

A redox-homeosztázis és a redox-asszociált rendszerek kapcsolata gasztrointesztinális betegségekben

Doktori értekezés

Dr. Kleiner Dénes

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



- Témavezető: Dr. Blázovics Anna, D.Sc., egyetemi tanár
- Hivatalos bírálók: Dr. Mák Erzsébet, Ph.D., főiskolai adjunktus
Dr. Lantos János, Ph.D., egyetemi docens
- Szigorlati bizottság elnöke: Demeterné Dr. Tekes Kornélia, D.Sc.,
egyetemi tanár
- Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Vereckei András, Ph.D., egyetemi
docens
Dr. Szöllősiné Varga Ilona, C.Sc., ny.
egyetemi docens

Budapest
2017

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	2
Rövidítésjegyzék	6
1. Bevezetés.....	8
2. Irodalmi áttekintés	10
2.1. A szervezet redox-homeosztázisa és változása betegségekben.....	10
2.1.1. Az alkoholfogyasztás és a redox-homeosztázis.....	13
2.1.2. A redox-homeosztázis és az elhízás	17
2.1.3. Elemek és a redox-homeosztázis.....	19
2.1.4. A redox-homeosztázis és a transzmetilezés	21
2.2. Táplálkozási faktorok és a redox-homeosztázis	24
3. Célkitűzés	29
4. Anyagok és módszerek	31
4.1. Anyagok	31
4.2. Módszerek	32
4.2.1. Növényi eredetű minták előkészítése	32
4.2.1.1. Vaccinium fajok	32
4.2.1.2. Citrus sinensis (L.) fajták	33
4.2.1.3. Gyümölcskivonatot tartalmazó keménycukorminták vizsgálata	33
4.2.2. Állatkísérletek.....	33
4.2.2.1. Patkánykísérletek.....	33
4.2.2.1.1. Zsírdús étrend vizsgálata	33
4.2.2.1.2. Glicirrizin hatása az alkoholos eredetű zsírmájra.....	34
4.2.2.2. Baromfikísérlet	35
4.2.2.3. Nyúlkísérlet	35

4.2.3. Humán tanulmányok	35
4.2.3.1. Plazmaminták előkészítése	35
4.2.3.2. Eritrocitaminták előkészítése.....	36
4.2.4. Analitikai vizsgálatok.....	36
4.2.4.1. Aszkorbinsavtartalom meghatározása	36
4.2.4.2. Polifenoltartalom meghatározása	36
4.2.5. Redox-vizsgálatok	37
4.2.5.1. Hidrogéndonor (H-donor) aktivitás mérése.....	37
4.2.5.2. Szabad szulfhidrilszint meghatározása	37
4.2.5.3. Redukálóképesség meghatározása.....	37
4.2.5.4. Indukált lipidperoxidáció vizsgálata.....	38
4.2.5.5. Szabadgyök-fogó kapacitás mérése luminometriával	38
4.2.6. Transzmetilezési folyamatok tanulmányozása	39
4.2.6.1. Kötött HCHO-szint meghatározása magasnyomású vékonyréteg- kromatográfiával (OPLC).....	39
4.2.6.2. Kötött HCHO-szint meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC)	39
4.2.7. Elem meghatározások induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometriával (ICP-OES).....	39
4.2.7.1. Előkészítés	40
4.2.7.2. ICP-OES vizsgálatok.....	40
4.2.8. Klinikai laboratóriumi vizsgálatok	41
4.2.9. Egyéb vizsgálatok.....	41
4.2.9.1. Fehérjetartalom meghatározása	41
4.2.9.2. Mosott eritrocitaminták hemoglobinszintjének meghatározása	41
4.2.9.3. Kofaktorok H-donor-aktivitásának mérése	42
4.3. Statisztikai értékelés	42

5. Eredmények	43
5.1. Növényi eredetű minták részleges fitokémiai elemzése.....	43
5.1.1. Narancsminták vizsgálata.....	43
5.1.2. Áfonyaminták vizsgálata.....	45
5.1.3. Gyümölcskivonatot tartalmazó keménycukrok vizsgálata.....	47
5.1.4. Növényi minták transzmetilező kapacitásának meghatározása.....	49
5.2. Állati eredetű minták elemzése.....	50
5.2.1. Metil-pool vizsgálata fogyasztásra szánt állatok májmintáiban.....	50
5.2.2. Transzmetilezési folyamatok vizsgálata zsírdús táppal etetett állatokban.....	52
5.2.3. Transzmetilezés vizsgálata alkoholos eredetű zsírmájban patkányokon.....	54
5.3. Kötött HCHO-szint meghatározása humán mintákban.....	58
5.3.1. Kötött HCHO-szint HPLC eljárással történő mérésének módszerfejlesztése.....	58
5.3.1.1. Kromatográfias rendszer.....	58
5.3.1.2. Sztenderd oldatok és az eritrocitaminták előállítása.....	58
5.3.1.3. Validálás.....	59
5.3.2. A módszerfejlesztés eredményei.....	59
5.3.2.1. A HPLC-metodika validálása.....	60
5.3.2.1.1. Linearitás vizsgálata.....	61
5.3.2.1.2. Pontosság és torzítatlanság vizsgálata.....	61
5.3.2.1.3. Stabilitás és specificitás vizsgálata.....	62
5.4. Humán tanulmányok.....	62
5.4.1. Transzmetilezés vizsgálata onkológiai betegek esetében.....	63
5.4.2. Fémelem-homeosztázis vizsgálata humán gasztrointesztinális tumorokban.....	65
6. Megbeszélés	71
6.1. Növényi élelmiszerek szerepe az életminőség változásában.....	71
6.2. Állati eredetű élelmiszerek transzmetilező kapacitása és antioxidáns tulajdonsága.....	77

6.3. Az életminőséget befolyásoló tényezők állatkísérletes modelleken.....	77
6.3.1. A redox homeosztázis és a transzmetilezés változása a nyugati étrend hatására .	78
6.3.2. A redox homeosztázis és a transzmetilezés kapcsolata alkoholos eredetű zsírmájban	80
6.4. Fémelemek és a redox homeosztázis változása kolektomizált betegekben.....	84
6.4.1. Transzmetilezés vizsgálata kolektomizált betegekben	84
6.4.2. Fémelemek és redox-homeosztázis változása kolektomizált betegekben	87
7. Következtetések	91
8. Összefoglalás.	92
9. Irodalomjegyzék	94
10. Saját publikációk jegyzéke	119
10.1. A dolgozathoz kapcsolódó közlemények	119
10.2. Disszertációtól független közlemények.....	120
11. Köszönetnyilvánítás.....	121

Rövidítésjegyzék

AF	csak alkohollal kezelt patkányok
AFLGK	liposzómális glicirrizinnel és alkohollal kezelt állatok
AFP	α -fötóprotein
ALB	albumin
ALP	alkáli foszfatáz
ALT	alanin aminotranszferáz
AST	aszpartát aminotranszferáz
ATP	adenozin-trifoszfát
BMI	testtömegindex
CARB	karbamid
CA 19-9	szénhidrát antigén 19-9
CEA	karcino-embriónális antigén
CREA	kreatinin
CYP	citokrom-P450
DBIL	direkt bilirubin
dimedon	5,5-dimetilciklohexán-1,3-dion
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	5,5'-ditiobisz(2-nitrobenzoesav)
GAE	galluszsav egység
GGT	gamma-glutamil transzferáz
GLOB	globulin
GOT	glutamát-oxalát transzamináz
GPT	glutamát-piruvát transzamináz
GRA	granulocitaszám
GSH	redukált glutation
H-donor	hidrogéndonor
HCHO	formaldehid
HCT	hematokrit
HGB	hemoglobinkoncentráció
HPLC	nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia
ICP-OES	induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometria

IGF	inzulinszerű növekedési faktor
KSH	Központi Statisztikai Hivatal
LOD	kimutatási határ
LOQ	meghatározási határ
luminol	5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazindion
LYM	limfocitaszám
MCHC	átlagos vörösvérsejt hemoglobinkoncentráció
MCV	átlagos vörösvérsejttérfogat
MON	monocitaszám
MP-11	mikroperoxidáz
MPV	átlagos vérlemezketérfogat
MZS	mérsékeltén zsírdús tápon tartott állatok
NAD ⁺	oxidált nikotinamid-adenin-dinukleotid
NADH	redukált nikotinamid-adenin-dinukleotid
NADP ⁺	oxidált nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NADPH	redukált nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
OPLC	magasnyomású vékonyréteg-kromatográfia
PLT	vérlemezkeszám
RBC	vörösvérsejt
RDW	vörösvértest eloszlási szélesség
RLU	relatív fénymennyiség
ROS	reaktív oxigén származékok
SAH	S-adenozil-homocisztein
SAM	S-adenozil-metionin
TBIL	teljes bilirubin
THF	tetrahidrofolát
TP	teljes fehérje
UA	húgysav
WBC	fehérvérsejtszám
ZS	zsírdús tápon tartott állatok

1. Bevezetés

Napjainkban egyre ismertebbé válik a redox-homeosztázis jelentősége az élettani folyamatokban, a különböző kórképekben. A nyugati társadalmakban legnagyobb mortalitással rendelkező kardiovaszkuláris és daganatos megbetegedésekben ugyanúgy megfigyelhető az oxidatív stressz, mint a terminális oxidációban vagy az immunrendszer működése közben. A daganatos kórképekben kiemelten fontos a redox-homeosztázis és az azt érintő anyagcsere-folyamatok vizsgálata, különösen az alkalmazott kemo- és sugárterápia alatt, a metasztázisok megelőzésében, vagy minél későbbi megjelenésében. Mindezek ellenére nem jellemző az oxidatív stressz direkt vizsgálata a klinikai orvosi tevékenység során. Ennek számos oka között kiemelhető, hogy jelenleg nincsenek nemzetközileg elismert sztenderdek a mérésekkel kapcsolatban, sőt - figyelembe véve a redukciós és oxidációs folyamatok szubcelluláris szintű koordináltságát - vitás, hogy az egyik szövetben mért érték jellemzi-e a másik szövet redox-státuszát.

Az azonban, hogy egyre több tanulmány lát napvilágot mind az antioxidánsokról, mind a redox-homeosztázis betegségek során megfigyelhető változásáról, felveti a kérdést: valóban elhanyagolható-e a vizsgálata a klinikai tevékenység során? Munkacsoportunk az elmúlt években, évtizedekben számos, a szabadgyököket és antioxidánsokat érintő megfigyelést tett, melyek „nagyműszerek” (elektronspin-rezonancia, impulzus radiolízis) használatán túl viszonylag egyszerű technikai háttérrel is megoldhatóak voltak. Mindez rávilágít arra, hogy a redox-homeosztázis kutatása nemcsak nem elhanyagolható, hanem folytonos és egyre szerteágazóbb vizsgálatokat igényel, hogy klinikai szempontból is releváns válaszokat adjon a betegségek elkerülése, diagnosztizálása és terápiája során. Továbbá értékesnek mutatkozik az antioxidáns-szabadgyök rendszerrel szorosan asszociált biokémiai folyamatok feltérképezése is, mint a különböző elemek szintje, vagy a transzmetilezés, melyek pontosabbá teszik a mért redox-homeosztázist jellemző paramétereiből nyerhető információkat.

Kutatásaim során ezért céлом volt az étrendi eredetű antioxidánsok és az életmód prevenciós tulajdonságát bemutatni kísérletes és humán tanulmányok alapján. Mindemellett rá kívánok mutatni a vitaminok, és egyéb, élettani szempontból lényeges faktorok jelenlétére és mennyiségbeli diverzitására fogyasztásra szánt élelmiszerekben. Továbbá, tekintettel arra, hogy munkacsoportunk tapasztalatai alapján a transzmetilező

kapacitás jelentős információ-tartalommal bír az életkilátások tekintetében, klinikai körülmények között is elérhető mérési metodikát kívántam fejleszteni.

Eredményeim alátámasztják a redox-homeosztázis vizsgálatának fontosságát, valamint rámutat annak klinikai szempontból is fontos kérdéseire, és a jövőben segítségére lehet a klinikai döntések meghozatalában.

2. Irodalmi áttekintés

A disszertáció témájául szolgáló redox-homeosztázis, valamint az azzal kapcsolatban álló biokémiai rendszerek vizsgálatával már számtalan tanulmány foglalkozott. A fejezet célja ennek az igen széles irodalmi háttérnek lényegre törő áttekintése, és a napjainkban látható trendek bemutatása.

2.1. A szervezet redox-homeosztázisa és változása betegségekben

A szabadgyök-kutatás évtizedei alatt többször is feledésbe merültek a szabadgyökök élettani, kórélettani jelentőségével foglalkozó kutatások eredményei, mára azonban azt mondhatjuk újra reneszánszát éli ez a kutatási terület. Ma már alig ismert olyan folyamat, aminek ne lenne köze a redoxi anyagcseréhez. Sőt, az oxidatív és redukzív hatásokkal kapcsolatos irodalom kiterjedtsége miatt napjainkra a genetikai, epigenetikai kód és a hiszton-kód mellett már a redox-kódról is egyre szerteágazóbb ismereteink vannak (Jones és Sies 2015). Mivel a redox-kódban egyaránt szerepet kapnak a redukált és oxidált nikotinamid-adenin-dinukleotid (NADH és NAD⁺), a redukált és oxidált nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát (NADPH és NADP⁺), a redukált és oxidált szulfhidrilesoportok, valamint számtalan egyéb, redox-asszociált ciklikus folyamat, például a H₂O₂-aktivációs és dezaktivációs ciklusai; nélkülözhetetlen az életfunkciókhoz az antioxidáns védelem mellett a mérsékelt, térben és időben kontrolláltan jelentkező oxidatív stressz is (Czigány és mtsai 2015, Tóth és mtsai 2016, Herrmann és mtsai 2000, Blázovics 2005, Kleiner és mtsai 2013). A redoxi anyagcsere és esetenkénti meghibásodása magában rejti a betegségek kialakulásának is a lehetőségét, ahogy alternatívát biztosít a betegségek patológiájának megismerésére, valamint terápiás eljárások kidolgozására is.

Az össz-scavenger kapacitás vizsgálatával Blázovics és mtsai már 1999-ben igazolta gyulladásos bélbetegségben szenvedők esetében, hogy amíg Crohn-betegségben szenvedőknél az adekvát terápia ellenére is az antioxidáns védelmi rendszer kimerülőben van - addig colitis ulcerosában szenvedőknél az antioxidáns védelmi rendszerben javulás figyelhető meg a kezelések alatt.

A gyulladásos kórképek esetében gyakran emelkedik a malignitások gyakorisága. Colitis uncerosa esetében példának okáért a szakirodalom már külön foglalkozik az úgynevezett „colitis asszociált kolorektális rákkal” (Wang és mtsai 2016). Wang és mtsai szerint

colitis ulcerosa talaján kialakult malignitás egyaránt szerepet kap az immunrendszer, az oxidatív stressz, és az oxidatív stressz hatására keletkezett reaktív szénvázias vegyületek okozta stressz. Ezek a vegyületek egészséges egyéneknél is konstans módon keletkeznek a lipidmetabolizmusban, a szénhidrát-metabolizmusban vagy a szteránvázias vegyületek metabolizmusában során. Nem elhanyagolható, hogy a reaktív szénvázias származékok az elfogyasztott élelmiszerekben is kimutathatóak, többek között a kávé metilglioxálforrásnak tekinthető, a zöldségekben és gyümölcsökben pedig krotonaldehid is található. Normál esetben a fent említett vegyületek nem haladják meg a toxikus koncentrációt, azonban excesszív arányban keletkezett reaktív oxigén származékok (ROS) hatására akár az átlagos mennyiséghez képest százszoros koncentrációt is elérhetnek. A nagy mennyiségben jelenlevő karbonil-származékok kovalens módon kötődhetnek vegyületekhez, és ha protein-inaktivációt okoznak, akkor azok további ROS-ok keletkezéséhez vezethetnek, amit tovább súlyosbít a protein-adduktok megjelenése. Ez utóbbi újfent immunológiai folyamatokat indíthat el a makrofág-akkumuláción és -aktiváción keresztül (Wang és mtsai 2016). Circulus vitiosus jön létre. Feltételezhető azonban, hogy a folyamat általánosan jelen van gyulladásos kórképekben, így nem meglepő, hogy jelen ismereteink szerint, hasonló módon emelkedett a Crohn-betegségek esetében is a kolorektális tumorok kialakulásának rizikója (Baidoo és Hanauer 2016, Piechota-Polanczyk és Fincha 2014).

Egy másik, immunrendszerrel asszociált kórkép, a cöliákia esetében a gabonafélék prolamin frakciója felelős a gyulladás kialakulásért (Ferretti és mtsai 2012). A betegségben jellemzően megemelkedik a vékonybél adenóma és non-Hodgkin limfóma kialakulásának a lehetősége, azonban érdekes módon a kolorektális karcinómák rizikója csökkenő tendenciát mutat (Freeman 2009; Lebwohl és mtsai 2010). A háttérben feltételezhető, hogy a betegség patológiájából fakadó módon a vastagbélben a zsírok és a zsírokban oldódó, karcinogénnek tekintett anyagok felszívódása csökken, de egyes feltételezések szerint szerepet kaphatnak immunológiai változások is. A genetikai és epigenetikai háttérrel is rendelkező enteropátia kezelése kapcsán az antioxidánsok és szabadgyökök egyensúlya szintén jelentős kérdés. Ahogy azt Stojiljković és mtsai (2014) az elmúlt években gyermekek között végzett tanulmányukban bizonyították, a markáns oxidatív stressz még a gluténmentes étrenden élő betegek esetében is jelen van. Bizonyítja ezt a mukózában és a perifériás vérben a csökkent glutationszint (GSH), a mukóza

csökkent GSH-reduktáz aktivitása és az eritrociták csökkent GSH-peroxidáz aktivitása. Ugyanakkor a lipidperoxidációs termékek szintje emelkedett volt a mukózában. Mindezek a paraméterek glutént is tartalmazó étrend esetében hasonló, vagy rosszabbak voltak, így gluténérzékeny betegek esetében a szerzők az antioxidánsokban dús étrendet kiemelten fontosnak tartották (Kocsis és mtsai 2014; Stojiljković és mtsai 2014).

A redox-homeosztázis felborulása miatt általános ajánlás ezeknél a betegségeknél az antioxidánsokban, főként polifenolos vegyületekben gazdag étrend, melynek szerteágazó hatásai között közismert gyulladáscsökkentő tulajdonságuk is (Ferretti és mtsai 2012, Nile és Park 2014). Az antioxidánsok szerepére hívja fel a figyelmet az is, hogy a gyulladással járó bélbetegségekben alkalmazott gyógyszereknek, a kortikoszteroidoknak, meszalizinnak, TNF- α elleni antitesteknek, nemcsak indirekt, hanem sok esetben direkt antioxidáns hatása is van (Piechota-Polanczyk és Fincha 2014). Túl a gyulladással járó bélbetegségekhez asszociált kolorektális tumorokon, a redoxi státuszt befolyásoló anyagok markáns, és összetett hatást gyakorolnak az összes kolorektális daganatra és egyéb malignitások kialakulására is. Ez utóbbi összetett hatásra hívják fel a figyelmet Vece és mtsai (2015). Tanulmányukban a teljes bevitt antioxidáns-mennyiség nem befolyásolta a kolorektális tumorok kialakulását, ha együtt tekintették a vastagbélben és végbélben kialakult malignitásokat; azonban amíg a vastagbél-tumorok kialakulásának rizikóját az antioxidánsbevitel szignifikánsan csökkentette, addig a végbél-tumorokét inkább növelte. A redoxi egyensúly tumorogén hatását és szerepét nyomon lehet követni a bevitt prooxidánsok daganatkeltő képességén. Számtalan kutatás foglalkozott az elmúlt időszakban a Fe-bevitel és a daganatok kialakulásával, valamint a Fe-asszociált lipidperoxidáció mérséklésének lehetőségével. Egy több mint 17 ezer francia nő bevonásával végzett prospektív kohorsz vizsgálatban szignifikáns rizikótényezőnek mutatkozott a magasabb Fe-fogyasztás kolorektális tumorok esetében. A szerzők kiemelték emellett a növényi eredetű élelmiszerek fogyasztásának jelentőségét. Ajánlásuk szerint célszerű lenne a bevitt hús mennyiségéhez viszonyítva négyszeres mennyiségű zöldséget és gyümölcsöt fogyasztani (Bastide és mtsai 2016). Hasonló eredményekre jutottak Diallo és mtsai (2016) is emlőrák esetében is. A vizsgálatban a nagymennyiségű Fe bevitel emelte az emlődaganatok kialakulásának lehetőségét, amit a mérsékelt antioxidáns-szupplementáció lecsökkentett. A napi teljes lipidbevitel

meghatározása alapján ez a vizsgálat is alátámasztotta, hogy a Fe tumorrikót emelő képessége visszavezethető annak lipidperoxidációt indukáló tulajdonságára.

2.1.1. Az alkoholfogyasztás és a redox-homeosztázis

Az alkoholos italok fogyasztása a történelem során mélyen beágyazódott a kultúrába (Kleiner 2015). Magyarországon különösen nagy hagyománya van a borok, pálinkák, sörféleségek és egyéb szeszesitalok élvezetének, de gyógyszerként és emésztőként történő felhasználásának is.

Amíg a mérsékelt mennyiségben fogyasztott alkoholos italok védő hatását írták le a szív- és érrendszeri, valamint a tumoros betegségek kialakulásával szemben, az alkoholizmus komoly egyéni és társadalmi problémákat vet fel.

Hazánkban az alkoholfogyasztás a Központi Statisztikai Hivatal (KSH) 2010-ben kiadott társadalmi helyzetképe szerint rossznak tekinthető, mert megközelítőleg a férfiak 8,6 %-a, fogyaszt 14, a nők 1,1 %-a pedig 7 egységnél több alkoholt hetente (Zsákai 2008, KSH 2010). (Egy alkoholegység 0,5 l sörnek, 0,2 l bornak vagy 0,05 l röviditalnak felel meg.) A nagyivónak nem számító, de heti rendszerességgel alkoholt fogyasztók aránya a nők között megközelítően 6 %, férfiak között 25 %. Egy, a közelmúltban végzett klinikai tanulmány már ezt a mennyiséget is kritikusnak tekinti, mert napi 1 pohár (férfiak esetében 0,3 l; nők esetében 0,2 l) Egri Cuvée fogyasztása már szignifikáns változásokat okozott a vér fémion összetételében és redox paramétereiben (KSH 2010, Bekő és mtsai 2010). Ez felhívja a figyelmet az anyagcsere romló tendenciájára, ami az előző pontban leírtak alapján számtalan betegség kiindulópontja lehet. Az alkohol bizonyítottan neurotoxikus tulajdonsága miatt memóriazavarokat, a motoros funkció zavarait, kognitív panaszokat egyaránt okozhat, stroke esetén rontja a betegek kilátásait, növelheti a diabetes mellitus és egyéb krónikus kórképek, valamint a tumoros betegségek kialakulását (Cao és Giovannucci 2016, Fontes-Júnior és mtsai 2016, Hernández és mtsai 2016, Kleiner 2015, Zhou és mtsai 2016).

Az alkohol lebontásának fő útvonalán az etanolt az alkoholdehidrogenáz acetaldehidre, majd ezt a vegyületet az aldehid-dehidrogenáz acetátra bontja. Az acetát már felhasználható a Szent-Györgyi-Krebs-ciklusban, és jelentős mennyiségű NADH termelésére fordítható. Alkohol abúzus esetén azonban a mikroszómális citokrom-P450-(CYP)2E1-útvonal is jelentős szerephez jut az alkohol eliminálásában, és kiemelkedően

nagy arányban termelődnek ebben az esetben a ROS-ok, valamint az alkalmazott gyógyszerek, és más xenobiotikumok metabolizmusát is felboríthatja (Lieber 1997).

Az alkohollebontás 90 %-ban a májban megy végbe, de a gyomorban történő bontás is jelentőssé válhat nagy mennyiségű alkohol fogyasztása esetén. Ilyenkor a gyomor barrier funkciót lát el a szisztémás alkoholverheléssel szemben (Lieber 1997). Alkoholizmus esetén az excesszív mennyiségben termelődő NADH már jelentős mértékben befolyásolhatja a glikolízis, a citrát-ciklus és a mitokondriális légzési lánc aktivitását, és további szabadgyök túlprodukcióhoz vezethet. A keletkező szabadgyökök ellen elsősorban az antioxidáns vegyületek (mint a flavonoidok, aszkorbát, GSH) és antioxidáns enzimrendszerek védenek. Egyik legismertebb ilyen enzimrendszer a NADPH-t és GSH-t igénylő GSH-peroxidáz/GSH-reduktáz rendszer, ami jelentős szerepet kaphat az alkoholizmus során is nagy mennyiségben keletkező H_2O_2 és a lipidperoxidok eliminálásában.

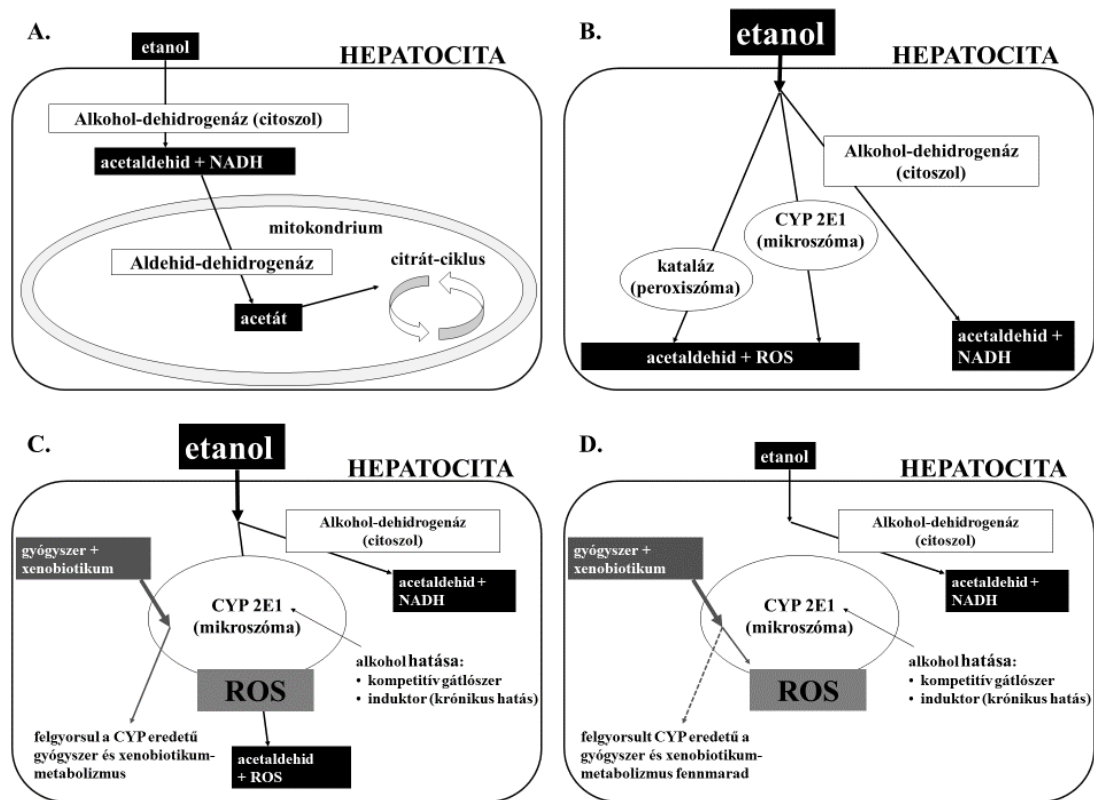
A GSH szintézise jellemzően aminosavakból *de novo* történik, de a fent említett antioxidáns enzimrendszerben a GSH-reduktáz redukálja a GSH-diszulfidot NADPH-val. A szervezet GSH-raktárait az állandó alkohol-terhelés viszont könnyen kimerítheti (Liang és mtsai 2013).

A NADH-nak azonban az egyik intracelluláris redoxipotenciált meghatározó koncentrációarányon, a NADH/NAD⁺ -arányán keresztül is szerepe van a sejtek redox-homeosztázisának fenntartásában. Ebből következik, hogy felhalmozódása önmagában is felboríthatja a sejtek redoxi egyensúlyát. A NADH okozta, úgynevezett „reduktív stressz” háttere azonban nem teljesen tisztázott, de ismert, hogy a NADH képes ferritinnel alkotott komplexéből Fe-ionokat felszabadítani, ami szabadgyökök termelését okozhatja, illetve a redukáló koeficiensek képesek lebomlani a xantin-oxidázon és xantin-dehidrogenázon keresztül, reaktív oxigén származékokat termelve (Ying 2008). Mind a xantin-oxidáz, mind a xantin-dehidrogenáz ismert ROS forrás, elsősorban viszont a purin anyagcserében, a különböző purinok húgysavvá történő oxidálásában kapnak fiziológiai szerepet (Lee és Lee 2014).

Alkoholfüggőség során komoly problémát jelent, hogy az elsődleges lebomlási útvonal mellett jelentőssé válik a mikroszómális rendszeren keresztül történő lebontás (1. ábra). Ebben az esetben a keletkező acetilaldehid mellett jelentős mennyiségben termelődik ROS is. A mikroszómális rendszer működéséhez köthető a hidroxietil szabadgyökök

termelődése is. A keletkezett hidroxietil szabadgyök könnyen adduktokat képezhet a jelenlevő fehérjékkel, amik antigénként funkcionálhatnak, így autoimmun folyamatok generálódhatnak. Az autoimmun folyamatok kialakulásának a lipidperoxidáció termékei is kedveznek (Albano 2002).

A mikroszómális rendszer szerepet kap továbbá a gyógyszerek, xenobiotikumok metabolizmusában. Az alkohol ismert szubsztrátja és induktora többek között a CYP2E1 mikroszómális enzimnek, ami az egyik legismertebb gyógyszereket, kábítószereket és xenobiotikumokat is metabolizáló enzim. Jellemző szubsztrátjai többek között az enflurán, izoniazid, fenilbutazon, paracetamol. Akut alkoholfogyasztás esetén a kompetíció miatt csökken a fent említett gyógyszerek klírensze, míg krónikus alkoholfogyasztás esetén ezeknek a vegyületeknek a metabolizációja felgyorsulhat. A gyógyszerek és más xenobiotikumok oxidatív bontása során gyakran képződhetnek toxikus vegyületek, mint például paracetamol esetén a glutation-depléciót okozó N-acetil-p-benzokinonimin. Ezek a vegyületek súlyosbíthatják az alkohol okozta májkárosodást. Az absztinencia első időszaka különösen veszélyes lehet az alkohol kompetitív gátlásának kiesése miatt, mert a megnövekedett enzimaktivitás (és gyógyszer eredetű toxintermelés) több mint egy hétig megfigyelhető (Lieber 1997). A redox-homeosztázis felborulása mellett kiemelt figyelmet érdemel a sejt S-adenozil-metionin (SAM), metilező ágens szintjének csökkenése is.



1. ábra. Az etanol lebomlása a hepatocitákban

Az alkohol kis mennyiségű fogyasztás esetén (A.) elsősorban az alkohol-dehidrogenázon keresztül bomlik le, majd a mitokondriumban az aldehyd-hehidrogenáz hatására acetát képződik. Ez a citrátciklusban metabolizálódva adozin-trifoszfát (ATP)-forrást jelent. Ha jelentősen megemelkedik a bevitt alkoholemennyiség (B.), az alkohol-dehidrogenáz-útvonal mellett jelentőssé válik a mikroszómális és a peroxiszómális útvonal is. A jelentős alkoholfogyasztás megváltoztatja a gyógyszerek (xenobiotikumok) metabolizmusát (C.), gyakran magasabb reaktív oxigén származék (ROS) termelést okozva. Az alkoholemegvonás hatására (D) a citokrom-P450-izoenzimek (pl.: CYP2E1) szintje nem rögtön redukálódik, így a kompetitív gátlás megszűnése miatt kiemelkedővé válik a gyógyszer- és xenobiotikum-metabolizmus hatására keletkező toxikus származékok termelődése (Lieber 1997).

Közismert továbbá, hogy az alkoholfogyasztás számtalan ponton megzavarja a homeosztázist, többek között az epitelsejtek működését és nagy energiájú metabolitok toxikus akkumulációjával járhat (Lieber 1997, Berg és mtsai 2002, Elamin és mtsai 2013). Az alkoholizmus az ismert májkárosító hatáson túl vezethet a porfiriák exacerbációjához, krónikus betegségek tüneteinek felerősítéséhez, mint pl. a gyomrot érintő kórképek vagy a gyulladáshoz vezető bélbetegségek esetén (Davidson 1989, Tilg és Kaiser 2004, Székely és mtsai 2006, Swanson 2010, Haas és mtsai 2012).

Tanulmányok hívják fel a figyelmet, hogy az alkoholizmus az antioxidáns védelmi rendszer működését is csökkenti, annak ellenére, hogy hosszabb távú vizsgálatok egy része, főként az állatkísérletek csak mérsékelt változásokat, károsodásokat írtak le az adaptáció és a redox-homeosztázis új egyensúlyának kialakulása miatt (Han és mtsai 2012, Silva és mtsai 2013).

Az epigenetikában bekövetkezett változások szintén jelentősek. A legismertebb két folyamat a hiszton-acetiláció megnövekedése és a lecsökkent hiszton és DNS-metiláció. Az acetiláció megnövekedése visszavezethető az excesszív acetil-csoportok koncentrációjára, vagy más, acetiláz/deacetiláz-módosító folyamatokra, amíg az alacsony metilezés háttérben valószínűsíthető a lecsökkent S-adenozil-metionin-szint (SAM) (Moghe és mtsai 2011). Feltételezhető, hogy változások szuperpozíciója szerepet kap az alkohol jól ismert tumorogén hatásában. Ezek magukba foglalják az acetaldehid direkt mutagén hatását a DNS-adduktokon keresztül és a DNS-károsodásokat a jelentős mennyiségű reaktív oxigén származék keletkezése miatt (Haas és mtsai 2012).

2.1.2. A redox-homeosztázis és az elhízás

Az alkoholfogyasztás mellett az egyik legjelentősebb, minden társadalmi réteget érintő problémaforrás az obezitás. Rurik és mtsai 2012-2015 között végzett reprezentatív tanulmánya felhívja a figyelmet, hogy az 1990-es évekhez képest egyértelmű a testtömegindex (BMI) növekedése. Jelenleg, BMI alapján a férfiak 40 %-a, nők 32 %-a túlsúlyos. Mindkét nem esetében a lakosság megközelítőleg 32 %-a számít elhízottnak. Életkori dekádonként vizsgálva a férfiak esetében az átlagos BMI értékek minden korcsoportban a túlsúlyos tartományba esnek, nőknél a 18-29 éves tartományt leszámítva a további korcsoportok szintén meghaladják a normálisnak tekintett 18,5-24,9 BMI-t. Kiemelkedően rossz mutatók figyelhetők meg a nők 40 év feletti korcsoportjaiban a hasi elhízást tekintetében. Ezekben az életkori dekádokban minden esetben 50 % felett van a 88 cm-t meghaladó derékkörfoggattal rendelkező nők aránya (Rurik és mtsai 2016). A tanulmány arra is rámutatnak, hogy a szakirodalomnak megfelelően a két legismertebb, elhízással összefüggő kórkép (a diabetes mellitus és a magasvérnyomás-betegség) a BMI-vel korrelációt mutatott. A vizsgálatban viszont kizáró tényezőnek számított a malignitás, mert a tápláltsági állapotot szignifikánsan képes befolyásolni, és így torzította volna az eredményeket. Azonban a daganatos betegségek egyik oka éppen a túlsúly és obezitás.

Jelen ismereteink szerint a malignitások megközelítőleg 20 %-áért tehető felelőssé a súlyfelesleg (De Pergola és Silvestris 2013). Habár mind a mai napig nem egyértelmű a súlyfelesleg és a tumorok rizikója közötti összefüggés, számtalan mechanizmust írtak le, melyek szerepet kaphatnak tumorok kialakításában. Ezek között az egyik legismertebb feltevés alapját az képezi, hogy túlsúlyos egyéneknél jellemzően megemelkedik az inzulintermelés, amíg az inzulinérzékenység csökken. A hiperinzulinémia és inzulinrezisztencia emelkedett inzulinszerű növekedési faktorszinttel (IGF) jár. Ez utóbbi proteinek nagy része normál körülmények között IGF-kötő fehérjékhez kötött állapotban található, csökkentve azok sejtciklusra és metabolizmusra kifejtett hatását, miközben elnyújtják a felezési időt. Ezzel szemben hiperinzulinémia esetében mind IGF-túlprodukciónak, mind IGF-kötő fehérjék csökkent szintézisének növeli az IGF proteinek biohasznosíthatóságát (Bardou és mtsai 2008, De Pergola és Silvestris 2013, Rajpathak és mtsai 2009).

