

A nem alkoholos zsírmáj befolyásoló hatása olajipari munkások perifériás lymphocytáinak gén- és immuntoxikológiai paramétereire

Tompa Anna dr.^{1,2} ■ Biró Anna dr.² ■ Balázs Péter dr.¹ ■ Jakab Mátyás dr.²

¹Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Népegészségtani Intézet, Budapest

²Országos Közegészségügyi Központ Országos Kémiai Biztonsági Igazgatósága, Budapest

Bevezetés: A magyarországi felnőtt lakosság több mint fele túlsúlyos vagy elhízott, amelynek hátrányos következménye a zsírmáj kialakulása lehet. Az esetek 20–30%-ában nem alkoholos eredetű, hanem az elhízással, cukorbetegséggel vagy metabolikus szindrómával függhet össze. **Célkitűzés:** Jelen dolgozatban az olajipari munkások körében fellelhető, nem alkoholos zsírmáj eseteit hasonlították össze a kontrollokkal a gén- és immuntoxikológiai károsodások függvényében. **Módszer:** 107 olajipari munkás adatait hasonlították össze 67 felnőtt férfi kontrollal. **Eredmények:** Az olajipari dolgozóknál az esetek 36%-ában volt jelen zsírmáj. A kontrollok csoportjában sem zsírmáj, sem géntoxikológiai eltérés nem volt. Az exponáltak körében a citogenetikai paraméterek pozitívítása a kontrollhoz képest szignifikánsan emelkedett, amit a zsírmáj jelenléte tovább fokozott. Az immunológiai paraméterek közül a zsírmájban szenvedő exponáltaknál a CD71-pozitív, vagyis transzferrinreceptort hordozó B-sejtek aránya nőtt. **Következtetések:** A nem alkoholos zsírmáj az ipari vegyi expozícióval együtt képes a géntoxikus és az immuntoxikus hatások fokozására, amit a munkaalkalmasság megállapításában és a kockázatbecslésben a jövőben figyelembe kell venni. Orv. Hetil., 2016, 157(35), 1394–1402.

Kulcsszavak: géntoxikológiai monitor, immuntoxikológia, kromoszóma, DNS-repair, zsírmáj, foglalkozás-egészségügy

Influence of non-alcoholic fatty liver disease on geno- and immunotoxic alterations of peripheral blood lymphocytes of oil refinery workers

Introduction: More than half of the Hungarian population is overweight or obese, therefore, non-alcoholic fatty liver is a common problem. According to clinical experience, 20–30% of fatty liver cases is not related to alcohol, but can be linked to diabetes, obesity or metabolic syndrome. **Aim:** The authors studied the correlation between genotoxicity, immunotoxicity and non-alcoholic fatty liver among oil refinery workers. **Method:** During this genotoxicological monitoring study the data of 107 exposed were compared to 67 controls. **Results:** 36% of oil refinery workers had non-alcoholic fatty liver, while none of the selected, non-exposed controls had this abnormality. Chromosomal aberrations were elevated from 1.6% to 3.75% in the exposed group, immunotoxicological parameters were also changed, and CD71 positive B-cell ratio increased especially among subjects having non-alcoholic fatty liver. **Conclusions:** Non-alcoholic fatty liver can negatively influence the genotoxic effects of environmental hazards in workplaces. In the future this condition should be considered during risk assessment.

Keywords: genotoxicology monitoring, immune toxicity, chromosomes, DNA-repair, fatty liver, occupational health

Tompa, A., Biró, A., Balázs, P., Jakab, M. [Influence of non-alcoholic fatty liver disease on geno- and immunotoxic alterations of peripheral blood lymphocytes of oil refinery workers]. Orv. Hetil., 2016, 157(35), 1394–1402.

(Beérkezett: 2016. május 31.; elfogadva: 2016. június 23.)

Rövidítések

APOB = apolipoprotein B; CA = kromoszómaaberrációk; CHS = kromoszóma típusú törések; CHT = kromatid típusú törések; DIC = dicentrikus kromoszóma; FFA = szabad zsírsav; LDL = low density lipoprotein; MTP = mikroszomális triglicerid transzfer fehérje; NAFL = non-alcoholic fatty liver; NAFLD = non-alcoholic fatty liver disease; SCE = sister-chromatid exchange; SOD = szuperoxid dizmutáz; TG = triglicerid; TNF- α = tumornekrózis-faktor-alfa; UDS = UV-indukált DNS de novo repair szintézis; VLDL = very low density lipoprotein

A zsírmáj jól ismert patológiai és klinikai fogalom, aminek lényege, hogy a májsejtek különböző okokból triglicerideket (TG) halmoznak fel a citoplazmájukban, amelynek forrása lehet a táplálék, a de novo szintézis és a depózsr. A táplálékból származó zsír a bélnyálkahártyán keresztül felszívódik és kilomikronok segítségével a keringésbe jut, ami a lipáz enzim hatására szabad zsírsavvá (FFA) alakul [1]. Ezt a formát már a perifériás zsírszövet és a máj is fel tudja dolgozni. Állatkísérletes adatokból lehet tudni, hogy ennek a zsírmennyiségnek körülbelül 20%-a közvetlenül a májba kerül [2]. A TG-átalakulás oxidatív módon történik a mitochondriumokban, és apolipoprotein B (APOB) vagy very low density lipoprotein (VLDL) formájában kerül vissza a keringésbe. Amennyiben az FFA mennyisége túllépi azt a határt, amit a máj fel tud dolgozni, akkor a citoplazmában felhalmozódik. Ennek következtében a májenzimek kapacitása csökken, gyulladás és fibrosis, majd teljes szöveti átalakulás, májcirrhosis alakulhat ki. Okai között leggyakrabban a mértéktelen alkoholfogyasztás, elhízás, cukorbetegség, metabolikus X-szindróma, illetve különböző anyagcserezavarok állhatnak [3]. A xenobiotikumok által kiváltott vagy foglalkozási eredetű zsírmáj nem gyakran szerepel az irodalomban mint önálló entitás, hanem csak úgy, mint az akut oldószermérgezés következménye vagy az alkohol okozta, illetve a nem alkohol eredetű zsírmáj kialakulását fokozó ártalom [4]. Ezért igen nehéz megítélni, hogy a zsírmáj kialakulásában a foglalkozásnak primer vagy csupán szekunder szerepe van. A zsírmáj kialakulásának a lényege a máj rezisztenciája az inzulinnal szemben, így szoros összefüggést mutat a diabetes egyéb kockázati tényezőivel, így az elhízással és a metabolikus X-szindrómával is. A teljes népességben az előfordulása igen magas, mintegy 20–30%. Számos tanulmány ismertet olyan eseteket, ahol a zsírmáj fibrosisban, illetve cirrhosisban és májrákban végződött, így ennek az állapotnak a klinikai jelentősége egyre nagyobb [5]. A máj károsodása két lépcsőben alakulhat ki. Az első lépésben a fenti okok miatt a májsejtek zsírcseppeket halmoznak fel, a második lépcsőben a fokozott szabadgyök-képződés miatt fokozódik a citokintermelés és steril gyulladás jön létre, ami fibrosishoz, cirrhosishoz, illetve daganatok kialakulásához vezethet. Mindehhez természetesen szükséges egy fokozott genetikai érzékenység, ami több gén mutációját feltételezi.

