemények listája időrendben

### *A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények*

1. **Ferencz A**, Tavakoli A, Kalmár-Nagy K, Szántó Z, Róth E, Horváth ÖP. Az oxidatív stressz monitorozása kísérletesen létrehozott vékonybél autotranszplantációt követően.  
Magyar Sebészet 2001;54:60-4.  
IF: 0 Citáció: 2; független: 0
2. **Ferencz A**, Szántó Z, Borsiczky B, Kiss K, Kalmár-Nagy K, Telek G, Szeberényi J, Horváth ÖP, Róth E. Vékonybél autotranszplantációt megelőző ischémiás prekondicionálás hatása az oxidatív stressz kialakulására.  
Magyar Sebészet 2002a;55:331-6.  
IF: 0 Citáció: 7; független: 3
3. **Ferencz A**, Szántó Z, Borsiczky B, Kiss K, Kalmár-Nagy K, Szeberényi J, Horváth ÖP, Róth E. The effects of preconditioning on the oxidative stress in small-bowel autotransplantation.  
Surgery 2002b;132:877-84.  
IF: 2,631 Citáció: 63; független: 43

### *Egyéb témában írt első- vagy társszerzős szakcikkek*

1. Szántó Z, **Ferencz A**, Kovács F, Horváth ÖP, Róth E, Molnár FT. Légcsőpótlás vékonybél szabadlebennyel állatkísérletes modellben.  
Magyar Sebészet 2001;54:320-4.  
IF: 0 Citáció: 5; független: 2
2. Pórszász R, Porkoláb A, **Ferencz A**, Pataki T, Szilvássy Z, Szolcsányi J. Capsaicin-induced nonneural vasoconstriction in canine mesenteric arteries.  
European Journal of Pharmacology 2002;441:173-5.  
IF: 2,342 Citáció: 20; független: 17
3. Szántó Z, Benkő L, Gasz B, **Ferencz A**, Horváth ÖP, Molnár FT, Róth E. Politetrafluoroetilén alkalmazása hosszú szakaszú légcsőpótlásban.  
Magyar Sebészet 2003;56:68-72.  
IF: 0 Citáció: 3; független: 2
4. Jancsó G, Cserepes B, Gasz B, Benkő L, **Ferencz A**, Borsiczky B, Lantos J, Dureja A, Kiss K, Szeberényi J, Róth E. Effect of acetylsalicylic acid on Nuclear Factor- $\kappa$ B activation and on late preconditioning against infarction in the myocardium.  
Journal of Cardiovascular Pharmacology 2005;46:295-301.  
IF: 1,313 Citáció: 26, független: 24
5. Rác B, Tamás A, Kiss P, Tóth G, Gasz B, Borsiczky B, **Ferencz A**, Gallyas F Jr, Róth E, Reglődi E. Involvement of ERK and CREB signaling pathways in the protective effect of PACAP in monosodium glutamate-induced retinal lesion.  
Annals of the New York Academy of Science 2006;1070:507-11.  
IF: 1,93 Citáció: 47, független: 21
6. Rác B, Gallyas F Jr, Kiss P, Tóth G, Hegyi O, Gasz B, Borsiczky B, **Ferencz A**, Róth E, Tamás A, Lengvári I, Lubics A, Reglődi D. The neuroprotective effects of PACAP in monosodium glutamate-induced retinal lesion involve inhibition of proapoptotic signaling pathways.  
Regulatory Peptides 2006;137:20-6.  
IF: 2,442 Citáció: 67, független: 25