Obéz egyéneknél szubklinikai jelentőségű krónikus gyulladásos állapot áll fenn. Valószínűsíthető, hogy a zsírszövet hipoxiája felelős a folyamatok elindításáért, amit nem mérsékel elégségesen az angiogenezis. Az inflammatorikus mediátorok szerteágazó szerepe egyre ismertebbé válik a tumorok, diabetes mellitus és egyéb krónikus, valamint akut kórképekben, obezitás esetén fel kell ismerni azok protektív szerepét is. Jelen ismereteink szerint ugyanis a gyulladáskeltő faktorok csökkentik az adipogenezist, lipolízist, angiogenezist, valamint az energiafelhasználást serkentve és az extracelluláris mátrix remodellingjét okozva végső soron felelősek a zsírszövet egészséges működéséért. Ez magyarázatul szolgál arra, hogy a különböző gyulladáscsökkentő terápiákkal végzett klinikai vizsgálatok miért nem okoztak markáns és egyértelmű javulást, ugyanis a gyulladásos folyamatokat összességében mérsékeltek, tekintet nélkül azok pozitív vagy negatív hatására (Hegedűs és mtsai 2011, Bardou és mtsai 2013; Ye és McGuinness 2013). A kialakuló krónikus gyulladásos állapot valódi szerepét azonban mind a mai napig nem ismerjük.

Az obéz egyéneknél megfigyelt krónikus gyulladás azonban állandó oxidatív stresszt is eredményez, ami szuperonáldik a túlsúlyosok metabolikus eredetű redoxi eltolódására. A keletkező excesszív mennyiségű szabadgyök végső soron hozzájárul az obéz egyéneknél megfigyelhető kimagasló tumorrizikóhoz, de negatívan befolyásolja a túlsúlyhoz asszociált inzulinrezisztenciát, alvási zavarokat, infertilitást, kardiovaszkuláris

betegségeket, máj és vese eredetű kórképeket is (Manna és Jain 2015). Ennek ellenére a társadalom eme rétege kimutatható módon kevésbé jár szűrővizsgálatokra. További problémaforrás a műszerek alkalmazhatósága a túlsúlyos emberek esetén (Maruthur és mtsai 2009; Park és mtsai 2015; Poloz és Stambolic 2015).

A malignus kórképek evidencia alapú kezelése mind a mai napig az egyik legszűkebb terápiás indexű gyógyszerekkel történik. Habár jelenleg a tumormarkerek szintje elsősorban a nyomonkövethetőségben jelentős, obéz onkológiai betegeknél problémaforrást jelenthet, hogy számos tanulmány alapján a hemodilúció miatt csökken a plazmaszintjük (Li és mtsai 2014; Poloz és Stambolic 2015, Wee és mtsai 2000, Zhu és mtsai 2016). A kezelések szempontjából kérdéses a megfelelő dozírozás. Amíg a nagyobb testfelszín, testtömeg miatt emelni kellene a bevitt hatóanyagmennyiséget, a nagy számban előforduló komorbiditás, valamint a vese, neurológiai, szív- és érrendszeri panaszok kemoterápia okozta exacerbációja miatt csökkenteni szükséges a kemoterapeutikumok mennyiségét (Poloz és Stambolic 2015).

2.1.3. Elemek és a redox-homeosztázis

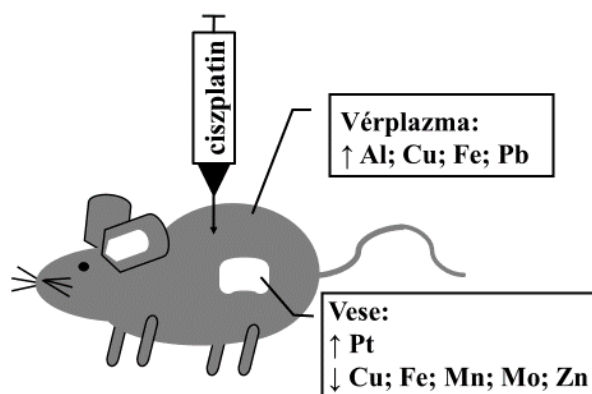
Mivel az átmeneti fémek esszenciális szerepet kapnak a szervezetben, és gyakran a redox-homeosztázis fenntartásában, a változásaik jelentősek lehetnek a különféle kóros folyamatok szempontjából. A nagymennyiségű Fe, Cu, Mn direkt módon, a Zn indirekt módon képes katalizálni a ROS-ok keletkezését, ugyanakkor ezek az elemek az antioxidáns enzimek működését is befolyásolják (McCord és Aizenman 2014, Máthé és mtsai 2014).

A neurodegeneratív kórképek esetében is igazolható a fémelem-háztartás felborulása, az elemek (elsősorban a Fe és/vagy a Cu) szintjeinek a zavara (Dusek és mtsai 2014, Singh és mtsai 2010, Ward és mtsai 2014). A Zn anyagcserezavara neuro-kotranszmitter tulajdonságából kifolyólag szintén megfigyelhető a neurodegeneratív betegségekben (Braidy és mtsai 2014). Mind az Alzheimer-kór, mind a Parkinson-kór esetében az Al akkumulációját is leírták, ami kiemelendő annak ismeretében, hogy ez az elem is lehetséges, pro-oxidáns tulajdonságokkal bír (Kumar és Gill 2009, Exley 2004).

Számtalan sebészeti, radioterápiás és kemoterápiás kezelés, valamint evidencia-alapú alternatív terápia áll rendelkezésre, hogy a tumoros kórképekkel küzdő betegek élethosszát megnövelje, vagy javítsa az életminőségüket (Boyle és mtsai 2008, Millar és

Davison 2012, Feng és mtsai 2013). Munkacsoportunk korábbi tanulmányaiban tumor miatt kezelt betegek esetében több jelentős eltérést is talált a fémelemszintekben a redox-homeosztázisban és a transzmetilezési kapacitásban (Blázovics és mtsai 2009, Blázovics és mtsai 2012, Nyirády és mtsai 2009). A különböző malignus kórképek esetében mind a Ca, mind a Mg, mind pedig az átmeneti fémek szintjei eltérhetnek a kontrollpopuláció értékeitől (Váli és mtsai 2008). Az eltolódott Ca/Mg arány, amit kolektomizált betegekben figyeltek meg, összefüggésbe hozható a malignitás miatt kezelték, elsősorban a kezelésben részesülő nők osteoporózisának gyakoribb előfordulásával (Blázovics és mtsai 2009). Jelentősen változott a vörösvértestekben mérhető Ca szintje a prosztatatumor miatt kezelt betegekben is. A magas prosztataspecifikus antigénnel rendelkező betegek eritrocitáiban szignifikánsan alacsonyabb volt az elem szintje a kontrollcsoportéhoz képest (Nyirády és mtsai 2009). Skinner és Schwartz 2009-ben ezzel szemben azt tapasztalta, hogy a magasabb szérumban lévő Ca-szint inkább a fatális prosztatatumor prediktora (csontáttét) (Skinner és Schwartz 2009). Az eltéréseket magyarázhatja a mérési eljárások differenciája, lehetséges azonban, hogy az utóbb említett tanulmányban a Ca mobilizálódását figyelték meg, ami végül a Nyirády és mtsai-nál (2009) megfigyelt Ca-deplécióhoz vezetett (Skinner és Schwartz 2009).

Az antitumor szerek, többek között a ciszplatin oxidatív stresszor tulajdonsága közismert, azonban azok fémhomeosztázisra kifejtett hatása már kevésbé tanulmányozott. „Short-term” patkánykísérletben vizsgálták az 5 mg/ttkg alkalmazott ciszplatin hatását. A vártnak megfelelően a ciszplatin emelte a szabadgyökök szintjét a szervezetben, ezzel párhuzamosan a vese Pt szintje is emelkedett, amíg csökkent a Fe-, Cu-, Mn-, Mo- és Zn-szint. A vérplazma Fe és Cu szintje viszont emelkedett (Máthé és mtsai 2014). Kiemelendő, hogy a nem esszenciális elemek közül az Al és az Pb plazmakoncentrációja szintén markánsan nőtt (Szentmihályi és mtsai 2014) (2. ábra).



2. ábra. A ciszplatin hatása a fémek szintjére

A ciszplatin hatására a vérplazma Al, Cu, Fe és Pb és a vese Pt szintje emelkedett, és csökkent a vese Cu, Fe, Mn, Mo és Zn szintje (Máthé és mtsai 2014, Szentmihályi és mtsai 2014).

2.1.4. A redox-homeosztázis és a transzmetilezés

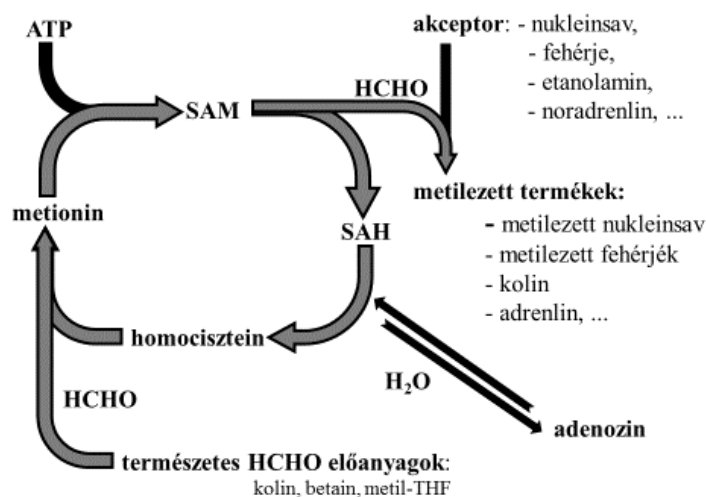
A transzmetilezési folyamatok a térszerkezet-módosító szubsztitúciós reakciók egyike. A reakciómechanizmusok a múlt század második felében kezdtek ismertté válni, de még napjainkban is számos tisztázatlan kérdés maradt azzal kapcsolatban, hogy milyen élettani folyamatokban mekkora jelentőséggel bírnak. A transzmetilezési folyamatok univerzalitására és jelentőségére felhívja a figyelmet, hogy az elmúlt években egyaránt jelentek meg közlemények baktériumokon végzett kutatástól, a humán szervezeten végzett tanulmányig (Beaulaurier és mtsai 2015, Blázovics és mtsai 2012).

Ismert, hogy a növényekben a mobilizálható metilcsoportok mérhető mennyisége általában megemelkedik gomba-, baktérium- vagy vírusfertőzésre, hő- és más abiotikus sokkra (Szarka 2008). Összehasonlító vizsgálatok igazolták, hogy adott fajon belül a nagyobb ellenállóképességű fajtákban jellemzően nagyobb mennyiségben fordulnak elő a kvaterner ammóniumvegyületek, amik képesek metildonor-vegyületekként viselkedni, mint a fogékonyabbakban. A fotoszintézis folyamán is megfigyelhető formaldehid (HCHO) képződés (Trézl és mtsai 1988, Sárdi és mtsai 2006, Sárdi és Tordai 2005).

Az állati sejtekben lejátszódó transzmetilezési folyamatok jelentőségére többek között Szende és mtsai-nak (1970) megfigyelései hívták fel a figyelmet. Kutatásuk eredményeként metilált lizinszármazékot mutattak ki Ehrlich karcinóma-sejtekben, majd

tumornövekedést serkentő hatásukat bizonyítani is tudták egereken végzett kísérletben (Szende és mtsai 1970). Tyihák és munkatársai 1977-ben azt tapasztalták, hogy míg az N^e-trimetil-lizinvegyületek a proliferációt fokozták, addig az arginin guanidinoscsoportjának metileződése gátolta a sejtosztódást (Tyihák és mtsai 1977).

Huszi és Tyihák 1986-ban bizonyította, hogy az endogén metilezési- és demetilezési folyamatok egyaránt HCHO-t generálnak. Az átmeneti termékként keletkező HCHO 5,5-dimetilciklohexán-1,3-dionnal (dimedon), mint adduktképző vegyülettel formaldemetonként megköthető, és analitikai módszerekkel mennyiségileg mérhető (3. ábra) (Huszi és mtsai 1986, Tyihák 1987, Sárdi és Tyihák 1994, Sárdi és Tyihák 1998).



3. ábra. A transzmetilezés folyamata

A metioninból ATP-vel SAM keletkezik, majd egy metilcsoport leadásával S-adenozil-homociszteinné (SAH) alakul. A SAH hidrolíziséből homocisztein keletkezik, amelyet a HCHO előanyagainak tekinthető metildonor vegyületek metilezni tudnak. (ATP = adenzin-trifoszfát, HCHO = formaldehid, SAH = S-adenozil-homocisztein, SAM = S-adenozil-metionin) (Tyihák és mtsai 1998 nyomán).

Mint az az ábrán látható, transzmetilezési reakciókban az akceptor molekulák metilezése az SAM metilcsoportjából képződő endogén HCHO-en keresztül valósul meg (Tyihák és mtsai 1998) (3. ábra). Az aminosavak, fehérjék, RNS vagy DNS metileződése enzimatikusan, HCHO-en keresztül történik, miközben S-adenozil-homocisztein (SAH) keletkezik. A SAH SAH-hidroláz hatására adenzinra és homociszteinre bomlik. A homociszteint a homocisztein-metiltranszferáz metilálja, vagy a cisztationin-szintetáz és

a cisztationin-liáz segítségével α -ketobutiráttá alakul. A homocisztein-metiltranszferáz kofaktora a Co-kationt tartalmazó korrinvázis B₁₂-vitamin. Az endogén metilezés során metionin keletkezik, ami metionin-adenozil-transzferáz segítségével SAM-ná alakul. Ezt a körfolyamatot aktivált metilciklusnak hívják. Ha cisztationinon keresztül történik a homocisztein lebomlása, a szulfhidril-csoport egy szerin hidroxilcsoportját szubsztituálja, és cisztein keletkezik. Ennek az átalakulásnak szignifikáns szerepe lehet a sejtek redox-homeosztázisa szempontjából is.

A transzmetilezés sarkalatos pontjait Cantoni már 1951-ben leírta, illetve feltételezte, hogy a fő kofaktor valószínűleg az aktivált metionin. Az elmúlt évtizedek alatt a transzmetilezés szerepét pedig alátámasztották a génfunkció módosításában, a proliferációban és az apoptózisban is (Cantoni 1951, Kleiner és mtsai 2013).

A transzmetilezési folyamatok közül legjelentősebbnek a kreatin-, a foszfatidilkolin- és a szarkozinszintézist tartják. Stead és mtsai (2006) ezek mellett kiemelik a homocisztein remetilálását is. A kutatások a fenti folyamatokhoz képest elenyészőnek tüntetik fel a poszttranszlációs és epigenetikai módosításra felhasznált metildonor mennyiséget, és kevésbé ismert ezeknek a folyamatoknak az érzékenysége a metildonor-készletre. A publikált eredmények alapján figyelemre méltó a metilezési reakciók hibájával járó rákos megbetegedések száma (Stead és mtsai 2006, Mudd és mtsai 2007, Laird és mtsai 1994) A metil-pool feltöltöttségének vizsgálata ezért sarkalatos ponttá válhat a rákkutatásban, ezzel párhuzamosan előtérbe kerülhet metildonorok bevitele mind a prevencióban, mind az adjuváns kezelések esetén, többek között az uralhatatlan tumoros anémia során (Laird és mtsai 1994; Blázovics és mtsai 2012).

Ma már bizonyított, hogy a szervezetben zajló metilezési reakciók leggyakrabban SAM kofaktor segítségével, HCHO átmeneti termék képzésén keresztül történnek (Huszti és mtsai 1986).

A kardiovaszkuláris események rizikófaktoraként ismert homocisztein annak ellenére, hogy szabad szulfhidrilcsoportot tartalmaz, oxidatív stresszt okoz. Ennek hátterében valószínűleg a Hogg által feltételezett autooxidációs mechanizmus állhat, habár a homociszteinnek lassabb az autooxidációja, mint a ciszteinnek, az utóbbi jelenlétében felgyorsul a homocisztein-függő oxigénfogyasztás. Valószínűsíthető, hogy a folyamat hátterében a cisztin ciszteiné történő redukciója, vagy más, szulfhidril-csoportot tartalmazó anyag (pl.: albumin) redukciója áll, és ez utóbbi vegyületek felelősek a tiol-

függő oxidatív stresszért (Hogg 1999; Herrmann és mtsai 2000, Sengupta és mtsai 2001; Finkelstein és mtsai 1971, Lever és mtsai 2012).

Biokémiai ismeretek alapján feltételezhető a transzmetilezés és a redox-homeosztázis szoros kapcsolata. A GSH-rendszer működéséhez szükséges GSH-ban egy cisztein molekula található. A cisztein kénatomja az SAM keletkezéséhez szükséges metionintól származik (Cantoni 1951, Tyihák és mtsai 1998, Ditscheid és mtsai 2005). A metionin szintéziséhez folsav szükséges, amit a dihidrofolát-reduktáz NADPH segítségével tetrahidrofoláttá (THF) redukál. Kolin, betain, és egyéb metildonor-vegyületek jelenlétében a THF képes metil-THF-tá alakulni, és transzmetilezési folyamatokat katalizálni (Ditscheid és mtsai 2005).

2.2. Táplálkozási faktorok és a redox-homeosztázis

A túlzott energiabevitel, alkoholfogyasztás, valamint a minőségileg kifogásolható és növényi eredetű táplálkozási faktorokban szegény étrend tipikusan a modern társadalmakat érintő problémakör. Ennek megfelelően a szakirodalomban már viszonylag hosszú ideje ismert a "nyugati étrend" fogalma, amit nagy mennyiségű telített- és ω -6-telítetlen zsírsavbevitel, csökkent ω -3-telítetlen zsírsav bevitel, túlzott sóhasználat, valamint nagy mennyiségű finomított cukor fogyasztása jellemez. E táplálkozási eltolódásokat a legjelentősebb életmódbeli faktorokként tartják számon, mert szerteágazó ok-okozati viszonyon keresztül egyaránt befolyásolják a kardiovaszkuláris, valamint egyéb krónikus kórképek és a malignitások kialakulását (Birchwood 1972, Cordain és mtsai 2005, De Pergola és Silvestris 2013).

A nyugati étrend egyik jelentős tényezője a növényi eredetű táplálkozási faktorok beszűkülése, annak ellenére, hogy napjainkra igen szélessé vált ismeretünk a növényi eredetű táplálékforrásokról, fűszerekről, fitoterapeutikumokról és kivonatokról, melyek pozitív hatásai nemcsak a gasztrointesztinális traktusban közismertek. Ezzel párhuzamosan mindmáig szerteágazó kutatások folynak a növényi eredetű táplálkozási faktorok, fitoterápiás készítmények egészségre gyakorolt hatásával kapcsolatban. Elsődleges célom ezért e fejezetben csak a téma szempontjából jelentőssé váló gyümölcsök, zöldségek és fűszernövények terápiás jelentőségének irodalmi áttekintése. Habár a civilizációs betegségek multifaktoriális patológiával rendelkeznek, a nyugati étrend egyértelmű szerepet kap exacerbációjukban. A gyümölcs és zöldségfogyasztás

klinikai relevanciáját Wang és mtsai (2014) az elmúlt években metaanalízissel is igazolta. Nem meglepő ezért, hogy számtalan, a hétköznapi életvitelbe illeszthető élelmiszert, többek között kedvelt gyümölcsöket vizsgáltak olyan hatóanyagokat keresve, melyek képesek lehetnek a betegségek kialakulását, patológiáját módosítani. Ezek között egyre nagyobb figyelmet kapnak az áfonyafélék. Legtöbb tanulmány a polifenoltartalomra, ezen belül a flavonid- és antocianintartalomra, valamint a hidroxicinnamát-származékokra fókuszál, mivel ezek a vegyületek közismert antioxidánsok, és markáns hatást gyakorolhatnak a homeosztázisra a redox rendszer tagjaiként (Ieri és mtsai 2013, Nile és Park 2014, Kleiner és mtsai 2016b, Nardi és mtsai 2016, Wang és mtsai 2014). Az antocianinok szerepe napjainkban igen jelentős, mert amíg az élelmiszeriparban színezőanyagként váltak ismertté, addig orvosi szempontból antikarcinogén tulajdonságuk miatt mutatkoznak értékesnek (Nile és Park 2014). Néhány tanulmány rámutat az antocianin-származékok húgyúti fertőzések esetén kifejtett jótékony hatásaira is, azonban az áfonyafélék legismertebb antibakteriális tartalmi anyaga, az arbutin, valamint az arbutin-származékok. Az arbutin egy hidroxikinon-származék, így a lehetséges toxikus hatások elkerülése miatt kerülendő a túlzott fogyasztása. A vegyület és derivátumait az irodalomban elsősorban a vörös áfonyában (*Vaccinium vitis-idaea* L.) és a fürtös áfonyában (*Vaccinium corymbosum* L.) írták le (Yang és Jiang 2010, Ieri és mtsai 2013, Nile és Park 2014). A polifenolos vegyületekben gazdag gyógynövények urológiai alkalmazása azonban Samiolova és mtsai (2014) kísérletei alapján az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia lehetőségét is hordozhatják. *In vitro* tanulmányukban *Escherichia coli* baktériumokon figyelték meg különböző antibiotikumok és növényi kivonatok hatását. Amíg ampicillin kezeléskor a vörös áfonya kivonata elnyújtotta, kanamicin esetében felgyorsította a baktériumok líziséig eltelt időt. A telepképző egységet vizsgálva a vörös áfonya hozzájárult, hogy a csak ciprofloxacinnal vagy ampicillinnel kezeltékhez képest megemelkedett a telepképző egységek száma az antibiotikummal és növényi kivonattal történő kezelés után. Az előzőeknek megfelelően ugyanez a kísérlet kanamicinnel elvégezve a vörös áfonya antibiotikummal szinergista hatására mutatott rá. Ezek háttérében feltételezhető a kivonatok antioxidáns, elsősorban a Fe-kelátképző képessége, valamint a polifenolok prooxidáns tulajdonsága. Az áfonyafélék általában fontos vitaminforrást jelentenek, de az esszenciális ásványianyagtartalmuk nem tekinthető jelentősnek (Nile és Park 2014, Skesters és mtsai 2014). Mivel

az áfonyafélék gazdagok antioxidánsokban és általában jól tűrik a hideg és száraz környezetet, az északi régiókban jól termeszthető növényeknek tűnnek (Mikulic-Petrosek és mtsai 2012).

Szintén jelentős polifenoltartalmú gyümölcsökként ismert a narancs (*Citrus sinensis* L.). Hazánkban elsősorban vitaminokban és fenolos vegyületekben dús húsa miatt tartják számon, de orvosi szempontból szekunder anyagcseretermékekben gazdag héja is értékes lehet (Erukainure és mtsai 2016, Yoshizaki és mtsai 2014). Különös figyelmet kap a narancsdzúsús fogyasztása, ugyanis egy Egyesült Államokban végzett tanulmány szerint a 100 %-os narancsleveket fogyasztók között kisebb arányban fordult elő az obezitás, alacsonyabb volt az össz- és az LDL-koleszterinszint, valamint a férfiak esetében ritkább volt a metabolikus szindróma, továbbá magasabb volt az A-provitamin, B₆, C-vitamin- és folsavbevitel is (O'Neil és mtsai 2012). A hosszútávú (tizenkét hónapot meghaladó) narancsléfogyasztás össz- és LDL-koleszterinszintet csökkentő hatását 2013-ban Apteckman és Cesar egy 129 önkéntessel végzett tanulmányban szintén igazolta (Apteckman és Cesar 2013). A diszlipidémiát mérséklő hatások háttérében a szerzők kiemelik a citrus-flavonoidoknak, jelen esetben a heszperidin aglikonjának, a heszperetinnek és a naringeninnek a szerepét. Ezek a vegyületek képesek az LDL-koleszterinszintet mérsékelni a szintézis és észterifikáció gátlásával, ami a mikroszómális transzfer-protein és az acil-koenzim-A-koleszterin-aciltranszferáz aktivitásának befolyásolásán keresztül valósul meg. A fenti hatások kardiovaszkuláris előnyét kiegészíti, hogy az elmúlt években megfigyelték, hogy a narancslé csökkenti a magas zsír és szénhidrát fogyasztását követő oxidatív stresszt és gyulladásos választ, valamint a toll-like receptor expressziót és endotoxin koncentrációt (Ghanim és mtsai 2016). Ez hozzájárulhat az ateroszklerózis és inzulin-rezisztencia kialakulásának mérsékléséhez.

A citrusfélékben, és így a narancsban is megtalálható vitaminoknak (elsősorban folsavnak és C-vitaminnak), karotinoideknak, és flavonoidoknak kemopreventív hatást tulajdonítanak. Nem meglepő, hogy számtalan tanulmány vizsgálta a citrusfélék tumorelles hatását, és jelenleg metaanalízisek is alátámasztják a szerepüket például emlőtumorok, nyelöcsőtumor és gyomorrákok esetében (Bae és Kim 2016, Franke és mtsai 2013, Luca és mtsai 2016, Song és Bae 2013, Wang és mtsai 2015).

A narancsban, citromban található flavonoidok közül a heszperidin és diosmin hatásosságát igazolja, hogy a Detralex 500mg filmtabletta gyógyszer kettős-vak klinikai

vizsgálatok alapján már 1991-ben engedélyezték. Terápiás javallata az alsó végtagi krónikus vénás elégtelenség és az akut aranyeres panaszok (https://www.ogyei.gov.hu/gyogyszeradatbazis/index.php?action=show_details&item=12917; Detralex alkalmazási előirat, ellenőrzés: 2016.06.04.). A tapasztaltakat kiegészíti Rapavi és mtsai (2006, 2007) Wistar patkányokon végzett tanulmányai. Zsírduzs táppal etetett állatoknál kialakult alimentáris eredetű zsírmáj esetében a gyógyszer képes volt az antioxidáns paraméterek egy részét javítani, de a dién-konjugátumok szintjét inkább emelte a májhomogenizátumban. Továbbá, a tioacetamid hatására bekövetkezett májkárosodást vizsgálva a nagy dózisú Detralex-terápa inkább felerősítette az oxidatív stresszt.

A polifenolos vegyületek káros hatásaira munkacsoportunk további vizsgálatai is rámutatnak. Egy polifenolos vegyületekben gazdag étrend-kiegészítőt vizsgálva, kolektomizált betegekben a redox-homeosztázist jellemző paraméterek inkább a túlzott antioxidáns bevitele miatt kialakult "rebound" effektust mutatták mindkét csoportban, csökkent a szabadgyökfogó kapacitás mind a plazmában, mind az eritrocitákban, valamint csökkent a redukálóképesség a plazmában (Blázovics és mtsai 2016).

A fentiekből kifolyólag az optimális élettani hatások szempontjából napjainkban is vizsgálják a különböző módon előállított 100 %-os narancslevek közötti különbségeket, amit Bai és mtsai (2013) összevetettek a kézzel facsart narancslevekkel is (Agcam és mtsai 2014, Kleiner és mtsai 2015b). A vártak megfelelően markáns eltéréseket tapasztaltak többek között a polifenoltartalomban, azon belül is a flavonoidok tartalmában, valamint a karotinoid-tartalomban is, de általánosságban a heszperidintartalom nagy mennyiségűnek bizonyult a többi flavonoidhoz viszonyítva (Bai és mtsai 2013). Különösen érdekes lehet azonban a kérdés abból a szempontból, hogy Magyarországra már 2014 első tíz hónapjában is közel 19000 tonna narancsot importáltak, továbbá az elmúlt évben sem történt markáns csökkenés az importban. Ugyanakkor a 100 %-os gyümölcslevekhez képest a narancsfacsaróval készített gyümölcslevek kevésbé raktározhatók, és a fogyasztó számára időigényesebb is elkészíteni, ami felveti a kérdést, hogy helyettesíthető-e élettani szempontból a facsart narancslé és a vásárolt 100 %-os narancslé (Stummer és Vágó 2015, KSH 2017).

A növényi eredetű faktorok közül az orvostudomány számára ki kell emelkedjenek a gyógynövények. Nem meglepő tehát, hogy amíg az alkoholhoz köthető károsodásokat az

absztinenciával lehet valójában megelőzni és kezelni, a panaszok enyhítésére fitofarmakonokat is szerteágazóan alkalmaztak és napjainkban is alkalmaznak. Többek között a máriatövis (*Sylibum marianum* L.), gyömbért (*Zingiber officinale* Roscoe), kakukkfűvet (*Thymus vulgaris* L.) vagy az édesgyökeret (*Glycyrrhiza glabra* L.) tradicionálisan jó májvédőként tartották számon (Fehér és mtsai 1998, Shati és Elsaid 2009, Ghosh és mtsai 2011, Jae-Chul és mtsai 2015). Figyelembe véve, hogy az alkohol gyomorkárosító szerepe is jelentős, így az édesgyökérnek, illetve fő komponensének a glicirrizinnek, valamint a derivátumainak alkalmazása további előnyökkel járhat, mivel közismert gyomorvédők (Chandrasekaran és mtsai 2011, Chávez-Piña és mtsai 2011).

A glicirrizin hatása, főképp a májban nem teljes mértékben tisztázott, azonban a tanulmányok szerint csökkenti a CCl₄ okozta májkárosodást, feltételezhetően a lipid kettős réteggel való kölcsönhatásának köszönhetően (Lee és mtsai 2007, Schröfelbauer és mtsai 2009). További tanulmányok szerint a hepatociták mitokondrium-eredetű apoptotikus útvonalának gátlásán keresztül fejtheti ki a hatását. Gwak és mtsai (2012) a high-mobility group box 1 (HMGB1) gátlását figyelték meg, ami szintén csökkent apoptózishoz vezetett, de p38-eredetű útvonalon. Ezzel párhuzamosan Guo és mtsai (2013) alacsonyabb p53-szintet írtak le, ami mérsékeltebb mitokondrium-indukálta sejthalálhoz vezetett. A glicirrizinnek további előnyös tulajdonsága, hogy csökkentheti a kollagén-akkumulációt és így mérsékelheti a fibrotikus folyamatok progresszivitását (Tu és mtsai 2012).

A fenti pozitív hatások ellenére a glicirrizin nehezen alkalmazható gyógyszerként fő mellékhatása, a pszeudoaldosteronizmus és a markáns first-pass metabolizmusa miatt (Shibata 2000, Wang 1994). In vivo mind a glicirrizin, mind annak fő származéka, a glicirretinsav képes pszeudoaldosteronizmust okozni (Ojima és mtsai 1990, Kageyama és mtsai 1994, van Uum és mtsai 1998, Kim és mtsai 2000). A liposzómális alkalmazás azonban előnyösnek tűnik, sőt, további lehetőséget nyújt a célzott terápiára is, mivel megnő glicirretinsavat vagy glicirrizint tartalmazó nanopartikulák hepatikus felvétele (Tsuji és mtsai 1991, Shi és mtsai 2012, Keservani és mtsai 2013).

3. Célkitűzés

Kutatásunk célja a redox-homeosztázis és a transzmetilezés kapcsolatának felderítése volt, abból a megfontolásból, hogy az irodalmi adatok abba az irányba mutattak, hogy a szabadgyökös reakciók, a táplálkozási faktorok és a szervezet metiláltsági szintje között szoros kapcsolat létezik.

A redox-homeosztázis kutatása az elmúlt évtizedek alatt már jelentős eredményeket mutatott fel, és számos adat vált ismertté a transzmetilezés jelentőségét illetően is, a kapcsolat mégsem volt azonnal értelmezhető. Tekintettel arra, hogy a tumoros betegek redox-reakciói eltérnek az egészséges egyedekétől és metiláltsági szintjük alapján hipometiláltak annak ellenére, hogy DNS-ük hipermetilált régiókat tartalmaz, egyértelművé vált számunkra, hogy a táplálkozási faktorok hatásának vizsgálata nem kerülhető meg ebből az aspektusból sem.

Ismert, hogy a tumorok kialakulása, a genetikai determináltság mellett, megközelítőleg 30 %-ban függ a táplálkozás minőségétől, sőt az is ismert, hogy a rákos betegek életminősége, gyógyulási folyamata, a metasztázis minél későbbi időre történő kitolódása ugyancsak szoros korrelációt mutat a táplálkozási faktorok helyes megválasztásával, melyet az utóbbi évtizedek táplálkozástudományi kutatásai is igazoltak, különös figyelemmel a népgyógyászatban évszázadok alatt sikerrel alkalmazott egyes élelmiszerek fogyasztásának jelentőségére.

Előtanulmányaink során arra voltunk kíváncsiak, hogy a táplálkozási lánc különböző szintjein az élő szervezetek redox-rendszerei, fémlemtartalma és transzmetilezési folyamatai milyen különbségeket mutatnak táplálkozás-egészségügyi szempontból.

Ennek megfelelően a mindennapos táplálkozásban jelentős, és bioaktív hatóanyagokban gazdag növények, a búza (*Triticum aestivum* L.), bab (*Phaseolus vulgaris* L.), cékla (*Beta vulgaris* L. var. *rubra*), a káposzta (*Brassica oleracea* L.) és az állati eredetű élelmi alapanyagok, a baromfi- (*Gallus gallus domesticus* L.), illetve nyúl máj (*Oryctolagus cuniculus* var. *domestica*) könnyen mobilizálható metilcsoportjainak mennyiségét kívántuk meghatározni, és összefüggéseket keresni a redox-paraméterek és a metiláltsági szintek között.

Ezzel párhuzamosan a feldolgozott élelmiszerekben, kivonatokban is vizsgáltuk az antioxidáns paramétereket és egyéb bioaktív anyagok jelenlétét. Összehasonlító vizsgálatokat végeztünk a fürtös (*Vaccinium corymbosum* L.), a fekete (*Vaccinium*

myrtillus L.) és a vörös áfonya (*Vaccinium vitis-idaea* L.) vizes kivonatai között. Mértük, milyen különbségek detektálhatók a 100 %-os narancslevek és a kézzel facsart narancsok (*Citrus sinensis* L.) leve között. Fekete áfonya (*Vaccinium myrtillum* L.), ananász (*Ananas comosus* L.), fekete ribizli (*Ribes nigrum* L.) és meggy (*Cerasus vulgaris* Mill.) kivonatát tartalmazó keménycukor készítmények összehasonlító vizsgálatát is elvégeztük.

Kísérletes kutatásokat végeztünk annak eldöntésére, hogy bizonyos táplálkozási faktorok milyen módon befolyásolhatják a redox-homeosztázist, valamint az azzal kapcsolatban álló rendszereket. Patkánykísérletekkel a tumorrizikóval járó obezitást és alkoholizmust kívántuk modellezni. Az alimentáris eredetű zsírmáj modellel az excesszív energia- és ω -6-telítetlen zsírsavbevitellel járó nyugati étrend redox-homeosztázisra, valamint az azzal szoros kapcsolatban álló transzmetilezésre kifejtett hatásait kívántuk modellezni.

Kísérletes kutatásainkban arra is kíváncsiak voltunk, hogy miképp fejti ki hatását a hosszú távú alkoholfogyasztás az antioxidáns-szabadgyök egyensúlyra, valamint a metil-poolban bekövetkező változásokra. További célunk volt a liposzómális glicirrizin-kezelés hatékonyságának becslése az alkohol okozta károsodás kivédése érdekében.

E kutatások eredményessége céljából a kötött HCHO mérésére alkalmazott analitikai módszert adaptáltuk, illetve rutinlaboratóriumi mérésre is alkalmas nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC)-módszert dolgoztunk ki.

Humán tanulmányainkban a kolorektális tumorok során tapasztalt redoxi és azzal asszociált metilezettség eltéréseit kívántuk elemezni.

Tanulmányaink során felfigyeltünk arra, hogy a kemoterápiát kapó betegek között gyakran kialakul demenciához hasonló „chemobrain”. Mivel korábbi kutatások során több tumoros beteg esetében fémion-vizsgálatok is történtek a redox-homeosztázis vizsgálata során, retrospektív tanulmányunkban arra kerestük a választ, vajon e jelenséghez hozzájárulhat-e a fémion-háztartás zavara.

4. Anyagok és módszerek

Az alábbi fejezetben a felhasznált anyagok forrását követően a kutatás során alkalmazott metodikák és kísérletek találhatók.