A gének közül elsősorban a lipidanyagcserét leginkább befolyásoló mikroszomális trigliceridtranszfer fehérjének (MTP) lehet szerepe, mivel inzulinrezisztenciában a májelzsírosodás mértékét elsősorban a VLDL-szintézis befolyásolja [6]. Ugyancsak fontos szerepe lehet az adiponectin polimorfizmusának vagy a II. fázis méregtelenítéséért felelős enzimeknek, így a szuperoxid dizmutáz (SOD) enzim polimorfizmusának is. Az angol nyelvű szakirodalom a betegséget nem alkoholos eredetű májelzsírosodásként (non-alcoholic fatty liver disease – NAFLD) vagy a latin kifejezéssel steatosis hepatis néven emlegeti [7].

Hogyan kerül a zsír a májba? A táplálék szolgáltatja a mennyiség körülbelül 15%-át, de 60%-a a depózsrból származik. A de novo liponeogenezisből csupán megközelítőleg 5% származik. A zsírcseppek jelenléte önmagában is rontja a májsejtek működését, és egyben súlyos oxidatív stresszt okoz a citoplazmában, ami kiváltja a máj kötőszöveti sejtjeinek izgalomát. A fokozott citokintermelés gondoskodik arról, hogy gyulladásosejtek vándoroljanak a májba a keringésből is, így alakul ki a fibrosis és a cirrhosis. A toll-like receptorok révén a táplálék összetétele (zsírtartalma) befolyásolja az immunstátust, csökkenti az apoptózist és az inzulin hatékonyságát. A zsírmáj kialakulása szempontjából a hasi elhízás tekinthető igazán komoly kockázati tényezőnek [1].

Az inzulinrezisztencia gátolja a máj cukorbontó képességét és fokozza a glükoneogenezist és a glikogén lebontását. Ennek következtében fokozódik a májsejtek zsírsavfelvétele és a zsírképző enzimek stimulációja miatt fokozódik a lipogenezis. Zsírmájban a leptin szintje is megemelkedik, amit a leptinrezisztencia okoz, és elhízottaknál párhuzamos jelenségnek tekinthető az inzulinrezisztenciával [8]. Ugyanakkor az adiponectinszint csökken, pedig ennek emelkedése gátolhatná a folyamat előrehaladását. A TNF- α szintje, ami elsősorban a gyulladásosejtek reakciók kialakulásában és az apoptózis fokozásában játszik szerepet, zsírmájban emelkedik, különösen a fibroticus szakaszban. Az interleukinok közül az IL-6 szintje zsírmájban szintén emelkedik [9].

Az oxidatív stressz kialakulása szorosan összefügg a májsejtek mitochondriumainak működésével. Az oxidatív stressz következtében emelkedik a májlipidek peroxidációja, aminek megfelelője a sérumban a thioredoxin vagy az oxidált-LDL-szint-mérés. A renin-angiotenzin rendszer fokozott működése a fibrinogenezist is befolyásolja, így fokozza a thrombusképződést [10].

Vizsgálataink során olajipari dolgozók követésére volt lehetőség az 1989–2014 közötti 25 éves periódusban [11–13]. A vizsgálatok nem csupán a géntoxikológiai, hanem az immunstátusz változásait is követték a klinikai állapot és a laboratóriumi eredmények mellett. Így a géntoxikológiai és az immuntoxikológiai változások mellett lehetőség nyílt az egyéb nem fertőző krónikus betegségek követésére is, és ezzel összefüggésben lehetett megállapításokat tenni a vizsgált csoportok betegségincidenciájára vonatkozóan. Jelen közleményben saját

vizsgálati anyagunkra támaszkodva próbáljuk azt a kérdést megválaszolni, hogy a zsírmáj jelenléte miként befolyásolja a genotoxikológiai és immuntoxikológiai paramétereiket. Az elsősorban olajipari munkavállalók körében végzett vizsgálatokkal kapcsolódtunk be a foglalkozási kockázatbecslésbe. A klinikai állapotra vonatkozó adatok is rendelkezésre álltak, és ezek feldolgozása révén próbálunk következtetéseket levonni a szerves oldószerekkel, rákkeltőkkel és különböző soklancú szénhidrogénekkel exponált dolgozók májára gyakorolt hatásairól.

Citogenetikai vizsgálatok

Az olajiparban, vegyiparban, gyógyszeriparban számos olyan munkahely létezik, ahol véletlenszerűen, akár baleseti helyzetben, akár karbantartás során rákkeltő, mutagén vagy teratogén anyagok kerülhetnek a légtérbe. Ezeket a munkahelyeken dolgozók szervezetében az esetlegesen bekövetkezett expozíció következtében kromoszómakárosodások jöhetnek létre, amelyek késői toxikus (elsősorban genotoxikus) hatások indikátorai lehetnek. A genotoxikus károsodások fokozzák a krónikus nem fertőző betegségek, illetve a daganatos betegségek kialakulásának esélyét, a nem exponált kontroll-lakossághoz képest. Tehát ezeknek a betegségeknek a megelőzésében igen fontos, hogy az expozíció okozta genotoxikus következményeket nyomon kövessük. A genotoxikológiai, citogenetikai és génszintű vizsgálatok a testi sejtek örökítő állományában kialakult, környezeti (beleértve a munkahelyi) eredetű, szerzett károsodások kimutatására szolgálnak. A vizsgálatok során a donorok testi sejtjeiből (lymphocytáiból) történik meg az expozícióval összefüggő DNS-károsodások kimutatása: meghatározzuk a kromoszómák számbeli és strukturális eltéréseinek (amiket összefoglalóan kromoszómaaberrációknak [CA] nevezünk) gyakoriságát, meghatározzuk a kromoszómák testvér kromatidái kicserélődésének (úgynevezett sister-chromatid exchange – SCE) gyakoriságát, valamint megmérjük a proliferáció sebességét (úgynevezett proliferation rate index – RING) is. A kromoszómaaberrációk az úgynevezett klasztogének (kromoszómatörő ágensek) hatására keletkeznek, és nem specifikusak a kiváltó ágensre. Bármely kromoszómán kialakulhatnak, és többségükben a sejtosztódások során kiküszöbölődnek vagy kijavítódnak, illetve a súlyosan sérült sejtek esetén a sejt pusztulásával eliminálódnak. Mindebből következik, hogy ezek a – nem örökletes, hanem szerzett – rendellenességek az expozíció utáni első sejtosztódás során mutathatók ki legnagyobb számban. A kromoszómákat ért genotoxikus hatások eloszlása általában random jellegű, ezért nem feltétlenül fontos a kromoszómák azonosítása (sávozás) ahhoz, hogy pontos képet nyerjünk a genotoxikus károsodás mértékéről. A CA jelzés a kromoszómák aberrációinak (a gyakorlatban a töréseinek) százalékos előfordulását jelenti (normálértéke 0–4% közötti). Az aberrációkon belül megkülönböztetünk *kromatid* típusú (CHT), tehát a sejtciklus S-fázisától függő, főleg vegyi