7. Gasz B, Rácz B, Róth E, Borsiczky B, **Ferencz A**, Tamás A, Cserepes B, Lubics A, Gallyas F Jr, Tóth G, Lengvári I, Reglődi D. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide protects cardiomyocytes against oxidative stress-induced apoptosis. *Peptides* 2006;27:87-94.  
IF: 2,701 Citáció: 71, független: 29
8. Benkő L, Danis J, Shamiyeh A, Czompo M, Gasz B, **Ferencz A**, Jancsó G, Róth E. A gyomor és az abdominális nyelőcsőszakasz laparoszkópos devaszkuarizációja LigaSure eszközzel sertés modellen. *Magyar Sebészet* 2006;59:45-9.  
IF: 0 Citáció: 0, Független: 0
9. Benkő L, Danis J, Czompo M, Hubmann R, **Ferencz A**, Jancsó G, Szántó Z, Zólyomi A, Könczöl F, Bellyei Á, Róth E, Lőrinczy D. DSC examination of the oesophagus after two different self-expandable stents implantation. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2006;83:715-20.  
IF: 1,438 Citáció: 19; független: 10
10. Wéber Gy, Hossein B, **Ferencz A**. Természetes testnyílásokon keresztül történő sebészet: a NOTES technika. *Magyar Sebészet* 2007;60:277-83.  
IF: 0 Citáció: 6; független: 5
11. Rácz B, Gasz B, Borsiczky B, Gallyas F Jr, Tamás A, Józsa R, Lubics A, Kiss P, Róth E, **Ferencz A**, Tóth G, Hegyi O, Wittmann I, Lengvári I, Somogyvári-Vigh A, Reglődi D. Protective effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide in endothelial cells against oxidative stress-induced apoptosis. *General and Comparative Endocrinology* 2007;153:115-23.  
IF: 2,562 Citáció: 71; független: 28
12. Kürthy M, Arató E, Jancsó G, Sínay L, Verzár Zs, Cserepes B, Lantos J, Ferencz S, Bertók Sz, **Ferencz A**, Kollár L, Róth E. Duration of hypoxia influences platelet function due to free radical production in revascularization surgery of lower limb. *Perfusion-Germany* 2007;20:187-94.  
IF: 0 Citáció: 1; független: 0
13. Jancsó G, Cserepes B, Gasz B, Benkő L, Borsiczky B, **Ferencz A**, Kürthy M, Rácz B, Lantos J, Gál J, Arató E, Sínay L, Wéber Gy, Róth E. Expression and protective role of heme oxygenase-1 in delayed myocardial preconditioning. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007;1095:251-61.  
IF: 1,731 Citáció: 48; független: 46
14. Cserepes B, Jancsó G, Gasz B, Rácz B, **Ferencz A**, Benkő I, Borsiczky B, Kürthy M, Ferencz S, Lantos J, Gál J, Arató E, Miseta A, Wéber Gy, Róth E. Cardioprotective action of urocortin in early pre- and postconditioning. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007;1095:228-39.  
IF: 1,731 Citáció: 22; független: 21
15. **Ferencz A**, Hossein B, Szántó Z, Róth E, Wéber Gy. A hasi sebészet új generációja: a természetes testnyílásokon keresztül végzett sebészet. *Orvosi Hetilap* 2008;149:1029-33.  
IF: 0 Citáció: 1; független: 1
16. Baumann J, Ghosh S, Szakmány T, Jancsó G, **Ferencz A**, Róth E, Bogár L. Short-term effects of N-acetylcysteine and ischemic preconditioning in a canine model of hepatic ischemia-reperfusion injury. *European Surgical Research* 2008;41:226-30.  
IF: 1,327 Citáció: 13; független: 13
17. Róth E, Wéber Gy, Kiss P, Horváth G, Tóth G, Gasz B, **Ferencz A**, Gallyas F Jr, Reglődi D, Rácz B. Effects of PACAP and preconditioning against ischemia/reperfusion-induced cardiomyocyte apoptosis in vitro. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2009;1163:512-6.  
IF: 2,67 Citáció: 27; független: 10
18. Horváth Sz, Gál I, Rákóczi I, Jávör Sz, Balatonyi B, Takács I, **Ferencz A**, Ferencz S, Wéber Gy. Transvaginalis cholecystectomy állatmodellen - kezdeti tapasztalataink. *Magyar Sebészet* 2009;62:120-4.  
IF: 0 Citáció: 2; független: 2
19. **Ferencz A**, Rácz B, Tamás A, Nedvig K, Németh J, Kalmár-Nagy K, Horváth ÖP, Wéber Gy, Róth E, Reglődi D. Changes and effect of PACAP-38 on intestinal ischemia-reperfusion and autotransplantation. *Transplantation Proceedings* 2009c;41:57-9.  
IF: 0,994 Citáció: 6; független: 4
20. **Ferencz A**, Nedvig K, Fekecs T, Rácz B, Wéber Gy, Hashimoto H, Baba A, Helyes Zs, Reglődi D. Comparison of intestinal cold preservation injury on pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in knockout and wild-type mice.