4.1. Anyagok

A H₂O₂ oldatot (30 %), Folin-Ciocalteu fenol reagenst, 5,5-dimetilciklohexán-1,3-diont (dimedon), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilt (DPPH), 5,5'-ditiobisz(2-nitrobenzoészav)-at (DTNB), redukált glutationt, redukált NADH dinátrium só, redukált NADPH tetra(ciklohexil-amin) só, glicirrizinsav ammóniumsóját, foszfolipideket, 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazindiont (luminol), mikroperoxidázt (MP-11), a glicirrizin ammónium sóját és borjú szérumalbumint a Sigma-Aldrich Kft.-től (St. Louis; USA.) rendeltük meg. CHR hemoglobin D oldatot a Reagens Kft.-től (Budapest, Magyarország) vásároltuk.

A Silica gél 60 F₂₅₄ vékonyrétegeket a Merck Kft.-től (Darmstadt, Németország) szereztük be. A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiához alkalmas vizet Millipore Direct Q5 víztisztító rendszerrel állítottuk elő (Bedford, MA, USA.).

A karbamid (CARB), kreatinin (CREA), húgysav (UA), teljes fehérje (TP), albumin (ALB), teljes és direkt bilirubin (T- és DBIL), glutamát-oxalát transzamináz/aszpartát aminotranszferáz (GOT/AST), glutamát-piruvát transzamináz/alanin aminotranszferáz (GPT/ALT), gamma-glutamil transzferáz (GGT), alkáli foszfatáz (ALP), albumin (Alb) és globulin (GLOB) szintet a Roche (Roche (Magyarország) Kft., Budaörs, Magyarország) által gyártott kitekkel, sztenderd módon határoztuk meg. A karcinó-embriónális antigént (CEA), a szénhidrát antigén 19-9-et (CA 19-9), valamint az α -fötöproteint (AFP) immunoluminometriai kitekkel LIA-mAT (Budapest, Magyarország) határoztuk meg.

A hidrogénezett szója foszfatidilkolint (Phospholipon 90H) a DSPE-PEG2000 pegilált lipidkomponenst a Lipoid AG-től (Cham, Svájc), a koleszterint Avanti® Polar Lipids, Rt.-től (Alabaster, USA.), a liposzómák előállításához szükséges további oldószereket a WVR International LLC-től (Budapest, Magyarország), egyéb reagenseket a Molar Biochemicals Kft.-től szereztük be. A liposzómás glicirrizint, és a gyógyszer nem tartalmazó liposzómális rendszereket a Semmelweis Egyetem Nanomedicina Kutató és Oktató Központ készítette el.

Az itt fel nem sorolt egyéb beszerzéseket a 4.2. Módszerek egyes fejezeteiben találhatók.

A gyógyszerkönyvi minőségű termékeket gyógyszertárban vásároltuk.

A fürtös (*Vaccinium corymbosum* L.), fekete (*Vaccinium myrtillus* L.) és vörös (*Vaccinium vitis-idaea* L.) áfonyamintákat Lettországból szereztük be (Riga Stradiņš University, RSU Dzirciema Str. 16, Riga, LV-1007, Latvia).

A vákuumszárított gyümölcsökből előállított keménycukor-készítmények a GPS Powder Kft. (Budapest, Magyarország) ajándéka volt.

4.2. Módszerek

Az alábbi pontokban a disszertációban alkalmazott mérési metodikák rövid összefoglalója olvasható.

4.2.1. Növényi eredetű minták előkészítése

A *Vaccinium*-, *Citrus sinensis*- és gyümölcs kivonatokat tartalmazó keménycukorminták előkészítése során törekedtünk a fogyasztási szokásoknak megfelelő extraktumok készítésére.

4.2.1.1. *Vaccinium* fajok

A liofilizált gyümölcsmintákat vizes hígítást követően (1 g/10ml) koncentrációjúra állítottuk be, és a heterodiszperz rendszert Whatman redős szűrőpapíron keresztül megszűrtük, majd vízzel hígítási sort készítettünk a növényi eredetű tartalmi anyagok meghatározásához (lásd: 4.2.5.1. fejezet) és a redox-paraméterek (lásd: 4.2.6. fejezet) meghatározásához. A nedves tömeghez képest visszamaradt anyagmennyiségek aránya az 1. táblázatban látható.

1. táblázat. A nedves tömeghez képest visszamaradt anyagmennyiségek százalékban kifejezett aránya.

	%
Fürtös áfonya (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.)	12,2
Fekete áfonya (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	8,6
Vörös áfonya (<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.)	22,1

4.2.1.2. Citrus sinensis (L.) fajták

Kereskedelmi forgalomban kapható „Salustiana”, „Navel” és „Lane late” narancsfajtákat (*Citrus sinensis* L.) kézi narancsfacsaróval facsartuk, narancsonként 4-4 g-ot (+/-1 %) Potter-Elvehjem készülékbe mértünk, majd homogenizáltuk. Kereskedelemben kapható 100 %-os narancslevek (Cappy 100 %; Happy Day; Rauch 100 %; Sió 100 %; Spar Orange 100 %; Topjoy 100 %) 20 ml-ét Potter-Elvehjem készülékbe mértünk, homogenizáltuk. Mindkét fajta mintát 10 percig 2000 rpm-en centrifugáltuk. A mintát a felülúszóból vettük további vizsgálatokhoz (lásd: 4.2.5. és 4.2.6. fejezet).

4.2.1.3. Gyümölcskivonatot tartalmazó keménycukorminták vizsgálata

A fekete áfonya (*Vaccinium myrtillum* L.), ananász (*Ananas comosus* L.), fekete ribizli (*Ribes nigrum* L.) és meggy (*Cerasus vulgaris* Mill.) tartalmú keménycukrokból 5-5 db-ot HPLC-minőségű vízben oldottuk, 10 g/100ml koncentrációjú oldatokat készítettünk. További hígítások után végeztük el vizsgálatainkat (lásd: 4.2.5. és 4.2.6. fejezet).

4.2.2. Állatkísérletek

Az állatkísérleteket a 40/2013. (II.14.) rendelet (az 1998. évi XXVIII. törvény módosítása) betartása mellett végeztük. Engedélyszám a patkánykísérletekhez: 770/004/04; XIV-I-001/229-4/2012; brojlerkísérlethez: 22.1/613/001/2010; nyúlakísérlethez: 22.1/5/003/2010. Az állatok eutanáziája a Kormány 40/2013 (II. 14.) Kormányrendelete az állatkísérletekről 4. mellékletben ("Az állatok leölésének módszerei") megadottak szerint történtek.

4.2.2.1. Patkánykísérletek

Patkánykísérleteinkkel olyan modellrendszereket próbáltunk kialakítani, melyek tükrözik a társadalmi szokásokat, így releváns információkkal szolgálnak a nyugati társadalmakat érintő problémákról.

4.2.2.1.1. Zsirdús étrend vizsgálata

Az zsirdús étrend vizsgálatainkhoz hím Wistar patkányokat (200-250 g) használtunk (Biofarm Prompt Kft., Gödöllő, Magyarország), melyek jól modellezik az alimentáris eredetű zsírmájat. A kontrollcsoport (N = 5) csak sztenderd patkánytápot fogyasztott. A

zsírdús diéta az egyik csoport (N = 5) esetén 2 % koleszterint, 20 % Venus étolajat (kereskedelmi forgalomból) és 0,5 % kólsavat, a másik csoport esetén (N = 5) 1 % koleszterint, 0,3 % kólsavat és 11 % napraforgóolajat tartalmazott a kontrolltápra keverve.

A tizedik napon a terminálást mély narkózisban [75 mg/ttkg ketamin (Calypsol 50 mg/ml oldat), 7,5 mg/ttkg xilazin (Rompun 20 mg/ml oldat)] a hasi vénán keresztül történő exsanguinatioval végeztük. A májakat a kivéreztetés után izotóniás NaCl oldattal mostuk, Potter-Elvehjem készülékkel homogenizáltuk, majd -20 °C-on tároltuk a mérésekig. A sztenderdizálást a 4.2.10.1. szerint mért fehérjetartalom alapján végeztük.

Az állatok tartása és kezelése az Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézetben, illetve jogelődjében (Herceghalom, Magyarország) történt.

4.2.2.1.2. Glicirrizin hatása az alkoholos eredetű zsírmájra

Hím Harlan-Wistar (Toxicoop, Magyarország) patkányokat használtunk az alkoholos eredetű zsírmáj tanulmányozásához (kezdő tömeg: 175-200 g). A konvencionálisan tartott állatok közül 7-7 állat akklimatizációt követően 4 naponta emelkedő alkoholmennyiséget kapott (1, 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14 %) vizes alkoholos oldat formájában az itatóvizében *ad libitum*. Ezt követően 8 héten keresztül 14 % alkoholt tartalmazó ivóvizet fogyasztottak, majd az utolsó 4 hétben az alkohol mennyiségét 20 %-ra emeltük. Az alkoholt fogyasztó patkányok egyik fele (N=7) heti kétszer 156 µl/0,1ttkg mennyiségű, liposzómális glicirrizint kapott (5 mg glicirrizin/ml), amíg az alkoholt fogyasztó patkányok másik fele (N=7) intravénásan csak izotóniás NaCl oldatot kapott az azonos napokon. A kontrollcsoport (N=5) állatait hasonló módon tartottuk, mint a kezelteteket, de semmilyen egyéb kezelést nem kaptak.

A 16. héten termináltuk az állatokat. A kísérlet végén az állatok terminálását izoflurán anesztézia mellett végeztük (4 %-os izoflurán O₂-ben eloszlatva). A *lobus sinister lateralist* az zsírdús étrend vizsgálatánál leírtak szerint kivéreztetést követően mostuk, homogenizáltuk és a mérésekig tároltuk. A sztenderdizálást a 4.2.10.1. szerint mért fehérjetartalom alapján végeztük.

Az állatok tartása és kezelése a Kórélettani Intézetben (Nagyvárad tér 4., Budapest, Magyarország) történt.

4.2.2.2. Baromfikísérlet

Kereskedelmi forgalomban levő „befejező” broilertápot (Farmer-Mix Kft., Zsámbék, Magyarország) kapó 6 brojlersirkét (Babadi Baromfikeltető Kft., Ócsa, Magyarország), a 42. napon CO₂-os kábítást követően termináltuk. A kivéreztetett állatokból a májakat a zsírdús étrend patkánykísérleténél leírtak szerint tovább vértelenítettük, izotoniás NaCl oldattal mostuk. Potter-Elvehjem készülékkel homogenizáltuk, majd a feldolgozásig -20 °C-on tároltuk. A sztenderdizálást a 4.2.10.1. szerint mért fehérjetartalom alapján végeztük.

4.2.2.3. Nyúlkísérlet

Kereskedelmi forgalomban kapható nyúltápot (Purina Kft, Karcag, Magyarország) fogyasztó 6 baknyulat (Lab-Nyúl Kft., Gödöllő, Magyarország) vizsgáltunk. A nyulakat 4 hónaposan T61 injekcióval termináltuk (2 ml/nyúl i.p.; embutramid, tetracain hidroklorid és mebezonium jodid; Intervet International B.V. Boxmeer, Hollandia). A májakat a zsírdús étrend patkánykísérleténél leírtak szerint kivéreztetettük, mostuk homogenizáltuk Potter-Elvehjem készülékkel, majd -20 °C tároltuk. A sztenderdizálást a 4.2.10.1. szerint mért fehérjetartalom alapján végeztük.

4.2.3. Humán tanulmányok

A humán tanulmányokat az etikai szempontokat figyelembe véve végeztük. A vizsgálatok végzéséhez az alábbi engedélyekkel rendelkezünk: TUKEB 167/1997, TUKEB 15/2004, IKEB 3944/2004, TUKEB 133/2015.

4.2.3.1. Plazmaminták előkészítése

A redox-rendszer tanulmányozásához használt humán plazmaminták előállításához a vérmintákat citrátot tartalmazó csövekbe (Greiner Bio-One; Mosonmagyaróvár, Magyarország vagy Vacutainer, Franklin Lakes, USA.) gyűjtöttük. Centrifugálást követően (4 °C; 3000 rpm, 10 perc) a plazmákat külön kémcsövekbe gyűjtöttük. Az eritrocitamintákat a 4.2.4.2. fejezet szerint tovább tisztítottuk. A plazmamintákat ismét centrifugáltuk, a felülúszót kémcsöbe gyűjtöttük és feldolgozásig -20 °C-on tároltuk.

4.2.3.2. Eritrocitaminták előkészítése

A 4.2.4.1. fejezetben leírtak szerint centrifugált vérminták eritrocita-frakciójáról a „buffy coat”-ot eltávolítottuk, majd izotóniás sóoldattal hígítottuk. A mintákat összesen háromszor centrifugáltuk, izotóniás NaCl oldattal történő mosásokat követően. A 4.2.10.2. fejezet szerinti hemoglobín-meghatározást követően az eritrocitamintákat sztenderdizáltuk, és -20 °C-on tároltuk.

4.2.4. Analitikai vizsgálatok

Analitikai vizsgálatok között a redox homeosztázist befolyásoló tartalmi anyagok vizsgálatait gyűjtöttem össze, melyek nem egy antioxidáns-tulajdonságot, hanem egy-egy olyan tartalmi anyagot mérnek, amik jelentős hatást gyakorolnak a redox-anyagcserére.

4.2.4.1. Aszkorbinsavtartalom meghatározása

A növényi eredetű mintákban a VII. Magyar Gyógyszerkönyv (1986) alapján határoztuk meg az aszkorbinsav mennyiségét. A mintát $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$ oldat (0,1 g $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$ oldva 100 ml 2 M foszforsav oldatban), 20 % $\text{NH}_4(\text{CH}_3\text{COO})$ oldat, 1 %-os citromsav oldat és 0,02 ml 2,2-dipiridil (1 g/100ml etanol) elegyéhez adtuk. Két óra múlva a mintákat hígítottuk és 525 nm-en Hitachi U-2000 spektrofotométerrel mértük az abszorbanciát. A sztenderd sort (növényi minta helyett) aszkorbinsav oldatokkal készítettük el. A vak oldatok 2,2-dipiridil reagenst nem tartalmaztak.

4.2.4.2. Polifenoltartalom meghatározása

A teljes polifenoltartalmat a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv (2003) alapján határoztuk meg. A mintákhoz 1:10 arányban hígított Folin-Chiocalteau fenol reagenst adtunk, majd Na_2CO_3 (290g/l) oldattal elegyítettük. Fél óra múlva 760 nm-en határoztuk meg az abszorbanciát Hitachi U-2000 spektrofotométerrel. A mintákhoz tartozó vak oldatok Folin-Chiocalteau reagens nélkül készültek. A kapott értékeket egy ismert koncentrációjú galluszsav sztenderdhez hasonlítottuk. Egy galluszsav egység (GAE) 1 ml HPLC-minőségű vízben oldott 1 mg galluszsavnak felel meg.

4.2.5. Redox-vizsgálatok

Munkám során fő cél volt a redox-homeosztázisban bekövetkezett változások vizsgálata, melyet az alábbiakban taglaltak szerint mértünk.

4.2.5.1. Hidrogéndonor (H-donor) aktivitás mérése

A H-donor-aktivitást (Hatano és mtasi 1988) módszere alapján DPPH stabil gyök segítségével mértük spektrofotométer segítségével, 517 nm-en.

A sztenderdizált növényi minták oldatából, albuminra sztenderdizált májminták oldatából (10 mg/ml), a NADH és NADPH oldatokból 50 µl-t, a hemoglobinra sztenderdizált eritrocitámból (1 g/100ml) 10 µl-t 1 ml-re egészítettünk ki HPLC-minőségű vízzel, majd még 1 ml metanolt mértünk hozzá és 0,5 ml DPPH metanos oldatával (9 %) elegyítettük. A minták elnyelését 30 perces 37 °C-on történő temperálást követően Hitachi U-2000 (Tokio, Japán) vagy Specord UV VIS (Jena, Germany) spektrofotométerrel mértük 517 nm-en.

A kapott abszorbanciát a kontrollhoz viszonyítottuk, az alábbi képlet alapján annak százalékaként jelenítettük meg:

$$\text{gátlás \%} = 100 \cdot (A_{\text{kontroll}} - A_{\text{minta}}) / A_{\text{kontroll}}$$

4.2.5.2. Szabad szulfhidrilszint meghatározása

A szabad szulfhidril-csoportok koncentrációját Ellman és Lysko módszere alapján (1967), DTNB reagenssel határoztuk meg. A reagenst pH 7,4 foszfátpufferben oldottuk. A minták 0,15 ml-ét 1,4 ml-re egészítjük ki HPLC minőségű vízzel és 1 ml pH 7,4-es foszfátpuffert, majd 0,6ml DTNB (792mg/l) reagenst adunk hozzá. Ezt követően 37°C-on, 5 percig inkubáltuk. A kialakult szín intenzitását 440 nm-en Hitachi U-2000 (Tokio, Japán) vagy Specord UV VIS (Jena, Germany) spektrofotométerekkel detektáltuk. Háttérként HPLC-minőségű víz és puffer keverékét, stadardként redukált glutationt használtunk.

4.2.5.3. Redukálóképesség meghatározása

A redukálóképességet Fe^{3+} -ionokból keletkező Fe^{2+} -ionok alapján spektrofotometriásan határoztuk meg, Oyaizu módszere szerint (1986). A minták (sztenderdizált növényi kivonat) 0,2 ml-ét 0,8 ml HPLC-minőségű vízzel hígítottuk, majd 2,5 ml pH 6,6 foszfát-

pufferrel, 2,5 ml 1 %-os $K_3Fe(CN)_6$ oldattal elegyítettük, és 37 °C-on inkubáltuk 30 percig. Inkubációt követően 2,5 ml 10 %-os triklórecetsavval elegyítettük, 3000 rpm-en, 10 percig centrifugáltuk. A felülúszó 2,5 ml-éhez 2,5 ml HPLC-minőségű vizet adtunk, és 0,5 ml $FeCl_3$ oldattal (0,1 %) elegyítettük. A kialakult szín intenzitását Hitachi U-2000 (Tokio, Japán) vagy Specord UV VIS (Jena, Germany) spektrofotométerrel 700 nm-en mértük. A redukálóképesség mértékét aszkorbinsav-egységben fejeztük ki. Az 1 ASE megfelel 1 ml HPLC-minőségű vízben oldott 1 mg aszkorbinsavnak.

4.2.5.4. Indukált lipidperoxidáció vizsgálata

Poolozott baromfímáják marha szérumalbuminra nézve 10 mg/100ml töménységű mintáit használtunk az indukált lipidperoxidáció növényi kivonatokkal történő gátlásának vizsgálatára. A kivonatokat 50 mM KH_2PO_4 oldat, 0,5 mM $FeCl_3$ oldat, tris-maleinát puffer (100 ml-be oldott 11,02 g Tris puffer és 5,8 g maleinsav), 0,01 M aszkorbinsav oldat és májhomogenizátum elegyével 30 percig 37°C-on inkubáltuk. A reakcióidőt követően tiobarbitúrsavas reagenshez 0,4 ml mintát adtunk (3,75 g tiobarbitúrsav 1 l triklórecetsavas és sósavas elegyben) és 15 percre forrásban lévő vízfürdőbe helyeztük. Visszacsöpögtető dugóval láttuk el a csöveket. A lecentrifugált minták abszorbanciáját 535 nm-en mértük Hitachi U-2000 spektrofotométerrel (Horváth és mtsai 1993). A mintákhoz tartozó háttérrel májhomogenizátumot nem tartalmazó reakcióeleggyel mértük. A kontrolloldat HPLC-minőségű vízzel készült.

Számolás: lipidperoxidáció gátlása (%) = $100 * (A_{\text{kontroll}} - A_{\text{minta}}) / A_{\text{kontroll}}$

4.2.5.5. Szabadgyök-fogó kapacitás mérése luminometriával

A szabadgyök-fogó kapacitás szintjét luminometriás eljárással vizsgáltuk. A mintákhoz 12,5 mg/l luminol oldatot, 1,88 mg/ml mikroperoxidáz oldatot, és 0,003 % H_2O_2 -oldatot adtunk, majd mértük a kibocsátott fény intenzitását Berthold Lumat LB9501 luminométerrel (Bad Wildbad, Németország). A mikroperoxidáz katalizálja a H_2O_2 bomlását, a keletkező $OH\cdot$ -gyök pedig a $NaCO_3$ -tal beállított lúgos közegben gerjeszti a luminolt. A kibocsátott fény arányos a szabadgyökök mennyiségével, így a szabadgyök-fogó kapacitás arányos az emisszió csökkenésével (Blázovics és mtsai 1999).

4.2.6. Transzmetilezési folyamatok tanulmányozása

Munkánk során vizsgáltuk a redox-homeosztázis és a transzmetilezés kapcsolatát. Növényi és állati eredetű minták esetén vékonyréteg-kromatográfiás eljárást alkalmaztunk, amíg humán minták esetén oszlopkromatográfiás eljárást alkalmaztunk.

4.2.6.1. Kötött HCHO-szint meghatározása magasnyomású vékonyréteg-kromatográfiával (OPLC)

Tömegtermelésből származó, kereskedelmi forgalomban kapható aprított búzamintához (*Triticum aestivum* L.), babhoz (*Phaseolus vulgaris* L.), céklához (*Beta vulgaris* L. var. *rubra*), káposztához (*Brassica oleracea* L.) metanolban oldott 0,05 % dimedont adtunk (Sárdi és Tyihák 1998). A mintákat ultrahangos kezelés, majd 24 óra reakcióidő múlva, 5 perc centrifugálást követően (2000 rpm; 4 °C) vizsgáltuk. A 25 µl felülűsöt Silica gel 60 F₂₅₄ vékonyrétegre vittük fel, és kloroform-diklórometán (35:65 v/v) eluenseleggyel OPLC eljárással (OPLC-NIT Kft., Budapest, Hungary) szeparáltuk.

A nyúl-, baromfi- és patkánymájak mintái esetében hasonló módon jártunk el, de a dimedont marha szérumalbuminra sztenderdizált homogenizátumhoz adtuk.

A szeparálást követően Shimadzu CS-930 (Tokio, Japán) denzitométert használtunk a keletkezett formaldemeton mennyiségének meghatározására ($\lambda=270$ nm) (Gersbeck és mtsai 1989).

4.2.6.2. Kötött HCHO-szint meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC)

Humán minták esetén Jasco HPLC rendszer (Tokio, Japán) segítségével történtek a meghatározások. A C18 HPLC kolonnát a Phenomenextől (Torrance, CA, USA) szereztük be. A metodika részletes leírása és a validálás az eredmények (5.3.1.) fejezetben található.

4.2.7. Elem meghatározások induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometriával (ICP-OES)

A tumor miatt kezelt betegekben megfigyelhető elemszint eltérések vizsgálatát Szentmihályi és mtsai (2014) szerint spektrometriás eljárással (ICP-OES-sel) végeztük, melyet az alábbiak szerint valósítottunk meg.

4.2.7.1. Előkészítés

A 4.2.4.2. pontban leírt módon készített eritrocitamintákat (3,0 g) 200 °C-on 5 ml 65 % HNO₃-oldattal, 1 ml 37 %-os HCl-oldattal és 2 ml 30 %-os H₂O₂-oldattal roncsoltuk óraüveggel fedett főzőpoharakban. A vak oldatokat azonos körülmények között készítettük. Roncsolást követően a mintákat 10 ml-re egészítettük ki. Mintánként három párhuzamost mértünk. (Szentmihályi és mtsai 2014).

A sztenderd oldatok Spectro multi-element standard solutions for ICP (CPAchem; Stara Zagora, Bulgaria) oldatok voltak, amiket a vérmintákelemkoncentrációinak megfelelő koncentrációtartományban használtuk.

4.2.7.2. ICP-OES vizsgálatok

A méréseket Spectro Genesis szimultán ICP-OES spektrométerrel végeztük, CCD Detector rendszerrel (Kleve, Germany).

A fő technikai paraméterek a 2. táblázatban találhatóak. A felhasznált szoftver Smart analyser vision of Spectro smart studio (Version: 2.11.0630, SPECTRO Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany). Az elemek sávjainak kiválasztását a lehetséges spektrális interferenciák és a vizsgált elemek koncentrációtartományának figyelembevételével végeztük. A minőségi kontrollok a 3. táblázatban találhatóak.

2. táblázat. Az ICP–OES technikai paraméterei

Spektrométer optika	Paschen-Runge elrendezése
Hullámhossz tartomány	175–775 nm
Detektro rendszer	15 linear CCD detector
Felbontás	0,029 nm
Generátor frekvencia	27,12 MHz
Plasma teljesítmény	1240 W
Hűtőgáz (Ar)	13,7 l/min
Plazmagáz (Ar)	0,6 l/min
Porlasztógáz (Ar)	0,96 l/min

3. táblázat. Az ICP-OES mérés minőségi kontrollja

Elem	Hullámhossz	Sztenderd koncentrációja	Visszanyerhetőség	LOD	LOQ
	(nm)	(µg/g)	(%)	(µg/kg)	(µg/kg)
Al	396,152	0,5	121,0	19,14	57,42
Ca	184,006	0,5	105,6	2,66	7,98
Cu	327,396	0,5	98,4	3,062	9,19
Fe	244,451	5,0	94,1	220,1	660,3
Mg	285,213	0,5	164,2	2,607	7,821
Mn	257,611	0,5	114,6	0,13	0,39
P	178,287	20	107,6	93,72	281,2

LOD = kimutatási határ; LOQ = meghatározási határ

4.2.8. Klinikai laboratóriumi vizsgálatok

A hematológiai paraméterek meghatározásához Advia 120 (Bayer; Fernwald, Németország) vagy ABX Micros 60 (Mont Pellier, Franciaország) hematológiai analizátort használtunk. A szérumban lévő paramétereket a Roche (Roche (Magyarország) Kft., Budaörs, Magyarország) által gyártott kitékkel, sztenderd módon határoztuk meg. A HbA1c-t Variant II HPLC rendszerrel vizsgáltuk (BioRad, Budapest, Magyarország). A CEA, CA 19-9, valamint az AFP LIA-mAT immunoluminometriai kitékkel (Budapest, Magyarország) határoztuk meg Berthold LumatLB 9501 luminométerrel (Berthold GmbH, Germany).

4.2.9. Egyéb vizsgálatok

A fejezetben az eddigi mérésektől függetlennek tekinthető sztenderdizálási eljárások és gyógyszerrel nem tartalmazó liposzómális rendszer előkészítése található.

4.2.9.1. Fehérjetartalom meghatározása

A májminták fehérjekoncentrációját Lowry és mtsai (1951) szerint, 650 nm-en határoztuk meg. A máj-homogenizátumokat marha szérumalbuminra nézve 10 mg/ml koncentrációjúra hígítottuk izotóniás NaCl oldattal.

4.2.9.2. Mosott eritrocitáink hemoglobinszintjének meghatározása

Az eritrocitáinkat sztenderd metodika szerint, CHR hemoglobin D-oldattal hemoglobintartalomra sztenderdizáltuk. A minták 20 µl-ét 5 ml reagenshez adtunk, és a színintenzitást fél órán belül mértük. A spektrofotometriai méréshez Hitachi U-2000

(Tokio, Japán) spektrofotométert használtunk ($\lambda=540$ nm). Az alábbi egyenleteket használtuk sztenderdizáláshoz:

Bemért 0,4ml eritrocitamintához szükséges izotóniás NaCl-oldat, hogy 1 g/100ml legyen:

$$V \text{ (ml)} = ((c_0 * 0,4) / 1) - 0,4$$

Bemért 0,5ml eritrocitamintához szükséges izotóniás NaCl-oldat, hogy 5 g/100ml legyen:

$$V \text{ (ml)} = ((c_0 * 0,5) / 5) - 0,5$$

4.2.9.3. Kofaktorok H-donor-aktivitásának mérése

A redukált NADH dinátrium és a redukált NADPH tetra(ciklohexil-amin) sókat HPLC-minőségű vízben oldva hígítási sort készítettünk. A továbbiakban a 4.2.6.1. szerint leírt módon vizsgáltuk a H-donor aktivitást.

4.3. Statisztikai értékelés

Eredményeink értékeléséhez Statistica 11, Statistica 12 (StatSoft Inc., Tulsa, USA.) valamint Microsoft Office Excel 2003 és 2013 (Microsoft Corp., Redmond, USA.) programokat használtunk.

A normál eloszlást Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük.

Két csoport vizsgálata során, normál eloszlás és nem szignifikáns F-próba esetén Student-féle t-próbát végeztünk. Nem parametrikus eloszlás vagy szignifikáns F-próba esetén Mann-Whitney U-tesztet végeztünk.

Kettőnél több csoport vizsgálata során Levene-teszttel ellenőriztük a homogenitást. Homogénnek és parametrikus eloszlásúnak tekinthető minták esetén egy szempontos ANOVA-módszert majd Fisher-féle LSD tesztet használtunk a szignifikáns eltérések vizsgálatára. Szignifikáns Shapiro-Wilk-teszt vagy Levene-teszt esetén Kruskal-Wallis ANOVA-t és többszörös összehasonlítást használtunk.

A feltételezett korrelációt normál eloszlású minták esetén Pearson-féle korreláció számításával ellenőriztük. Nem parametrikus eloszlású minták esetén Spearman-féle rangkorrelációt számoltunk.

A sztenderd görbék meghatározását lineáris regresszióval végeztük.

A szignifikanciaszint 5 % volt, kivétel ez alól a retrospektív tanulmány, ahol a nagy mennyiségű statisztikai vizsgálat használata megkövetelte az 1 %-os szignifikanciaszintet.

5. Eredmények

A fejezetben előbb a növényi mintákból, majd az állatmodelleken végzett kísérletekből származó eredmények olvashatók. Ezt követően található a humán tanulmányhoz szükséges HPLC-metodika validálása majd humán tanulmányaink.

5.1. Növényi eredetű minták részleges fitokémiai elemzése

A kutatás célja a növényi minták vizsgálatával az volt, hogy megállapítsuk, milyen formában érdemes fogyasztani a szervezet antioxidáns-szabadgyök rendszerének egyensúlyban tartása érdekében a gyümölcs és zöldségféléket. Milyen eltérések tapasztalhatók a különböző termékekben.

5.1.1. Narancsminták vizsgálata

Az ételmiszer eredetű antioxidánsok kontrollálatlan bevitele, ahogy azt az irodalmi áttekintésben is bemutattuk, a "rebound" effektus miatt már károsná válhat. Ezért fontosnak tartjuk annak ismeretét, hogy az eredeti forrásként szolgáló növények és a feldolgozott termékek között milyen különbségek mutathatók ki. Ennek megfelelően olyan terméket szerettünk volna elemezni példának, ami gyakori fogyasztási cikknek számít hazánkban is.

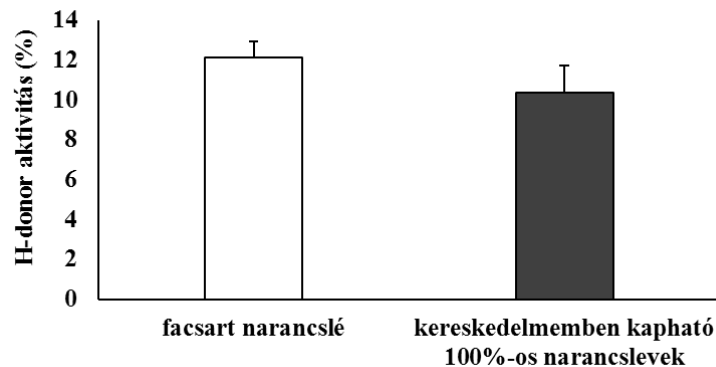
A kereskedelmi forgalomban kapható három narancsfajtából (Salustiana; Navel; Lane Late) facsart narancslevek és 5 féle 100 %-os narancslé (Cappy 100 %; Happy Day, Rauch 100 %, Sió 100 %, Spar Orange 100 %, Topjoy 100 %) redox-paramétereit vizsgálva csak az aszkorbinsavtartalomban tapasztaltunk szignifikáns eltérést. A 4. táblázat alapján azonban az is látható, hogy már a legkisebb aszkorbinsavtartalmú narancslevek esetén is az OGYÉI által meghatározott napi ajánlott beviteli érték jelentős részét 1 pohár (250 ml) narancslé képes fedezni.

Mintáink esetén a további antioxidáns tulajdonságokban sem voltak szignifikáns eltérések megfigyelhetők (4. és 5. ábra).

4. táblázat. Különböző fajtájú narancsokból facsart és 100 %-os narancslevekből származó minták összehasonlítása egy pohárnyi (250 ml) gyümölcslevek alapján

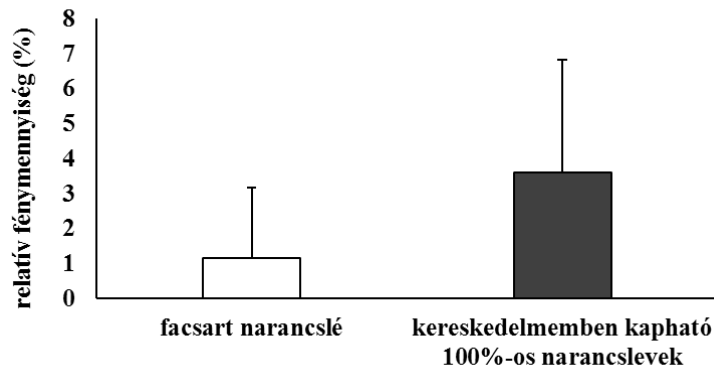
	típus	polifenoltartalom (GAE/250 ml) (átlag ± szórás)	aszorbinsavtartalom (mg/250 ml) (átlag ± szórás)	szabad szulfhidrilszint (mmol/250 ml) (átlag ± szórás)
Salustiana	facsart	79,9 ± 4,9	155,6 ± 1,9	0,541 ± 0,018
Navel		106,1 ± 2,4	147,8 ± 6,0	0,514 ± 0,028
Lane late		96,0 ± 1,2	134,7 ± 7,7	0,535 ± 0,037
Cappy 100 %	kereskedelemben kapható 100 %-os	104,8 ± 1,7	74,0 ± 0,7	0,362 ± 0,053
Happy Day, Rauch 100 %		104,3 ± 2,3	122,3 ± 0,4	0,430 ± 0,019
Sió 100 %		97,6 ± 0,5	81,5 ± 5,5	0,352 ± 0,046
Spar Orange 100 %		111,0 ± 0,8	128,9 ± 0,7	0,527 ± 0,070
Topjoy 100 %		108,0 ± 3,0	81,5 ± 1,5	0,203 ± 0,051
p		0,129	0,023	0,071

Facsart levek esetén 5 narancsból poolozott mintákat használtunk. Mintánként 3 párhuzamost vizsgáltunk. (GAE = galluszsav-ekvivalens)



4. ábra. A különböző narancslevek H-donor aktivitása 25x hígítású oldatok esetén (átlag + szórás)

A 3 féle facsart narancslé esetén 5 narancsból poolozott mintákat használtunk. A kereskedelemben kapható 100 %-os narancslevek esetén 5 féle gyümölcslevet mértünk.



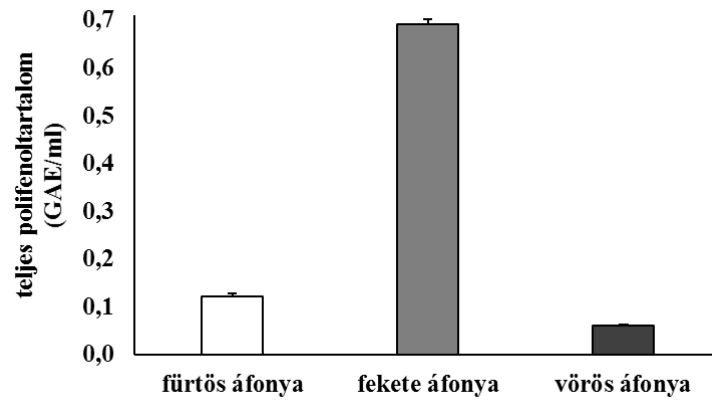
5. ábra. A különböző narancslevek szabadgyökfogó kapacitása 25x hígítású oldatok esetében (átlag + szórás)

A 3 féle facstart narancslé esetén 5 narancsból poolozott mintákat használtunk. A kereskedelemben kapható 100 %-os narancslevek esetén 5 féle gyümölcslevet mértünk.