anyagok okozta eltéréseket, ilyenkor csak a kromoszóma egyik kromatidája károsodik, illetve kromoszóma típusú (CHS), az S-fázistól független aberrációkat, amikor is mindkét kromatida sérül. Kromatid típusú aberráció a kromatid törés és a kromatidkicserélődés. A kromoszóma típusú aberrációk közé soroljuk a terminális, az interstitiális deletiót (minute kromoszóma), az acentrikus ringet, a centrikus ringet, az inverziót, a reciprok transzlokációt és különböző policentrikus laesiókat, valamint külön jelentőséggel bírnak a dicentrikus (DIC) kromoszómák és a gyűrű (RING) kromoszómák megjelenésében. Vegyi ártalom esetében főleg egyszerű töréssel kialakuló fragmentáció jöhet létre, ami leginkább csak indikátora, mint dózismérője a kémiai expozíciónak, míg a di- és policentrikus kromoszómák, gyűrűkromoszómák, amik leggyakrabban radioaktív vagy UV-sugárzás hatására alakulnak ki, nemcsak indikátorai, hanem dózismérői is a sejteket ért ártalomnak. Gapnek tekintendő az az akromatikus laesio, amelynek nagysága megegyezik a kromatid szélességével, de helyzete nem diszlokált. A nemzetközi megállapodásnak megfelelően a gapeket nem soroljuk be az aberrációk százalékos arányába. A kromoszómák számbeli eltéréseinél (aneuploidiak) a normális emberi 46-os kromoszómaszámtól ± 1 kromoszómaszámban eltérő sejteket regisztráljuk.

Mindezek alapján kijelentjük, hogy a vizsgálataink kizárólag a genetikai állomány strukturális állapotának felmérésére, tehát a genotoxicitás mértékének megállapítására szolgálnak, és nem irányul a genetikai állományban tárolt információk leolvasására. Ez utóbbira a módszereink nem alkalmasak.

DNS-repair-vizsgálatok

A donorok lymphocytáiból az expozícióval összefüggő DNS-károsodások kimutatására, a kromoszómák számbeli és strukturális eltéréseinek meghatározása mellett, a DNS javítómechanizmusainak épségét is vizsgáltuk. A DNS karbantartó (hibajavító, repair) rendszere végzi a szerzett hibák nagy hatékonyságú javítását, és az eredeti DNS visszaállítását, ezért állapotának ismerete fontos a rizikóbecslés szempontjából. A jól működő DNS-repair képes az expozíció káros következményeinek eliminálására, míg a túlterhelt vagy bénult DNS-repair a hibák számának emelkedéséhez vezethet. A teljes repairrendszer vizsgálata igen időigényes és drága, ezért a rutinvizsgálatokban az egyszerű, de informatív, UV-fénnyel indukálható DNS-repair-kapacitásmérést végezzük. Az UV-indukált DNS-repair (UV-indukált „unscheduled” de novo DNS-szintézis – UDS) normálértéke 4,0–9,0 között van, az ennél alacsonyabb érték a DNS-repair-kapacitás csökkenését, a magasabb túlterheltséget jelzi.

Immuntoxikológiai vizsgálatok

Az immuntoxikológia feladata az immunrendszert érő károsító tényezők detektálása és felmérése, elsősorban

abból a szempontból, hogy az emberi egészségre milyen hatással vannak. Toxikus válasz jöhet létre akkor, ha az immunrendszer passzív célpontja valamely kémiai ágensnek, valamint akkor, ha a vegyi anyag, mint antigén, specifikus választ vált ki. Az immunotoxicitás eredményezhet fertőzésekkel szembeni fokozott érzékenységet, illetve allergiás tünetek, autoimmun betegségek és daganatok kialakulásához vezethet.

A szervezet immunstátuszát a perifériás lymphocyták alcsoportjainak meghatározásával és a lymphocyták aktiváltságának meghatározásával jellemeztük. A lymphocyták csoportjait a felszínükön megjelenő sejtvonalmarkerek segítségével különítettük el, az úgynevezett immunfenotipizálás módszerével. Az immunfenotipizálás a WHO által is javasolt, az immunotoxicitás meghatározására alkalmas módszer. A T-sejteket a CD3+, helper T-sejteket CD4+/CD3+, a citotoxikus T-sejteket a CD8+/CD3+, a B-sejteket a CD19+, az NK-sejteket CD56+/CD3- fenotípus alapján különítjük el. A sejtek aktiváltsági állapotát a CD25 (IL-2R) és CD71 (transzferrinreceptor) aktivációs markerek kimutatásával mértük fel.

Korábbi közleményünkben [14] onkológiai osztályokon dolgozó nővérek pajzsmirigyeltéréseiről számoltunk be a citosztatikus infúziók alkalmazása kapcsán. Jelen közlemény célja az, hogy felhívjuk a figyelmet arra, hogy a korábbi definíciók szerint megállapított zsírmáj típusok mellett a foglalkozási eredetű zsírmáj kialakulásának esélye a vegyiparban foglalkoztatottak körében jelentősen emelkedik. Ezért az ilyen munkahelyeken a májfunkciós értékek romlását különösen szigorúan kell figyelembe venni a munkaalkalmasság megállapításakor.