- Transplantation Proceedings 2010f;42:2290-2.  
IF: 0,993 Citáció: 6; független: 3
21. Takács I, Wegmann J, Horváth Sz, **Ferencz A**, Ferencz S, Jávor Sz, Odermatt E, Róth E, Wéber Gy. Efficacy of different hemostatic devices for severe liver bleeding: a randomized controlled animal study. *Surgical Innovation* 2010;17:346-52.  
IF: 2,255 Citáció: 19; független: 18
  22. Shanava K, Horváth Sz, Karl-Hermann F, Jávor Sz, Takács I, Balatonyi B, Ferencz S, **Ferencz A**, Róth E, Wéber Gy. Transgastic small bowel resection by using hybrid technique - Experimental study. *Interventional Medicine and Applied Science* 2010;2:126-30.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0
  23. Jávor Sz, Shanava K, Hocsák E, Kürthy M, Lantos J, Borsiczky B, Takács I, Horváth Sz, Balatonyi B, Ferencz S, **Ferencz A**, Róth E, Wéber Gy. Preconditioning is a method that may reduce the negative side-effect of pneumoperitoneum. *Interventional Medicine and Applied Science* 2010;2:115-20.  
IF: 0 Citáció: 2; független: 0
  24. Fekecs T, Kádár Zs, Battyáni Z, Kalmár-Nagy K, Szakály P, Wéber Gy, Horváth ÓP, **Ferencz A**. A szervtranszplantációt követő non-melanoma bőrtumorok klinikai vizsgálata. *Magyar Sebészet* 2010;63:84-90.  
IF: 0 Citáció: 1; független: 1
  25. Fekecs T, Kádár Zs, Battyani Z, Kalmár-Nagy K, Szakály P, Horváth ÓP, Wéber Gy, **Ferencz A**. Incidence of nonmelanoma skin cancer after human organ transplantation: single-center experience in Hungary. *Transplantation Proceedings* 2010;42:2333-5.  
IF: 0,993 Citáció: 17; független: 16
  26. Fekecs T, Kádár Zs, Battyani z, Kalmár-Nagy K, Szakály P, Horváth ÓP, Wéber Gy, **Ferencz A**. Changes in oxidative stress in patients screened for skin cancer after solid-organ transplantation. *Transplantation Proceedings* 2010;42:2336-8.  
IF: 0,993 Citáció: 6; független: 4
  27. Szakály P, László E, Kovács K, Rácz B, Horváth G, **Ferencz A**, Lubics A, Kiss P, tamás A, Brubel R, Opper B, Baba A, Hashimoto H, Farkas J, Matkovits A, Magyarlaci T, Helyes Zs, Reglődi D. Mice deficient in pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) show increased susceptibility to in vivo renal ischemia/reperfusion injury. *Neuropeptides* 2011;45:113-21.  
IF: 1,553 Citáció: 35; független: 14
  28. Horváth G, Brubel R, Kovács K, Reglődi D, Opper B, **Ferencz A**, Szakály P, László E, Hau L, Kiss P, Tamás A, Rácz B. Effects of PACAP on oxidative stress-induced cell death in rat kidney and human hepatocyte cells. *Journal of Molecular Neuroscience* 2011;43:67-75.  
IF: 2,504 Citáció: 38; független: 17
  29. Fekecs T, Kádár Zs, Lengyel Zs, Battyáni Z, Kalmár-Nagy K, Szakály P, Wéber Gy, Horváth ÓP, **Ferencz A**. Szervtranszplantációt követő bőrgyógyászati szűrővizsgálat jelentősége a non-melanoma bőrtumorok diagnosztikájában és kezelése céljából. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle* 2011;87:9-14.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0
  30. Fekecs T, Kalmár-Nagy K, Szakály P, Németh K, Moezzi M, Zapf I, Horváth ÓP, Bartho-Szekeres J, **Ferencz A**. Changes of progesterone-induced blocking factor in patients after kidney transplantation. *Transplantation Proceedings* 2011;10:3694-6.  
IF: 1,005 Citáció: 3; független: 3
  31. Reglődi D, Kiss P, Szabadfi K, Atlasz T, Gábor R, Horváth G, Szakály P, Sándor B, Lubics A, László E, Farkas J, Matkovits A, Brubel R, Hashimoto H, **Ferencz A**, Vincze A, Helyes Zs, Velke L, Lakatos A, Tamás A. PACAP is an endogenous protective factor - insights from PACAP-deficient mice. *Journal of Molecular Neuroscience* 2012;48:482-92.  
IF: 2,891 Citáció: 103; független: 41
  32. Szabó Gy, Gamal EM, Sándor J, **Ferencz A**, Lévay B, Csukás D, Dankó T, Wéber Gy. Az adhaesioképződés mechanizmusa és modellezésének lehetőségei – Előkéísérleti modellek. *Magyar Sebészet* 2013;66:263-9.  
IF: 0 Citáció: 1; független: 0
  33. Sándor J, Haidegger T, Kormos K, **Ferencz A**, Csukás D, Bráth E, Szabó Gy, Wéber Gy. Robotsebészet. *Magyar Sebészet* 2013;66:236-44.  
IF: 0 Citáció: 6; független: 4

34. Kormos K, Sándor J, Haidegger T, **Ferencz A**, Csukás D, Bráth E, Szabó Gy, Wéber Gy. Új lehetőségek a sebészet gyakorlati oktatásában.  
Magyar Sebészet 2013;66:256-62.  
IF: 0 Citáció: 3; független: 3
35. Gamal EM, Szabó Gy, Metzger P, Furka I, Mikó I, Petó K, **Ferencz A**, Sándor J, Szentkereszty Zs, Sági P, Wéber Gy. A trokárok helyén kialakult hasfali sérvekről (Trocar Site Hernia) laparoscopos cholecystectomy után: incidencia és megelőzés - állatkísérletes tanulmány.  
Magyar Sebészet 2013;66:270-3.  
IF: 0 Citáció: 2; független: 1
36. **Ferencz A**, Fehér D, Szabó Gy, Dankó T, Juhos K, Szentes P, Csukás D, Sándor J, Ender F, Fónagy L, Mornár K, Jedlovsky-Hajdú A, Zrínyi M, Wéber Gy. Abdominal hernia repair with poly(succinimide) and with its cysteamine crosslinked nanofiber hernia meshes. A preliminary experimental study.  
International Journal of Bio-Technology and Research 2016;6:1-6.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0
37. Fehér D, **Ferencz A**, Szabó Gy, Fónagy L, Juhos K, Guba MP, Csukás D, Sándor J, Ender F, Mornár K, Jedlovsky-Hajdú A, Zrínyi M, Wéber Gy. Tissue engineered nanofiber poly (vinyl alcohol) mesh for the treatment of abdominal wall hernia.  
International Journal of Bio-Technology and Research 2016;6:7-14.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0
38. Molnár K, Voniatis C, Fehér D, **Ferencz A**, Fónagy L, Reininger L, Zrínyi M, Wéber Gy, Jedlovsky-Hajdú A. Biocompatibility study of poly(vinyl alcohol)-based electrospun scaffold for hernia repair.  
Express Polymer Letters 2018;12:676-87.  
IF: 2,875 Citáció: 8; független: 6
39. Maróti P, Varga P, **Ferencz A**, Ujfalusi Z, Nyitrai M, Lőrinczy D. Testing of innovative materials for medical additive manufacturing by DTA.  
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2019;136:2041-8.  
IF: 2,731 Citáció: 7; független: 4
40. Maróti P, Kocsis B, **Ferencz A**, Nyitrai M, Lőrinczy D.  
Differential thermal analysis of the antibacterial effect of PLA-based materials planned for 3D printing.  
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2020;139:367-74.  
IF: 4,626 Citáció: 7; független: 7
41. Vukman VK, **Ferencz A**, Fehér D, Juhos K, Lőrincz P, Visnovitz T, Koncz A, Pálóczi K, Seregélyes G, Försönits A, Khamari D, Galinsoga A, Drahos L, Búzás E.  
An implanted device enables in vivo monitoring of extracellular vesicle-mediated spread of pro-inflammatory mast cell response in mice.  
Journal of Extracellular Vesicles 2020;10:e12023.  
IF: 25,841 Citáció: 1; független: 1
42. Constantinos V, Bácsághi Sz, **Ferencz A**, Haidegger T.  
A large-scale investigation of alcohol-based handrub (ABHR) volume: hand coverage correlations utilizing an innovative quantitative evaluation system.  
Antimicrobial Resistance and Infection Control 2021;10:49.  
IF: 6,454 Citáció: 3; független: 2
43. Fehér D, **Ferencz A**, Szabó Gy, Juhos K, Csukás D, Voniatis C, Reininger L, Molnár K, Jedlovsky-Hajdú A, Wéber Gy. Early and late effects of absorbable poly (vinyl alcohol) hernia mesh to tissue reconstruction.  
IET Nanobiotechnology 2021;1-10.  
IF: 2,05 Citáció: 0; független: 0
44. Molnár K, Voniatis C, Fehér D, Szabó Gy, Varga R, Reininger L, Juriga D, Kiss Z, Krisch E, Wéber Gy, **Ferencz A**, Varga G, Zrínyi M, Nagy K, Jedlovsky-Hajdú A. Poly(amino acid) based fibrous membranes with tuneable in vivo biodegradation.  
PLOS ONE 2021;16:e0254843.  
IF: 3,752 Citáció: 3; független: 3
45. Berner-Juhos K, Sándor J, Szabó Gy, Fehér D, Csukás D, Bocskai K, **Ferencz A**. #Erasmus+ - avagy sebészeti kutatás-fejlesztés és innováció a Semmelweis Egyetem Kísérletes és Sebészeti Műtéttani Tanszékén.  
Magyar Sebészet 2021;74:122-6.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0
46. **Ferencz A**, Khashayar F, Bocskai K, Juhos K, Fehér D, Csukás D, Blázovics A, Szabó Gy, Sándor J. Peritoneum, a multifunkcionális hártya.  
Magyar Sebészet 2021;74:142-7.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0