5.1.2. Áfonyaminták vizsgálata

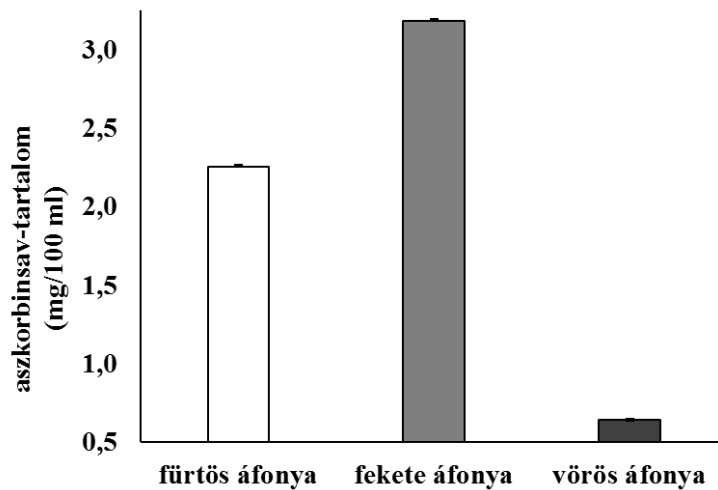
Az áztatással készült fekete áfonya kivonatokban várható módon kimagasló polifenol- és aszkorbinsavtartalmat mértünk (Kleiner és mtsai 2016b). A polifenoltartalom esetében a fekete áfonyamintákban több mint ötször magasabb értéket kaptunk, mint a fürtös áfonyában és megközelítőleg tizenegyszer nagyobb értéket, mint a vörös áfonyában (6. ábra). Az aszkorbinsavat tekintve kisebb eltérések voltak megfigyelhetők (7. ábra). A fürtös áfonyamintákban kevesebb, mint másfélszer, a vörös áfonyamintákban megközelítőleg ötször kisebb értékeket detektáltunk, mint a fekete áfonyában.

Párhuzamosan az előbbivel a legnagyobb redukálóképességet a fekete áfonyamintákban tapasztaltuk (8. ábra). Ez megközelítőleg háromszorosa volt a fürtös áfonya, ill. a vörös áfonyamintákban mért értékeknek. A legalacsonyabb lipidperoxidáció-gátlást a vörös áfonya esetében tapasztaltuk, ennek kétszerese volt a fürtös áfonya és háromszorosa a fekete áfonya esetében kapott érték (9. ábra).



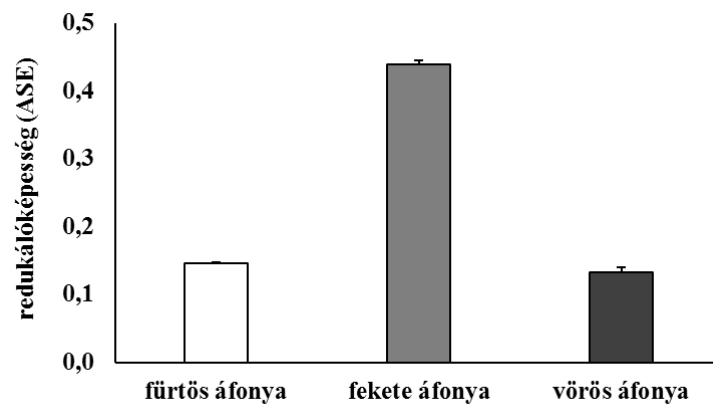
6. ábra. A teljes polifenoltartalom 0,05 g/ml koncentrációjú áfonyamintákban (átlag + szórás)

Mintánként két párhuzamost mértünk. (GAE = galluszsav-ekvivalens)

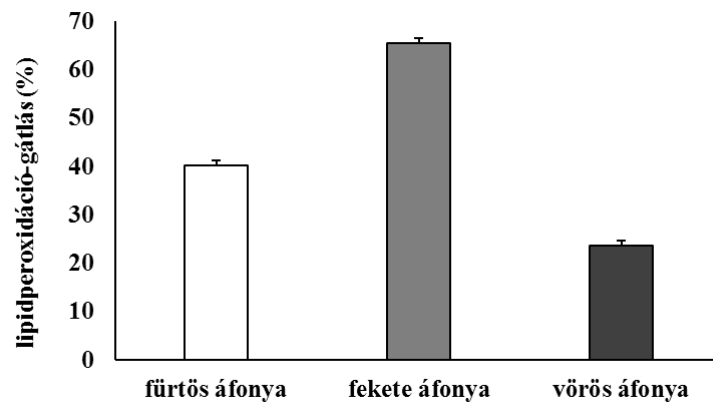


7. ábra. Az aszorbinsavtartalom 0,05 g/ml koncentrációjú áfonyamintákban (átlag + szórás)

Mintánként két párhuzamost mértünk.



8. ábra A redukálóképesség 0,025 g/ml koncentrációjú áfonyamintákban (átlag + szórás) Mintánként két párhuzamost mértünk. (ASE = aszkorbinsav egység)



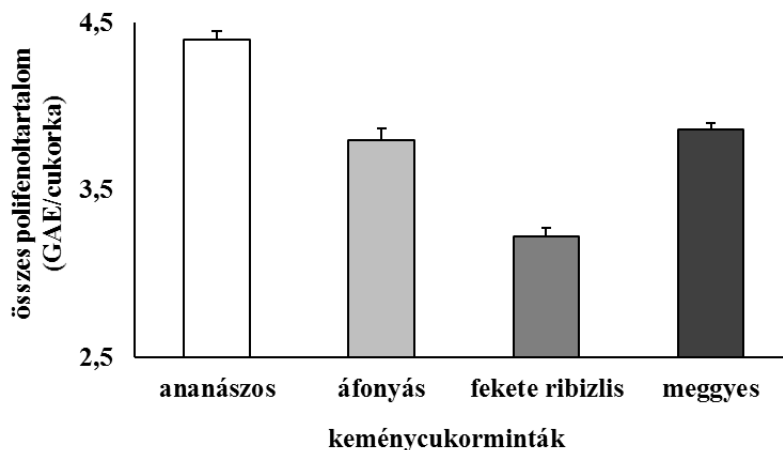
9. ábra. A lipidperoxidáció-gátlás 0,025 g/ml koncentrációjú áfonyamintákban (átlag + szórás) Mintánként két párhuzamost mértünk. A kivonatoktól mentes oldatban mérhető abszorbanciát 100 %-nak tekintettük. Az ábrán az ehhez képest mért abszorbancia-csökkenés látható.

5.1.3. Gyümölcskivonatot tartalmazó keménycukrok vizsgálata

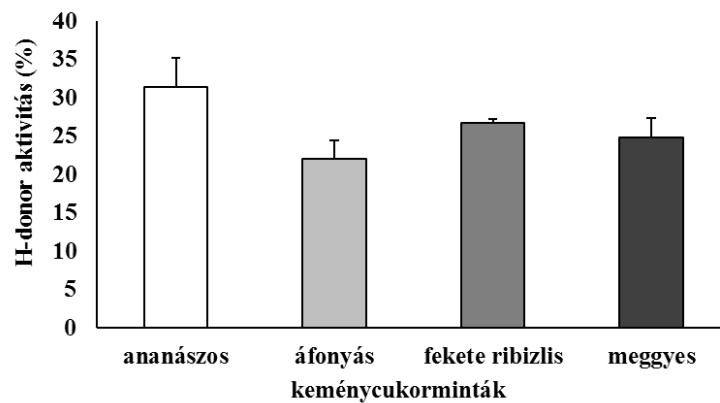
Az ananász, áfonya, fekete ribizli és meggy koncentrátumot tartalmazó keménycukrok oldását követően vizsgáltuk a polifenoltartalmat (10. ábra), a H-donor aktivitást (11. ábra) és a szabadgyök-fogó kapacitást (12. ábra). Az előbbi két paraméter esetében a legnagyobb és a legkisebb értéket képviselő minták másfélszeres eltérésnél nagyobb differenciát nem mutattak. Markánsabb eltérések voltak megfigyelhetők a szabadgyök-

fogó kapacitásokat tekintve, ahol a százalékos eltérések között a 2,5 g/100ml koncentráció-tartományban több mint négyezerszeres eltérést tapasztaltunk.

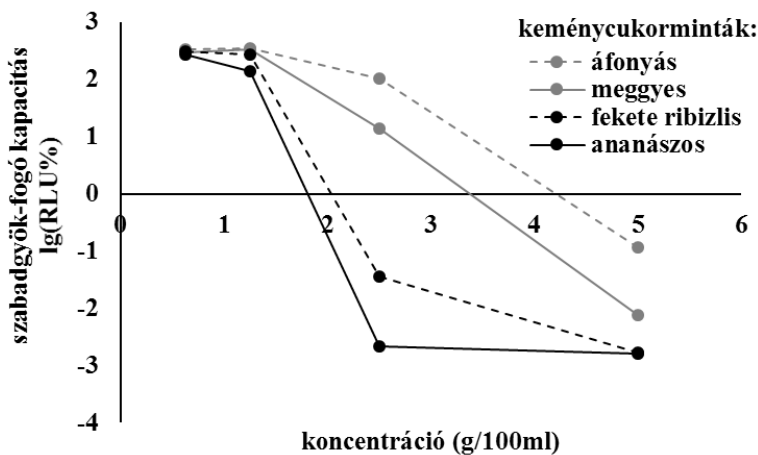
A gyümölcsstartalmú keménycukorban mérhető antioxidáns-paraméterek viszonylag jelentősnek mutatkoztak. Az előbbiekhöz viszonyítva, egy keménycukor polifenoltartalma ugyan jelentősen elmarad egy pohár narancslé polifenoltartalmától, de egy pohárnyi (250 ml) liofilizált vörös áfonyából készült kivonathoz képest már nem elhanyagolható. Amíg a keménycukorminták H-donor aktivitását 10 g/100ml koncentráció-tartományban mértük, a narancsminták esetében ugyanezt a paramétert 5 ml-re hígított 0,2 ml centrifugált narancslevekben vizsgáltuk, így a koncentrációtartományok félkvantitatív jelleggel összehasonlíthatóak. A keménycukorminták oldatai igen hasonlóak a narancsmintákban mérhető H-donor aktivitáshoz.



10. ábra. A különböző gyümölcs kivonatokat tartalmazó keménycukorminták összes polifenoltartalma (átlag + szórás)
Mintánként két párhuzamost mértünk. (GAE = galluszsav-ekvivalens)



11. ábra. A különböző gyümölcs kivonatokat tartalmazó keménycukorminták H-donor aktivitása 10 g/100ml koncentrációjú oldatok esetében (átlag + szórás) Mintánként két párhuzamost mértünk.



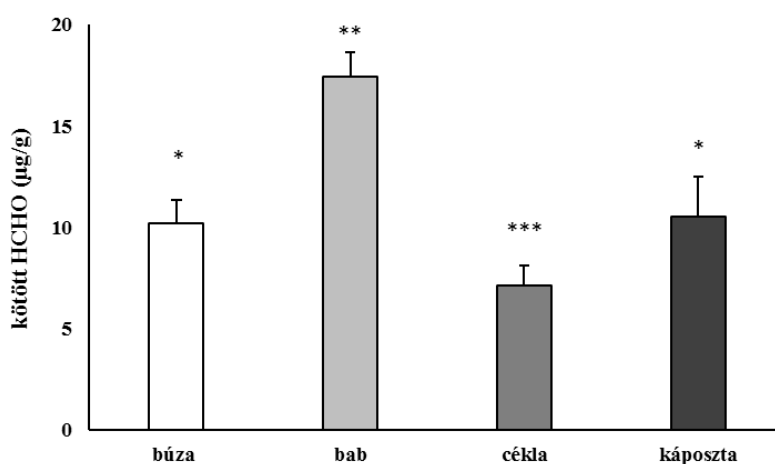
12. ábra. Szabadgyök-fogó kapacitás változása különböző gyümölcskoncentrátumokat tartalmazó keménycukormintákban Mérés pontonként két párhuzamost mértünk.

5.1.4. Növényi minták transzmetilező kapacitásának meghatározása

A növényi eredetű minták közül meghatároztuk néhány élelmi anyag (búza és a bab magok, illetve a cékla répatest és a káposztalevél) kötött HCHO-tartalmát, abból a célból, hogy alkalmasak-e a tumoros betegek életminőségének javítására a táplálkozási faktorokon keresztül (2.1.4. fejezet).

Vizsgáltuk a búza és a bab magok, illetve a cékla répatest és a káposztalevél egységnyi nedves tömegre vonatkoztatott könnyen mobilizálható metilcsoporttartalmát. Az ANOVA szignifikáns eltérést mutatott ($p < 0,001$), ezért vizsgáltuk a fajok közötti

különbségeket is. Csak a káposzta és a búza között nem találtunk szignifikáns eltérést ($p_{\text{búza/káposzta}} = 0,776$; $p_{\text{káposzta/bab}} < 0,001$; $p_{\text{cékla/búza}} = 0,027$). A 13. ábrán látszik, hogy a legjelentősebb mennyiséget, átlagosan $17,45 \mu\text{g/g}$ -ot a bab tartalmazta, amíg a céklában megközelítőleg 2,5-szer kevesebbet tudtunk kimutatni.



13. ábra. Különböző élelmiszernövények légszáraz tömegre vonatkoztatott könnyen mobilizálható metilsoportjainak koncentrációja (átlag + szórás) Mintánként három párhuzamost mértünk. (szignifikancia: * vs. **, ** vs. ***, * vs. ***, $p \leq 0,05$)

5.2. Állati eredetű minták elemzése

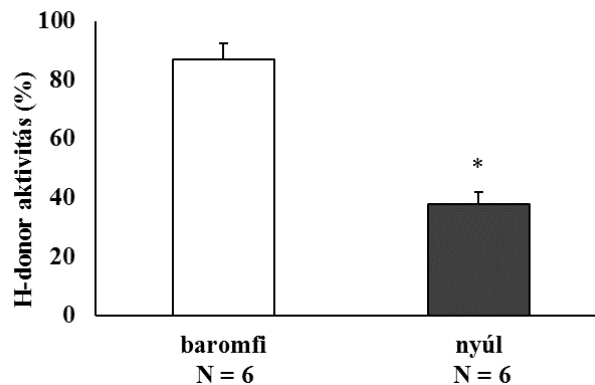
Folytatva növényi eredetű mintáinkban elkezdett méréseinket, megvizsgáltuk emberi fogyasztásra szánt állatok esetében is az antioxidáns tulajdonságokat jellemző H-donor aktivitást és a transzmetilező kapacitást. Ezzel párhuzamosan kísérletes modellben kívántuk tanulmányozni, hogy az alkoholfogyasztás, és a energiadús (zsírdús) étrend milyen mértékben befolyásolja a redox-homeosztázist és az azzal asszociált anyagcsere folyamatokat, elsősorban a transzmetilezést.

5.2.1. Metil-pool vizsgálata fogyasztásra szánt állatok májmintáiban

Célunk volt a növényi eredetű táplálkozási faktorok mellett állati eredetű élelmiszerek redoxi tulajdonságainak és metil-pooljának a vizsgálata is, ezért nyulak és baromfik májmintáit is megvizsgáltuk. A kontrolltápon tartott nyulakban és baromfikban a H-donor aktivitást mérve vizsgáltuk a kapcsolatot a metil-pool és az antioxidáns-kapacitás között (14. és 15. ábra). A baromfi- és a nyúl májban mérhető könnyen mobilizálható

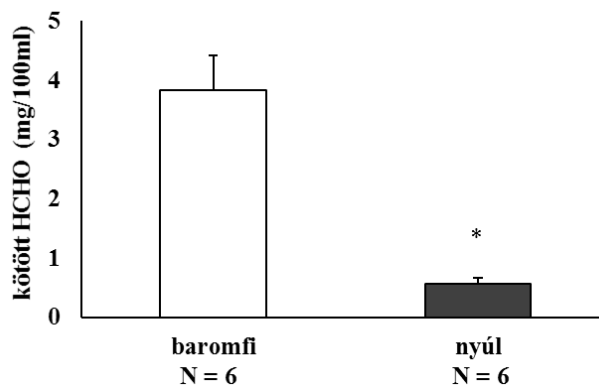
metilcsoportok mennyiségét a 14. ábrán tüntettük fel. Az azonos fehérjekoncentrációra számított könnyen mobilizálható HCHO-koncentráció baromfimájban közel hétszer több volt, mint a nyúlmájban. Mann-Whitney U-teszt alapján szignifikáns eltérést lehetett megfigyelni ($p = 0,005$).

A májmintákban mért H-donor aktivitás (14. ábra) a Mann-Whitney U-teszt alapján szintén szignifikánsan eltért ($p = 0,005$). Emellett az ábráról leolvasható, hogy magasabb antioxidánszint mellett a könnyen mobilizálható metilcsoportok mennyisége szintén magasabb volt. A két fajon belül vizsgálva a korrelációt a H-donor aktivitás a dimedonnal megköthető metilcsoportok mennyiségével jól korrelált baromfimájban ($r^2 = 0,896$, $p = 0,003$) (Kleiner és mtsai 2013).



14. ábra. Kontrolltápon tartott nyulak és baromfik májának H-donor aktivitása (átlag + szórás)

(szignifikancia: *, $p < 0,05$)



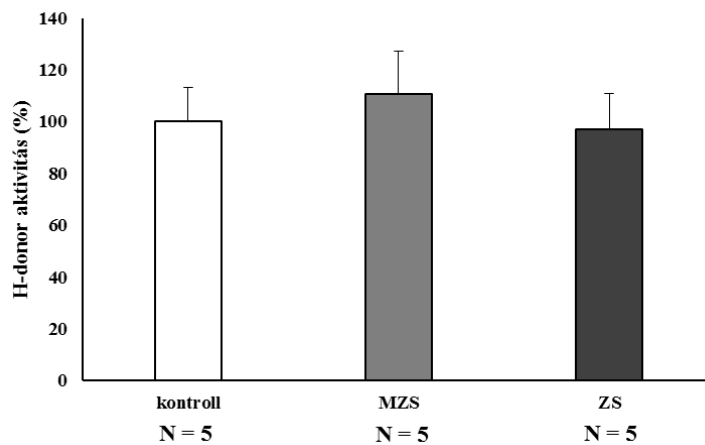
15. ábra Kontrolltápon tartott nyulak és baromfik májának kötött HCHO-tartalma (átlag + szórás)

(szignifikancia: *, $p < 0,05$)

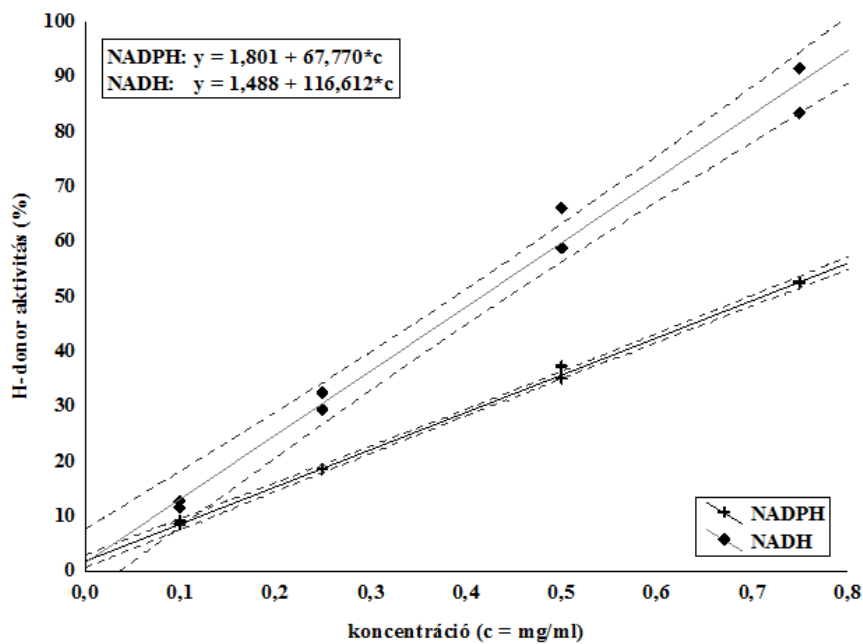
5.2.2. Transzmetilezési folyamatok vizsgálata zsírdús táppal etetett állatokban

Abból a megfontolásból, hogy az elhízás napjaink civilizációs betegsége, mely további betegségek prediktora vagy induktora lehet, patkánykísérletben arra voltunk kíváncsiak, hogy a zsírdús, energiadús étrend hatására elzsírosodó májban milyen mértékben változik a metil-pool.

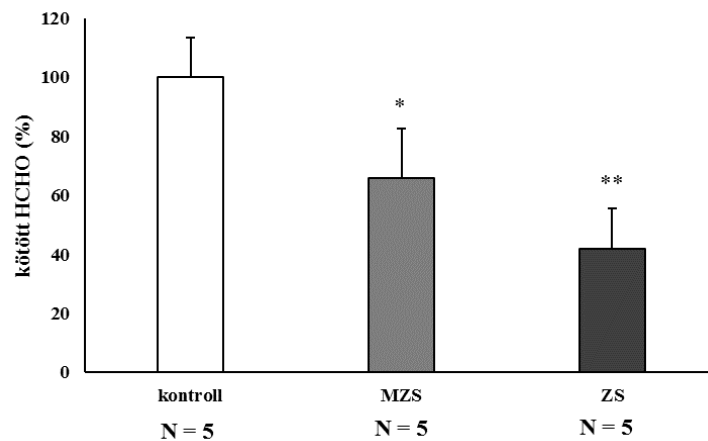
A vizsgált tizenöt hím Wistar patkány esetén, kontrollhoz (N = 5) viszonyítva mérsékelt zsírdús (N = 5) és a zsírdús (N = 5) táppal etetett állatokban vizsgáltuk a H-donor aktivitást és a kötött HCHO-szintet (Kleiner és mtsai 2013). A H-donor aktivitás csak kismértékben változott (16. ábra) ($p = 0,166$). Mérsékelt zsírdús étrend esetében enyhe emelkedést figyeltünk meg a kontrollértékekhez viszonyítva, míg zsírdús étrend esetén kismértékű, statisztikailag nem szignifikáns csökkenést tapasztaltunk. Az enyhe emelkedés mögött feltételezhető a NADH, illetve NADPH kofaktorok szerepe. A két vegyület H donáló szerepét azonos mérési körülmények között elvégzett vizsgálatban igazoltuk ($r^2(\text{NADH}) = 0,988$; $p(\text{NADH}) < 0,001$; $r^2(\text{NADPH}) = 0,999$; $p(\text{NADPH}) < 0,001$) (17. ábra). A kötött HCHO-szint zsírmájban szignifikánsan csökkent (18. ábra) ($p_{\text{HCHO}} < 0,001$). A post hoc vizsgálat során bizonyítottuk, hogy mind az enyhén zsírdús, mind a zsírdús táp hatására szignifikánsan kevesebb könnyen mobilizálható metilcsoport volt mérhető ($p_{\text{kontroll/enyhe zsírmáj}} = 0,004$; $p_{\text{enyhe/súlyos zsírmáj}} = 0,029$).



16. ábra. H-donor aktivitás vizsgálata kontroll és eltérő minőségű zsírdús táp esetén patkányokban (átlag + szórás)
(MZS = mérsékeltén zsírdús tápon tartott állatok; ZS = zsírdús tápon tartott állatok)



17. ábra. A redukált nikotinamid-adenin-dinukleotid (NADH) dinátrium só, redukált nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát (NADPH) tetra(ciklohexil-amin) só koncentrációfüggő H-donor aktivitást mutatnak
($r^2_{\text{NADH}} = 0,988$; $p_{\text{NADH}} < 0,001$; $r^2_{\text{NADPH}} = 0,999$; $p_{\text{NADPH}} < 0,001$)



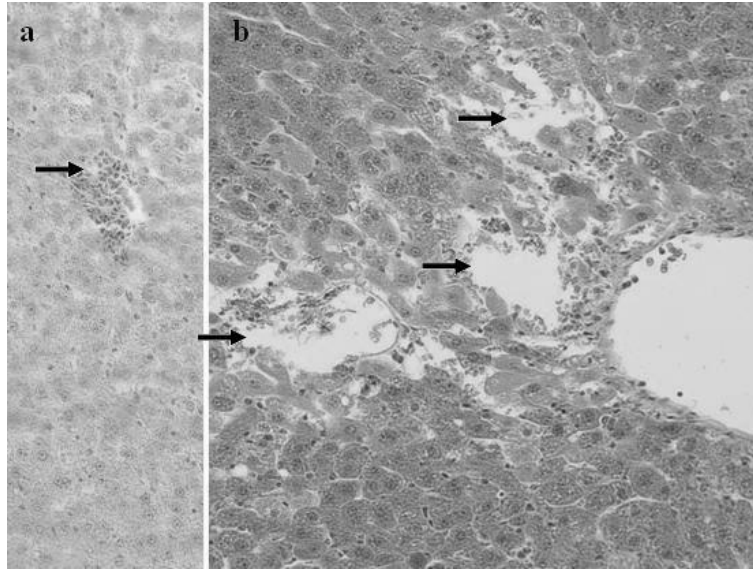
18. ábra. Kötött formaldehid (HCHO) mennyiségi vizsgálata kontroll és eltérő minőségű zsírdús táp esetén patkányokban (átlag + szórás) (szignifikancia: kontroll vs. *, * vs. **, kontroll vs. **, $p \leq 0,05$) (MZS = mérsékeltén zsírdús tápon tartott állatok; ZS = zsírdús tápon tartott állatok)

5.2.3. Transzmetilezés vizsgálata alkoholos eredetű zsírmájban patkányokon

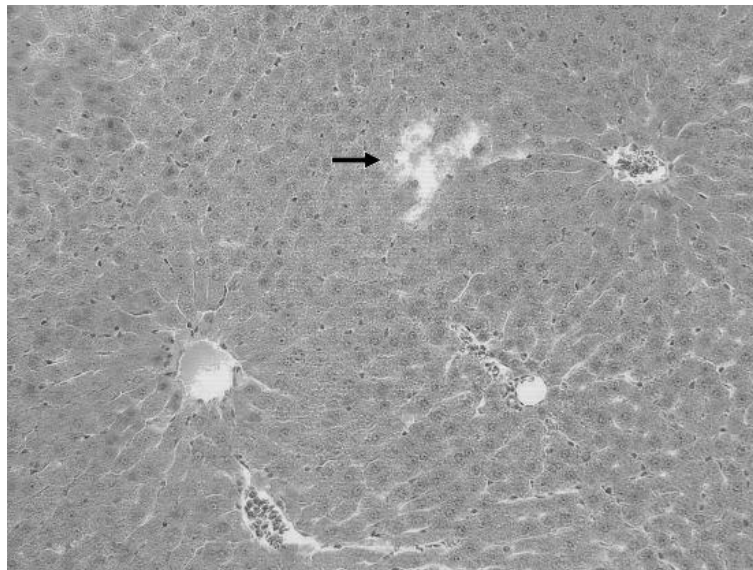
Mivel az alkohol több ponton is befolyásolja az anyagcserét, így szerteágazóan hat a redox anyagcserére, feltételezhető, hogy az azzal szoros kapcsolatban álló transzmetilező kapacitásokban is szignifikáns eltéréseket lehet megfigyelni.

Tizenkilenc állaton végzett kísérletünk célja az volt, hogy meghatározzuk a liposzómális glicirrizinkezelés hatásait a redox-homeosztázisra és a transzmetilezésre, hosszú távú alkoholfogyasztást követően. Liposzómás glicirrizinnel nem kezelt, de alkoholt fogyasztó állatok száma 7, liposzómás glicirrizint 7 állat kapott, a kontroll állatok száma pedig 5 volt. Emellett elvégeztük a glicirrizinnel kezelt és kezeletlen, alkoholt fogyasztó állatok májmintáinak hisztológiai vizsgálatát (Kleiner és mtsai 2016a).

A csak alkohollal kezelt patkányok (AF) májának szövettani mintái mérsékelt eltéréseket mutattak. Csökkent glikogéntartalom, limfocitás infiltráció volt megfigyelhető, és csak egy állat esetében találtunk nekrotikus folyamatokat a mintákban. A liposzómális glicirrizinnel kezelt állatok (AFLGK) esetén hasonló, mérsékelt károsodásokat tapasztaltunk. Statisztikailag nem volt igazolható a kísérletben a szignifikáns differencia ($p = 1,00$) (19. és 20. ábra).



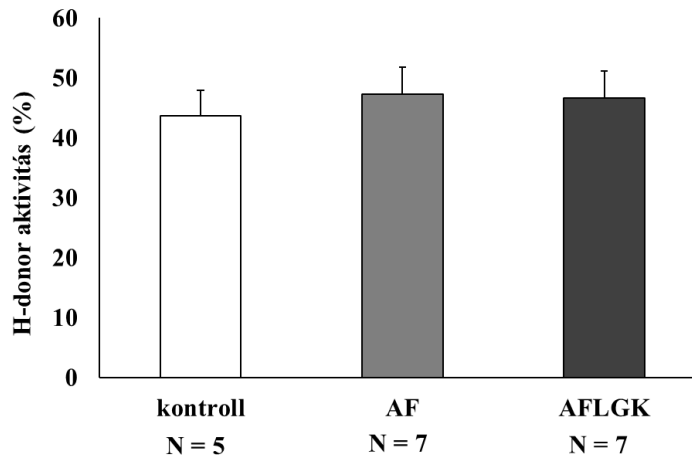
19. *ábra.* Alkoholt fogyasztó állatok májmintáinak fénymikroszkópos képe (festés: hematoxilin-eozin)
A nyilak az „a” ábrán limfocitász infiltrációt, a „b” ábrán nekrotikus régiót mutatnak (nagyítás 20x).



20. *ábra* Alkoholt fogyasztó, liposzómás glicirrizinnel kezelt állatok májmintáinak fénymikroszkópos képe (festés: hematoxilin-eozin)
A nyilak nekrotikus régiót mutatnak (nagyítás 20x).

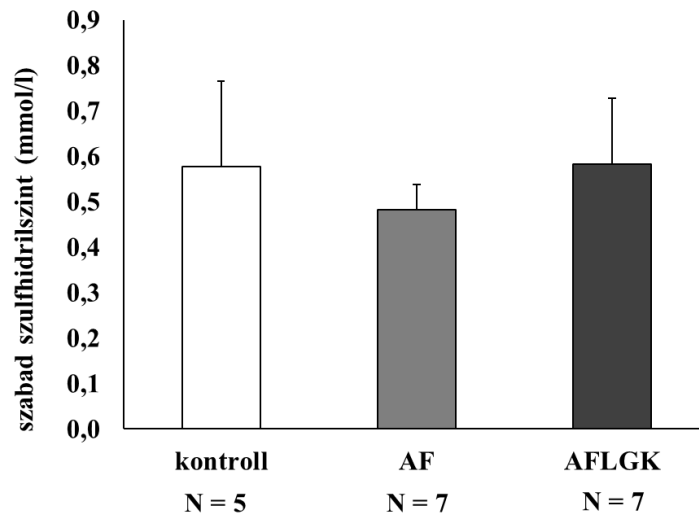
A H-donor aktivitás a májmintákban mérsékelt emelkedést mutatott, ami feltételezhetően az alkohol lebontásából származó redukáló kofaktor-többlet miatt alakult ki, azonban a változás nem volt szignifikáns ($p = 0,415$) (21. *ábra*). A NADH, illetve NADPH

kofaktorok H-donor aktivitásban betöltött szerepét az előző fejezetben (5.2.1.) igazoltuk. A glicirrizin-kezelés csak igen kis mértékben csökkentette a H-donor aktivitást (21. ábra).

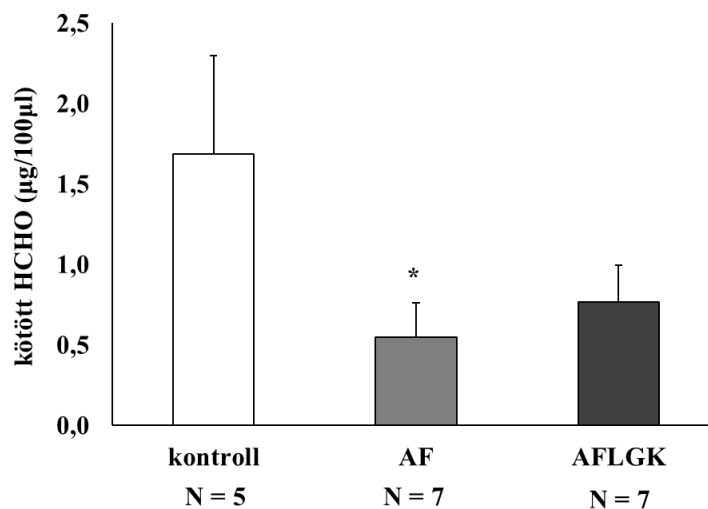


21. ábra. H-donor aktivitás vizsgálata krónikusan alkoholt fogyasztó és liposzómás glicirrizinnel kezelt patkányokban (átlag + szórás)
(AF = csak alkoholt fogyasztó állatok, AFLGK = alkoholt fogyasztó és liposzómális glicirrizinnel kezelt állatok)

Az alkohollal történő kezelés csökkentette a szabad szulfhidrilszintet és a kötött HCHO-szintet (22. és 23. ábra). A szabad szulfhidrilszintek esetén a változások nem voltak statisztikailag jelentősek ($p = 0,355$), azonban a kötött HCHO-szintekben már szignifikáns csökkenést figyelhettünk meg az alkohollal itatott állatok esetében ($p = 0,002$; $p_{AK/Kontroll} = 0,001$). A liposzómális glicirrizin-kezelés enyhe változásokat eredményezett, azonban mind a szabad szulfhidril-, mind a kötött HCHO-szint emelkedett, ami így statisztikailag már nem tért el a kontrolltól ($p_{ALGK/Kontroll} = 0,072$).



22. ábra. Szabad szulfhidrilszintek vizsgálata krónikus alkoholfogyasztás mellett és liposzómás glicirrizinnel is kezelt patkányokban (átlag + szórás)
(AF = csak alkoholt fogyasztó állatok, AFLGK = alkoholt fogyasztó és liposzómális glicirrizinnel kezelt állatok)



23. ábra. Kötött formaldehid (HCHO)-szintek vizsgálata krónikus alkoholfogyasztás mellett és liposzómás glicirrizinnel is kezelt patkányokban (átlag + szórás)
(szignifikancia: kontroll vs. *, $p < 0,05$) (AF = csak alkoholt fogyasztó állatok, AFLGK = alkoholt fogyasztó és liposzómális glicirrizinnel kezelt állatok)

5.3. Kötött HCHO-szint meghatározása humán mintákban

A redox homeosztázis és a transzmetilezés között fennálló biokémiai kapcsolattal (2.1.4. fejezet) párhuzamosan kutatásainkban is látható volt az ismert oxidatív stresszhatások esetén megfigyelhető metil-pool változás (5.2. fejezet). A humán minták rutinszerű meghatározása OPLC-vel csak limitáltan oldható meg, a műszer nehéz beszerezhetősége miatt, ezért a már jól bevált módszert adaptáltuk egy, a klinikumban is könnyebben elérhető HPLC-rendszerre.

5.3.1. Kötött HCHO-szint HPLC eljárással történő mérésének módszerfejlesztése

A módszer viszonylag kevés előkészítést, és általánosan alkalmazott kromatográfiás rendszert igényel, így jól adaptálható rutinlaboratóriumi környezetbe is.

5.3.1.1. Kromatográfiás rendszer

A kromatográfiás rendszer JASCO (Tokió, Japán) PU-980 pumpából, LG-980-02 szolvens keverőből, PU-975 diódasoros detektorból és ERC-3113 gázmentesítőből állt. Az elválasztáshoz Kinetex C18 (250x4,6 mm; szemcseméret: 5 µm) kolonnát használtunk (Phenomenex, Torrance, USA.). Az A eluens HPLC minőségű vízzel készült 0,2 %-os ecetsavas oldat, a B eluens HPLC minőségű metanol volt. Izokratikus körülmények között dolgoztunk, a mozgó fázis 20/80 arányban tartalmazta A/B eluenseket. Az áramlási sebesség 0,7 ml/perc volt. Az injektált mennyiség 20 µl volt. Detektálás 260 nm-en történt.

5.3.1.2. Sztenderd oldatok és az eritrocitaminták előállítása

A 0,4 ml 4.2.4.2. módszer szerint előállított eritrocitamintát (5,0 g/100 ml), vagy a HCHO-mintát (0,583; 1,167; 2,042; 2,917; 4,025 mg/100 ml HCHO) 1 ml HPLC-minőségű metanollal elegyítettük, majd 0,1 ml 0,07 % metanolban oldott dimedon oldatot adtunk hozzá. Szobahőmérsékleten történő (24 °C) tárolást követően (6 nap) a mintákat centrifugáltuk (2800 rpm, 4 °C; 10 perc), és az aliquot részt 0,2 µm pórusméretű Phenex RC membrán szűrővel szűrtük (Phenomenex Inc.; Torrance, CA, USA).