Módszer

Vizsgált csoportok

A vizsgálatainkban szereplő, összesen 107 olajipari dolgozó (319 vizsgálat, csak férfiak) monitorozását a foglalkozás-egészségügyi orvosi időszakos alkalmassági vizsgálat keretében végeztük el. Vizsgálataink elvégzését minden esetben megelőzte egy részletes anamnéziszefelvétel, amely alapján megállapítottuk a legfontosabb demográfiai adatokat, tisztáztuk az életmóddal összefüggő (táplálkozás, dohányzás, alkohol) szokásokat, a gyógyszerek szedését, az elszenvedett betegségeket, műtéteket, baleseteket stb. Az adatokat korban, nemben egyeztetett, ismert környezeti vagy munkahelyi genotoxikus ágensekkel nem exponált kontrollok csoportjához (67 fő, 126 vizsgálat, csak férfiak) viszonyítottuk. A kontrollok csoportjából a citogenetikai eltéréseket vagy kóros laborértékeket mutató donorokat kihagytuk. Az anamnézis felvétele során külön gondot fordítottunk arra, hogy részletesen megismerjük a donorok munkakörülményeit, a munkavégzés során általuk használt vegyi anyagokat és azt, hogy milyen munkavédelmi felszerelések

állnak rendelkezésükre, illetve azokat milyen mértékben használják. Minden donorral ismertettük a vizsgálat célját, ezek önkéntesen, a donorok írásbeli beleegyezésével történtek. A klinikai laboratóriumi eredmények és az egészségi állapot alapján az olajipari dolgozók két csoportját különítettük el: az úgynevezett exponált egészséges (69 fő, 201 vizsgálat) és az exponált zsírmájjas (38 fő, 118 vizsgálat) csoportokat. Az exponált zsírmájjas csoportban 23 fő (74 vizsgálat) szerepelt diagnosztizált zsírmájbetegséggel, 9 főnél (29 vizsgálat) metabolikus-x-szindróma és 6 főnél (15 vizsgálat) diabetes szerepelt az anamnézisben. Csak az aktív dohányzókat tekintettük 'dohányzó'-nak. A donorok közül egy sem volt alkoholfüggő, az alkalmasságukon alkoholt fogyasztók 80 g/nap alkoholekvivalensnél kevesebbet fogyasztottak. Vizsgálataink során a donorok adatait titkosan, a betegjogok tiszteletben tartásával kezeltük. A donoroktól éhgyomri vérvétel keretében, steril körülmények között, ülő pozícióban, könyökhajlatból egyenként 18 ml vért vettünk két 1 ml 0,109 mol/l tri-Na-citráttal töltött Vacuette® (Greiner Bio-One Ref. No. 455322) csőben az UDS-vizsgálatokhoz, valamint 9 ml vért vettünk heparinnal alvadásgátolt Vacuette® (Greiner Bio-One Ref. No. 455051) csővekbe a CA-vizsgálatokhoz. A levett vérmintákból a gén- és immuntoxikológiai vizsgálatok mellett részletes klinikai laboratóriumi vizsgálatok is történtek, amelyek a hematológiai, máj- és vesefunkciós paraméterek mellett, az életmódbeli kockázatok jellemzésére (vizeletrodanid, szérumlükóz, szérum-összcholeszterin, HDL- és LDL-koleszterin, valamint szérumtriglicerid-szint) is kiterjedtek.

Klinikai laboratóriumi vizsgálatok

Hematológia:

- vörösvérsejt-süllyedés;
- vörösvérsejtszám, MCV, Htk, Hb, ZP, esetenként Fe, TVK;
- fehérvérsejtszám, kvalitatív vérkép;
- thrombocytaszám.

Májpanel:

- szérum-összbilirubin, esetenként direkt bilirubin;
- SGOT;
- SGPT;
- γ -GT.

Vesepanel:

- általános vizelet;
- szérum karbamid-nitrogén;
- szérumkreatinin;
- szérumhúgysav.

Rizikófaktorok:

- szérumlükóz;
- szérum-összcholeszterin (HDL, LDL);
- szérumtriglicerid.

Citogenetikai vizsgálatok

UV-indukált DNS-szintézis mérése perifériás lymphocytákból.

Az UDS-méréseket *Bianchi* szerint [15] végeztük, ahogy azt korábban is közöltük [16]. A perifériás lymphocytákat (PBL) citrátos vérmintákból Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich) sűrűséggradiens szeparáltuk. A PBL-szuspenziót 24 J/m^2 , 254 nm hullámhosszú UV-fénnyel sugároztuk be 10 másodpercig, majd a mintákat 1 óráig inkubáltuk $10 \mu\text{Ci/ml}$ ^3H -timidin (aktivitás: 37 MBq/ml) és 2,5 mM hidroxürea (Sigma-Aldrich) jelenlétében. (A posztreplicációs repairfolyamatok hidroxüreaival gátolhatók úgy, hogy közben az UV-indukált repair aktivitása nem változik.) A DNS-t 1 M perklórsavval kicsaptuk és mostuk, majd $82 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 30 percig hidrolizáltuk. A 'de novo' UDS mértékét a radioaktív ^3H -timidin beépülésének Tri-Carb 1600 TR folyadékscintillációs analizátorral (Packard) végzett méréssel határoztuk meg. Ezzel párhuzamosan a minták DNS-tartalmát difenilamintartalmú Burton-reagenses festés után, 590 nm-en spektrofotométeren mértük, és az inkorporált ^3H -timidin folyadékscintillációs analizátorral mért radioaktivitását egységnyi DNS-koncentrációra számoltuk át. Az UDS mértékét (relatív egység) az UV-besugárzott és a kontrollmintákban inkorporált ^3H -timidin radioaktivitásának különbségéből számoltuk, a normálértéke 4,0–9,0 között van.

A CA-gyakoriság meghatározása

A CA-gyakoriság meghatározását teljes vérmintákból végeztük. A sejtenyésztés módszere: 0,8 ml heparinnal alvadágátolt teljes vért tenyésztettünk 48 óráig, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 5% CO_2 -atmoszférában 10 ml 20% foetalis borjúsavóval (Gibco Invitrogen Corporation) és 1% GlutaMAX-I-vel (Gibco Invitrogen Corporation) kiegészített RPMI-1640 (Gibco Invitrogen Corporation) médiumban, 0,5% fitohemagglutinin-M (PHA, Gibco Invitrogen Corporation) jelenlétében, antibiotikumok nélkül. A tenyésztés indításakor a timin brómmal szubsztituált analóját, $5 \mu\text{g/ml}$ bróm-dezoxi-uridint (BrdU, Sigma-Aldrich) is adtunk a tenyészetekhez, hogy a preparálás és festés során BrdU-t még nem tartalmazó kromoszómájú első mitózisok (osztódások) és az előbbtől eltérő festődésű, BrdU-t inkorporált második és harmadik sejtosztódások elkülönítése lehetővé váljon. A kultúrákat a feldolgozás előtt, a BrdU hozzáadását követő 48. órában sejtosztódást megállító anyaggal, kolchicinnel (Colcemid®-del, Gibco Invitrogen Corporation) 3 órán keresztül inkubáltuk. A kromoszómapreparálást standard citogenetikai metodika alapján végeztük [17, 18]. Ennek során a sejteket hipotonizáltuk, majd a standard 3:1 metanol-ecetsavas fixálás és kicseppentés után a sejtmagokat Optichrome készülékkel (EuroClone), $28 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 45%-os páratartalom mellett 15 percig szárítottuk rá a lemezekre. A BrdU-szubsztituált és nem szubsztituált,

eltérő festődésű kromoszómák festésére laboratóriumunkban a standard, úgynevezett fluoreszcens plusz Giemsa festési metodikát alkalmaztuk. A lemezeket biszbenzimid 0,0001%-os oldatával (Hoechst-oldat, Sigma-Aldrich) 15 percig kezeltük, majd 1 óras 254 nm-es hullámhosszú UV-fénnyel besugároztuk. Ezután a lemezeket 5% Giemzával (Fluka) festettük és végül a teljes száradás után fedtük. A mikroszkópos vizsgálatok során az értékelést vakon, a donor kórtörténetétől függetlenül végeztük. A mikroszkópos vizsgálatok során 100 jól terült első metafázist értékeltünk donoronként. A 46 ± 1 kromoszómát (centromérát) tartalmazó osztódásokat értékeltük, a 45 és 47 kromoszómát tartalmazó osztódásokat a kiértékeléskor a kromoszómák számbeli eltéréseinek, aneuploidianak számoltuk [19]. Egyénileg, a citogenetikai eredmények alapján, pozitívnak tekintettünk minden olyan vérmintát, ahol a CA-érték meghaladta a 4%-ot.