47. Sándor J, Wéber Gy, Szabó Gy; Gamal EM, Vörös A, Csukás D, Juhos K, Fehér D, Bocskai K, **Ferencz A.** Szeretettel köszöntjük dr. Sándor József professzor urat 80. születésnapja alkalmából. Tudós professzort, barátot köszöntünk: George Berci (Bérczi György) százéves!  
Magyar Sebészet 2021;74:150-65.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0
48. Szabó Gy, Fehér D, Juhos K, Gamal EM, Arató G, Csukás D, Sándor J, **Ferencz A.** Az adhézió stabilizálódásának meghatározása a korai posztoperatív időszakban patkány modellen.  
Magyar Sebészet 2021;74:136-41.  
IF: 0 Citáció: 0; független: 0
49. Veres T, Voniatiss C, Molnár K, Nesztor D, Fehér D, **Ferencz A**, Gresits I, Thuróczy Gy, Márkus BG, Simon F, Nemes NM, García-Hernández M, Reiniger L, Horváth I, Máthé D, Szigeti K, Tombácz E, Jedlovsky-Hajdu A. An implantable magneto-responsive poly(aspartamide) based electrospun scaffold for hyperthermia treatment.  
Nanomaterials 2022;12:1476.  
IF: 5,719 (2021) Citáció: 0; független: 0
50. Szabó Gy, Csukás D, Juhos K, Fehér D, **Ferencz A.** Teljes situs inversus esetbemutatása Wistar patkányban.  
Magyar Állatorvosok Lapja 2022;144:59-64.  
IF: 0,236 Citáció: 0; független: 0

*Könyv (Könyvfejezet)*

1. Boros M (szerk), Szabó Z (szerk), Szabó A (szerk), Mikó I, Furka I, Németh N, Bráth E, Pető K, Furka A, Pikó J, Róth E, **Ferencz A**, Benkő L, Lantos J, Nyárády J, Farkas G, Lázás Gy, paszt A, Szentpáli K, Furák J. Nagyított sebészet: a HEFOP 3.3.1-P.-2004-09-0040/1.0 projekt keretében készült gyakorlati segédanyag a sebészeti törzsképzés rezidensei, szakorvos jelöltjei számára. Magyar nyelvű Oktatási Felsőoktatási tankönyv (Könyv). Tiszapress, Szeged, Magyarország, 112 p. 2006. MTMT: 3288350, ISBN: 9634827594.
2. Wéber Gy, Lantos J, Borsiczky B, **Ferencz A**, Jancsó G, Ferencz S, Horváth Sz, Hossein B, Takács I, Balatonyi B. Műtéttani alapismeretek. Magyar nyelvű Oktatási Felsőoktatási tankönyv (Könyv). Megjelent: Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar (PTE ÁOK), Pécs, Magyarország, 112 p. 2008. MTMT: 3301878
3. Wéber Gy, Lantos J, Borsiczky B, **Ferencz A**, Jancsó G, Ferencz S, Horváth Sz, Hossein B, Takács I, Balatonyi B. Basic Surgical Techniques. Angol nyelvű Oktatási Utánközlés (Könyv). Megjelent: University of Pécs Medical School, Pécs, Magyarország, 111 p. 2008. MTMT: 3301888
4. **Ferencz A.** Aszepszis és antiszepszis.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtéttan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 5-34. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)
5. **Ferencz A.** Sterilizálás és dezinficiálás.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtéttan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 35-52. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)
6. **Ferencz A.** A műtő.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtéttan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 53-86. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)
7. **Ferencz A**, Szabó Gy. Alapvető sebészeti eszközök és használatuk.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtéttan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 87-165. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)
8. **Ferencz A.** Varróanyagok.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtéttan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 167-202. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)
9. Wéber Gy, **Ferencz A**, Gál I. Szövetegyesítő módszerek.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtéttan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 203-39. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)
10. Szokoly M, **Ferencz A.** Sebek és sebellátás alapelvei.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtéttan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 241-260. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)