5.3.1.3. Validálás

A validálás az ICH [International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (Műszaki Követelmények Harmonizációs Nemzetközi Tanácsa az Emberi Felhasználásra Szánt Gyógyszerekhez)] Q2(R1) irányelvei és a FDA [Food and Drug Administration (Élelmiszer- és Gyógyszerfelügyelet)] irányelvei szerint történt (ICH; FDA).

Linearitást 5 eltérő koncentrációjú HCHO oldattal ellenőriztük három párhuzamos alkalmazásával. Lineáris regressziót és korrelációs koefficiens (r^2) számoltunk a görbe alatti területek és a nominális koncentrációk alapján.

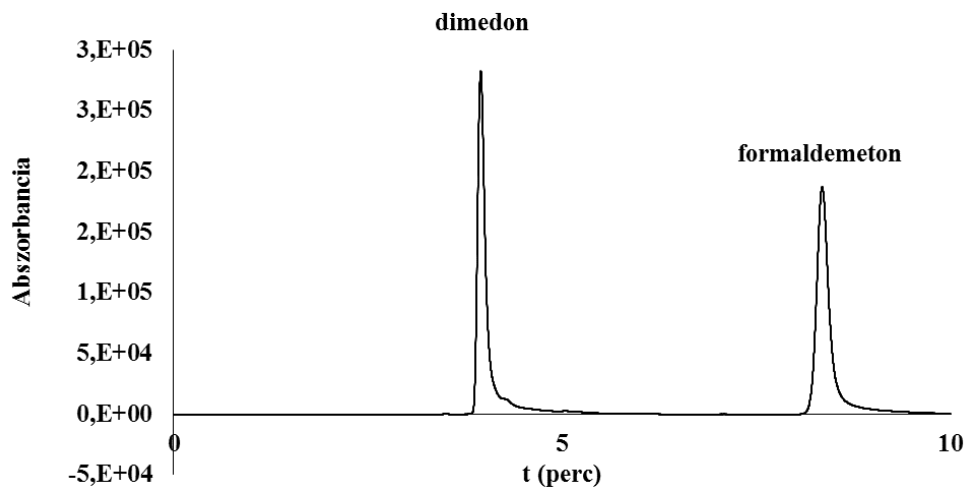
A pontosságot 0,583; 2,042; 4,375 mg/100ml HCHO oldatokkal ellenőriztük három-három párhuzamossal. A napon belüli pontosság vizsgálatához 5 órán belül, a napok közötti pontosság vizsgálatához három egymást követő napon vizsgáltuk az oldatok görbe alatti területét. Meghatároztuk az átlagot, a szórást, az átlag szórását, a variációs koefficiens valamint az átlag nominális koncentrációhoz képesti százalékos eltérését. A torzítatlanságot a számolt átlagos értékek és a nominális koncentrációk alapján értékeltük. A stabilitás vizsgálatát szintén a fent említett három HCHO koncentráció esetén végeztük. ANOVA teszttel ellenőriztük, hogy 5 órán belül történik-e szignifikáns változás a mérhető formaldemeton mennyiségben.

A stabilitást eritrocitaminták esetén is vizsgáltuk. Hat egymást követő napon mértük a dimedon reagenssel készült vizsgálati oldatok, valamint a csak metanollal készült vak oldatok görbe alatti területeit. Mintánként három párhuzamost mértünk.

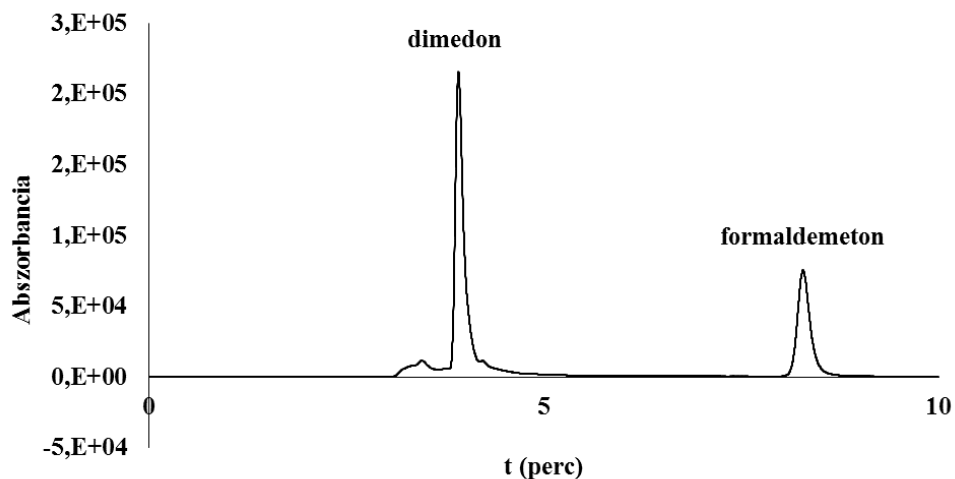
A specificitást tiszta oldószerrel és adekvát módon készült, de dimedont nem tartalmazó eritrocitamintával ellenőriztük.

5.3.2. A módszerfejlesztés eredményei

A metodika alkalmas az eritrocitamintákban mérhető kötött HCHO-szintek meghatározására (24. és 25. ábra).



24. ábra. Hozzáadott dimedont tartalmazó formaldehid (HCHO) minta (2,917 mg/100ml) kromatogramja
A dimedon csúcsa 3,95 percnél, a formaldemeton csúcsa 8,35 percnél található.



25. ábra. Hozzáadott dimedont tartalmazó vérminta (5 g/100ml hemoglobin) kromatogramja
A dimedon csúcsa 3,93 percnél, formaldemeton csúcsa 8,29 percnél található.

5.3.2.1. A HPLC-metodika validálása

Az 5.3.1. pontokban leírt validálási eljárást elvégezve az alábbi eredményeket kaptuk.

5.3.2.1.1. Linearitás vizsgálata

A válaszjel és a formaldemeton-koncentráció között lineáris kapcsolat állt fenn a HCHO oldat 0,583-4,025 mg/100ml koncentrációtartományában, ez a tartomány azonban szükség szerint kiterjeszhető (5. táblázat). A sztenderd egyenes determinációs koefficiense (r^2) nagyobb volt 0,99-nél.

5. táblázat. A detektor-válasz és a formaldemeton-koncentrációk közötti összefüggés

lineáris tartomány	lineáris egyenes		determinációs koefficiens	átlagos retenciós idő ± szórás
(mg/100ml HCHO)	(AUC = a + b * c)		(r^2)	(min)
	b	a		
0,583-4,025	738895	137741	0,996	8,34 ± 0,28
	(p=0,0001)	(p=0,1409)		

Lineáris regresszió tartománya: 0,583 - 4,025 mg/100ml formaldehid (HCHO). A lineáris egyenes egyenlete: görbe alatti terület (AUC)=a + b * c; ahol c a mg/100ml-ben kifejezett HCHO koncentráció.

5.3.2.1.2. Pontosság és torzítatlanság vizsgálata

A napok közötti és az egy napon belüli pontosság és torzítatlanság vizsgálatával kapcsolatos adatok a 6. táblázatban találhatóak. Ezek alapján az eredmények reprodukálhatók és megfelelően pontosak. A variációs koefficiensek minden esetben alacsonyabbak voltak 15 %-nál, a torzítatlanság elfogadható volt.

6. táblázat. Napok közötti és egy napon belüli pontosság és torzítatlanság vizsgálata

nominális koncentráció	mért átlagos koncentráció	szórás	átlag sztenderd hibája	variációs koefficiens	torzítatlanság
(mg/100 ml HCHO)	(mg/100 ml HCHO)	(mg/100 ml HCHO)	(mg/100 ml HCHO)	(%)	(%)
napon belüli pontosság					
0,583	0,554	0,032	0,018	5,747	95,063
2,042	2,159	0,040	0,023	1,831	105,747
4,025	4,166	0,134	0,077	3,218	103,505
napok közötti pontosság					
0,583	0,548	0,025	0,015	4,611	94,034
2,042	2,169	0,029	0,016	1,317	106,224
4,025	4,057	0,204	0,118	5,033	100,787

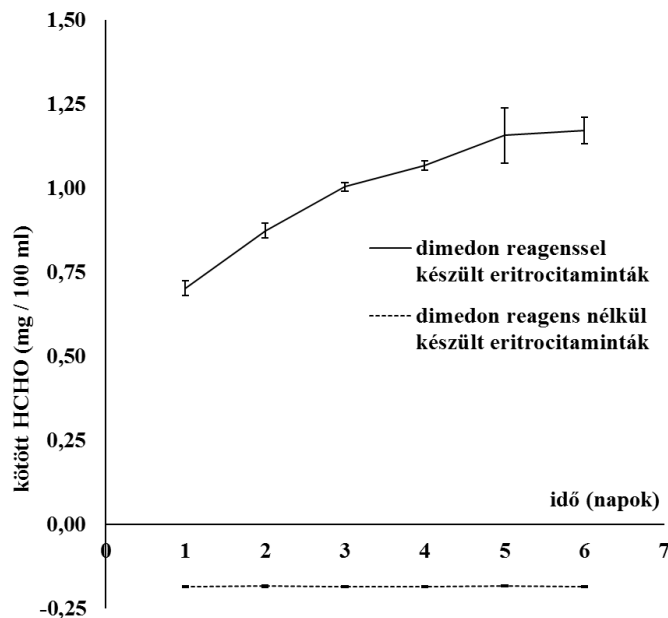
(HCHO = formaldehid)

5.3.2.1.3. Stabilitás és specificitás vizsgálata

Három parallel mérésel vizsgáltuk, hogy van-e szignifikáns eltérés, az első és az utolsó mérés között, ha a mérések öt órán belül történnek. ANOVA módszert alkalmaztunk a feltételezés igazolására. Csak statisztikailag nem szignifikáns eltérés volt megfigyelhető a mintavételek között ($p > 0,05$).

A reakció folyamatát hat egymást követő napon történő mérésel vizsgáltuk. A kapott adatok a 26. ábrán láthatók.

Csak metanollal, de adekvát módon készült eritrocita-mintát, valamint a tiszta metanolt vizsgálva nem detektáltunk értékelhető, pozitív tartományba eső jelet a retenciós idő tartományában (26. ábra).



26. ábra. Egymást követő 6 nap függvényében detektálható változó formaldehid (HCHO)-koncentráció

Az eritrocitaminták 5 g/100ml hemoglobinra sztenderdizált minták.

5.4. Humán tanulmányok

Humán tanulmányunkban arra a kérdésre kerestünk választ, hogy milyen kapcsolat van a redox-homeosztázis, a transzmetilezés és fémelemszintek között, hogyan változnak a vizsgált paraméterek egymáshoz viszonyítva a tumor miatt kezelt betegekben.

Amennyiben szoros kapcsolat mutatható ki, a paraméterek között, akkor táplálkozási faktorokkal javíthatóvá válhat a betegek életminősége.

5.4.1. Transzmetilezés vizsgálata onkológiai betegek esetében

Tanulmányunkban 25, a Semmelweis Egyetem Onkológiai Központjában megjelent kaukázusi rasszhoz tartozó egyén adatait használtuk fel. A kolektomizált betegeket ($N = 12$; $N_{\text{nők}} = 2$; $N_{\text{férfiak}} = 10$; átlag életkor \pm szórás = $59,8 \pm 11,2$) a vizsgálatot megelőző 8 hónapon belül operálták. A korban illesztett kontrollcsoport 13 fő volt ($N_{\text{nők}} = 8$; $N_{\text{férfiak}} = 5$; átlag életkor \pm szórás = $50,8 \pm 11,7$). Kezelt hipertóniája 3 személynek, kezelt hipotireóziisa, valamint kezelt oszteoporóziisa 1-1 személynek volt, továbbá 2 egyén esetében kemoterápiát nem igénylő, tiroid tumort írtak le.

A kolorektális tumor miatt műtött betegek és a járóbetegek között nem volt szignifikáns különbség a granulocitaszám (GRA), hematokrit (HCT), hemoglobinkoncentráció (HGB), limfocitaszám (LYM), átlagos vörösvérsejt hemoglobinkoncentráció (MCHC), monocitaszám (MON), átlagos vérlemezkétérfogát (MPV), vörösvérsejt (RBC), fehérvérsejtszám (WBC) között (7. táblázat). Ezek az adatok a tumorról kezeltéknél is általában a normáltartományon belül voltak, azonban a normáltartományon túli értékek esetében sem haladták meg a kritikusan alacsony vagy magas tartományt, így a kemoterápiát el lehetett kezdeni. Az átlagos vörösvérsejttérfogát (MCV), LYM%, MON% ($p < 0,05$) esetén statisztikailag szignifikáns módon eltért a két csoport. Emellett a LYM a tumoros betegekben kisebb volt, a GRA viszont nagyobb értékeket mutatott. Szignifikánsan magasabb volt a vérlemezkészám (PLT), amíg az MPV nem szignifikáns módon kisebb volt a tumoros betegekben.

7. táblázat. A vizsgálatba bevont betegek (N = 12) és kontrollok (N = 13) rutinlaboratóriumi adatai

	normál tartomány	kontroll (átlag ± szórás)	tumoros beteg (átlag ± szórás)	p < 0,05
RBC (10 ⁶ /mm ³)	3,7-5,2	4,82 ± 0,36	5,05 ± 0,49	
HGB (g/l)	120-160	141 ± 11	137 ± 20	
HCT (%)	35-48	39 ± 12	41 ± 5	
MCV (fl)	80-97	89 ± 4	80 ± 6	*
MCHC (g/l)	315-355	331 ± 6	337 ± 17	
PLT (10 ³ /mm ³)	140-400	214 ± 39	307 ± 114	*
MPV (fl)	5,5-12	8,2 ± 0,7	7,8 ± 0,9	
WBC (10 ³ /mm ³)	4-10	6,7 ± 2,3	8,6 ± 5,2	
LYM (10 ³ /mm ³)	1-10	1,9 ± 0,5	1,8 ± 0,8	
LYM% (%)	22,93-46,6	29 ± 5	23 ± 5	*
MON (10 ³ /mm ³)	0-0,8	0,29 ± 0,12	0,53 ± 0,55	
MON% (%)	3,23-5,5	4,78 ± 1,70	6,43 ± 2,07	*
GRA (10 ³ /mm ³)	1,8-7,7	4,6 ± 1,8	6,2 ± 4,1	
GRA% (%)	18,98-73,88	66,2 ± 6,9	70,8 ± 6,2	

(szignifikancia: *, p < 0,05) (GRA = granulocitaszám, HCT = hematorkit, HGB = hemoglobinkoncentráció, LYM = limfocitaszám, MCHC = átlagos vörösvérsejt hemoglobinkoncentráció, MCV = átlagos vörösvérsejttérfogat, MON = monocitaszám, MPV = átlagos vérlemezketérfogat, PLT = vérlemezkeszám, RBC = vörösvérsejt, WBC = fehérvérsejtszám)

A redox-paraméterek vizsgálatakor (8. táblázat) a kolektomizált betegekben szignifikánsan csökkent az eritrocitákban mérhető szabad szulfhidrilszint, ugyanakkor a H-donor aktivitás kismértékben emelkedett. A plazmában mérhető indukálható szabadgyökfogó-kapacitás viszont szignifikánsan javult a kolektomizált csoportban a kontrollhoz képest.

8. táblázat. A vizsgálatba bevont betegek (N = 12) és kontrollok (N = 13) között mért redoxi értékek és kötött HCHO-szintek

	kontroll (átlag ± szórás)	tumoros betegek (átlag ± szórás)	p < 0,05
Szabad szulfhidril (μmol/ml)	0,388 ± 0,036	0,378 ± 0,024	*
H-donor aktivitás (%)	17,7 ± 5,4	27,2 ± 7,1	
RLU (plazma) (%)	3,85 ± 2,67	1,29 ± 1,37	*
kötött HCHO (mg/ml)	14,49 ± 1,27	17,45 ± 4,90	

(szignifikancia: *, p < 0,05) (RLU=relatív fény mennyiség)

Az 5.3. fejezetben leírt módszerrel vizsgálva a transzmetilező kapacitást, a várttal ellentétben nem mutatkozott szignifikáns eltérés a kontroll és a kolektomizált betegek között, sőt, a tumor miatt kezelt betegekben mért kötött HCHO mennyisége meghaladta a kontrollcsoport értékeit.

A redox-homeosztázisban megfigyelhető javuló értékek és a transzmetilező kapacitásban bekövetkezett nem szignifikáns emelkedés további kérdéseket vetett fel, amit indokol az 5.4.2. fejezetben is tapasztalt gyakran emelkedett fémelemszint is. A nem várt eredmények miatti anomália feloldására rövid, jegyzőkönyvben rögzített interjúban felmértük a kolektomizáltak étkezési szokásaiban bekövetkezett változásokat. A vizsgált csoportban a betegek 83 %-a változtatta meg az étrendjét legkésőbb az első kemoterápiás kezelés napján. Általában gyümölcsökben, zöldségekben gazdagabb étrendet kezdtek fogyasztani, gyakran említették, az almát, de jellemzővé vált a heti egyszeri vagy többszöri cékla fogyasztás, amik a redox-homeosztázis és a transzmetilező kapacitást egyaránt befolyásolhatják, javíthatják. Figyelembe véve, hogy a mintavétel az első kemoterápiás kezelés előtt történt, megvizsgáltuk, hányan változtattak étrendet oly módon, hogy az befolyásolhatta a redoxi és transzmetilezést jellemző paramétereket. A betegek 58 %-a esetén az étrendi változtatás minimum 1 hónappal megelőzte a kemoterápiás kezelést, ami alátámasztja az étkezés és az étrendváltoztatás kimagasló szerepét a redox-homeosztázisban és a transzmetilezésben.

5.4.2. Fémelem-homeosztázis vizsgálata humán gasztrointesztinális tumorokban

Az előző fejezetben megfigyelt, redox-homeosztázisban és a transzmetilezésben tapasztalt javuló vagy stagnáló értékek felvetik a kérdést, vajon a redox-homeosztázissal szoros kapcsolatban álló fémes és nem fémes elemszintek miképp változnak kolektomizált betegekben. Retrospektív tanulmányunkban 49 kaukázusi rasszhoz tartozó beteg adatait elemeztük (Kleiner és mtsai 2016c). A kolektomizált, tumoros betegeket ($N = 27$; $N_{\text{nők}} = 13$; $N_{\text{férfiak}} = 14$; átlag életkor \pm szórás = $63,9 \pm 8,0$) a vizsgálatokat megelőző 3 éven belül operálták. A tumoros betegek 22 %-a szenvedett hipertóniában, 11 %-uk diabetes mellitusban, 15 % volt obéz. A járóbeteg csoportba belgyógyászati rendelésen megjelent malignitással nem kezelt betegeket válogattunk be ($N = 22$; $N_{\text{nők}} = 13$; $N_{\text{férfiak}} = 9$; átlag életkor \pm szórás = $46,8 \pm 13,8$). A járóbetegek 23 %-a szenvedett hipertóniában, 18 %-uk diabetes mellitusban és 9 % volt obéz. Ebben a csoportban a betegek 36 %-ánál

írtak le nem virális eredetű májpanaszt, ami az esetek negyedében ismert módon társult állandó alkoholfogyasztással. A járóbetegek gasztritisz-jellegű tünetekre vagy abdominális fájdalokra panaszkodtak, azonban 14 %-uknál igazolható volt a gastrooesophagealis reflux betegség, és szintén 14 % esetében a laktóz-intolerancia. Kizáró tényező volt a kolorektális malignitás és a gyulladásoos bélbetegség. Az elemek szintjének vizsgálata során 10 panaszmentes önkéntest (kontroll) is bevontunk a tanulmányba ($N_{\text{nők}} = 5$; $N_{\text{férfiak}} = 5$; átlag életkor \pm szórás = $55,3 \pm 14,9$).

Az elemek szintjét a mosott eritrocitákban vizsgáltuk, figyelembe véve, hogy az eritrociták élettartama meghaladja a 3 hónapot, így hosszabb periódust képesek jellemezni, mint a viszonylag változékony vérplazma (vagy szérum) (9. táblázat). A statisztikai vizsgálatok nem mutattak szignifikáns eltéréseket a Ca, Cu, Fe, Mg, Mn és S koncentrációk között ($p > 0,01$), de az Al, P és Zn elemek esetén további vizsgálatok voltak szükségesek ($p < 0,01$). A legmagasabb Al koncentrációt a kolektomizált betegek esetében mértük. Szignifikáns különbséget a kolektomizált betegek és a kontrollok között tapasztaltunk ($p < 0,01$). A legmagasabb Zn-koncentrációt szintén a kolektomizált betegeknél figyeltük meg, de a szignifikáns eltérés csak a kolektomizált és a járóbetegek között volt statisztikailag igazolható ($p < 0,01$). A legmagasabb P-szintet az egészségesekben, amíg a legalacsonyabbat a járóbetegekben tapasztaltuk. A járóbetegek csoportjától mind a kolektomizált betegek, mind a kontrollcsoport szignifikánsan különbözött ($p < 0,01$).

9. táblázat. Elemkoncentrációk a kontrollcsoport ($N = 10$) a járóbetegek ($N = 22$) és a tumoros betegcsoport ($N = 27$) eritrocitáiban

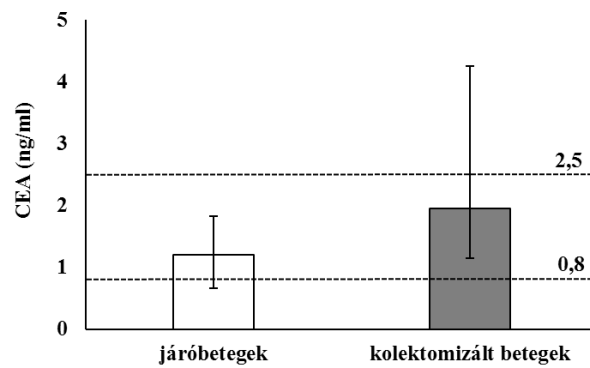
	kontroll (átlag \pm szórás)	járóbeteg (átlag \pm szórás)	tumoros beteg (átlag \pm szórás)	$p < 0,01$
Al ($\mu\text{g/g}$)	0,058 \pm 0,098	0,725 \pm 0,950	1,209 \pm 1,412	*
Ca ($\mu\text{g/g}$)	3,884 \pm 2,609	3,061 \pm 2,534	3,251 \pm 2,170	
Cu ($\mu\text{g/g}$)	0,034 \pm 0,032	0,047 \pm 0,032	0,066 \pm 0,079	
Fe ($\mu\text{g/g}$)	30,903 \pm 4,701	27,802 \pm 6,690	32,629 \pm 7,410	
Mg ($\mu\text{g/g}$)	1,685 \pm 0,331	1,661 \pm 0,387	1,845 \pm 0,380	
Mn ($\mu\text{g/g}$)	0,019 \pm 0,023	0,014 \pm 0,009	0,014 \pm 0,009	
P ($\mu\text{g/g}$)	46,0396 \pm 23,542	16,729 \pm 10,736	29,562 \pm 12,917	**,**
S ($\mu\text{g/g}$)	68,454 \pm 7,855	59,909 \pm 20,560	73,236 \pm 28,649	
Zn ($\mu\text{g/g}$)	0,525 \pm 0,228	0,364 \pm 0,135	0,546 \pm 0,258	***

(szignifikancia: *, $p < 0,01$ a kontrollok és a kolektomizáltak között; **, $p < 0,01$ a kontrollok és a járóbetegek között; ***, $p < 0,01$ a járóbetegek és a kolektomizált betegek között).

További vizsgálatokkal ellenőriztük, hogy vannak-e jelentős különbségek a férfiak és nők alcsoportjai között, de a jelen vizsgálatban egyik esetben sem igazolódott szignifikáns különbség.

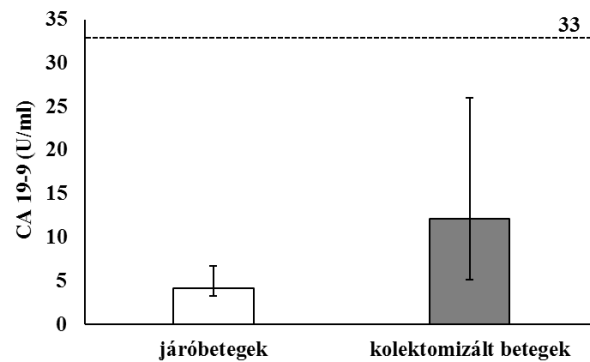
A Cu, a Fe és a Zn a legjellemzőbb fémek a redoxi rendszerben. Az eritrocitákban mérhető legnagyobb átlagos értékei ezeknek az elemeknek a kolektomizált betegek esetében volt megfigyelhető, sőt, az Al-szint is a kolektomizált betegekben volt a legmagasabb. Az ebben a csoportban tapasztalt átlagos érték 1,7-szer volt nagyobb, mint a járóbetegekben, és 21-szer magasabb, mint a kontrollcsoportban.

A rutinlaboratóriumi paraméterek tekintetében a betegcsoportok között igen kevés jelentős eltérés volt megfigyelhető. Nem volt szignifikáns különbség a tumor-markerek tekintetében, és mind a kolorektális tumor miatt kezelt betegeknél, mind a járóbetegeknél általánosságban a normáltartományon belül változtak az értékek. A malignitás miatt kezelt betegek esetében néhány mintában normál tartomány feletti tumormarker-szintet mértünk, ami visszavezethető a mintavétel és az operáció között eltelt viszonylag rövid időre, azonban néhány járóbeteg esetében is normáltartomány feletti értéket figyeltünk meg. Ez azonban nem utalt malignitásra, figyelembe véve, hogy a járóbetegek gasztrointesztinális kórképek miatt, diffúz hasi fájdalmak miatt keresték fel az orvost, és nem ritkán nem virális eredetű májpanaszok is voltak. A CEA interkvartilis tartománya kolektomizált betegek esetén 1,15-4,26 ng/ml, járóbetegek esetében 0,66-1,83 ng/ml volt (normáltartomány: 0,8-2,5 ng/ml) (27. ábra). A kolektomizált betegeknél a CA 19-9 interkvartilis tartománya 5,1-26,0 U/ml (normáltartomány: <33 U/ml), az AFP interkvartilis tartománya 2,01-3,04 ng/ml (normáltartomány: 0,50-5,50 ng/ml) volt (28. és 29. ábra). Járóbetegeknél ugyanezek a paraméterek interkvartilis tartománya 3,25-6,70 U/ml, valamint 1,67-3,71 ng/ml közé esett.



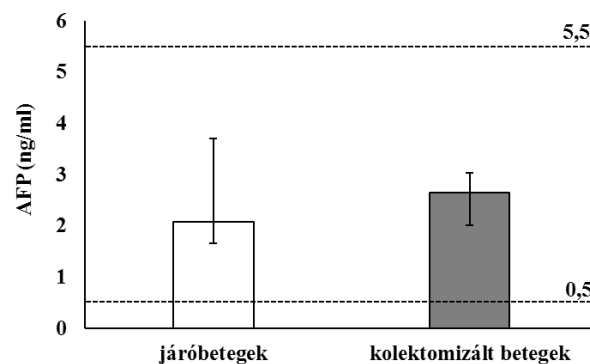
27. ábra. Járó- (N = 22) és a kolektomizált betegek (N = 27) karcinoembrionális antigén (CEA) értékei

Az ábrán a mediánok, illetve az interkvatilis tartományok találhatóak. A szaggatott vonal jelzi a normáltartományt.



28. ábra. Járó- (N = 22) és a kolektomizált betegek (N = 27) szénhidrát antigén 19-9 (CA 19-9) értékei

Az ábrán a mediánok, illetve az interkvatilis tartományok találhatóak. A szaggatott vonal jelzi a normáltartomány felső értékét.



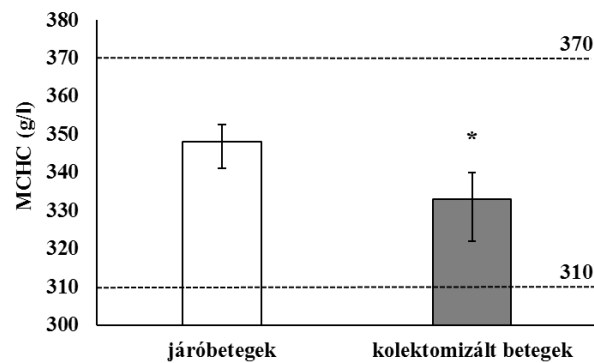
29. ábra. Járó- (N = 22) és a kolektomizált betegek (N = 27) α -fötóprotein (AFP) értékei

Az ábrán a mediánok, illetve az interkvatilis tartományok találhatóak. A szaggatott vonal jelzi a normáltartományt.

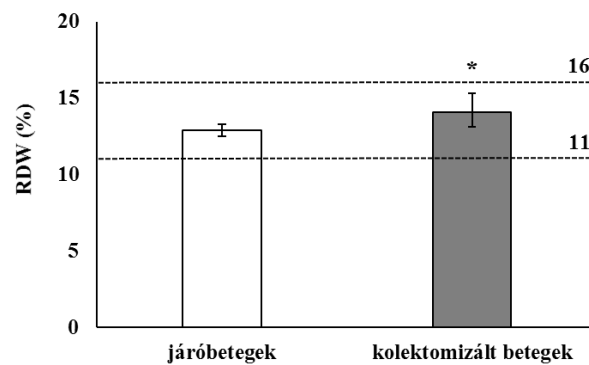
A rutinlaboratóriumi paraméterek jórészt nem mutattak szignifikáns különbségeket, ha a két nemet együtt vizsgáltuk, és általánosságban a mért adatok a normáltartományon belül voltak.

Kivételt képeztek a MCHC, a vörösvértest eloszlási szélesség (RDW) és az ALP értékek. Amíg a MCHC értéke szignifikánsan kisebb volt (30. ábra), a két utóbbi paraméter szignifikánsan magasabbnak adódott a tumor miatt kezelt betegekben (31. és 32. ábra) ($p < 0,01$).

Vizsgáltuk a nemek közötti eltéréseket is, hogy bizonyítsuk, nem torzította a statisztikai elemzést a férfiak és a nők egy csoportban történő kezelése. Egyedül a járóbetegek között a HGB-szint volt nők esetén szignifikánsan alacsonyabb az általunk vizsgált betegekben. Nemek szerint alcsoportokat képezve további szignifikáns eltéréseket azonban már nem tapasztaltunk a járóbetegek és a kolektomizált betegek között.

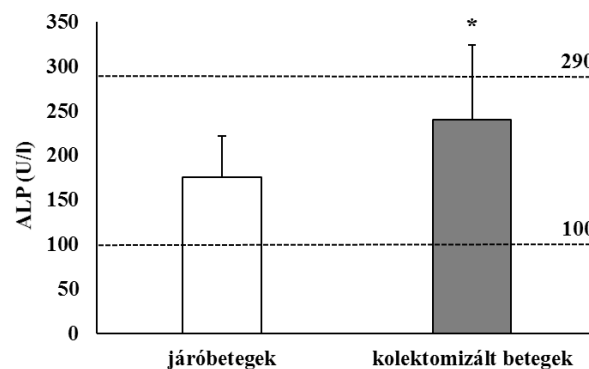


30. ábra. Járó- (N = 22) és a kolektomizált betegek (N = 27) átlagos vörösvérsejt hemoglobinkoncentráció (MCHC) értékei
Az ábrán a mediánok, illetve az interkvartilis tartományok találhatóak. A szaggatott vonal jelzi a normáltartományt (szignifikancia: *, $p < 0,01$).



31. ábra. Járó- (N = 22) és a kolektomizált betegek (N = 27) vörösvértest-eloszlási szélesség (RDW) értékei

Az ábrán a mediánok, illetve az interkvartilis tartományok találhatóak. A szaggatott vonal jelzi a normáltartományt (szignifikancia: *, $p < 0,01$).



32. ábra. Járó- (N = 22) és a kolektomizált betegek (N = 27) alkalikus foszfatáz (ALP) értékei

A szaggatott vonal jelzi a normáltartományt (szignifikancia: *, $p < 0,01$).

Összességében tehát a fémelemszintek markáns változásai már a rutinlaboratóriumi paraméterek enyhe eltérései mellett is megfigyelhetőek voltak. Az elemek koncentrációinak változása azonban nemcsak csökkenés lehet, ahogy az a redox-asszociált Fe és Al esetén is megfigyelhető. Sőt, a változás egyaránt feltételezhető pozitív és negatív eseményeket a háttérben. Az 5.4.1. fejezetben tapasztalt javuló antioxidáns-értékek háttérben szintén feltételezhető egy emelkedett fémelemszint, amit lehetséges, hogy egy „egészségesebb”, nyomelemekben dúsabb étrenddel érhető el a beteg, ahogy a tumor-asszociált kórképek esetén is feltételezhető ezeknek a változása.

6. Megbeszélés

Kutatómunkánk során kísérletes és humán tanulmányokat folytattunk annak érdekében, hogy bebizonyítsuk a táplálkozási faktorok szignifikáns hatását az életminőség, különös tekintettel a transzmetilezés és a redox-homeosztázis helyreállítása szempontjából, azok egymástól függő kapcsolatának igazolására.

6.1. Növényi élelmiszerek szerepe az életminőség változásában

A növényi eredetű friss és feldolgozott minták vizsgálata rámutatott azok antioxidánsokban gazdag mivoltára, alátámasztva étrendbe illesztésük jelentőségét.

Figyelembe véve, hogy táplálkozásélettani szempontból jelentős forrásnak általában olyan ételeket tekintünk, amelyek valamely beltartalmi értékei a napi igény 15 %-át fedezik, eredményeink alapján mind a frissen facsart narancslevek, mind a 100 %-os narancslevek (C-vitamintartalmuk alapján) megfelelnek ennek a feltételnek. Ezt megerősítik a 25-szörös hígításban is tapasztalható antioxidáns-tulajdonságok.

Több tanulmány is alátámasztja, hogy célszerű lenne megközelíteni az átlagos napi bevitt polifenolmennyiség galluszav ekvivalensben (GAE) kifejezett 1 g körüli értékét az egészség megóvása érdekében. Habár a GAE-ben történő kifejezést Witkowska és mtsai kerülendőnek tartják, a polifenolok szerteágazó tulajdonságai, valamint a reagens nem fenolos vegyületekkel, például vitaminokkal, aminosavakkal adott reakciói miatt, az így kifejezett mennyiség tájékoztató jellegét mégsem vitatják (Zujko és mtsai 2012, Witkoska és mtsai 2015, Brat 2006, Scalbert és Williamson 2000). Egy pohár (250 ml) facsart narancslé 8-10,6 % polifenolt, míg a kereskedelemben kapható narancslevek 9,8-11,1 %-ot fedeznek (4. táblázat). Ezek alapján akár a frissen facsart, akár a kereskedelemben kapható 100 %-os gyümölcslevekből elfogyasztott kétpohárnyi mennyiség, már jelentős polifenolbevittelt biztosít.

Az OGYÉI által meghatározott napi ajánlott aszkorbinsavbevittelt azonban már egy pohár narancslé elfogyasztása is meghaladta Salustiana, Navel, Lane late narancsokból facsart és Happy Day - Rauch 100 %, Sió 100 %, Spar Orange 100 %, valamint Topjoy 100 % narancslevek vizsgálati mintáiban, amíg a Cappy 100 % termékben az igényelt C-vitaminmennyiség 90 %-át érte el (NRV és UL értékek: https://www.ogyei.gov.hu/nrv_es_ul_ertekek/).

Felvetődik a kérdés, hogy a szabad szulfhidrilszint alapján becsülhető-e a ciszteinmennyiség, de figyelembe véve, hogy a reagens egyéb szulfhidril vegyületekkel is reagál, sőt, az anorganikus szulfit is zavarhatja a reakciót, csak tág határokon belül tekinthető valóságnak (Ellmann 1959, Winther és Thorpe 2014).

A facsart és szűrt narancslevek közötti különbségek ugyan jórészt elhanyagolhatónak bizonyultak, munkánkban is magasabb polifenoltartalom volt megfigyelhető a kereskedelemben kapható 100 %-os narancslevekben. Ez valószínűleg az iparban használt, nagyobb energiabefektetéssel végzett kinyerési eljárásokra vezethető vissza, melynek köszönhetően megemelkedik az intracelluláris térből kinyerhető tartalmi anyagok mennyisége (Agcam és mtsai 2014). A kapott aszkorbinsavtartalmak mindamelllett összhangban vannak a Souci-Fachmann-Kraut (2014) adatbázisában fellelhető információkkal. Amíg a frissen facsart narancslevek 250 ml-ében 134-155 mg mennyiségeket mértünk, addig az adatbázisban a narancsok esetén 112 mg-nak megfelelő értéket írtak le. Az általunk mért, kereskedelemben kapható 100 %-os narancslevek 250 ml-ében 74-128 mg-ot határoztunk meg, az adatbázis alapján ugyanekkora mennyiségű narancslében 105 mg volt található.