Immunfenotipizálás. Felszíni antigének vizsgálata áramlási citometriával

A keringő lymphocyták alcsoportjait és aktiváltsági állapotát immunfenotipizálás módszerével határoztuk meg [20]. A méréshez heparinizált teljes vért használtunk. A vizsgálatok során perifériás lymphocyták felszíni markereit mértük fluoreszkáló festékekkel jelölt monoklonális ellenanyagok segítségével, áramlási citofluoriméteren. Alvadágátlóval kezelt teljes vért felszíni antigéneket felismerő, fluoreszkáló festékekkel konjugált monoklonális ellenanyagok megfelelő mennyiségével inkubáltuk 20 percig. A jelölést szobahőmérsékleten, sötétben végeztük. A vörösvértesteket FACS lizálóoldat (Becton Dickinson) segítségével lizáltuk. A lymphocytákat 4 órán belül analizáltuk, vagy 2%-os paraformaldehiddel fixáltuk. A vizsgált felszíni antigének: CD3 (T-sejt-receptor), CD4 és CD8 (T-sejt-koreceptorok), CD19 (B-sejt-koreceptor), CD25 (interleukin-2-receptor), CD45 (protein-tirozin-foszfátáz, pan leukocyt marker), CD56 (neural cell adhesion molecule, NK-sejt marker), CD71 (transzferrinreceptor). A következő ellenanyag-kombinációkat használtuk, 3, illetve 4 színű jelölést alkalmazva:

1. CD25-FITC/CD8-PE/CD3-PerCP/CD4-APC;
2. CD56-FITC/CD3-PerCP/CD45-APC;
3. CD71-FITC/CD3-PerCP/CD19-APC.

Standard előre- és oldalszórás alapján, illetve CD45-pozitivitás alapján különböztettük meg a leukocytapopulációkat, illetve állítottuk be a lymphocytakaput. A donork lymphocytá-alpopulációit (T-lymphocytá, helper T, citotoxikus T, B-lymphocytá és NK-sejt) sejtvonalmarker segítségével határoztuk meg: a T-sejteket a CD3+, helper T-sejteket CD4+/CD3+, a citotoxikus T-sejteket a CD8+/CD3+, a B-sejteket a CD19+, az NK-sejteket CD56+/CD3-, az NKT-sejteket pedig CD56+/CD3+ fenotípus alapján különítettük el. A CD25 (IL-2R) és CD71 (transzferrinreceptor) felszíni antigéneket a lym-

1. táblázat | A vizsgált csoportok legfontosabb demográfiai adatai

Csoportok	n	Életkor (év)	Aktív dohányzók	Mérsékelt alkoholfogyasztók
		átlag ± SE	%	%
Kontroll	67	39,9 ± 1,1	26,9	64,2
Exponált egészséges	69	40,4 ± 0,6	26,1	46,4
Exponált zsírmájás	38	45,8 ± 0,6	28,9	63,2

2. táblázat | A vizsgált csoportok genotoxikológiai paramétereinek összehasonlítása

Genotoxikológiai paraméterek	Csoportok		
	Kontroll	Exponált egészséges	Exponált zsírmájás
	%, átlag ± SD		
CA	1,61 ± 0,17	3,55 ± 0,23*	4,10 ± 0,32*
		Összes exponált: 3,75 ± 0,19	
	eltérések (%)		
UDS	42,24	61,17	65,52
		Összes exponált: 62,82	
UDS<4	24,14	37,23	37,07
UDS>9	18,10	23,94	28,45

* Szignifikáns különbség a kontrollhoz viszonyítva (Mann-Whitney-teszt, p<0,05).

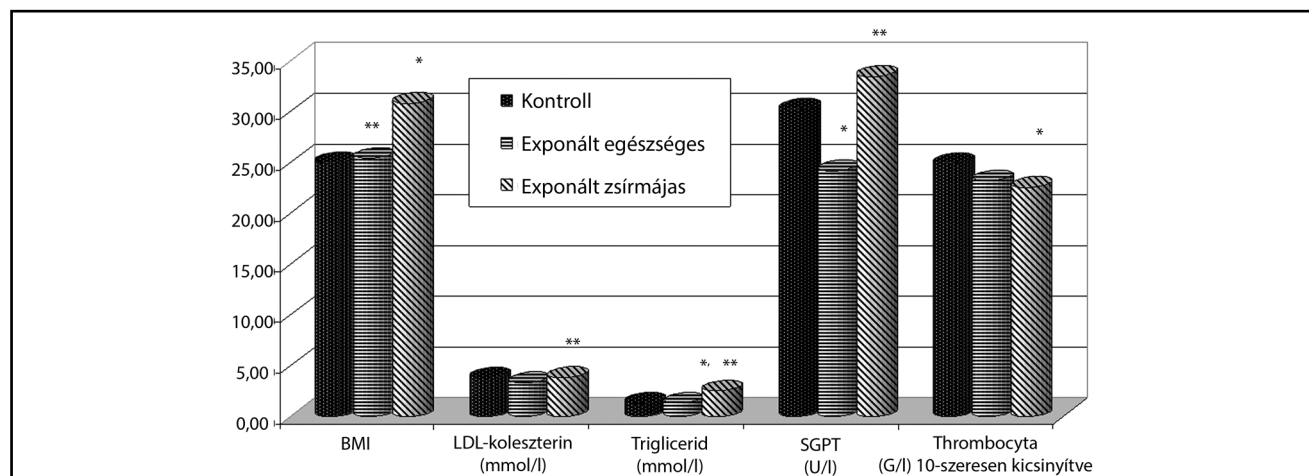
phocyták aktiváltsági állapotának meghatározására használtuk. A mérést FACSCalibur áramlási citométeren végeztük, mintánként tízezer fehérvérsejt adatait gyűjtve és CellQuest Software 3.1 segítségével értékeltük ki. A méréseket a Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézetében végeztük.