11. Szokoly M, **Ferencz A.** Vérzések és vérzéscsillapítás.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtétan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 285-92. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)
12. Sándor J, Wéber Gy, **Ferencz A.** Műtéti feltárások. Sebési metszésvezetés és sebzárás.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtétan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 309-22. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)
13. Szabó Z, Wanda Toy Szabó, **Ferencz A.** Mikrosebészeti alapok.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtétan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 385-408. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)
14. **Ferencz A.**, Szentimrey M, Bor L. A műtéti beavatkozáshoz kapcsolódó jogok és kötelezettségek.  
In: Wéber György; Ferencz Andrea; Sándor József (szerk.) Műtétan, Budapest, Magyarország, Semmelweis Kiadó (2015) 507 p. pp. 409-21. ISBN: 9789633310908 Felsőoktatási tankönyv része (Könyvrészlet)
15. **Ferencz A.** Egynapos sebészet kurzus indítása a Semmelweis Egyetem graduális képzésében  
In: Gamal, E Mohamed (szerk.) IAAS European Congress 2018 Congress Book (2018) pp. 13-16., 4 p.
16. Wéber Gy, Juhos K, **Ferencz A.** The Surgical Team.  
In: Usón, Jesús (szerk.) Handbook of Soft Skills Training Using Virtual Reality and Serious Games for Surgical Teams in the Operating Room. Caceres, Spanyolország: S4Game Consortium (2021) pp. 17-27. , 11 p.
17. Juhos K, Wéber Gy, **Ferencz A.** Decision Making.  
In: Usón, Jesús (szerk.) Handbook of Soft Skills Training Using Virtual Reality and Serious Games for Surgical Teams in the Operating Room. Caceres, Spanyolország: S4Game Consortium (2021) pp. 63-81. , 19 p.
18. Juhos K, Wéber Gy, **Ferencz A.** Case 2. Sudden Bleeding.  
In: Usón, Jesús (szerk.) Handbook of Soft Skills Training Using Virtual Reality and Serious Games for Surgical Teams in the Operating Room. Caceres, Spanyolország: S4Game Consortium (2021) pp. 161-166. , 6 p.
19. **Ferencz A.**, Juhos K. Case 6. Missing Instrument.  
In: Usón, Jesús (szerk.) Handbook of Soft Skills Training Using Virtual Reality and Serious Games for Surgical Teams in the Operating Room. Caceres, Spanyolország: S4Game Consortium (2021) pp. 186-191. , 6 p.
20. Rubio ÁR, Mediero E, Rubiales C, Juhos K, **Ferencz A.** Case 10. Time Pressure.  
In: Usón, Jesús (szerk.) Handbook of Soft Skills Training Using Virtual Reality and Serious Games for Surgical Teams in the Operating Room. Caceres, Spanyolország: S4Game Consortium (2021) pp. 212-216. , 5 p.
21. **Ferencz A.** Asepsis and Antisepsis.  
In: Wéber, Gy; Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 14-46. , 33 p.
22. **Ferencz A.** Sterilization and Disinfection.  
In: Wéber, Gy; Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 47-65., 19 p.
23. **Ferencz A.** The Operating Room.  
In: Wéber, Gy; Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 66-103., 38 p.
24. **Ferencz A.** Basic Surgical Instruments and Their Use.  
In: Wéber, Gy; Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 104-183., 80 p.
25. **Ferencz A.** Suture Materials.  
In: Wéber, Gy; Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 184-222., 39 p.
26. Wéber Gy, **Ferencz A.**, Gál I. Tissue Unifying Methods: Suturing and Knotting.  
In: Wéber, Gy; Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 223-262., 40 p.
27. Szokoly M, **Ferencz A.** Wounds and Principles of Wound Management.  
In: Wéber, Gy; Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 263-283., 21 p.

28. Szokoly M, **Ferencz A**. Bleeding and Haemostasis.  
In: Wéber, Gy; Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques  
Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 306-315., 10 p.
29. Sándor J, Wéber Gy, **Ferencz A**. Surgical Exposures, Surgical Incisions and Wound Closure In: Wéber, Gy;  
Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques  
Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 329-345., 17 p.
30. Szabó Z, Toy Szabó W, **Ferencz A**. Fundamentals of Microsurgery.  
In: Wéber, Gy; Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques  
Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 414-440., 27 p.
31. **Ferencz A**, Szentimrey M, Bor L. Patients' Right and Responsibilities with Regard to Operative Interventions.  
In: Wéber, Gy; Ferencz, A; Sándor, J (szerk.) Basic Surgical Techniques  
Budapest, Semmelweis Kiadó, ISBN:9789633315330 (2021) pp. 441-453., 13 p.