Habár az áfonya-fajokban jelentős mennyiségben vannak antioxidánsok, tartalmi anyagaikat és így antioxidáns-tulajdonságaikat tekintve jelentős eltérések figyelhetők meg mind a fajokon belül, mind a fajok között (6., 7. és 8. ábra) (Ieri és mtsai 2013). Munkánk során ezért megvizsgáltuk három áfonyafaj, a vörös, a fekete és a fürtös áfonya vizes áztatással készült kivonatainak antioxidáns tulajdonságait, kiemelt figyelmet szentelve a lipidperoxidáció gátlására, melynek segítségével felmértük a *Vaccinium*-fajok várható védőhatását a redox-homeosztázis felborulásával járó gasztrointesztinális kórképek esetén (Kleiner és mtsai 2016b, Deiana és mtsai 2012). Az áfonyák intakt, vizes oldatának direkt lipidperoxidációt gátló hatása szerepet kaphat az enterociták károsodásának mérséklésében, a membránintegritás fenntartásában.

Vizsgálatunkban a vártak megfelelően jelentős polifenol- és aszkorbinsavtartalmat tapasztaltunk a fekete áfonya kivonataiban. Az általunk mért polifenoltartalom azonban elmarad a szakirodalomban megadott értékektől. Az eltérés feltehetően a kivonási eljárás egyszerűségére vezethető vissza, ugyanis, tekintettel a fogyasztási szokásokra, mintáinkat egyszeri áztatással, szerves oldószer használata nélkül nyertük. Jovančević és mtsai (2011) metanolos extrakciót követően legkevesebb 3,9 GAE-nek megfelelő polifenolt

tudtak mérni 1 g friss fekete áfonyában, amíg esetünkben csak 1,2 GAE-nak megfelelő mennyiséget tudtunk meghatározni. A szakirodalomban fűrtös áfonya esetében legkevesebb 170,9 GAE, vörös áfonya esetében legkevesebb 431 GAE-nek megfelelő polifenolt írtak le a 100 g friss gyümölcsökben, amit szerves oldószerekkel és szerves oldószert tartalmazó eleggyel érték el (Lee és Finn 2012, Kim és mtsai 2013). Tanulmányunkban 29,8 mg, illetve 26,9 GAE-t határoztunk meg friss gyümölcsre átszámolva.

Hasonlóan alacsony értékek figyelhetők meg esetünkben a szakirodalomhoz viszonyítva az aszkorbinsavtartalomban. A Souci-Fachmann-Kraut (2014) adatbázisa alapján például az átlagos aszkorbinsavtartalom 22 mg 100 g fekete áfonya esetében. Tanulmányunkban csak 5,5 mg-ot tartalmazott 100 g nyers gyümölcs.

Az antioxidánsok tekintetében jelen tanulmányunk összevethető munkacsoportunk korábbi vizsgálataival. Skesters munkacsoportjával (2014) végzett tanulmányunkban hasonlóképp a legerősebb scavenger-kapacitást a fekete áfonyánál tapasztaltuk. A lipidperoxidáció gátlásakor a különbségek elsősorban a polifenoltartalomban megfigyelt eltérésekre vezethetők vissza. Az utóbb említett tanulmányban emellett látszik az is, hogy magukban a gyümölcsökben megfigyelhető elemtartalmak általában alacsonynak tekinthetők (10. táblázat). A fémelem meghatározásokat tekintve kivételt képez ez alól mindhárom áfonyafaj esetében a Mo-tartalom, mely a minták 100 g-jában a napi ajánlott mennyiség minimum 15 %-át fedezi.

10. táblázat. Néhány, redox homeosztázisban jelentős fémelem nedves tömegre számított elemtartalma fürtös, fekete, és vörös áfonyamintákban (N = 3) (Skesters és mtsai 2014)

	fürtös áfonya	fekete áfonya	vörös áfonya
	mg/kg		
Ca	57,0 ± 2,4	160,4 ± 9,5	240,7 ± 16,8
Cu	0,73 ± 0,11	0,31 ± 0,02	0,91 ± 0,12
Fe	2,36 ± 0,65	1,69 ± 0,06	3,25 ± 0,14
Mg	43,7 ± 9,4	53,1 ± 4,3	103,2 ± 6,1
Mn	0,68 ± 0,13	18,82 ± 0,49	20,29 ± 0,23
Mo	0,19 ± 0,07	0,14 ± 0,03	0,31 ± 0,02
Zn	0,64 ± 0,06	1,16 ± 0,17	2,19 ± 0,12

Szem előtt kell azonban azt is tartani, hogy ezek a vegyületek prooxidáns tulajdonságokkal is bírnak, például nagy dózisban, fémes elemek jelenléte esetében (Yordi és mtsai 2012). Ugyanígy a nagy dózisú, 500 mg/nap mennyiséget meghaladó C-vitamin okozhat hasi és húgyúti panaszokat, de hemolitikus folyamatokat is leírtak már (Rutkovski és Gregorczyk 2012).

Polifenolokban gazdag ételek étrendbe illesztése fontos tényező lehet, főleg a bélgyulladásal járó betegségekben, ugyanis a vegyületek nagy százaléka marad a béltraktusban, egy részük a vastagbelet is eléri, és így kifejtheti helyileg is jótékony hatását (Deiana és mtsai 2012, Thilakarathna és Rupasinghe 2013). Ebben az esetben a hatás közelebb áll az *in vitro* eredményeinkhez, figyelembe véve, hogy tanulmányunkban 37 °C-ot biztosítottunk és mind a Fe, mind pedig az aszkorbinsav jelen van a környezetben. Az eredmények így alátámaszthatják az áfonyák jótékony tulajdonságát Crohn-betegségben, ulceratív colitisben, valamint a cöliakiában és egyéb, gyulladással járó bélbetegségekben, amikor a bélhám integritása ismert módon károsodik, azonban a hatások pontos értékeléséhez klinikai vizsgálatok szükségesek.

Az ananász, áfonya, fekete ribizli és meggy tartalmú keménycukrokat vizsgálva jelentős antioxidáns-tulajdonságuk polifenoltartalmuknak is köszönhető (10., 11. és 12. ábra). A legjelentősebb mennyiséget az ananászos keménycukrok esetében figyeltük meg, 5 szem (10 g), már 22 GAE-nek megfelelő polifenoltartalmat képvisel. Ez ugyan elmarad egy pohár narancslében található érték mellett, de figyelembe véve a keménycukrok tömegét, a bevitt mennyiség a fent említett 5-10, vagy annál több szem elfogyasztásakor sem tekinthető nagy mennyiségnek a cukortartalmat nem számítva.

A növényi eredetű táplálékok (búza, bab, cékla, káposzta) transzmetilezési kapacitásának vizsgálatakor (13. ábra) képet kaphattunk néhány, a mindennapi életben is fogyasztott élelmiszer kötött HCHO-szintjéről. A magvakra jellemző módon jelentős metil-poolt detektáltunk a babban, ezzel szemben, és a várttal ellentétben a kereskedelmi forgalomban kapható céklában mértük a legkisebb könnyen mobilizálható metilcsoportmennyiséget. Limitáló tényező azonban, hogy a növények kötött HCHO-szintje széles spektrumban változik, többek között fajtól, fajtától, termőföldtől, termesztési körülményektől, stb. függően, így adataink elsősorban szemléltető jellegűek (Tyihák és mtsai 1998, Sárdi és Stefanovics-Bányai 2006, Hegedűs és mtsai 2011, Blázovics és mtsai 2012, Kleiner és mtsai 2013).

A növényi eredetű élelmiszerek fontos metildonor-forrást jelenthetnek, így felhasználásuk funkcionális élelmiszerek tervezésénél színesítheti a palettát. Ugyan jelenleg még elsősorban az antioxidáns védelmi rendszer erősítése számít közismertnek, várható, hogy a tudomány fejlődésével a transzmetilező kapacitás javítása is népszerű fejlesztési célponttá válik (Stein és Rodríguez-Cerezo 2008, Temesi és Biacs 2014, Budai és mtsai 2015).

A metilezési és demetilezési folyamatok létfontosságúak mind a növényi, mind az állati sejtek, és így az emberi szervezet életfolyamataihoz is. Mivel már a fotoszintézis folyamán is megfigyelhető HCHO képződés, evidens, hogy sok növényi eredetű táplálék metildonorokban gazdagnak tekinthető (Trézl és mtsai 1988, Sárdi és mtsai 2006, Sárdi és Tordai 2005). A betain az egyik fontos metildonor vegyület, amihez legnagyobb mennyiségben bizonyos csíráztatott magvak, vagy például a cékla, spenót fogyasztásával juthatunk (Ziesel és mtsai 2003). Szinte az összes fogyasztott élelmiszer tartalmaz kolint, közülük kiemelkedően nagy mennyiség található a búzacsírában, szárított szójababban.

A metildonor vegyületek számtalan előnnyel járnak (Detopoulou 2008, Cholewa és mtsai 2017). Az emelkedett betainbevitel vagy szupplementáció előnyeit több tanulmány is alátámasztja. Attika tartományban (Görögország) 2002-ben, egészséges felnőtteken végzett tanulmány alapján a nők napi kolinfogyasztása átlagosan 285 mg, a férfiaké 291 mg volt. A napi betainfogyasztást nők esetében 314 mg-nak, férfiak esetében 306 mg-nak találták. A gyulladással kapcsolatos faktorok szintje 310 mg feletti kolinfogyasztásnál szignifikánsan, a homocisztein mennyisége csak tendenciózusan csökkent. Ha a napi betainfogyasztás meghaladta a 350 mg feletti értéket, a homocisztein és a TNF- α szintje szignifikánsan, az

IL-6 és CRP szintje csak kismértékben csökkent (Detopoulou 2008). Szupplementációs vizsgálatok alapján lehetségesnek tűnik a vérplazma homociszteinszintjét csökkenteni, melynek magas értékét kardiovaszkuláris és cerebrovaszkuláris események szempontjából rizikófaktorként tartják számon (McRae 2013, Mazza és mtsai 2016). Várható azonban, hogy a betainnal dúsított élelmiszerek a sportolók felkészítésénél is figyelmet fognak kapni, ugyanis a placebohoz képest jobban teljesített a betainnal szupplementált csoport egy edzési periódus végén, tekintettel arra, hogy számtalan faktorban, többek között a százalékos testzsír arányában, ill. a zsírtömegben kedvező változások voltak megfigyelhetők (Cholewa és mtsai 2013). További kutatásokat igényel azonban a metildonorok mennyiségének megemelt fogyasztása várandósok és kismamák esetében, ugyanis a metildonorokban gazdag étrend megváltoztatta egyes DNS-szekvenciák metilációs mintázatát, amelyek kapcsolatban állnak a növekedéssel, a metabolizmussal és az étvágy kontrollálásával. Ugyanakkor egyes tanulmányok szerint hozzájárulhatnak a velőcsőzáródási rendellenességek csökkentéséhez is (Pauwels és mtsai 2017; Li és mtsai 2016).

A metilező ágensek metil-poolra kifejtett hatása miatt több tanulmányban is vizsgálták a céklát (Váli és mtsai 2007, Nyirády és mtsai 2010, Hegedűs és mtsai 2011, Blázovics és mtsai 2012). A hatások általánosságban pozitív voltak. Javultak a redox- homeosztázist jellemző paraméterek. Prostatatumoros betegekben nőtt a kötött HCHO-szint, ezzel párhuzamosan lecsökkent a Zn-protoporfirin- és szabad protoporfirinszint az eritrocitákban, ami a hemoglobin javuló bioszintézisére utal. Azonban figyelembe kell venni, hogy ugyanebben a betegpopulációban megemelkedhet a szupplementáció hatására az epiteliális növekedési faktor (EGF) és a prostata specifikus antigén (PSA) szintje, ami miatt szoros kontroll ajánlott (Nyirády és mtsai 2010, Blázovics és mtsai 2012). A cékla fogyasztás emelte továbbá a bilirubinszintet mind az egészséges patkányokban, mind zsírdús táppal etetett állatokban (Sárdi és mtsai 2009). Patológiai szempontból a nagy mennyiségű cékla fogyasztás szintén kérdéseket vet fel, a több esetben is tapasztalt "purple colon" jelentkezése miatt (Cserni és Kocsis 2008, Roemmelt és mtsai 2014). Ez további vizsgálatokat igényel, amelyek alapján definiálható az a betegpopuláció, amelyik minimálisan vagy nem jelentkező mellékhatások mellett a lehető legtöbbet profitálna a funkcionális élelmiszerként alkalmazott cékla fogyasztásából.

6.2. Állati eredetű élelmiszerek transzmetilező kapacitása és antioxidáns tulajdonsága

Növényi eredetű élelmiszereinkkel párhuzamosan állati eredetű élelmiszerekben is vizsgáltuk a metil-poolt, valamint a redoxi paraméterek között a H-donor aktivitást (14. és 15. ábra). Méréseink alapján a baromfimájban mind a kötött HCHO-szint, mind a H-donor aktivitás szignifikánsan nagyobbak bizonyult a nyúlmájhoz képest (Kleiner és mtsai 2013). (Jelen esetben a tartási körülményeket és a fajon belüli, fajták közötti eltéréseket nem tekintettük kiemelt fontosságúnak.)

A fentieket szem előtt tartva azonban szembe tűnik, hogy a magasabb antioxidáns státusszal magasabb kötött HCHO-szint társult. Ez alátámasztja azt, hogy az emelkedett transzmetilező kapacitás jobb redox-státusszal jár. Nem szabad azonban figyelmen kívül hagyni azt sem, hogy a transzmetilezés az antioxidáns rendszertől függetlenül is változhat, ahogy azt fenti kísérleteinkben is tapasztaltuk. További irodalmi adatok szintén bizonyítják a transzmetilező kapacitás emelkedésével párhuzamosan javuló antioxidáns státuszt (Hegedűs és mtsai 2011, Blázovics és mtsai 2012). Az ezekkel kapcsolatos irodalmi áttekintést a 6.1. fejezetben taglaltuk.

Mindez rávilágít arra, hogy akár a növényi, akár az állati eredetű élelmiszerek esetében a vitamin, fenolos vegyületek és más antioxidáns tulajdonságot hordozó bioaktív anyagok mellett nagy figyelmet kell szentelni az egészséges metil-pool fenntartására. A jórészt magvakból és állati eredetű élelmiszerekből szervezetünkbe jutó kolin, betain és más metildonor vegyületek hozzájárulnak az életminőség javításához (Kleiner és mtsai 2013). A napjainkban szegényessé vált étrend, vagy divatos - de szélsőséges - diéták miatt így a jó minőségű táplálék-kiegészítők és funkcionális élelmiszerek is hasznosak lehetnek. A nem várt hatások elkerülése érdekében azonban létfontosságú a deklarált minőség, és a társadalmi szintű megfelelő oktatás. Ezek hozzájárulnak a pontosabb dozírozáshoz, így nélkülözhetetlen elemeivé válhatnak a prevenció törekvéseknek.

6.3. Az életminőséget befolyásoló tényezők állatkísérletes modelleken

Az állatkísérletek alapján mind a zsírdús táp, mind az alkohol befolyásolta a transzmetilezést és a redox-homeosztázist jellemző paramétereket. Ez alapján egyértelműen kijelenthető, hogy az antioxidáns-szabadgyök rendszert érintő vizsgálatok

szerteágazó információ-tartalommal bírnak, így egy-egy kiragadott méréssel nem lehet jellemezni a szövetek redox-homeosztázisát, aktuális státuszát.

6.3.1. A redox homeosztázis és a transzmetilezés változása a nyugati étrend hatására

A „short term” kísérletben alkalmazott zsírdús táp etetésének célja a nyugati étrend magas zsírsavtartalmának, ezáltal a túlzott energiabevitelnek a modellezése volt. A kísérlet során nagy mennyiségben adott napraforgóolaj tipikusan magas olajsavtartalommal (egyszeresen telítetlen zsírsav) és linoleinsavtartalommal (ω -6-telítetlen zsírsav) rendelkezik, így a modell relevánsnak tekinthető, annak ellenére, hogy több, mint harminc éve alkalmazzák (Varga 2008, Orsavova és mtsai 2015).

Látható volt, hogy amíg a több antioxidáns-paraméter (pl.: szabadgyökfogó kapacitás, diénkonjugátumok szintje) szignifikáns romlást mutatott, addig a H-donor aktivitás nem jól jellemezte az antioxidáns-státuszt (16. ábra) (Blázovics és mtsai 1992, Sárdi és mtsai 2009, Hegedűs és mtsai 2011, Kleiner és mtsai 2014). Ezzel szemben a kötött HCHO-szint a zsírdús táp minőségének függvényében lépcsőzetesen, szignifikánsan csökkent (18. ábra).

A H-donor aktivitás értékekben megfigyelt anomália alimentáris eredetű zsírmáj esetében azonban a zsírsavlebontás és a katabolikus folyamatok biokémiai hátterével jól magyarázható (Nassir és Ibrah 2014). Továbbá Bogin és mtsai is már 1986-ban hasonló eredményeket tapasztaltak patkánykísérletben, a máj elzsírosodásának vizsgálata során. A zsírsavak β -oxidációja, majd az így keletkezett acil-csoportok Szent-Györgyi-Krebs-ciklusban történő bontása során ugyanis nagy mennyiségű NAD^+ redukálódik NADH -dá. A redukáló-koefficiens H-donor aktivitásra kifejtett hatását *in vitro* kísérletben igazoltuk (17. ábra). Mind a NADH (mind a NADPH) jelentős, koncentrációfüggő H-donor aktivitást mutatott. A determinációs koefficiens mindkét esetben meghaladta a 0,9-et, ami igen szoros kapcsolatra utal. A próbastatisztika 1 % alatti értéke a függő és független változók között igazolja a kapcsolatot. Mindez alátámasztja azt, hogy a H-donor aktivitás meghatározása nem előnyös zsírdús táppal végzett kísérletek során az antioxidáns státusz változásainak jellemzésére.

A metil-pool szintjének szignifikáns csökkenése azonban rámutat az irodalomban tapasztalt káros hatásokra, valamint felhívja a figyelmet a transzmetilezés és a redox-homeosztázis kapcsolatára. Mivel a metilezés és demetilezés egyaránt érinti a

membránalkotók szintézisét, a homocisztein eliminálását, a poszttranszlációs és epigenetikai módosításokat; kérdéses, mely folyamatok érintettek a leginkább a metilpool csökkenésében (Stead és mtsai 2006, Mudd és mtsai 2007, Laird és mtsai 1994). Az azonban látható, hogy a kóros metabolikus folyamatokkal párhuzamosan a transzmetilezési folyamatok is felborulnak. Az egyik leggyakrabban vizsgált metilezési folyamat a DNS epigenetikai módosítása. A változásokat nem alkoholos eredetű szteatohepatitiszben de Mello és mtsai (2017) napjainkban, humán májmintákon végzett tanulmányában is leírta. Megállapították azt is, hogy globálisan vizsgálva inkább hipometilezettség figyelhető meg. Ez összhangban van jelenlegi tanulmányunkkal, de további vizsgálatokat igényel annak felmérése, hogy az epigenetikai módosítást a metilpool csökkenése milyen mértékben képes befolyásolni, figyelembe véve, hogy annak arányát elhanyagolhatónak tekintik a kreatin-, a foszfatidilkolin-, a szarkozinszintézishez és a homocisztein remetilálásához képest. Kiemelendő továbbá, hogy a tanulmányban malignitások kialakulását érintő epigenetikai változásokat is tapasztaltak.

Mint azt a modellkörülményeinkben is biztosítani kívántuk, a nyugati életmód magával vonja a telített- és az ω -6-telítetlen zsírsavbevitel előtérbe kerülését, és a csökkent ω -3-telítetlen zsírsavbevitt (Cordain és mtsai 2005, Fébel és mtsai 2008, De Pergola és Silvestris 2013). Jelentős lenne tehát olyan olajok fogyasztása, melyek a kívánt ω -6/ ω -3-telítetlen zsírsavarányt az egészségesnek tekintett 5 körüli érték irányába változtatná, bár napjainkban erre már számtalan módon nyílik lehetőség. Jelentős mennyiségű étrendkiegészítő kapható, melyet ω -3-telítetlen zsírsavban dús tengeri halakból készítenek, de kendermagolaj-tartalmú készítmények is elérhetőek (Varga 2008, Ditrói és mtsai 2013). Ki kell emelni azonban azt is, hogy ezeknek a termékeknek is lehetnek mellékhatásaik. Gyakori például emésztési zavarok kialakulása, hasmenés, valamint vérzési idő megnyúlása. Ez utóbbi interakcióhoz vezethet antikoaguláns kezelések során, de trombocitopéniát kiváltó kezelések (egyes kemoterápiák) esetében is emelhetik az életveszélyes vérzések rizikóját (Hibbeln és Gow 2014). A kenderben megtalálható nem pszichoaktív vegyületeknek, melyek között legismertebb a kannabidiol, további előnyei lehetnek az obezitással gyakran összefüggő metabolikus szindrómában (Kleiner és Ditrói 2012).

6.3.2. A redox homeosztázis és a transzmetilezés kapcsolata alkoholos eredetű zsírmájban

Az összességében 16 hétig tartó patkánykísérlet során végzett hisztopatológiai vizsgálatok igazolták az alkohol direkt membránkárosító és metabolikus egyensúlyt felborító hatását a májban (Kleiner és mtsai 2016a). Az intravénásan alkalmazott liposzómás glicirrizin a szövettani képeken nem látható változást okozott (19. és 20. ábra). Ezzel szemben a biokémiai vizsgálatok már javuló értékeket mutattak (21., 22. és 23. ábra). A H-donor aktivitásban bekövetkezett enyhe emelkedés a szakirodalomban tapasztaltakkal összevethető, összefüggésbe hozható az alkohol elsődleges lebomlásából származó redukáló ekvivalens-termelődéssel (Han és mtsai 2012). Az 5.2.1. fejezetben bemutatott *in vitro* vizsgálatunk alapján a NADH és a NADPH vegyületek valóban befolyásolják a mérési eredményt. A szignifikancia hiányának hátterében az adaptációs folyamatok is szerepet kaphatnak, ugyanis az állatok több hónapon keresztül fogyasztottak alkoholt. A glicirrizin-kezelés mérsékelte a megemelkedett H-donor aktivitást, ami jelen esetben nem csupán az antioxidánszint csökkentéseként, hanem az antioxidáns-prooxidáns egyensúly egészséges felé eltolódásaként is értelmezhető.

A szabad szulfhidrilszint nem szignifikánsan alacsonyabb átlagértéke a májban egyaránt összefügghet a hosszan tartó oxidatív stresszel, az excesszív mennyiségű redukáló ekvivalenssel (ami már a redoxi egyensúly felborulását okozhatja), valamint az enyhe fokú malnutrícióval (Haas és mtsai 2012, Hagymási és mtsai 2001, Cylwik és mtsai 2013). A nem szignifikáns eltérés ebben az esetben is visszavezethető a hosszú távú kezelés miatti adaptációra. A glicirrizin-kezelés az előzőekben tapasztaltak szerint mérsékelte az alkohol hatását és nem szignifikáns módon emelte a szabad szulfhidrilszintet.

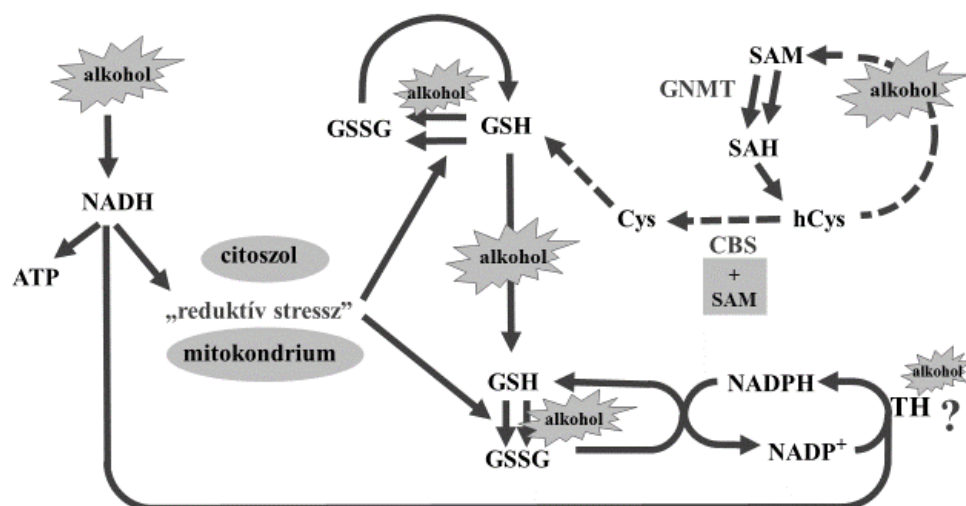
Az alkohol anyagcserét károsító hatása szintén megfigyelhető a szignifikánsan lecsökkenő metil-pool alapján a májban. A glicirrizin-kezelés kismértékben emelte a kötött HCHO-szintet, azonban a változás nem volt szignifikáns az alkoholt fogyasztó állatokhoz képest, de a kontrollállatokhoz viszonyítva már nem volt statisztikailag szignifikáns az eltérés a kezelés hatására.

Szemben Nagai és mtsai (1991), valamint Rasool és mtsai (2014) kutatásaival, az általunk végzett tanulmányban jelentősen alacsonyabb glicirrizin-dózist kaptak az állatok, ami magyarázza a kezelés hatására jelentkező kevés szignifikáns változást. A kisebb dózis

alkalmazásával viszont elkerülhető a glicirrizin hatására kialakuló pszeudoaldoszteronizmus, ugyanis Wu és mtsai (1999) már 200 mg/kg per os dózisonál markáns mellékhatásokat figyeltek meg, ami jelentősen meghaladja az általunk alkalmazott dózist, figyelembe véve, hogy a glicirrizin biohasznosíthatósága 4 %, származékának, a glicirretinsavnak pedig 14,2 % (Wang és mtsai 1994).

Összességében a három hónap hosszúságú alkohol-kezelés enyhe eltéréseket okozott a redox-homeosztázisban, de a jelentősen lecsökkent kötött HCHO-szint felhívja a figyelmet a hosszú távú alkoholfogyasztás metil-poolt csökkentő hatására, mint rizikótényezőre (NIH 2007) (33. ábra). Ha a metil-pool csökken, csökkenhetnek a metilezési folyamatok, így zavart szenvedhet a sejtfalak funkciója, a fehérjék poszttranszlációs modifikációja és az epigenetikai módosítás (Cravo és mtsai 1996, Parkhomenko és mtsai 2007). A redox-rendszert és a transzmetilezést érintő biokémiai folyamatok mellett az alkohol direkt sejtfalkárosító tulajdonságú. Tovább rontja a helyzetet, hogy az alkoholisták közismert módon gyakran küzdhetnek malnutríciós eredetű problémákkal is.

Az alkoholizmus során jellemző módon csökkenő GSH- és metildonorszint nehezen magyarázható a megemelkedett NADH-koncentráció mellett, mivel a GSH redukciójához szükséges NADPH-t a mitokondriális transzhydrogenáz könnyen előállíthatná a felhalmozódott NADH-ből és NADP⁺-ből. A kompartmentalizáció miatt feltételezhető lenne az is, hogy a transzhydrogenáz mitokondriális lokalizációja csak az egész sejt számára nem képes biztosítani a NADPH-t, és a mitokondriumban az anyagcserét még fenn tudja tartani, azonban Liang és mtsai (2013) bizonyították, hogy a mitokondriális GSH- és NADPH-szint egyaránt szignifikánsan csökkenhet.



33. ábra. A redox-homeosztázis az alkoholmetabolizmus és a transzmetilezés kapcsolata. Az alkohol hatására nő a sejt redukált nikotinamid-adenin-dinukleotid (NADH)-szintje, ami „reduktív stresszt” okoz. Az alkohol metabolizmusa és a NADH okozta stressz miatt a sejtben, többek között a mitokondriumban is, nő a glutation (GSH)-fogyasztás, a GSH-szintet fenntartó folyamatok viszont gátoltak. Csökken a mitokondrium GSH-importja és mérséklődhet annak redukált nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát (NADPH)-szintje. A citoszol GSH utánpótlása szintén zavart szenvedhet, ugyanis a GSH-szintézishez ciszteinre van szükség. A cisztein szintézisének egyik enzimét, a cisztationin-szintetáz aktivitását viszont az S-adenozil-metionin (SAM) befolyásolja. Az alkoholizmus miatt gátolt SAM-képződés így mérsékelheti a cisztein szintézisét is. Az SAM mennyiségét nemcsak a szintézist végző enzimek alulműködése csökkentheti, hanem az elbontását végző glicin-N-metiltranszferáz enzim nagyobb aktivitása is, ami viszont emeli a cisztein-szintézis forrását, a homocisztein szintet. A növekvő homociszteinszint, annak prooxidáns tulajdonsága miatt ugyancsak GSH, illetve az azt redukálni képes NADPH jelenlétét igényli. A mikroszómális alkohollebontásában szerepet játszó oxidáló mechanizmus viszont szintén NADPH-t használ fel (Lieber 1997, Liang és mtsai 2013, Ying 2008, Villanueva és Halsted 2004, Purohit és mtsai 2007, Yin és mtsai 2012). (ATP = adozin-trifoszfát, CBS = cisztein- β -szintáz, Cys = cisztein, EtOH = etanol, GNMT = glicin-N-metiltranszferáz, GSSG = glutation diszulfid, hCys = homocisztein, NAD⁺ = oxidált nikotinamid-adenin-dinukleotid, NADP⁺ = oxidált nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát, ROS = reaktív oxigén származék, SAH = S-adenozil-homocisztein, TH = transzhydrogenáz)

A redox-homeosztázis és a transzmetilezés felborulásában a táplálkozási okok és a magas ROS-szint mellett fontos tényező az SAM és a GSH-szintézisben szerepet játszó enzimek aktivitásának változása. Villanueva és Halsted (2004) kutatásai szerint az alkohol az aktivált metilciklus több enzimének mind az aktivitását, mind a transzkripcióját enzim aktivitását növelte. Ez megmagyarázza, hogy az SAM szintje miért csökkenhet könnyen az alkoholizmus során. A csökkenő SAM mennyiségének azonban nemcsak a

transzmetilezési folyamatokra van hatása, hanem a *de novo* GSH-szintézishez szükséges cisztein előállítására is. Az SAM ugyanis a cisztationin- β -szintáznak allosztérikus aktivátora, és így a transz-szulfatáláshoz szükséges cisztationin-szintézist is képes befolyásolni (Purohit és mtsai 2007).

A citoszolban *de novo* keletkező cisztein, és így a GSH szintézisének mérséklése mellett az alkohol a sejt életképességét befolyásoló mitokondriális szulfhidrilszintet közvetlenül is képes befolyásolni, mert csökkentheti a mitokondriális GSH-importot (Yin és mtsai 2012). Ezzel ellentétesnek tűnik Bailey és mtsai (2001) megfigyelése, miszerint minimum egy hónapig alkoholt fogyasztó patkányokban emelkedett a mitokondriális GSH-koncentráció, azonban a mitokondriumból nem exportálható oxidált GSH mennyisége is megnőtt. A vártak megfelelően a citoszol GSH-szintje csökkent. Ez megerősíti a mitokondriális redox-ponteciál jelentőségét a sejtek életképességében.

A hosszan tartó alkoholfogyasztás azonban kimerítheti a mitokondrium GSH-tartalékát, sőt a mitokondriális NADPH-pool is csökkenhet, míg a háttérben a NADH-szint emelkedését figyelték meg (Liang és mtsai 2013). Ez a megfigyelés viszont azt feltételezi, hogy nemcsak a jelentősebb NADPH-felhasználás áll a GSH-szint csökkenésének hátterében, mert akkor a NADH szintjének is csökkennie kellett volna. A hipotézist alátámasztja, hogy Zhao és mtsai (2010) poszt-transzlációsán módosult lizint írtak le a NADPH redukálását végző transzhydrogenázban. Annak ellenére, hogy Picklo már 2008-ban emelkedett mitokondriális lizin-acetilációt írt le alkohol hatására, a szakirodalomban még nem találtunk információt az acetilezett transzhydrogenáz aktivitásáról (Picklo 2008). Továbbá, mivel az alkohol emeli a ROS-szintet, serkenti a protein karboxilációt is, ami szintén képes befolyásolni a fehérjék működését (Bailey és mtsai 2001). Kérdéseket vet azonban fel, hogy az alkohol hatására bekövetkező poszt-transzlációs módosítások hogyan és milyen mértékben befolyásolják az enzimeket, az egyre alacsonyabb SAM-szint milyen mértékben csökkenti a cisztein-szintézist, illetve milyen egyéb hatásoknak van szerepe az alkohol okozta károsodásokban, annak ismeretében, hogy egyes esetekben nemcsak a mitokondrium, hanem a máj össz-GSH szintjének emelkedését is megfigyelték (Bailey és mtsai 2001, de Zwart és mtsai 2003).

Ezek alapján lényeges kérdés lehet az alkohol ROS termelést serkentő tulajdonsága mellett a szintén oxidatív stresszor tulajdonságú homocisztein remetilálása. A metioninből SAM szintetizálható, ami jótékonyan befolyásolhatja a cisztein képződést,

ezáltal a GSH-szintet is. Az alkoholizmus okozta májkárosodás mérséklésében ezért fontos szerepet kaphatnak metiláló ágensekben gazdag élelmiszerek, például a cékla, és az abban nagy mennyiségben megtalálható glicin-betain. A betain a betain-homocisztein-metiltransferáz segítségével képes remetilálni a homociszteint, a keletkező metionin pedig már felhasználható SAM szintézisére (Purohit és mtsai 2007, de Zwart és mtsai 2003).

6.4. Fémelemek és a redox homeosztázis változása kolektomizált betegekben

Humán tanulmányainkban vizsgáltuk a redox-homeosztázis, a transzmetilezés, valamint a fémelem-homeosztázis változását tumoros betegekben.

6.4.1. Transzmetilezés vizsgálata kolektomizált betegekben

Mint arra Blázovics és mtsai 2013-ban már rámutattak, különböző tumorok esetében a transzmetilező kapacitás jelentős befolyással lehet a betegség végkimenetelét tekintve. A munkacsoport által korábban használt mérési metodika azonban viszonylag nehéz elérhetősége, valamint a mérés során lehetséges környezeti HCHO-szennyeződés zavaró hatása következtében rutinlaboratóriumi vizsgálati módszerként nehezen lenne alkalmazható.

Az elmúlt időszakban a transzmetilezési folyamatok széles körben tanulmányozott folyamatokká váltak (Kalász 2003, Greenberg és mtsai 2007, Guerrero-Preston és mtsai 2007, Li és mtsai 2010, Frustaci és mtsai 2012, Albu és mtsai 2013). Már 2006-ban is több mint 50 biokémiai folyamatot ismertek, melyben transzmetilezés történt. Ezek egyaránt érinthetnek kis molekulákat, mint az adrenalin vagy olyan összetett molekulákat, mint fehérjék, de akár magát a DNS-t is (Ashour és mtsai 2014). Továbbá, a transzmetilezés jelentőségét bizonyították már tumorok korai detektálásában. Figyelemre méltó, hogy az SAM-szint emelkedett tüdőtumorkban, a GSH-S-transferáz mü 2 és a proenkefalin gének hipermetiláltak prosztatarákban, míg genomszintű hipometilációt írtak le májtumoros betegek esetén. Ezzel párhuzamosan csökkent metil-poolt írtak le prosztata- és kolorektális tumoros betegek esetében (Greenberg és mtsai 2007, Guerrero-Preston és mtsai 2007, Ashour és mtsai 2014, Blázovics és mtsai 2008, Blázovics és mtsai 2012). A kötött HCHO szervezetben betöltött szerteágazó szerepét mutatja az is, hogy a

metilezési folyamatok jelentős szerepet kapnak a gyógyszerek metabolizmusában is (Kalász 2003).

Ebből következik, hogy a transzmetilezés mérhetősége a jövőben diagnózist módosító tényezővé válhat (Blázovics és mtsai 2008, Blázovics és mtsai 2012, Greenberg és mtsai 2007, Guerro-Preston és mtsai 2007).