Statisztikai analízis

A vizsgálatok eredményeit csoportszinten értékeltük. A statisztikai számításokat GraphPad Prism 3.02 szoftverrel, Student's t-tesztel, a CA esetben Mann-Whitney-próbával végeztük (GraphPad Software, Inc.). A statisztikailag szignifikáns eltérést a vizsgálati csoportok és a kontrollok között p<0,05 értéken határoztuk meg.

Eredmények

Vizsgálatainkat 107 munkaképes, jó általános egészségi állapotú, olajiparban dolgozó férfinál végeztük, akiknek átlagéletkora 43,6 év volt. Az eredményeket hasonló korú 67 egészséges férfi kontrollhoz viszonyítottuk. A legfontosabb demográfiai adatokat az 1. táblázat tartalmazza. A kontrolloknál sem genotoxikológiai, sem laboratóriumi eltérések nem voltak körjelzőek. A vizsgálatokból kizártuk az alkoholistákat, a hepatitisen átesetteket, az epehólyag-gyulladásban vagy epekövességben szenvedőket és a rendszeres nagyivókat. Az átlagos alkoholfogyasztás heti 2–3 üveg sör, illetve maximum 1 liter bor volt, amit többnyire hétvégén fogyasztottak. Az olajipari munkások között egyébként sem maradnak meg az alkoholisták vagy a rendszeres ivók, mert mindhárom műszakban a munkába lépés előtt alkoholszondával ellenőrzik őket. A donorok kiválasztásánál szempont volt, hogy sem a daganatos betegek sem a krónikus gyógyszeres kezelésben részesülők, nem kerülhettek be a vizsgálatba. A dohányzók aránya csoportonként különbözött, de a magyar átlaghoz képest a vizsgált olajipari munkások csoportja kevesebbet dohányzott. Életmódjukat tekintve tudatosan törekedtek az egészséges táplálkozásra, de a több műszak miatt a táplálkozási szokások átalakultak, és többnyire a műszakok közötti szünetben otthon étkeztek, többnyire vacsoráztak. A folyadékbevitel a munka-



1. ábra | A vizsgált csoportok legfontosabb klinikai laboratóriumi paramétereinek összehasonlítása

*Szignifikáns különbség a kontrollhoz viszonyítva (Student's t-teszt, p<0,05)

**Szignifikáns különbség az exponált egészségeshez viszonyítva (Student's t-teszt, p<0,05)

hely által elegendő mennyiségben és minőségben biztosítva volt.

A vizsgálatainkban szereplő donorok legfontosabb klinikai laboratóriumi paramétereinek átlagértékeit az 1. ábrán mutatjuk be. A donorok testtömegindex-átlaga (body mass index – BMI), az anamnéziseknek megfelelően, a kontrolloknál és az exponált egészségeseknél nem mutatott eltérést, míg az exponált zsírmájásoknál mind a kontrollokhoz, mind az exponált egészségesekhez képest szignifikánsan magasabb volt. Az LDL-koleszterin az exponált zsírmájás csoportban az exponált egészségesekhez képest szignifikánsan magasabb volt. A zsírmájások trigliceridszint-átlaga mind a kontrollokhoz, mind az exponált egészségesekhez képest, a zsírmájások SGPT-értéke az exponált kontrollhoz képest szignifikánsan magasabb volt. Ugyanakkor a thrombocytaszám a zsírmájás csoportban az exponált egészségesekhez viszonyítva volt szignifikánsan alacsonyabb.

Vizsgálatainkban a genotoxikológiai paraméterek közül (2. táblázat) a CA átlagértéke az exponáltak mindkét csoportjában szignifikánsan magasabb volt a kontrollokénál. A zsírmájások CA-százaléka, bár nem szignifikánsan, de az exponált egészségesekénél is magasabb volt.

Az UDS esetében az egyéni értékek közül a 4 alatti, illetve a 9 feletti relatív értékeket, mint eltéréseket a normális 4 és 9 közötti értékekhez képest számoltuk. Az eltéréseknek a számát az összes UDS-érték százalékában a 2. táblázatban mutatjuk be. Az UDS-eltérések százaléka, a CA-hoz hasonlóan, az exponáltak mindkét csoportjában magasabb volt a kontrollokénál, és a zsírmájásoknál ez még az exponált egészségeseknél is magasabb volt.

3. táblázat | A vizsgált csoportok immunotoxikológiai paramétereinek összehasonlítása

Immunotoxikológiai paraméterek	Csoportok		
	Kontroll	Exponált egészséges	Exponált zsírmájás
	%, átlag ± SD		
Össz-T-sejt	68,7 ± 1,5	71,70 ± 1,3*	69,3 ± 1,4
T helper	40,0 ± 1,2	40,6 ± 1,3	38,9 ± 1,4
T citotoxikus	26,1 ± 1,5	28,7 ± 1,3	27,7 ± 1,3
NK-sejt	16,7 ± 1,5	16,2 ± 1,4	18,1 ± 1,3
B-sejt	10,5 ± 0,7	8,0 ± 0,6*	7,8 ± 0,5*
CD25+ T-sejt	16,8 ± 1,5	18,7 ± 1,2	19,5 ± 1,3
CD25+ T helper	25,0 ± 1,9	23,5 ± 1,8	28,9 ± 1,4*, **
CD25+ T citotoxikus	6,1 ± 1,0	7,4 ± 1,0	9,5 ± 1,0*
CD56 + T-sejt	6,7 ± 1,1	9,0 ± 1,1*	10,1 ± 1,0*
CD71+ T-sejt	2,5 ± 0,2	1,8 ± 0,2	2,0 ± 0,2
CD71+ B-sejt	47,1 ± 4,5	60,7 ± 4,0*	74,7 ± 2,4*, **

*Szignifikáns különbség a kontrollhoz viszonyítva (Student's t-teszt, $p < 0,05$).

**Szignifikáns különbség az exponált egészségeshez viszonyítva (Student's t-teszt, $p < 0,05$).

Az UDS 4-nél kisebb értékeinek százaléka, amely a DNS-repairrendszer kapacitásának kimerülését jelzi, az exponáltak mindkét csoportjában magasabb volt a kontrollokénál. Az UDS 9-nél nagyobb értékeinek a százaléka, amely viszont a túlterhelt DNS-repairrendszert jelzi, az exponáltak mindkét csoportjában magasabb volt a kontrollokénál, és ez hasonlóképpen az összes UDS-eltérésekhez, a zsírmájás donorok csoportjánál még tovább emelkedett.