*Proceedings könyvfejezet*

1. **Ferencz A**, Szántó Z, Borsiczky B, Kiss K, Kalmár-Nagy K, Szeberényi J, Horváth ÓP, Róth E. Activation of NF- $\kappa$ B after ischemic preconditioning in small bowel. In: Boros Mihály (szerk.), Proceedings of the 37th Congress of the European Society for Surgical Research (ESSR). Szeged/Hungary, 23-25 May 2002. 409 p. Bologna: Monduzzi International Proceedings Division, 2002;223-6. ISBN: 8832325233  
Citáció: 1; független: 0
2. Szántó Z, **Ferencz A**, Jancsó G, Boronkai Á, Róth E, Horváth ÓP, Molnár FT. Comparison of different anastomotic techniques in tracheal replacement. In: Boros Mihály (szerk.), Proceedings of the 37th Congress of the European Society for Surgical Research (ESSR). Szeged/Hungary, 23-25 May 2002. 409 p. Bologna: Monduzzi International Proceedings Division, 2002;205-8. ISBN: 8832325233
3. Róth E, Jancsó G, Jaberansari MT, Cserepes B, Borsiczky B, Szántó Z, **Ferencz A**, Lantos J. The role of Bradykinin in delayed myocardial adaptation. In: Boros Mihály (szerk.), Proceedings of the 37th Congress of the European Society for Surgical Research (ESSR). Szeged/Hungary, 23-25 May 2002. 409 p. Bologna: Monduzzi International Proceedings Division, 2002;75-80. ISBN: 8832325233
4. **Ferencz A**, Toldi J, Fehér Zs, Gasz B, Benkő L, Jancsó G, Róth E. NF-kB activation after intestinal preconditioning. In: Redl H (szerk.), Proceedings of the 11th Congress of the European Shock Society (ESS). Vienna/Austria, January 27-30 2005. Bologna: Monduzzi International Proceedings Division, 2005;85-8. ISBN: 9788875871178
5. Nedvig K, Takács I, Reglődi D, Vattay P, Wéber Gy, Róth E, **Ferencz A**. Comparison of intestinal cold preservation on pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) knock-out and wild-type mice. In: Cikirikcioglu, M (szerk.), Proceedings of the 45th Congress of the European Society for Surgical Research - ESSR. Geneva, Switzerland, 9-12 June 2010. Bologna: Monduzzi International Proceedings Division, 2010;25-8. ISBN:9788875875688
6. Nedvig K, Takács I, Reglődi D, Vattay P, Wéber Gy, Róth E, **Ferencz A**. Effects of ischemic postconditioning on the oxidative stress and tissue injury in the intestinal warm ischemia/reperfusion model. In: Cikirikcioglu, M (szerk.), Proceedings of the 45th Congress of the European Society for Surgical Research - ESSR. Geneva, Switzerland, 9-12 June 2010. Bologna: Monduzzi International Proceedings Division, 2010;29-32. ISBN:9788875875688  
Citáció: 1; független: 0

## 11. SZCIENTOMETRIA

### **Impakt Faktor:**

Összesített IF: 140,689

MTA doktori értekezés alapját képező közleményeket publikáló folyóiratok: 50,064

A PhD értekezés (2003) alapját adó közlemények impakt faktora összesen: 2,615

### **Citáció:**

Összes citáció értéke: 1177, ebből független 653

Az értekezés alapját képező közlemények összes idézettsége 503, ebből független 310,

ennek értéke disszertáció és egyéb típusúak nélkül 489, ebből független 291

## 12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Nagyon sok kollégának, barátnak tartozom köszönettel, akik kísérletes munkámban elindítottak, támogattak és szakmai segítséget nyújtottak az elmúlt közel 25 évben. Az Alma Mater a Pécsi Tudományegyetem volt. A Semmelweis Egyetemen 2011 óta dolgozom. Kiemelten fontosnak tartom, hogy máig megmaradtak a jó kollegiális és baráti kapcsolatok, egymás pályája iránti kölcsönös tisztelet, a pozitív és támogató hozzáállás.

Legnagyobb köszönettel *Dr. Róth Erzsébet* professzor asszonynak tartozom, aki lépésről-lépésre segítette kutatómunkámat, didaktikusan mindenre megtanított és együtt örülhettünk a sikereknek. 1998-ben, amikor Ph.D. állami ösztöndíjasként elkezdtem dolgozni a Pécsi Orvostudományi Egyetem ÁOK Kísérletes Sebészeti Intézetében, akkor egy igazi, klasszikus értelemben vett műtéttani oktató és kutató helyre kerülhettem. Az intézet tradicionális kutatási területe az ischaemia-reperfúzió okozta oxidatív stressz vizsgálatok és ennek kivédésére irányuló kutatások voltak kutya és/vagy sertés szívizom modelleken. Az ischaemia-reperfúziós kutatás, mint alaptéma megmaradt, de a konkrét témaválasztásban témavezetőmnek, Róth professzor asszonynak egy egyetemi fogadáson *Dr. Horváth Őrs Péter* professzor, a Sebészeti Klinika akkori igazgatója egy „kurens” sebészeti témát, a vékonybél transzplantáció vizsgálatát ajánlotta. A történeti képhez tartozik, hogy ebben az időszakban (1990. május 2-án) a kanadai Ontarióban Grant és munkatársai végezték el az első sikeres humán vékonybél transzplantációt, de a 90-es években a túlélési eredmények még messze elmaradtak a várttól és a béltranszplantáció terén számos nyitott kérdés maradt állatkísérletes szinten is. Ebben az időben Horváth Őrs professzor már kb. 6 éve vette át a pécsi Sebészeti Klinika vezetését, *Dr. Kalmár-Nagy Károly* adjunktussal és csapatával addigra egy jól működő transzplantációs osztályt alakítottak ki vese és kombinált vese-hasnyálmirigy transzplantációs profillal. A kísérletes transzplantációs műtéti protokoll összeállításában és próbaműtétek elvégzésében Kalmár-Nagy adjunktus úr mellett *Dr. Afshin Tavakoli* fiatal (ma Manchester University-n dolgozó) sebész kolléga segített és így indultak el az állatműtétek. Hálás köszönet valamennyi említett sebész kollégának, akik támogatták munkámat és igaz volt ez a későbbiekben a Klinika dolgozóira a sebész szakvizsgára való felkészülésem éveiben is.