A metilezés és demetilezés mindig HCHO generálásán keresztül történik. A fő forrás az SAM (Tyihák és mtsai 1998, Sárdi és Tyihák 1998). Az enzimatikusan bontható HCHO-források mennyisége (általánosságban a kötött HCHO-szint) ezért képes lehet jellemezni egy-egy szövet transzmetilező kapacitását. Ez alapján, ha a fent említett, tumoros betegekben megfigyelt genomszintű hipometilezettség egy általánosan jelentkező csökkent transzmetilező kapacitás miatt alakult ki, nem szükséges epigenetikai vizsgálatok elvégzése, elégséges lehet a vérminták, főképp a hosszabb élettartamú eritrociták metil-pooljának a meghatározása (Guerro-Preston és mtsai 2007). Továbbá, mivel az egyik legismertebb poszt-transzlációs metilezett fehérje a hemoglobin fehérje komponense, az eritrocitáminták elemzése képet adhat a vörösvértestek funkciójáról, magyarázatot adva egyes anémiás állapotokra (Berg és mtsai 2008, Kimzey és McFadden 1994).

A vörösvértestekben mérhető metil-pool jól jellemezhetné a szervezet transzmetilező kapacitását, a legtöbb mérési eljárás azonban speciális reagenseket vagy eszközöket igényel. Az OPLC-vel végzett mérési eljárás egyszerű, gyors és pontos, de nehezen hozzáférhető, az UV/VIS HPLC-t igénylő módszerek könnyebben elérhetők, és kevésbé érzékenyek a környezeti HCHO-re (Blázovics és mtsai 2012). A HPLC-t használó módszerek között kiemelkedő a vizeletben mérhető HCHO-szint meghatározására alkalmas eljárás, melyet Lengyel és mtsai (2003) fejlesztettek ki. Előnyös, hogy a méréshez nem fluorimetriásan detektálható reagenst, hanem 2,4-dinitrofenilhidrazint (DNPH) és propionaldehid belső sztenderdet használtak. A mintákat azonban szilárd fázisú extrakciót, nitrogén-áram alatt történő beszárítást és acetonitrelben történő visszaoldást követően lehetne csak HPLC-vel mérni, ami komplikálttá teszi a mérést rutinlaboratóriumi körülmények között. Sárdi és Tyihák (1994) egy ennél egyszerűbb HPLC metodikát definiált, mely metanolban oldott dimedont használt sertésmáj és humán vizeletből történő méréshez. Az eritrocitáminták megbízható vizsgálata esetében azonban módosításokra volt szükség.

A fentieknek megfelelően kialakított mérési metodika (5.3. fejezet) azonban alkalmasnak mutatkozott humán eritrocitáink kötött HCHO mennyiségének meghatározására, habár a kis mintaszám miatt a jövőben tervezünk nagyobb populáción végzett vizsgálatokat. A betegcsoport vizsgálatával meglepő módon azonban több esetben a kötött HCHO-szint nemhogy szignifikánsan alacsonynak nem mutatkozott, de kis mértékben meg is haladta a kontrollcsoportban mért értékeket (8. táblázat). Ezzel párhuzamosan a szabadgyökfogó kapacitás szignifikánsan jobbnak mutatkozott, amíg a szabad szulfhidrilcsoportok mennyisége szignifikánsan alacsonyabbnak. Ugyan a H-donor aktivitásban nem történt jelentős változás, de az értékek javuló tendenciája szintén az eddigi tapasztalatokkal ellentétesnek mondhatók (Blázovics és mtsai 2012, Khan és mtsai 2010, Szilvás és mtsai 2001, Váli és mtsai 2008, Panieri és Santoro 2016, Marengo és mtsai 2016).

E nem várt eredmény azt az elgondolást vetette fel, hogy a betegek bizonyára valamilyen étrendi módosítást végeztek betegségük folyamán. Feltételezésünket rövid, jegyzőkönyvben rögzített interjú alapján egyértelműen igazolni lehetett, mivel a kolektomizált betegek több, mint fele legkevesebb hónapja új, általában gyümölcsökben, zöldségekben gazdagabb étrendet fogyasztott. Mérésünk szempontjából zavaró volt továbbá, hogy az étrendi váltást követően az esetek felében hetente minimum egyszer céklát is fogyasztottak. Mindez újra felhívja a figyelmet az étrend szignifikáns, redoxi paramétereket és metilezettséget befolyásoló tulajdonságára, továbbá a gyógyszerészi gondozás relevanciájára. A gyógyszerészi képzés részét képezi ugyanis a különböző gyógynövények ismerete, valamint ezek mellékhatás és interakciós profilja.

Az antioxidáns irányú eltolódás azonban újabb kérdéseket vetett fel. A disszertációban bemutatott állatkísérletek mellett széles szakirodalom is bizonyítja, hogy a redox-homeosztázis egyensúlyi rendszerének bármilyen irányú eltolódása sem tekinthető egészségesnek (Bouayed és Bohn 2010, Carochó és Ferreira 2013, Mendelshon és Larrick 2014). Az antioxidánsok közismert kemopreventív tulajdonsága mellett egyre inkább előtérbe kerül azok kritikus megítélése tumorok kezelése mellett. Szem előtt tartva a malignusan elfajult sejtek gyakran magasabb ROS-szintjét, lehetséges, hogy egyes esetekben az antioxidáns-deplíciónak lenne terápiás értéke (Mendelshon és Larrick 2014, Bystrom és mtsai 2014, Dawane és Pandit 2012, Rafieian-Kopaei és mtsai 2013, Panieri és Santoro 2016). Mindez azt a jelenleg egyre általánosabban elfogadott koncepciót

támogatja, mely szerint a térben és időben kontrollált oxidatív stressz nélkülözhetetlen az egészséghez, melynek feltétele a térben és időben kontrollált antioxidáns védelmi rendszer. Ezt a szubcellulárisan irányított rendszert a nem jól megtervezett, vagy hamisított étrend-kiegészítők, és az azokkal történő egyoldalú, nagy dózisu szupplementáció felboríthatja (Csupor 2014, Kleiner 2014, Kleiner és mtsai 2015a, Janicsák 2014, Lugasi és mtsai 2010b). Ez magyarázatot ad a fent említett tanulmányokban is leírt negatív eredményekre. Mindezt alátámasztja az a tapasztalat is, hogy a polifenolos vegyületek, melyeket gyakran antioxidánsként alkalmaznak étrend-kiegészítőkben, inkább a jelátviteli útvonalakon keresztül modulálják a sejtműködést, semmint direkt antioxidánsként hatnak normál, fiziológias körülmények között (Blázovics 2011, Zhang és Tsao 2016).

A redox-paraméterek mellett elenyésző szignifikáns eltérést találtunk a rutinlaboratóriumi paraméterek között (7. táblázat). Továbbá, a kapott adatok kis százalékban tértek el a normálértéktől is, így a betegek tervezett tumor elleni terápiája nem változott. Kiemelendő azonban a közeli, 2 hónapon belül történt műtétek miatt az emelkedett trombocitaszám, mely prognosztikus jelentőségű is lehet. Josa és mtsai (2015) kolorektális tumor miatt műtött betegeket vizsgálva rámutattak, hogy a trombocitaszám általában lecsökkent, azonban néhány beteg esetén trombocitózis volt megfigyelhető. Ez, a túlélési adatok alapján rosszabb prognózisra utalt. Esetünkben is, általában normál tartományon belül volt a vérlemezkeszám a kolektomizált betegek esetében is, azonban két esetben a normál tartománynál magasabb értéket lehetett megfigyelni. Jelenleg ugyan nincs egyértelmű nemzetközi ajánlás ilyen esetekben, de a megszokottnál szorosabb kontroll, például hosszabb távon fenntartott radiológiai ellenőrzővizsgálat lehet ajánlott.

6.4.2. Fémelemek és redox-homeosztázis változása kolektomizált betegekben

Az egyik legrettegettebb kórkép a kemoterápia alatt a demenciához hasonló „chemobrain”. Jellemző a kórképre a végrehajtó és az intellektuális képességek csökkenése, ami idővel már az életminőség romlásához vezet. Habár elsősorban a kemoterápiához kötik a jelentkezését, jelen ismereteink szerint mind a mai napig nem ismert a kórkép pontos patológiája és a befolyásoló tényezők (Hurria és mtsai 2007, Butterfield és mtsai 2014). Míg a redox-homeosztázis zavara igazolt a „chemobrain” esetén is, addig csak igen kevés irodalom foglalkozik a fémelem-anyagsere lehetséges

zavarával e kórképben (Kleiner és mtsai 2015c, Kleiner és mtsai 2016c, Butterfield és mtsai 2014).

Retrospektív tanulmányunkban a célunk az volt, hogy megvizsgáljuk az Al és egyéb, redox-asszociált fémek szintjét kolorektális tumor miatt műtött betegekben. A „chemobrain” és az Al, valamint a d-mező elemek kapcsolatát eritrocitáinkban vizsgáltuk, mivel az eritrocitáink egy hosszabb periódust tükröznek, mint a szérum vagy a plazma (Kleiner és mtsai 2016c). A tanulmányban kapott adatok annak ellenére, hogy nagy szóródást mutattak, jelentős információ-tartalommal rendelkeztek (9. táblázat).

Közismert, hogy a Fe-háztartás érzékeny mutatói az RDW és az MCHC értékei (Simbaqueba és mtsai 2013). A jelentős módon emelkedett RDW és lecsökkent MCHC értékek a Fe-homeosztázis zavarára utalhatnak (31. és 32. ábra). A kolorektális tumoros betegekben megfigyelhető, Fe-háztartásban bekövetkezett zavart régebbi tanulmányok is alátámasztják (Spell és mtsai 2004).

A tumor miatt kezelt- és kontrollcsoport eritrocitáinkban jelen tanulmányunkban ugyan sem a Fe, sem a Zn szintje nem különbözött szignifikánsan, sem a HGB nem volt markánsan alacsony a kolektomizált betegekben, de irodalmi adatok alapján a metilezettség lecsökkenése már mérsékelheti a hemoglobin szintézisét. Ez összefüggésbe hozható a kemoterápia alatt kialakuló anémiával előrehaladott tumorokban, és rámutat a protoporfirinszint, a scavengerszint és a metil-pool szintjének jelentőségére malignus kórképek esetében (Blázovics és mtsai 2012, Hassan és mtsai 2013, Blázovics és mtsai 2008). Mindez újfent felhívja a figyelmet a transzmetilezési folyamatok ellenőrizhetőségének kérdésére, ami érdekében az 5.3. fejezet szerint validáltunk egy HPLC-módszert. A módszerből készült metodikai cikket már egy szaklaphoz eljuttattuk. Az emelkedett ALP-aktivitás a vérben szintén jellemző a kolorektális tumorokban (májáttét) (33. ábra). Egyes tanulmányok szerint prognosztikus értéke lehet, így jelentős, hogy a vizsgált betegek adatainak csak kis százaléka volt nagyobb a normáltartomány felső határánál (100-280 U/l) (Saif és mtsai 2005).

Az eritrocitáink fémek szintjeinek vizsgálatára már az 1960-as években is találhatunk példát. Herring és mtsaival (1960) szemben, akik lényegében a vérmintákat egy centrifugálást követően használták fel, és a bemért anyagmennyiségre vonatkoztatták az eredményeket, munkánk során az elemtartalmat hemoglobinra sztenderdizált minták

felhasználásával végeztük, valamint a 4.2.4.2. fejezetben leírt hosszabb mosási eljárással is tisztítottuk a mintákat. A két tanulmány mintakezelése között tehát jelentős eltérések figyelhetők meg, amelyek magyarázzák az elemek koncentrációiban megfigyelhető különbségeket.

Annak ellenére, hogy retrospektív vizsgálatunkban statisztikailag kevés eltérés volt jelentősnek tekinthető a három csoportot (egészséges kontrollcsoport, a járóbeteg nem tumoros csoport, a tumorral műtött betegcsoport) elemezve; az Al, a foszfor és a Zn szintjei között markáns különbségeket találtunk.

Az egészséges kontrollcsoport és a járóbeteg nem tumoros csoport és a tumorral műtött betegcsoport közötti szignifikáns eltérés a foszforszintek között várható volt. Ismert ugyanis, hogy a vércukorszint, a testtömeg-index és a vérnyomás inverz korrelációban áll a szérumban található foszfor szintjével. A járóbetegek esetében gyakori kórképnek számított a diabetes mellitus, a túlsúly és magas vérnyomás (Håglin 2001). A májpanaszokért is felelős alkoholos italok fogyasztása szintén csökkentheti a szérumban foszforkoncentrációját, de a többnyire kontrollálatlan módon történő vény nélküli gyógyszerek (mint az Al-tartalmú antacidok szedése reflux esetén) szintén jelentősen befolyásolhatja a szervezet foszforegyensúlyát (Liamis és mtsai 2010). A túlsúly, a diabetes mellitus és a magas vérnyomás szintén okozhat alacsony foszforkoncentrációt a kolektomizált betegek esetében, de a feltételezhetően alacsony D-vitaminszint és a feltáplálási szindróma tovább csökkentheti az elem szintjét (Raman és mtsai 2011, Mehanna és mtsai 2008). Malignus esetekben emellett a tumoros szövet termelhet fibroblaszt eredetű növekedési faktort (FGF23, fibroblast growth factor 23), ami szintén súlyos foszforvesztést okozhat (Leaf és mtsai 2013). Mindezek alapján számos kórkép, kémiai anyag, többek között gyógyszerek szerepet kaphatnak a foszforkoncentráció jelentős csökkenésében, mind a kolektomizált, mind a járóbetegek esetében (Imel és Econs 2012).

Az emelkedett Cu-szint összhangban van a szakirodalommal tapasztaltakkal (Shenberg és mtsai 1995, Gupta és mtsai 1993, Beno és mtsai 2000), azonban kevés adatot lehet fellelni a kolorektális tumorok során megemelkedett Al-szinttel kapcsolatban. Jelentősnek tekinthető azonban, hogy Lavilla és mtsai (2009) a tumoros szövetben nagyobb Al- és esszenciális elemkoncentrációt írt le. Az összehasonlítást 38 kolorektális tumoros beteg esetében végezték el; az egészséges bélszakaszokat és a tumoros

szakaszokat hasonlították össze. Habár a vérparamétereikről nem számoltak be, a tanulmány a fenti limitációk figyelembe vételével alátámasztja megfigyelésünket.

Kiemelendő a fenti szignifikáns eltérések mellett, hogy a kolektomizált betegekben a kilenc vizsgált elem közül hat nagyobb volt, mint a járóbetegekben vagy a kontrollcsoportban. Jelentős továbbá, hogy a tanulmányunkban is emelkedett Al-, Cu- és Fe-szintek nagy koncentrációja zavarokat tud okozni a redox-egyensúlyban, így például az idegrendszerben is, amit számtalan tanulmány is igazolt az Alzheimer-, a Parkinson- vagy Wilson-kór esetében, valamint a Friedreich ataxiában és a prion-betegségben (Butterfield 2014, Dusek és mtsai 2015, Singh és mtsai 2010, Ward és mtsai 2014, Braidy és mtsai 2014, Maiese és mtsai 2012).

Habár a kemoterápia-indukálta kognitív zavar, azaz a „chemobrain” patológiája mind a mai napig nem tisztázott, feltételezhetően szerepet kaphatnak benne a genetikai eltérések, immunológiai zavarok, zavart neurogenesis, csökkent agyi vaszkularizáció vagy véráramlás, a fehér állomány károsodása, a hipotalamusz-agyalapi mirigy-mellékvese axis megváltozott működése, a tumor jelenléte, valamint az oxidatív stressz (Siegers és Fardell 2011, Janelsins és mtsai 2014). Mivel az oxidatív stressz jelenléte alátámasztható, ezért a fémek szintjét célzó vizsgálatok szintén fontosak (Hurria és mtsai 2007, Butterfield 2014). Hiányzik továbbá egy jól ismert és világszerte alkalmazható, valamint elérhető állatmodell a kemoterápia indukálta kognitív zavar vizsgálatára, annak ellenére, hogy a kórkép viszonylag gyakran alakul ki a tumor elleni terápiák során. Az állatmodellek kifejlesztésében az elemszintek ismerete szintén segítséget nyújthat (Siegers és Fardell 2011, Janelsins és mtsai 2014).

Retrospektív tanulmányunkban igazolható volt a redox-asszociált elemek emelkedett szintje kolektomizált és kemoterápiával kezelt betegekben. Vizsgálatunkkal rámutattunk továbbá az excesszív mennyiségű elemek lehetséges szerepére a „chemobrain”, és egyéb, oxidatív stresszel összefüggésben álló kórképek esetén.

7. Következtetések

1. A redox-homeosztázis, a transzmetiláló képesség, valamint a fémion-háztartás között szoros kapcsolat mutatható ki.
2. Táplálkozás-élettani szempontból jelentős növényi és állati mintákban szignifikáns különbségek mutathatók ki a transzmetilezettség, fémion összetétel és a redox paraméterekben.
3. Patkánykísérletben igazolható, hogy az alkohol következtében kialakuló zsírmájban is szignifikánsan csökken a mobilizálható metilcsoportok szintje.
4. Patkánykísérletben, alimentáris eredetű zsírmájban a vizsgált globális antioxidáns paraméter (H-donáló képesség) sem enyhe, sem súlyos állapotban nem mutat szignifikáns különbséget az egészséges állatokhoz képest, amíg a könnyen mobilizálható metilcsoportszintekben már szignifikáns csökkenés mérhető a máj elzsírosodási folyamatában.
5. Retrospektív vizsgálatban igazolható, hogy kolektomizált és kemoterápiában részesülő betegek fémion-homeosztázisa több fém esetében jelentős különbséget mutat az egészséges egyének értékeihez viszonyítva.
6. A kolektomizált és kemoterápiában részesülő betegek szignifikánsan magasabb eritrocita aluminiumszintje szerepet kaphat a tumorokhoz köthető oxidatív stresszel járó neurológiai kórképek, pl.: „chemobrain” kialakulásában.
7. Humán eritrocitákban a transzmetilációs folyamatok tanulmányozására HPLC módszert fejlesztettünk ki, mellyel lehetőség nyílik a betegség státuszának követésére, képet kaphatunk tápláltsági állapotuk változásáról, étrend-kiegészítő fogyasztási szokásaikról.

8. Összefoglalás.

Kutatásaim célja az volt, hogy a redox-homeosztázis és az azzal asszociált biokémiai folyamatok, elsősorban a transzmetilezés és az elemiszintek klinikai jelentőségére rámutassak.

Növényi eredetű élelmiszerek között a narancsból, 100 %-os narancslevekből, áfonyából, gyümölcskivonatot tartalmazó keménycukor készítményekből, búzából, babból, céklából és káposztából készült mintákkal, valamint az állati eredetű élelmiszerek között a baromfi- és nyúl máj mintákkal bizonyítottuk a redox-homeosztázis, a transzmetiláló képesség, valamint a fémion-háztartás között kimutatható szoros kapcsolati rendszert, valamint a tápanyagforrások diverzitásának jelentőségét.

Patkánykísérletben igazoltuk, hogy mind az alkoholos eredetű zsírmájban, mind a nyugati étrend hatására kialakuló alimentáris eredetű zsírmájban, annak ellenére, hogy az máj antioxidáns-szabadgyök rendszerében a H-donor aktivitás és a szabad szulfhidrilszint alapján még nem figyelhető meg szignifikáns károsodás, a transzmetilező kapacitás már jelentős eltéréseket mutathat.

Vizsgáltuk a kolektomizált, kemoterápiában részesülő betegek redox-homeosztázisát, valamint az azzal asszociált fémelemszintek és transzmetilező kapacitás változását. Ez utóbbi paraméter méréséhez olyan módszert adaptáltunk, majd fejlesztettünk, mely széles körben alkalmazhatóvá válhat a klinikum számára. Módszerünket validáltuk és prospektív vizsgálatban próbáltuk ki. A mért transzmetilező kapacitást jellemző adatok és a redox-paraméterek elemzése során tapasztalt anomáliák miatt rövid, jegyzőkönyvben rögzített interjúban igazoltuk, hogy a betegek több mint 50 %-a változtatott étrendjén a diagnózist követően, de a mintavételhez képest legalább egy hónappal korábban. Ez magyarázta a kontrollal összevethető értékeket, amit kedvezőnek tartunk.

Kolektomizált, kemoterápiában részesülő betegek eritrocitamintáival végzett retrospektív vizsgálatban igazolható volt továbbá, hogy több fémelem esetében jelentős különbséget lehetett kimutatni az egészséges egyének értékeihez viszonyítva. A betegek szignifikánsan magasabb eritrocita Al-szintje szerepet kaphat a tumorokhoz köthető oxidatív stresszel járó neurológiai kórképek, pl.: „chemobrain” kialakulásában.

Summary

The aim of my Ph.D. work was to evaluate the clinical benefit of the redox homeostasis and the redox associated transmethylation and element-contents.

Differences in the redox homeostasis, the transmethylation and the element contents has been proven between plant originated foods (samples of oranges and 100 % orange juices, berries, fruit extract containing hard candies, wheat, bean, beetroot and cabbage) and animal originated foods (samples of poultry and rabbit liver). It has been demonstrated the importance of diversity in sources of nutrients.

In rat-experiments we have shown the marked differences in the transmethylation ability at alcohol induced and at the western diet (alimentary) induced liver damages in spite of the the non-significant differences between redox parameters (H-donor activity, free sulphydril level).

The redox system and the associated transmethylation capacity and element contents were also evaluated in colectomysed, chemotherapy treated patients. For that, an HPLC method has been developed, that can be useful in clinical laboratories. The validated method has been evaluated in a prospective trial. The detected transmethylation capacity, and redox parameters has shown unexpected features, as only the free sulphydril level of the erythrocytes has been lowered significantly, the H-donor activity and the methyl-pool of the erythrocytes has remained statistically unchanged, and scavenger capacity of the plasma has been elevated significantly. The anomalies could be explained by the changes of the patients' diets, which has been proven by a short, recorded interview.

In a retrospective study, the element contents of the colectomysed, chemotherapy treated patients has also been observed. Significant differences in some elements, especially elevated Al level has been detected between control group and colectomysed group. These differences may serve as new possibility to take under control of the redox associated neurodegenerative disorders (for example "chemobrain") in chemotherapy treated patients.

9. Irodalomjegyzék

1. Agcam E, Akyıldız A, Akdemir Evrendilek G. (2014) Comparison of phenolic compounds of orange juice processed by pulsed electric fields (PEF) and conventional thermal pasteurisation. *Food Chem*, 143: 354-361.
2. Albu C, Litescu SC, Radu GL, Aboul-Enein HY. (2013) Validated HPLC-Fl method for the analysis of S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine biomarkers in human blood. *J Fluoresc*, 23: 381-386.
3. Allen LA, Felker GM, Mehra MR, Chiong JR, Dunlap SH, Ghali JK, Lenihan DJ, Oren RM, Wagoner LE, Schwartz TA, Adams KF. Jr (2010) Validation and potential mechanisms of red cell distribution width as a prognostic marker in heart failure. *J Card Fail*, 16: 230-238.
4. Aptekmann NP, Cesar TB. (2013) Long-term orange juice consumption is associated with low LDL-cholesterol and apolipoprotein B in normal and moderately hypercholesterolemic subjects. *Lipids Health Dis*, 12: 119.
5. Ashour N, Angulo JC, Andrés G, Alelú R, González-Corpa A, Toledo MV, Rodríguez-Barbero JM, López JI, Sánchez-Chapado M. and Ropero S. (2014) A DNA hypermethylation profile reveals new potential biomarkers for prostate cancer diagnosis and prognosis. *Prostate*, 74: 1171-1182.
6. Bae JM., Kim EH. (2016) Dietary intakes of citrus fruit and risk of gastric cancer incidence: an adaptive meta-analysis of cohort studies. *Epidemiol Health*, 38: e2016034.
7. Bai J, Manthey JA, Ford BL, Luzio G, Cameron RG, Narciso J, Baldwin EA. (2013) Effect of extraction pasteurization and cold storage on flavonoids and other secondary metabolites in fresh orange juice. *J Sci Food Agric*, 93: 2771-2781.
8. Baidoo L, Hanauer SB. (2016) What Is the Best Approach to Avoid Colorectal Cancer Risk in Inflammatory Bowel Disease? *Curr Colorectal Cancer Rep*, 12: 345-351.
9. Bailey SM, Patel VB, Young TA, Asayama K, Cunningham CC. (2001) Chronic ethanol consumption alters the glutathione/glutathione peroxidase-1 system and protein oxidation status in rat liver. *Alcohol Clin Exp Res*, 25: 726-733.

10. Bardou M, Barkun AN, Martel M. (2013) Obesity and colorectal cancer. *Gut*, 62: 933-947.
11. Bastide N, Morois S, Cadeau C, Kangas S, Serafini M, Gusto G, Dossus L, Pierre FH, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC. (2016) Heme Iron Intake Dietary Antioxidant Capacity and Risk of Colorectal Adenomas in a Large Cohort Study of French Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 25: 640-647.
12. Beaulaurier J, Zhang XS, Zhu S, Sebra R, Rosenbluh C, Deikus G, Shen N, Munera D, Waldor MK, Chess A, Blaser MJ, Schadt EE, Fang G. (2015) Single molecule-level detection and long read-based phasing of epigenetic variations in bacterial methylomes. *Nat Commun*, 6: 7438.
13. Beno I, Klvanová J, Magálová T, Brtková A. (2000) Blood levels of natural antioxidants in gastric and colorectal precancerous lesions and cancers in Slovakia. *Neoplasma*, 47: 37-40.
14. Birchwood B. (1972) Lipid studies in obesity. *Can Fam Physician*, 18: 53-54.
15. Blázovics, A.: A redox-homeosztázis változása és az antioxidánsok jelentősége máj- és bélbetegségekben. Doktori Értekezés. MTA Doktori Pályázat. Budapest, 2005
16. Blázovics A. (2011) Small Molecules in Cancer Therapy: Cytotoxics and Molecularly Targeted Agents. *Curr Signal Transduct Ther*, 6: 2-19.
17. Blázovics A. (2015) Természetes hatóanyagok a májterápiában. *Orv Hetil*, 156: 1888-1891.
18. Blázovics A. Oxidatív stressz biológiai rendszerekben. In.: Blázovics A, Mézes M, Róth E (szerk.), *Oxidatív stressz és betegségek*. Szent István Egyetemi Kiadó Nonprofit Kft, Gödöllő, 2015: 9-16.
19. Blázovics A, Fehér E, Fehér J. Role of free radical reactions in experimental hyperlipidemia in the pathomechanism of fatty liver. In.: Csomós G, Fehér J (szerk.), *Free radical and the liver*. Springer-Verlag, Berlin, 1992: 96-123.
20. Blázovics A, Kovács A, Lugasi A, Hagymási K, Bíró L, Fehér J. (1999) Antioxidant defense in erythrocytes and plasma of patients with active and quiescent Crohn disease and ulcerative colitis: a chemiluminescent study. *Clin Chem*, 45: 895-896.

21. Blázovics A, Kursinszki L, Papp N, Kleiner D, Szőke É, Hegyi G, Szilvás Á. (2016) Is professional prescribing of a commercially derived dietary supplement in colectomised patients necessary? *Eur J Integr Med*, 3: 219-226.
22. Blázovics, A., Nyirády, P., Romics, I., Szűcs, M., Horváth, A., Szilvás, Á., Székely, E., Szentmihályi, K., Bekő, G. and Sárdi, É.; How Can Cancer-Associated Anemia Be Moderated with Nutritional Factors and How Do *Beta Vulgaris L. Ssp. Esculenta Var. Rubra* Modify the Transmethylation Reaction in Erythrocytes in Cancerous Patients? In: Silverberg D (szerk.), *Anemia*. InTech, Rijeka, 2012: 93-114.
23. Blázovics A, Szilvás Á, Sárdi É, Székely E, Bekő G, Szentmihályi K. Metal homeostasis in colorectal cancer patients after colectomy. In: Szilágyi M, Szentmihályi K (szerk.), *Trace Elements in the Food Chain: Vol. 3: Deficiency or Excess of Trace Elements in the Environment as a Risk of Health*. Hungarian Academy of Science, Budapest, 2009: 41-45.
24. Blázovics A, Szilvás Á, Székely G, Tordai E, Székely E, Czabai G, Pallai Z, Sárdi E. (2008) Important bioactive molecules of erythrocytes in colorectal cancer patients after colectomy. *Open Med Chem J*, 2: 6-10.
25. Bogin E, Avidar Y, Merom M. (1986) Biochemical changes in liver and blood during liver fattening in rats. *J Clin Chem Clin Biochem*, 24: 621-626.
26. Bouayed J, Bohn T. (2010) Exogenous antioxidants — Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid Med Cell Longev*, 3: 228–237.
27. Boyle P, Levin B. *World Cancer Report 2008*. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, 2008: 62-95.
28. Braidly N, Poljak A, Marjo C, Rutledge H, Rich A, Jayasena T, Inestrosa NC, Sachdev P. (2014) Metal and complementary molecular bioimaging in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*, 6:138.
29. Brat P, Georgé S, Bellamy A, Du Chaffaut L, Scalbert A, Mennen L, Arnault N, Amiot MJ. (2016) Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *J Nutr*, 136: 2368-2373.

30. Bray GA. Classification and evaluation of the overweight or obese patient. In: Bray, G. A., Bouchard, C. (szerk.), Handbook of obesity. Clinical application. Third edition. Informa Healthcare, New York, 2008: 1-28.
31. Budai KA, Hankó B, Antal I, Zelkó R. (2015) Funkcionális élelmiszerek típusai, előállítási módszerei és minőségbiztosításuk. *Acta Pharm Hung*, 85: 97-110.
32. Butterfield DA. (2014) The 2013 SFRBM discovery award: Selected discoveries from the butterfield laboratory of oxidative stress and its sequela in brain in cognitive disorders exemplified by Alzheimer disease and chemotherapy induced cognitive impairment. *Free Radic Biol Med*, 74C: 157-174.
33. Bystrom LM, Guzman ML, Rivella S. (2014) Iron and reactive oxygen species: friends or foes of cancer cells? *Antioxid Redox Signal*, 20: 1917-1924.
34. Cantoni GL. (1951) Activation of methionine for transmethylation. *J. Biol. Chem*, 189: 745-754.
35. Cao Y, Giovannucci EL. (2016) Alcohol as a Risk Factor for Cancer. *Semin Oncol Nurs*, 32: 325-331.
36. Carocho M, Ferreira IC. (2013) A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*, 51: 15-25.
37. Chandrasekaran CV, Deepak HB, Thiyagarajan P, Kathiresan S, Sangli GK, Deepak M, Agarwal A. (2011) Dual inhibitory effect of Glycyrrhiza glabra (GutGard™) on COX and LOX products. *Phytomedicine*, 18: 278-284.
38. Chávez-Piña AE, Tapia-Álvarez GR, Reyes-Ramírez A, Navarrete A. (2011) Carbenoxolone gastroprotective mechanism: participation of nitric oxide/(c)GMP/K (ATP) pathway in ethanol-induced gastric injury in the rat. *Fundam Clin Pharmacol*, 25: 717-722.
39. Cholewa JM, Dardevet D, Lima-Soares F, de Araújo Pessôa K, Oliveira PH, Dos Santos Pinho JR, Nicastro H, Xia Z, Cabido CE, Zanchi NE. (2017) Dietary proteins and amino acids in the control of the muscle mass during immobilization and aging: role of the MPS response. *Amino Acids*. 49: 811-820.
40. Cholewa JM, Wyszczelska-Rokiel M, Glowacki R, Jakubowski H, Matthews T, Wood R, Craig SA, Paolone V. (2013) Effects of betaine on body composition, performance, and homocysteine thiolactone. *J Int Soc Sports Nutr*, 10: 39.

41. Cordain L, Eaton SB, Sebastian A, Mann N, Lindeberg S, Watkins BA, O'Keefe JH, Brand-Miller J. (2005) Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *Am J Clin Nutr*, 81: 341-354.
42. Cravo ML, Glória LM, Selhub J, Nadeau MR, Camilo ME, Resende MP, Cardoso JN, Leitão CN, Mira FC. (1996) Hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: correlation with folate vitamin B-12 and vitamin B-6 status. *Am J Clin Nutr*, 63: 220-224.
43. Czigány Z, Turóczy Zs, Kleiner D, Lotz G, Homeyer A, Harsányi L, Szijártó A. (2015) Neural elements behind the hepatoprotection of remote preconditioning. *J Surg Res*, 193: 642-651.
44. Cylwik B, Naklicki M, Gruszewska E, Szmitkowski M, Chrostek L. (2013) The distribution of serum folate concentration and red blood cell indices in alcoholics. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 59: 1-8.
45. Cserni G, Kocsis L.(2008) The case of the purple colon. *Virchows Arch*, 452: 703.
46. Csupor D. Természetes, tehát biztonságos? Növényi eredetű termékek minőségellenőrzési tapasztalatai. In.: Blázovics A. Mézes M. (szerk.), Természetes eredetű hatóanyagok a modern orvoslásban 2013. Szent István Egyetemi Kiadó Nonprofit Kft, Gödöllő, 2014. 112-116.
47. Davidson DM. (1989) Cardiovascular effects of alcohol. *West J Med*, 151: 430–439.
48. Dawane JS, Pandit VA. (2012) Understanding redox homeostasis and its role in cancer. *J Clin Diagn Res*, 6: 1796-1802.
49. de Mello VD, Matte A, Perfilyev A, Männistö V, Rönn T, Nilsson E, Käkelä P, Ling C, Pihlajamäki J. (2017) Human liver epigenetic alterations in non-alcoholic steatohepatitis are related to insulin action. *Epigenetics*. 12: 287-295.
50. De Pergola G, Silvestris F. (2013) Obesity as a Major Risk Factor for Cancer. *J Obes*, 2013: 291546.
51. De Zwart FJ, Slow S; Payne RJ; Lever M; George PM; Gerrard JA; Chambers ST. (2003) Glycine betaine and glycine betaine analogues in common foods. *Food Chemistry*, 83: 197–204.
52. Deiana M, Loru D, Incani A, Rosa A, Atzeri A, Melis MP, Cabboi B, Hollecker L, Pinna MB, Argiolas F, Murru M, Dessi MA. (2012) Wine extracts from Sardinian

- grape varieties attenuate membrane oxidative damage in Caco-2 cell monolayers. *Food Chem*, 134: 2105-2113.
53. Detopoulou P, Panagiotakos DB, Antonopoulou S, Pitsavos C, Stefanadis C. (2008) Dietary choline and betaine intakes in relation to concentrations of inflammatory markers in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr*, 87: 424-430.
 54. Diallo A, Deschasaux M, Partula V, Latino-Martel P, Srouf B, Hercberg S, Galan P, Fassier P, Guéraud F, Pierre FH, Touvier M. (2016) Dietary iron intake and breast cancer risk: modulation by an antioxidant supplementation. *Oncotarget*, 7: 79008-79016.
 55. Ditrói K, Kleiner D, Böszörményi A, Szentmihályi K, Fébel H. (2013) The alimentary impact of the hemp seed. *Acta Aliment*, 42: 410-416.
 56. Ditscheid B, Fünfstück R, Busch M, Schubert R, Gerth J, Jahreis G. (2005) Effect of L-methionine supplementation on plasma homocysteine and other free amino acids: a placebo-controlled double-blind cross-over study. *Eur J Clin Nutr*, 59: 768-775.
 57. Dusek P, Roos PM, Litwin T, Schneider SA, Flaten TP, Aaseth J. (2015) The neurotoxicity of iron, copper and manganese in Parkinson's and Wilson's diseases. *J Trace Elem Med Biol*, 31: 193-203.
 58. EFSA. (2012) Scientific Opinion on Dietary Reference Values for protein EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). *EFSA Journal*, 10: 2557
 59. Ehrlich M. (2009) DNA hypomethylation in cancer cells. *Epigenomics*. 1: 239-59.
 60. Elamin EE, Masclee AA, Dekker J, Jonkers DM. (2013) Ethanol metabolism and its effects on the intestinal epithelial barrier. *Nutr Rev*, 71: 483-499.
 61. Ellman GL.(1959) Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82: 70-77.
 62. Erukainure OL, Ebuehi OA, Iqbal Chaudhary M, Mesaik MA, Shukralla A, Muhammad A, Zaruwa MZ, Elemo GN.(2016) Orange Peel Extracts: Chemical Characterization, Antioxidant, Antioxidative Burst, and Phytotoxic Activities. *J Diet Suppl*, 13: 585-594.
 63. Exley C. (2004) The pro-oxidant activity of aluminum. *Free Radic Biol Med*, 36:380-387.
 64. Fébel H, Mézes M, Pálffy T, Hermán A, Gundel J, Lugasi A, Balogh K, Kocsis I, Blázovics A. (2008) Effect of dietary fatty acid pattern on growth, body fat

- composition and antioxidant parameters in broilers. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 92: 369-376.
65. Fehér J, Lengyel G, Blázovics A. (1998) Oxidative stress in the liver and biliary tract diseases. *Scand J Gastroenterol Suppl*, 228: 38-46.
 66. Feng JP, Yuan XL, Li M, Fang J, Xie T, Zhou Y, Zhu YM, Luo M, Lin M, Ye DW. (2013) Secondary diabetes associated with 5-fluorouracil-based chemotherapy regimens in non-diabetic patients with colorectal cancer: results from a single-centre cohort study. *Colorectal Dis*, 15: 27-33.
 67. Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, Saturni L. (2012) Celiac disease. inflammation and oxidative damage: a nutrigenetic approach. *Nutrients*, 4: 243-257.
 68. Finkelstein JD, Kyle W, Harris BJ. (1971) Methionine metabolism in mammals. Regulation of homocysteine methyltransferases in rat tissue. *Arch Biochem Biophys*, 146: 84-92.
 69. Fontes-Júnior EA, Maia CS, Fernandes LM, Gomes-Leal W, Costa-Malaquias A, Lima RR, Prediger RD, Crespo-López ME. (2016) Chronic Alcohol Intoxication and Cortical Ischemia: Study of Their Comorbidity and the Protective Effects of Minocycline. *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 1341453.
 70. Franke SI, Guecheva TN, Henriques JA, Prá D. (2013) Orange juice and cancer chemoprevention. *Nutr Cancer*, 65: 943-953.
 71. Freeman HJ. (2009) Malignancy in adult celiac disease. *World J Gastroenterol*, 15: 1581-1583.
 72. Fritz H, Seely D, Flower G, Skidmore B, Fernandes R, Vadeboncoeur S, Kennedy D, Cooley K, Wong R, Sagar S, Sabri E, Fergusson D. (2013) Soy, red clover, and isoflavones and breast cancer: a systematic review. *PLoS One*, 8: e81968.
 73. Frustaci A, Neri M, Cesario A, Adams JB, Domenici E, Dalla Bernardina B, Bonassi S. (2012) Oxidative stress-related biomarkers in autism: systematic review and meta-analyses. *Free Radic Biol Med*, 52: 2128-2141.
 74. Ghanim H, Sia CL, Upadhyay M, Korzeniewski K, Viswanathan P, Abuaysheh S, Mohanty P, Dandona P. (2010) Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression. *Am J Clin Nutr*, 91: 940-949.