Az immunotoxikológiai paraméterek közül a T-sejtek aránya az exponált egészségesek csoportjában emelkedett, a B-sejtek százaléka viszont az exponáltak mindkét csoportjában szignifikánsan csökkent a kontrollokhoz képest (3. táblázat). A CD25-pozitív, aktivált helper és citotoxikus T-sejtek aránya a zsírmájás csoportban nőtt a kontrollokhoz képest, illetve a helper sejtek esetében az egészséges exponáltakhoz képest is szignifikáns emelkedés volt tapasztalható. A CD56+/CD3+ fenotípusú NKT-sejtek százaléka megnőtt mind a két exponált csoportban a kontrollcsoporthoz viszonyítva. A CD71+/CD19+ fenotípusú, aktivált B-sejtek aránya szignifikánsan megnőtt az exponált egészségesek esetében, és szignifikáns mértékben tovább emelkedett a zsírmájás csoportban.

Megbeszélés

A nemzetközi és hazai irodalom a zsírmáj előfordulását igen gyakorinak tartja (20–30%), mégis a foglalkozás-orvostanban ennek jelentőségével kevés közlemény foglalkozik [4]. Ugyanis az ipari akut oldószer-expozíció és az életmódból adódó rendszeres alkoholfogyasztástól nehéz elkülöníteni a hatást. Vannak olyan epidemiológiai adatok, amelyek az alifás és aromás szerves oldószerek keverékével exponált dolgozók körében a munkahelyi expozíció és a zsírmáj kialakulása közötti összefüggést valószínűsítik [21]. Jelen publikációban azt a kérdést tettük fel, hogy az általunk géntoxikológiai érintettség szempontjából vizsgált olajipari munkavállalók citogenetikai és immunotoxikológiai paramétereit miként befolyásolja a máj nem alkoholos eredetű elzsírosodása. Ismeretes, hogy az összes környezeti vegyi ártalom okozta károsodás a máj detoxikációs képességétől függ. Kíváncsiak voltunk arra, hogy ez a csökkent detoxikációs kapacitás miként hat a kromoszóma-rendellenességek kialakulására és a DNS-repair-kapacitásra vagy az immunkompetens sejtek aktivitására. Irodalmi adatok szerint [22, 23] főképp benzollal exponált, olajiparban és benzinkútnál dolgozók, valamint szennyezett levegőjű városi lakosok körében emelkedett volt a DNS-károsodások száma, valamint főleg csökkent a DNS-repair-kapacitás. Saját vizsgálatainkban, az irodalmi adatokkal jó egyezésben, az exponáltak mindkét csoportjában emelkedett volt a kromoszómakárosodások gyakorisága és főleg csökkent a DNS-repair-kapacitás értéke. A kromoszómakárosodások gyakorisága az exponált zsírmájások csoportjában az exponált, de nem zsírmájás csoportnál is

magasabb volt az ipari kontrollnál, ugyanakkor tovább csökkent a DNS-repair-kapacitás értéke. A zsírmáj kialakulásában és súlyosbodásában az anyagcserezavarokon túl, immunológiai mechanizmusok is részt vesznek, amit az NAFLD-betegek májában felszaporodó gyulladásozó sejtek is mutatnak. A májban található NKT-sejteknek mind gyulladást elősegítő, mind gyulladást gátló szerepe lehet, és fontos szabályozó szerepük van a májban [24]. Az NKT-sejtek egyedülállóak abból a szempontból, hogy T-sejt-receptort is és a természetes ölüsejtekre jellemző molekulákat is hordoznak a sejt felszínén, és glikolipid antigéneket ismernek fel [25]. A betegség első stádiumában csökken, majd a betegség súlyosbodásával nő a májban az NKT-sejtek száma [26]. Irodalmi adatok szerint [27, 28] a számuk azonban nemcsak a májban, hanem a periférián is megnövekszik, amit a mi vizsgálatunk szintén igazolt: a CD56+/CD3+ fenotípusú NKT-sejtek százaléka megnőtt a perifériás vérben az exponáltak csoportjában a kontrollcsoporthoz viszonyítva, és a zsírmáj expozíciójánál ez tovább fokozódott.

Korábbi cikkünkben [29] leírtuk, hogy oldószer-expozícióban megemelkedik az aktivált T- és B-sejtek aránya a perifériás vérben. Ez a jelenség a CD71-pozitív, vagyis transferrinreceptort hordozó B-sejtek esetében a legszembetűnőbb. A kontrollhoz viszonyítva az exponált egészséges dolgozók CD71+ B-sejtjeinek aránya szignifikánsan emelkedik ($47,1 \pm 4,5\%$ -ról $60,7 \pm 4,0\%$ -ra), illetve az exponált zsírmájások esetében ez még tovább emelkedik $74,7 \pm 2,4\%$ -ra. Ebben az esetben tehát, több más mért paraméterhez hasonlóan, az expozíciót kísérő változásokat a zsírmájbetegség tovább fokozta. Megállapítottuk, hogy az azonos expozíciónak kitett, hasonló korú és azonos nemű ipari munkások körében jelentősen emelkedett mind az immun-, mind a genotoxikus károsodások mértéke, tehát jelen anyagban a zsírmáj expozíciójánál a nem zsírmáj expozíciójához képest a paraméterek erőteljesebb pozitívítást mutattak. A máj elzsírosodása, annak ellenére, hogy klinikailag nem jelentett betegséget, a detoxikációs kapacitás csökkenése miatt a *vegyszer expozíció kockázatát növelő tényezőnek tekintendő, amit a foglalkozási ártalmak megelőzése kapcsán a kockázatbecslésben figyelembe kellene venni.*

Anyagi támogatás: A közlemény megírása és a kapcsolódó kutatómunka anyagi támogatásban nem részesült.

Szerzői munkamegosztás: T. A. vezette a vizsgálatokat és összegezte az eredményeket, felállította a munkahipotézist, megírta a közlemény jelentős részét. B. A. az immunológiai tesztek végezte, és megfogalmazta az eredmények, illetve a diszkusszió immunológiai vonatkozásait. B. P. ellenőrizte a statisztikai adatok helyességét, és a Mann–Whitney-módszerrel elemezte a kromoszómaeléréseket. J. M. közreműködött a géntoxikológiai vizsgálatok végzésében, összeállította a táblázatokat és az adat-

bázisból kiválogatta a kontrollokat, valamint megírta a metodika és a diszkusszió egy részét. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük a Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézetének, hogy elérhetővé tették az áramlási citometriás méréseket.