Ph.D. hallgatóként sok-sok oktatási feladatom is volt graduális és postgraduális szinten, ehhez nagyon nagy segítséget kaptam a több évtizedes sebészeti és oktatási tapasztalattal rendelkező, a klasszikus sebészetet didaktikusan oktató *Dr. Temes Gyula* tanár úrtól. A biokémiai eredmények statisztikai kiértékelése terén és az állatkísérletek engedélyeztetése során *Dr. Lantos János* tanár úr volt több ízben segítségemre. Később a Sebészeti Oktató és Kutató Intézet (SOKI) néven szereplő intézet megtartotta békebeli hangulatát, mindig is családias létszámban és légkörben folyt a munka, ezért köszönet a kollegiális és baráti segítségért, a jó munkakapcsolatokért *Dr. Szántó Zalánnak, Dr. Borsiczky Balázsnak, Dr. Mohamed Jaberansarinak, Dr. Jancsó Gábornak, Dr. Gasz Balázsnak, Dr. Benkő Lászlónak, Dr. Cserepes Barbarának, Dr. Kürthy Máriának, Dr. Horváth Szabolcsnak, Dr. Ferencz Sándornak, Dr. Takács Ildikónak, Dr. Balatonyi Borbálának, és Dr. Jávorszani Szaniszlónak.* Köszönöm a PTE ÁOK SOKI adminisztrációs és asszisztensi gárdájának a sokéves önzetlen munkát, így *Csizmadia Józsefné Irmának, Bakainé Matus Ilonának, Dr. Süvecz Györgyné Icának, Pintér Nándorné Évinek, Sztárai Máriának, Tóth Gézáne Csillának, Horváth Beátának, Abrudbányai Katalinnak (†) és Búza Nikolettának.*

Kiemelt köszönet illeti *Dr. Rácz Boglárkát* (ma New Yorkban dolgozó) kolléganőmet, akivel a molekuláris biológiai vizsgálatokat végeztük, az én sebészi és az ő molekuláris biológus „vénájával”, tudásával, közösen munkálkodva tudunk egyre előbbre lépni.

A PACAP-al kapcsolatos vizsgálatok terén nagyon nagy köszönettel tartozom a téma hazai és világviszonylatban is vezető kutatójának, *Prof. Dr. Reglődi Dórának*, aki szaktudásával mindig előre vitte a kísérletsorozatokat, illetve lelkes csapata a PTE ÁOK Anatómiai Intézetből mindig hozzájárult a kollaborációs munkához: *Dr. Tamás Andreának* és *Dr. Lubics Andreának* szövettani vizsgálatokban nyújtott segítségükért, *Dr. Horváth Gabriellának*, és *Dr. Kiss Péternek* a molekuláris biológiai mérésekben végzett munkájáért vagyok hálás. Köszönöm az intézetből *Dittrich Erzsébetnek* a szövettani metszetek készítésében nyújtott rendkívül precíz munkáját. Továbbá köszönöm *Dr. Németh Józsefnek*, a Debreceni Egyetem Farmakológiai Intézetéből, hogy a PACAP bélszövetben való koncentrációmérése megvalósult. Köszönet illeti *Dr. Akemichi Baba* (Hyogo University of Health Sciences, Japán) és *Dr. Hitoshi Hashimoto* (Osaka University, Japán) professzoroknak, hogy a PACAP KO egerek beszerzésében és a munka szakmai felügyeletében részt vettek. Illetve köszönöm *Dr. Helyes Zsuzsanna* professzor asszonynak és *Dr. Kemény Ágnes* docens asszonynak (PTE, Szentágotthai János Kutatóközpont), valamint a 2014-ben tragikusan fiatalon elhunyt *Dr. Szabadfi Krisztinának* (†) (PTE, Természettudományi Kar, Biológiai Intézet) a kollaborációs segítségüket.

*Prof. Dr. Lőrinczy Dénes* professzor úrral (PTE ÁOK Biofizikai intézet) való, a DSC vizsgálatokkal kapcsolatos együttműködés is több, mint 10 éves már. Köszönöm pontos, precíz munkáját. Modelljeinket és mérési eredményeinket mindig támogatta tovább gondolni, tovább vinni. Professzor úrral közös Ph.D. témavezetésünk kapcsán meg kell említeni azokat az orvoskolléga hallgatókat, akikkel együtt dolgoztunk és remélem, hogy sikerült számukra átadnom tudásomat a kutatási vagy publikációs tapasztalatomat. A tézisüket megvédett Ph.D. hallgatóknak: *Dr. Nedvig Klárának*, *Dr. Fekecs Tamásnak*, *Dr. Zapf Istvánnak* és *Dr. Moezzi Mehdinek*, és *Dr. Constantinos Voniatisnak*, illetve meg kell említeni jelenlegi doktorandusz *Dr. Berner-Juhos Krisztina*, és frissen becsatlakozó egyéni Ph.D. hallgatók *Dr. Hornok Zita* és *Dr. Móga Kristóf* nevét is.

Ezenkívül köszönettel tartozom a TDK hallgatók között azoknak (*Tóth Tamás*, *Völgyi Edina*, *Ali Alzubi*, *Légner András*, *Gódi Szilárd*, *Nedvig Klára*), akik szűkebb értelemben ebben a témában mindig nagy lelkesedéssel és precízen igyekeztek végezni az egyes kísérleti munkafázisokat.

Köszönöm a sajnos rövid ideig tartó együttműködést a PTE ÁOK Patológiai Intézetből *Dr. Magyarlaki Tamás* (†) docens úrnak, akivel a közös munka évében, 2011-ben bekövetkező halála rendkívül megrendített bennünket.

Köszönöm a PTE ÁOK SOKI és a Semmelweis Egyetem Kísérletes és Sebészeti Műtéttani Intézet korábbi vezetőjének, *Dr. Weber György* professzor úrnak a segítségét, a kellemes intézeti légkör megteremtését és hogy munkámat mindig messzemenőig támogatta. Ezúton köszönöm a Semmelweis Egyetem ÁOK jelenlegi és korábbi rektori és dékáni vezetésének, *Prof. Dr. Tulassay Tivadar*, *Prof. Dr. Szél Ágoston*, *Prof. Dr. Merkely Béla*, *Prof. Dr. Hunyady László*, *Prof. Dr. Kellermayer Miklós* segítségét és támogatását. Illetve közvetlenül az SE ÁOK



VSZEK Kísérletes és Sebészeti Műtéttani Tanszék valamennyi volt és jelenlegi munkatársának, *Prof. Dr. Sándor Józsefnek, Dr. Szabó Györgyinek, Dr. Csukás Domokosnak, Dr. Fehér Daniellának, Dr. Berner-Juhos Krisztinának, Dr. Oszlányi Rékának, Dr. Ramin Talebiannak, Mészárosné Dr. Seres Leilának, Dr. Czóbel Miklósnak, Dr. Juhász Kálmánnának, Klotz Dávidnak, Petrovics Alicának, Schum Ibolyának, Erős Mónikának, Volter Évának (†), Csépe Karolinának, Losonczy-Éles Zsófiának, Kocsisné Czéh Katalinnak, Dankó Józsefnének, Gyanó Jánosné Júliának, Szkrajcsics Dórának és Nagy Mariannának* a hozzájárulását, hogy kutató munkámat összegezhettem. Intézetünk megalakulásától oktatóként segíti munkámat Dr. Toronyi Éva és Dr. Bráth Endre, mindkettőjüknek sok-sok köszönettel tartozom. A tanszék vendégprofesszorai közül köszönet illeti *Dr. Masashi Yoshida* professzort (International University of Health and Welfare, Tochigi, Japán) a belkísérletekben való közreműködéséért, illetve *Szabó Zoltán* professzort (Microsurgery and Operative Endoscopy Training Institute, San Francisco, USA) a gyakorlati mikrosebészeti ismereteim fejlesztéséért.

Köszönöm az SE Digitális Egészségtudományi Intézetből *Dr. Dinya Elek* professzor úrnak az eredmények statisztikai értékelésében nyújtott szakmai segítségét.

Hálásan köszönöm *Dr. Blázovics Anna* professzor asszonynak, hogy az oxidatív stressz kutatásainkat folytathatjuk, mert nagylelkű felajánlásával tanszékünkre átkerülhetett az az értékes eszközpark és szaktudás, mellyel a hazai szabadgyök-kutatás folytonosságát közös erővel fenntarthatjuk. Nem utolsó sorban jelen értekezés megírásakor nyújtott önzetlen szakmai segítségéért in külön szeretném köszönetemet kifejezni.

Köszönöm a doktori mű benyújtásához adott segítségét az MTA Doktori Tanács Titkárságáról Molnár Istvánné Nagy Csilla tudományterületei referensnek.

Köszönettel tartozom nagyon sok közelebbi és távolabbi ismerősömnek és barátomnak, akik sok segítséget adtak és támogatásukról biztosítottak.

Köszönettel tartozom szüleimnek, családomnak, férjemnek, *Dr. Bánkuti Szilárdnak*, hogy mindvégig nagy odaadással támogattak pályám során.

És legnagyobb köszönet gyerekeimet illeti, *Bánkuti Jázmint, Bánkuti Bálintot és Bánkuti Bellát*, hogy gondoskodnak arról, hogy mindig anyaként zökkenjek vissza családi életünkbe a kutatómunka csodálatos és izgalmas világából.

#### **A Doktori műben bemutatott kutatásokat közvetlenül segítő főbb támogatások:**

PTE ÁOK Donhoffér Szilárd Ösztöndíj (Ferencz A); OTKA C272 (Lőrinczy D);  
OTKA K48851, K78434, M4 042044 (Róth E); OTKA F046593, PD 77474 (Ferencz A);  
OTKA 104984, T046589, K72592 (Reglődi D); CNK 78480 (Reglődi D);  
PTE ÁOK Kutatási Pályázat (114/603/2009, Ferencz A);  
MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (2007-2010, Ferencz A);  
MTA doktora cím megszerzésére szükséges értekezés megírásának támogatására 14 év alatti gyermeket nevelő kutatónk...” címmel kiírt ösztöndíjpályázat (2020-2022, Ferencz A).