Irodalom

- [1] Tessari, P., Coracina, A., Cosma, A., et al.: Hepatic lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 2009, 19(4), 291–302.
- [2] Cohen, J. C., Horton, J. D., Hobbs, H. H.: Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science*, 2011, 332(6037), 1519–1523.
- [3] Das, K., Kar, P.: Non-alcoholic steatohepatitis. *J. Assoc. Physicians India*, 2005, 53, 195–199.
- [4] Sturjill, M. G., Lambert, G. H.: Xenobiotic-induced hepatotoxicity: mechanisms of liver injury and methods of monitoring hepatic function. *Clin. Chem.*, 1997, 43(8), 1512–1526.
- [5] Sass, D. A., Chang, P., Chopra, K. B.: Nonalcoholic fatty liver disease: a clinical review. *Dig. Dis. Sci.*, 2005, 50(1), 171–180.
- [6] Petta, S., Muratore, C., Craxi, A.: Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and future. *Dig. Liver Dis.*, 2009, 41(9), 615–625.
- [7] Yu, A. S., Keeffe, E. B.: Nonalcoholic fatty liver disease. *Rev. Gastroenterol. Disord.*, 2002, 2(1), 11–19.
- [8] Hassan, K., Bhalla, V., El Regal, M. E., et al.: Nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of a growing epidemic. *World J. Gastroenterol.*, 2014, 20(34), 12082–12101.
- [9] Takaki, A., Kawai, D., Yamamoto, K.: Molecular mechanisms and new treatment strategies for non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, 15(5), 7352–7379.
- [10] Hooper, A. J., Adams, L. A., Burnett, J. R.: Genetic determinants of hepatic steatosis in man. *J. Lipid Res.*, 2011, 52(4), 593–617.
- [11] Tompa, A., Major, J., Jakab, M. G.: Monitoring of benzene-exposed workers for genotoxic effects of benzene: Improved-working-condition-related decrease in the frequencies of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes. *Mutat. Res.*, 1994, 304(2), 159–165.
- [12] Major, J., Jakab, M., Megyesi, A., et al.: Follow-up cytogenetic investigation of benzene-exposed workers: dose-related changes in chromosome aberration yields. *Central Eur. J. Occupat. Environ. Med.*, 1996, 2(1), 76–77.
- [13] Tompa, A., Jakab, M. G., Major, J.: Risk management among benzene-exposed oil refinery workers. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 2005, 208(6), 509–516.
- [14] Tompa, A., Jakab, M., Biró, A., et al.: Genetic and immune-toxicologic studies on abnormal thyroid functions in hospital employees exposed to cytostatic drugs. [Citosztatikus kezelést végző kórházi dolgozók pajzsmirigy-eltávolításainak géntoxikológiai és immuntoxikológiai vonatkozásai.] *Orv. Hetil.*, 2015, 156(2), 60–66. [Hungarian]
- [15] Bianchi, V., Nuzzo, F., Abbondandolo, A., et al.: Scintillometric determination of DNA repair in human cell lines. *Mutat. Res.*, 1982, 93(2), 447–463.
- [16] Tompa, A., Sági, E.: Detection of 6-thioguanine resistance in human peripheral blood lymphocytes (PBL) of industrial workers and lung cancer patients. *Mutat. Res.*, 1989, 210(2), 345–351.
- [17] Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellman, W. J., et al.: Chromosome preparation of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.*, 1960, 20(3), 613–616.

- [18] *Perry, P., Wolff, S.*: New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature*, 1974, 251(5471), 156–158.
- [19] *Carrano, A. V., Natarajan, A. T.*: International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens. ICPEMC publication no. 14. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat. Res.*, 1988, 204(3), 379–406.
- [20] *Biró, A., Fodor, Z., Major, J., et al.*: Immunotoxicity monitoring of hospital staff occupationally exposed to cytostatic drugs. *Pathol. Oncol. Res.*, 2011, 17(2), 301–308.
- [21] *Lundqvist, G., Flodin, U., Axelson, O.*: A case-control study of fatty liver disease and organic solvent exposure. *Am. J. Ind. Med.*, 1999, 35(2), 132–136.
- [22] *Chanvaivit, S., Navasumrit, P., Hunsonti, P., et al.*: Exposure assessment of benzene in Thai workers, DNA-repair capacity and influence of genetic polymorphism. *Mutat. Res.*, 2007, 626(1–2), 79–87.
- [23] *Ruchirawat, M., Navasumrit, P., Settachan, D.*: Exposure to benzene in various susceptible populations: co-exposures to 1,3-butadiene and PAHs and implications for carcinogenic risk. *Chem. Biol. Interact.*, 2010, 184(1–2), 67–76.
- [24] *Kumar, V.*: NKT-cell subsets: promoters and protectors in inflammatory liver disease. *J. Hepatol.*, 2013, 59(3), 618–620.
- [25] *Swain, M. G.*: Natural killer T cells within the liver: conductors of the hepatic immune orchestra. *Dig. Dis.*, 2010, 28(1), 7–13.
- [26] *Tajiri, K., Shimizu Y.*: Role of NKT cells in the pathogenesis of NAFLD. *Int. J. Hepatol.*, 2012, 2012, Article ID 850836.
- [27] *Tajiri, K., Shimizu, Y., Tsuneyama, K., et al.*: Role of liver-infiltrating CD3+CD56+ natural killer T cells in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2009, 21(6), 673–680.
- [28] *Adler, M., Taylor, S., Okebugwu, K., et al.*: Intrahepatic natural killer T cell populations are increased in human hepatic steatosis. *World J. Gastroenterol.*, 2011, 17(13), 1725–1731.
- [29] *Biró, A., Pállinger, É., Major, J., et al.*: Lymphocyte phenotype analysis and chromosome aberration frequency of workers occupationally exposed to styrene, benzene, polycyclic aromatic hydrocarbons or mixed solvents. *Immunol. Lett.*, 2002, 81(2), 133–140.

(Tompa Anna dr.,
Budapest, Nagyvárud tér 4., 1096
e-mail: tompa.anna@med.semmelweis-univ.hu)

FELHÍVÁS folyóirat-referátumok beküldésére

A Semmelweis Egyetem Továbbképző Központjának döntése értelmében 2016. január 1-jétől folyamatosan orvos-továbbképzési pontokat kaphatnak a nemzetközi, impaktfaktoros folyóiratokban megjelent közlemények rövid összefoglalásának, referátumának beküldői.

Az Orvosi Hetilap hasábjain megjelenő és közlésre elfogadott referátum után 1 pont, **félévente maximum 12 továbbképzési pont gyűjthető**, amelyet félévente összesítve továbbítunk a továbbképzési központok felé.

Távoktatással szerzett pontokból évente legfeljebb 20 pont számítható be.

Aki továbbképzési pontot kíván gyűjteni, a referátum beküldésekor adja meg pecsétszámát.

Várjuk lelkes, továbbképzési pontokat gyűjteni kívánó referálóink jelentkezését!

A referátum fejlécében az alábbi adatokat kérjük megadni:

A cikk címe magyarul, zárójelben az angol cím

A szerző(k) neve (vezetéknév, a keresztnévet jelölő betű(k) – 3 szerzőig, háromnál több szerző esetén et al.), a levelező szerző neve, munkahelye és e-mail címe)

A folyóirat neve – a szokásos nemzetközi rövidítés szerint (PubMed), **évszám, kötetszám, füzetszám, a cikk kezdő és utolsó oldalszáma**

A referátumot elektronikus úton (Editorial Manager vagy e-mail: edit.budai@akademai.hu) kérjük elküldeni.