75. Ghosh N, Ghosh R, Mandal V, Mandal SC. (2011) Recent advances in herbal medicine for treatment of liver diseases. *Pharm Biol*, 49: 970-988.
76. Greenberg AK, Rimal B, Felner K, Zafar S, Hung J, Eylers E, Phalan B, Zhang M, Goldberg JD, Crawford B, Rom WN, Naidich D, Merali S. (2007) S-adenosylmethionine as a biomarker for the early detection of lung cancer. *Chest*, 132: 1247-1252.
77. Grosso G, Stepaniak U, Topor-Mądry R, Szafraniec K, Pająk A. (2014) Estimated dietary intake and major food sources of polyphenols in the Polish arm of the HAPIEE study. *Nutrition*, 30: 1398-1403.
78. Guerrero-Preston R, Santella RM, Blanco A, Desai M, Berdasco M, Fraga M. (2007) Global DNA hypomethylation in liver cancer cases and controls: a phase I preclinical biomarker development study. *Epigenetics*, 2: 223-226.
79. Guo XL, Liang B, Wang XW, Fan FG, Jin J, Lan R, Yang JH, Wang XC, Jin L, Cao Q. (2013) Glycyrrhizic acid attenuates CCl₄-induced hepatocyte apoptosis in rats via a p53-mediated pathway. *World J Gastroenterol*, 19: 3781-3791.
80. Gupta SK, Shukla VK, Vaidya MP, Roy SK, Gupta S. (1993) Serum and tissue trace elements in colorectal cancer. *J Surg Oncol*, 52: 172-175.
81. Gwak GY, Moon TG, Lee DH, Yoo BC. (2012) Glycyrrhizin attenuates HMGB1-induced hepatocyte apoptosis by inhibiting the p38-dependent mitochondrial pathway. *World J Gastroenterol*, 18: 679-684.
82. Haas SL, Ye W, Löhr JM. (2012) Alcohol consumption and digestive tract cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 15: 457-467.
83. Håglin L. (2001) Hypophosphataemia: cause of the disturbed metabolism in the metabolic syndrome. *Med Hypotheses*, 56: 657-663.
84. Hagymási K, Blázovics A, Lengyel G, Kocsis I, Fehér J. (2001) Oxidative damage in alcoholic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 13: 49-53.
85. Hajimahmoodi M, Moghaddam G, Mousavi SM, Sadeghi N, Oveisi MR, Jannat B. (2014) Total Antioxidant Activity, and Hesperidin, Diosmin, Eriocitrin and Quercetin Contents of Various Lemon Juices. *Trop J Pharm Res*, 13: 951-956.
86. Han D, Ybanez MD, Johnson HS, McDonald JN, Mesrobian L, Sancheti H, Martin G, Martin A, Lim AM, Dara L, Cadenas E, Tsukamoto H, Kaplowitz N. (2012)

- Dynamic adaptation of liver mitochondria to chronic alcohol feeding in mice: biogenesis, remodeling, and functional alterations. *J Biol Chem*, 287: 42165-42179.
87. Hibbeln JR, Gow RV. (2014) Omega-3 Fatty Acid and Nutrient Deficits in Adverse Neurodevelopment and Childhood Behaviors. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*, 23: 555-590.
 88. Holmberg MT, Tornio A, Hyvärinen H, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Backman JT, Niemi M. (2015) Effect of grapefruit juice on the bioactivation of prasugrel. *Br J Clin Pharmacol*, 80: 139-145.
 89. Hassan BAR, Yusoff ZBM, Hassali MA, Othman SB. Supportive and Palliative Care in Solid Cancer Patients, In: Rangel L, (szerk.), *Cancer Treatment - Conventional and Innovative Approaches*. InTech, Rijeka, 2013: 487-518.
 90. Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, Okuda T. (1988) Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem Pharm Bull*, 36: 2090–2097.
 91. Hegedűs V, Gerő D, Mihály Z, Szijártó A, Zelles T, Sárdi E. (2011) Alimentáris eredetű kísérletes zsírmáj és adjuváns kezelése természetes eredetű bioaktív hatóanyagokkal. *Orv Hetil*, 152: 1035-1042.
 92. Hernández JA, López-Sánchez RC, Rendón-Ramírez A. (2016) Lipids and Oxidative Stress Associated with Ethanol-Induced Neurological Damage. *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 1543809.
 93. Herring WB, Leavell BS, Paixo LM, Yoe JH. (1960) Trace metals in human plasma and red blood cells. A study of magnesium, chromium, nickel, copper and zinc. I. Observations of normal subjects. *Am J Clin Nutr*, 8: 846-854.
 94. Herrmann W, Schorr H, Bodis M, Knapp JP, Müller A, Stein G, Geisel J. (2000) Role of homocysteine, cystathionine and methylmalonic acid measurement for diagnosis of vitamin deficiency in high-aged subjects. *Eur J Clin Invest*, 30: 1083-1089.
 95. Hogg N. (1999) The effect of cyst(e)ine on the auto-oxidation of homocysteine. *Free Radic Biol Med*, 27: 28-33.
 96. Horváth ÉM, Blázovics A, Kemény T, Vásárhelyi B, Weinbrenner Zs. Fehér J. (1993) E-vitamin antioxidáns hatásának tanulmányozása kísérletesen létrehozott hiperlipidémiában. *Orv Hetil*, 134: 1757-1760.

97. Hon GC, Hawkins RD, Caballero OL, Lo C, Lister R, Pelizzola M, Valsesia A, Ye Z, Kuan S, Edsall LE, Camargo AA, Stevenson BJ, Ecker JR, Bafna V, Strausberg RL, Simpson AJ, Ren B. (2012) Global DNA hypomethylation coupled to repressive chromatin domain formation and gene silencing in breast cancer. *Genome Res*, 22: 246-258.
98. Hurria A, Somlo G, Ahles T. (2007) Renaming "chemobrain". *Cancer Invest*, 25: 373-377.
99. Huszti Z, Tyihák E. (1986) Formation of formaldehyde from S-adenosyl-L [methyl-3H] methionine during enzymic transmethylation of histamine. *FEBS Lett*, 209: 362-366.
100. Ieri F, Martini S, Innocenti M, Mulinacci N. (2013) Phenolic distribution in liquid preparations of *Vaccinium myrtillus* L. and *Vaccinium vitis idaea* L. *Phytochem Anal*, 24: 467-475.
101. Imel EA, Econs MJ. (2012) Approach to the hypophosphatemic patient. *J Clin Endocrinol Metab*, 97: 696-706.
102. Jae-Chul Jung, Yun-Hee Lee, Sou Hyun Kim, Keuk-Jun Kim, Kyung-Mi Kim, Seikwan Oh, Young-Suk Jung. (2015) Hepatoprotective effect of licorice, the root of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer, in alcohol-induced fatty liver disease. *BMC Complement Altern Med*, 16: 19.
103. Janelins MC, Kesler SR, Ahles TA, Morrow GR. (2014) Prevalence, mechanisms, and management of cancer-related cognitive impairment. *Int Rev Psychiatry*, 26: 102-113.
104. Janicsák G. (2014) Növényi eredetű készítmények termékkategóriái. In.: Blázovics A. Mézes M. (szerk.), *Természetes eredetű hatóanyagok a modern orvoslásban 2013*. Szent István Egyetemi Kiadó Nonprofit Kft, Gödöllő, 2014: 112-116.
105. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, Hu FB, Hubbard VS, Jakicic JM, Kushner RF, Loria CM, Millen BE, Nonas CA, Pi-Sunyer FX, Stevens J, Stevens VJ, Wadden TA, Wolfe BM, Yanovski SZ, Jordan HS, Kendall KA, Lux LJ, Mentor-Marcel R, Morgan LC, Trisolini MG, Wnek J, Anderson JL, Halperin JL, Albert NM, Bozkurt B, Brindis RG, Curtis LH, DeMets D, Hochman JS, Kovacs RJ, Ohman EM, Pressler SJ, Sellke FW, Shen WK, Smith SC Jr, Tomaselli GF. (2014) American College of Cardiology/American Heart

- Association Task Force on Practice Guidelines; Obesity Society.: 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *Circulation*, 129: S102-138.
106. Jones DP, Sies H. (2015) The Redox Code. *Antioxid Redox Signal*, 23: 734-746.
107. Josa V, Krzystanek M, Eklund AC, Salamon F, Zarand A, Szallasi Z, Baranyai Z. (2015) Relationship of postoperative thrombocytosis and survival of patients with colorectal cancer. *Int J Surg*, 18: 1-6.
108. Jovančević M, Balijagić J, Menković N, Šavikin K, Zdunić G, Janković T, Dekić-Ivanković M. (2011) Analysis of phenolic compounds in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) from Montenegro. *J Med Plant Res*, 5: 910-914.
109. Kageyama Y, Suzuki H, Saruta T. (1994) Role of glucocorticoid in the development of glycyrrhizin-induced hypertension. *Clin Exp Hypertens*, 16: 761-778.
110. Kalász H. (2003) Biological role of formaldehyde, and cycles related to methylation, demethylation, and formaldehyde production. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 3: 175-192.
111. Kesarwani K, Gupta R, Mukerjee A. (2013) Bioavailability enhancers of herbal origin: An overview. *Asian Pac J Trop Biomed*, 3: 253-266.
112. Khan MA, Tania M, Zhang DZ, Chen HC. (2010) Antioxidant Enzymes and Cancer. *Chin J Cancer Res*, 22: 87-92
113. Kim DH, Hong SW, Kim BT, Bae EA, Park HY, Han MJ. (2000) Biotransformation of glycyrrhizin by human intestinal bacteria and its relation to biological activities. *Arch Pharm Res*, 23: 172-177.
114. Kim JG, Kim HL, Kim SJ, Park KS. (2013) Fruit quality, anthocyanin and total phenolic contents, and antioxidant activities of 45 blueberry cultivars grown in Suwon, Korea. *J Zhejiang Univ Sci B*, 14: 793-799.
115. Kimzey AL, McFadden PN. (1994) Spontaneous methylation of hemoglobin by S-adenosyl-methionine by a specific and saturable mechanism. *Journal of Protein Chemistry*, 13: 537-546.
116. Kleiner D. Szelénpótlás; növényi eredetű táplálékaink szeléntartalma. In: Blázovics A. Mézes M. (szerk.), *Természetes eredetű hatóanyagok a modern orvoslásban 2013*. Szent István Egyetemi Kiadó Nonprofit Kft, Gödöllő, 2014: 112-116.

117. Kleiner D. Alkoholos májkárosodás és transzmetilezés. In: Blázovics A. Róth E. Mézes M. (szerk.), Oxidatív stressz és betegségek. Szent István Egyetemi Kiadó Nonprofit Kft, Gödöllő, 2015: 141-147.
118. Kleiner D, Bersényi A, Fébel H, Hegedűs V, Máti s E, Sárdi E. (2013) Transzmetilezési folyamatok és a redox homeosztázis. *Orv Hetil*, 154: 1180-1187.
119. Kleiner D, Ditrói K. (2012) A kannabidiol gyógyászati alkalmazhatósága metabolikus szindrómában. *Orv Hetil*, 153: 499-504.
120. Kleiner D, Hegyi G, Urbanics R, Dézsi L, Robotka H, Fehér E, Sárdi É, Szebeni J, Blázovics A. (2016a) Hepatoprotective liposomal glycyrrhizin in alcoholic liver injury. *Eur J Integr Med*, 8: 23-28.
121. Kleiner D, Kurucz D, Bersényi A, Szentmihályi K, Skesters A, Liga Z, Blázovics A. (2016b) Berries, the antioxidant sources of the boreal cold and arid regions. *Acta Aliment*, 45: 317–322.
122. Kleiner D, Máti s E, Süle K, Molnár J (2015a) A szelén élettani szerepe és jelentősége. *Gyógyszerészet*. 58: 148-153.
123. Kleiner D, Sárdi É, Ficsor E, Balázs A, Lemberkovics É, Blázovics A. A redox-homeosztázis és a transzmetilezés kapcsolata táplálkozás-élettani szempontból. Aktualitások a táplálkozástudományi kutatásokban, workshop. Megjelent: Aktualitások a táplálkozástudományi kutatásokban című workshop összefoglalói. Budapest, 2014: 6. (ISBN 978-963-88108-7-8)
124. Kleiner D, Süle K, Windisch V, Szabó G, Blázovics A. Citrus sinensis levének redox-paraméterei frissen facsart és gyárilag feldolgozott mintáiban. Aktualitások a táplálkozástudományi kutatásokban, Ph.D. konferencia. Megjelent: Aktualitások a táplálkozástudományi kutatásokban című V. Ph.D. Konferencia összefoglalói. Budapest, 2015b: 26. (ISBN 978-963-88108-8-5)
125. Kleiner D, Szilvás Á, Szentmihályi K, Süle K, Blázovics A. Fémelem-akkumuláció kemoterápia indukált kognitív funkcióromlás esetén. A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság VIII. Kongresszusa. Budapest, 2015c.
126. Kleiner D, Szilvás Á, Szentmihályi K, Süle K, Blázovics A. (2016c) Changes of erythrocyte element status of colectomised cancerous patients: Retrospective study. *J Trace Elem Med Biol*, 33: 8-13.

127. Kocsis D, Béres N, Veres G, Szabó D, Müller KE, Arató A, Juhász M. (2014) A coeliakia genetikai és epigenetikai vonatkozásai. *Orv Hetil*, 155: 83-88.
128. Kumar V, Gill KD. (2009) Aluminium neurotoxicity: neurobehavioural and oxidative aspects. *Arch Toxicol*, 83: 965-978.
129. Lavilla I, Costas M, Miguel PS, Millos J, Bendicho C. (2009) Elemental fingerprinting of cancerous and adjacent non-cancerous tissues from patients with colorectal cancer using ICP-MS, ICP-OES and chemometric analysis. *Biometals*, 22: 863-875.
130. Laird PW, Jaenisch R. (1994) DNA methylation and cancer. *Hum Mol Genet*, 3: 1487-1495.
131. Lebwohl B, Stavsky E, Neugut AI, Green PH R. (2010) Risk of colorectal adenomas in patients with celiac disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 32: 1037–1043.
132. Lee AM, Gurka MJ, DeBoer MD. (2017) Correlation of metabolic syndrome severity with cardiovascular health markers in adolescents. *Metabolism*, 69: 87-95.
133. Lee BC, Lee J. (2014) Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochim Biophys Acta*, 1842: 446-462.
134. Lee CH, Park SW, Kim YS, Kang SS, Kim JA, Lee SH, Lee SM. (2007) Protective mechanism of glycyrrhizin on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice. *Biol Pharm Bull*, 30: 1898-1904.
135. Lee J, Finn C. (2012) Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) grown in the Pacific Northwest of North America: Anthocyanin and free amino acid composition. *J Funct Foods*, 4: 213-218.
136. Lengyel J, Kalász H, Szarvas T, Peltz C, Szarkáné-Bolehovszky A. (2003) HPLC analysis of metabolically produced formaldehyde. *J Chromatogr Sci*, 41: 177-181.
137. Lever M, George PM, Elmslie JL, Atkinson W, Slow S, Molyneux SL, Troughton RW, Richards AM, Frampton CM, Chambers ST. (2012) Betaine and secondary events in an acute coronary syndrome cohort. *PLoS One*, 7: e37883.
138. Leaf DE, Pereira RC, Bazari H, Jüppner H. (2013) Oncogenic osteomalacia due to FGF23-expressing colon adenocarcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 98: 887-891.

139. Li F, Shen Z, Lu Y, Wang L, Song W. (2014) How much does body mass index affect serum carcinoembryonic antigen concentration? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 23: 555-560.
140. Li K, Wahlqvist ML, Li D. (2016) Nutrition, One-Carbon Metabolism and Neural Tube Defects: A Review. *Nutrients*, 8: E741.
141. Li Y, Liu Y, Strickland FM, Richardson B. (2010) Age-dependent decreases in DNA methyltransferase levels and low transmethylation micronutrient levels synergize to promote overexpression of genes implicated in autoimmunity and acute coronary syndromes. *Experimental Gerontology*, 45: 312-322.
142. Liamis G, Milionis HJ, Elisaf M. (2010) Medication-induced hypophosphatemia: a review. *QJM*, 103: 449-459.
143. Liang Y, Harris FL, Jones DP, Brown LA. (2013) Alcohol induces mitochondrial redox imbalance in alveolar macrophages. *Free Radic. Biol. Med*, 65: 1427-1434.
144. Lieber CS. (1997) Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clin Chim Acta*, 257: 59-84.
145. Lown KS, Bailey DG, Fontana RJ, Janardan SK, Adair CH, Fortlage LA, Brown MB, Guo W, Watkins PB. (1997) Grapefruit juice increases felodipine oral availability in humans by decreasing intestinal CYP3A protein expression. *J Clin Invest*, 99: 2545-2553.
146. Lowry AH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951) Protein measurement with the Folin-phenol reagents. *J Biol Chem*, 193: 265-275.
147. Luca VS, Miron A, Aprotosoia AC. (2016) The antigenotoxic potential of dietary flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 15: 591-625.
148. Lugasi A, Horacsek M, Martos E. (2010) Étrend-kiegészítők a hazai piacon: a termékek forgalmazását, összetételét meghatározó jogszabályi előírások. *Orv Hetil*, 151: 1563-1572.
149. Lugasi A, Horacsek M, Martos É. (2010) Étrend-kiegészítők a hazai piacon: az összetevők táplálkozás-élettani értékelése, előnyök és kockázatok; az étrend-kiegészítők szerepe a táplálkozásban. *Orv Hetil*, 48: 1964-1975.
150. Lugasi A. Növényi hatóanyagokat tartalmazó étrend-kiegészítők forgalmazása: jogi környezet, szakértői értékelés. In: Blázovics A, Mézes M. (szerk.) *Természetes*

eredetű hatóanyagok a modern orvoslásban. Szent István Egyetemi Kiadó Nonprofit Kft, Gödöllő, 2015: 36-39.

151. Martin KR, Appel CL. (2010) Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword. *Nutr Diet Suppl*, 2: 1-12.
152. Maiese K, Chong ZZ, Wang S, Shang YC. (2012) Oxidant stress and signal transduction in the nervous system with the PI 3-K, Akt, and mTOR cascade. *Int J Mol Sci*, 13: 13830-13866.
153. Manna P, Jain SK. (2015) Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metab Syndr Relat Disord*, 13: 423–444.
154. Máthé C, Szénási G, Sebestény A, Blázovics A, Szentmihályi K, Hamar P, Albert M. (2014) Protective effect of CV247 against cisplatin nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol*, 33: 789-799.
155. Marengo B, Nitti M, Furfaro AL, Colla R, Ciucis CD, Marinari UM, Pronzato MA, Traverso N, Domenicotti C. (2016) Redox Homeostasis and Cellular Antioxidant Systems: Crucial Players in Cancer Growth and Therapy. *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 6235641.
156. Maruthur NM, Bolen S, Brancati FL, Clark JM. (2009) Obesity and Mammography: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Gen Intern Med*, 24: 665–677.
157. McCord MC, Aizenman E. (2014) The role of intracellular zinc release in aging, oxidative stress, and Alzheimer’s disease. *Front Aging Neurosci*, 6: 77.
158. McRae MP. (2013) Betaine supplementation decreases plasma homocysteine in healthy adult participants: a meta-analysis. *J Chiropr Med*, 12: 20-25.
159. Mehanna HM, Moledina J, Travis J. (2008) Refeeding syndrome: what it is, and how to prevent and treat it. *BMJ*, 336: 1495-1498.
160. Mendelsohn AR, Larrick JW. (2014) Paradoxical effects of antioxidants on cancer. *Rejuvenation Res*, 17: 306-311.
161. Mikulic-Petkovsek M, Slatnar A, Stampar F, Veberic R. (2012) HPLC-MSn identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species. *Food Chem*, 135: 2138-2146.

162. Millar H, Davison J. (2012) Nutrition education for osteoporosis prevention in men with prostate cancer initiating androgen deprivation therapy. *Clin J Oncol Nurs*, 16: 497-503.
163. Moghe A, Joshi-Barve S, Ghare S, Gobejishvili L, Kirpich I, McClain CJ, Barve S. (2011) Histone modifications and alcohol-induced liver disease. Are altered nutrients the missing link? *World J Gastroenterol*, 17: 2465-2472.
164. Mudd SH, Brosnan JT, Brosnan ME, Jacobs RL, Stabler SP, Allen RH, Vance DE, Wagner C. (2007) Methyl balance and transmethylation fluxes in humans. *Am J Clin Nutr*, 85: 19-25.
165. Nagai T, Egashira T, Yamanaka Y, Kohno M. (1991) The protective effect of glycyrrhizin against injury of the liver caused by ischemia-reperfusion. *Arch Environ Contam Toxicol*, 20: 432-436.
166. Nardi GM, Farias Januario AG, Freire CG, Megiolaro F, Schneider K, Perazzoli MR, Do Nascimento SR, Gon AC, Mariano LN, Wagner G, Niero R, Locatelli C. (2016) Anti-inflammatory activity of berry fruits in mice model of inflammation is based on oxidative stress modulation. *Pharmacognosy Res*, 8, S1:42-9.
167. Nassir F, Ibdah JA. (2014) Role of mitochondria in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci*, 15: 8713-8742.
168. National Institute of Pharmacy. *Pharmacopoea Hungarica. Editio VII. Tomus III. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1986: 1603-1604.*
169. National Institute of Pharmacy. *Pharmacopoea Hungarica. Editio VIII. Tomus I. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2003: 232.*
170. Nile SH, Park SW. (2014) Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30: 134-144.
171. Nyirády P, Blázovics A, Romics I, May Z, Székely E, Bekő G, Szentmihályi K. Microelement concentration differences between patients with and without prostate adenocarcinoma. In: Szilágyi M, Szentmihályi K, (szerk.), *Trace elements in the food chain. Hungarian Academy of Science, Budapest, 2009: 26-30.*
172. Nyirády P, Sárdi E, Beko G, Szucs M, Horváth A, Székely E, Szentmihályi K, Romics I, Blázovics A. (2010) *A Beta vulgaris L. ssp. esculenta var. rubra bioaktív vegyületeinek hatása metasztatikus prosztatatarákban. Orv Hetil*, 151: 1495-503.

173. Ojima M, Satoh K, Gomibuchi T, Itoh N, Kin S, Fukuchi S, Miyachi Y.(1990) [The inhibitory effects of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on the metabolism of cortisol and prednisolone - in vivo and in vitro studies]. *Nihon Naibunpi Gakkai Zasshi*, 66: 584-596. [Article in Japanese]
174. O'Neil CE, Nicklas TA, Rampersaud GC, Fulgoni VL. (2012) 100% orange juice consumption is associated with better diet quality, improved nutrient adequacy, decreased risk for obesity, and improved biomarkers of health in adults: National Health and Nutrition Examination Survey, 2003-2006. *Nutr J*, 11: 107.
175. Orsavova J, Misurcova L, Ambrozova JV, Vicha R, Mlcek J. (2015) Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. *Int J Mol Sci*, 16: 12871-12890.
176. Oyaizu M. (1986) Studies on products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr*, 44: 307-315.
177. Panieri E, Santoro MM. (2016) ROS homeostasis and metabolism: a dangerous liason in cancer cells. *Cell Death Dis*, 7: e2253.
178. Parkhomenko IuM, Donchenko GV, Pilipchuk SIu, Stepanenko SP, Chekhovskaia LI, Klimenko EP. (2007) [Characteristic metabolic disturbances in the rat tissues caused by long-term use of alcohol]. *Ukr Biokhim Zh*, 79: 61-69. [Article in Russian]
179. Pauwels S, Ghosh M, Duca RC, Bekaert B, Freson K, Huybrechts I, Langie SA, Koppen G, Devlieger R, Godderis L. (2017) Maternal intake of methyl-group donors affects DNA methylation of metabolic genes in infants. *Clin Epigenetics*, 9: 16.
180. Picklo MJ Sr. (2008) Ethanol intoxication increases hepatic N-lysyl protein acetylation. *Biochem Biophys Res Commun*, 376: 615-619.
181. Piechota-Polanczyk A, Fincha J. (2014) Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 387: 605-620.
182. Poloz Y, Stambolic V. (2015) Obesity and cancer, a case for insulin signaling. *Cell Death Dis*, 6: e2037.

183. Purohit V, Abdelmalek MF, Barve S, Benevenga NJ, Halsted CH, Kaplowitz N, Kharbanda KK, Liu QY, Lu SC, McClain CJ, Swanson C, Zakhari S. (2007) Role of S-adenosylmethionine, folate, and betaine in the treatment of alcoholic liver disease: summary of a symposium. *Am J Clin Nutr*, 86: 14-24.
184. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. (2013) Oxidative stress and the paradoxical effects of antioxidants. *J Res Med Sci*, 18: 629.
185. Raman M, Milestone AN, Walters JR, Hart AL, Ghosh S. (2011) Vitamin D and gastrointestinal diseases: inflammatory bowel disease and colorectal cancer. *Therap Adv Gastroenterol*, 4: 49-62.
186. Rasool M, Iqbal J, Malik A, Ramzan HS, Qureshi MS, Asif M, Qazi MH, Kamal MA, Chaudhary AG, Al-Qahtani MH, Gan SH, Karim S. (2014) Hepatoprotective Effects of *Silybum marianum* (Silymarin) and *Glycyrrhiza glabra* (Glycyrrhizin) in Combination: A Possible Synergy. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014: 641597.
187. Rajpathak SN, Gunter MJ, Wylie-Rosett JF, Ho GYF, Kaplan RC, Muzumdar R, Rohan TE, Strickler HD. (2009) The role of insulin-like growth factor-I and its binding proteins in glucose homeostasis and type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 25: 3–12.
188. Rapavi E, Kocsis I, Fehér E, Szentmihályi K, Lugasi A, Székely E, Blázovics A. (2007) The effect of citrus flavonoids on the redox state of alimentary-induced fatty liver in rats. *Nat Prod Res*, 21: 274-281.
189. Rapavi E, Szentmihályi K, Fehér E, Lugasi A, Székely E, Kurucz T, Pallai Z, Blázovics A. (2006) Effects of citrus flavonoids on redox homeostasis of toxin-injured liver in rat. *Acta Biol Hung*, 57: 415-422.
190. Roemmelt AT, Franckenberg S, Steuer AE, Kraemer T. (2014) Purple discoloration of the colon found during autopsy: Identification of betanin, its aglycone and metabolites by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry. *Forensic Sci Int*, 240: e1-e6.
191. Rurik I, Ungvári T, Szidor J, Torzsa P, Móczár C, Jancsó Z, Sándor J. (2016) Elhízó Magyarország. A túlsúly és az elhízás trendje és prevalenciája Magyarországon, 2015. *Orv Hetil*, 157: 1248-1255.

192. Rutkowski M, Grzegorzczak K. (2012) Adverse effects of antioxidative vitamins. *Int J Occup Med Environ Health*, 25: 105-121.
193. Saif MW, Alexander D, Wicox CM. (2005) Serum Alkaline Phosphatase Level as a Prognostic Tool in Colorectal Cancer: A Study of 105 patients. *J Appl Res*, 5: 88-95.
194. Samoilova Z, Smirnova G, Muzyka N, Oktyabrsky O. (2014) Medicinal plant extracts variously modulate susceptibility of *Escherichia coli* to different antibiotics. *Microbiol*, 169: 307-313.
195. Sárdi É, Stefanovics-Bányai É. (2006) Relationship between peroxidase activity and the amount of fully N-methylated compounds in bean plants infected by *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2: 95-100.
196. Sárdi É, Stefanovits-Bányai É, Kocsis I., Takács-Hájos M, Fébel H, Blázovics A. (2009) Effect of bioactive compounds of table beet cultivars on alimentary induced fatty livers of rats. *Acta Aliment*, 38: 267-280.
197. Sárdi É, Tyihák E. (1994) Simple determination of formaldehyde in dimedone adduct form in biological samples by high performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr*, 8: 313-314.
198. Sárdi É, Tyihák E. (1998) Change of biotransformation steps of formaldehyde cycle in water-melon plants after infection with *Fusarium oxysporum*. *Acta Biol Hung*, 49: 353-362.
199. Sárdi É, Tyihák E. (1998) Relationship between dimedone concentration and formaldehyde captured in plant tissues. *Acta Biol Hung*, 49: 291-301.
200. Sárdi É, Tordai E. (2005) Determination of fully N-methylated compounds in different cabbage and beetroot varieties. *Acta Biol Szegediensis*, 49: 43-45.
201. Scalbert A, Williamson G. (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr*, 130: 2073S-85S.
202. Schröfelbauer B, Raffetseder J, Hauner M, Wolkerstorfer A, Ernst W, Szolar OH. (2009) Glycyrrhizin, the main active compound in liquorice, attenuates pro-inflammatory responses by interfering with membrane-dependent receptor signalling. *Biochem J*, 421: 473-482.

203. Sebesy Zs. Fogyasztói szokások- és vállalati marketingstratégiák a funkcionális tejtermékek piacán. Doktori értekezés. Nyugat-Magyarországi Egyetem. Mosonmagyaróvár, 2014
204. Seigers R, Fardell JE. (2011) Neurobiological basis of chemotherapy-induced cognitive impairment: a review of rodent research. *Neurosci Biobehav Rev*, 35: 729-741.
205. Sengupta S, Wehbe C, Majors AK, Ketterer ME, DiBello PM, Jacobsen DW. (2001) Relative roles of albumin and ceruloplasmin in the formation of homocystine, homocysteine-cysteine-mixed disulfide, and cystine in circulation. *J Biol Chem*, 276: 46896-46904.
206. Seretis C, Seretis F, Lagoudianakis E, Gemenetzis G, Salemis NS. (2013) Is red cell distribution width a novel biomarker of breast cancer activity? Data from a pilot study. *Journal of Clinical Medicine Research*, 5: 121-126.
207. Shati AA, Elsaid FG. (2009) Effects of water extracts of thyme (*Thymus vulgaris*) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on alcohol abuse. *Food Chem Toxicol*, 47: 1945-1949.
208. Shi L, Tang C, Yin C. (2012) Glycyrrhizin-modified O-carboxymethyl chitosan nanoparticles as drug vehicles targeting hepatocellular carcinoma. *Biomaterials*, 33: 7594-7604.
209. Shenberg C, Feldstein H, Cornelis R, Mees L, Versieck J, Vanballenberghe L, Cafmeyer J, Maenhaut W. (1995) Br, Rb, Zn, Fe, Se and K in blood of colorectal patients by INAA and PIXE. *J Trace Elem Med Biol*, 9:193-199.
210. Shibata S. (2000) A drug over the millennia: pharmacognosy, chemistry, and pharmacology of licorice. *Yakugaku Zasshi*, 120: 849-862.
211. Shimizu M., Hachimura S. (2011) Gut as a target for functional food. *Trends in Food Science and Technology*, 22: 646–650.
212. Silva CS, Monteiro TH, Simões-Ambrósio LM, Sunaga DY, Cardoso JF, Furtado KS, Ong TP, Moreno FS, Zucoloto S, Vannucchi H. (2013) Effects of α -tocopherol supplementation on liver of rats chronically exposed to ethanol. *J Nutrigenet Nutrigenomics*, 6: 125-136.

213. Simbaqueba C, Shrestha K, Patarroyo M, Troughton RW, Borowski AG, Klein AL, Tang WH. (2013) Prognostic implications of relative hypochromia in ambulatory patients with chronic systolic heart failure. *Congest Heart Fail*, 19: 180-185.
214. Singh N, Singh A, Das D, Mohan ML. (2010) Redox control of prion and disease pathogenesis. *Antioxid Redox Signal*, 12: 1271-1294.
215. Skesters A, Kleiner D, Blázovics A, May Z, Kurucz D, Silova A, Szentmihályi K. (2014) Mineral element content and antioxidant capacity of some Latvian berries. *Eur Chem Bull*, 3: 98-101.
216. Skinner HG, Schwartz GG. (2009) A prospective study of total and ionized serum calcium and fatal prostate cancer. *Cancer Epidem Biomark Prev*, 18: 575-578.
217. Spell DW, Jones DV Jr, Harper WF, Bessman JD. (2004) The value of a complete blood count in predicting cancer of the colon. *Cancer Detect Prev*, 28: 37-42.
218. Stead LM, Brosnan JT, Brosnan ME, Vance DE, Jacobs RL. (2006) Is it time to reevaluate methyl balance in humans? *Am J Clin Nutr*, 83: 5-10.
219. Stein AJ, Rodríguez-Cerezo E. 2008. Functional food in the European Union. Technical Report by the Joint Research Centre of the European Commission, EUR 23380 EN. Luxemburg: European Communities
220. Stojiljković V, Pejić S, Kasapović J, Gavrilović L, Stojiljković S, Nikolić D, Pajović SB. (2012) Glutathione redox cycle in small intestinal mucosa and peripheral blood of pediatric celiac disease patients. *An Acad Bras Cienc*, 84: 175-184.
221. Stummer I, Vágó Sz. (2015) Zöldség és gyümölcs. *Agrárpiaci információk*, 2015. január, 7-8.
222. Song JK, Bae JM. (2013) Citrus Fruit Intake and Breast Cancer Risk: A Quantitative Systematic Review. *J Breast Cancer*, 16: 72–76.
223. Swanson GR, Sedghi S, Farhadi A, Keshavarzian A. (2010) Pattern of alcohol consumption and its effect on gastrointestinal symptoms in inflammatory bowel disease. *Alcohol*, 44: 223-228.
224. Szabó A, Romvári R, Fébel H, Bogner P, Szendrő Z. (2002) Training-induced alterations of the fatty acid profile of rabbit muscles. *Acta Vet Hung*, 50: 357-364.
225. Székely E, Bor M, Tasnádi G, Várnai K, Almási A, Blázovics A. (2006) Hemorheological status and redox homeostasis of phlebotomised porphyria cutanea

- tarda patients with diabetes mellitus and in moderate alcohol consumer. *Clin Hemorheol Microcirc*, 35: 387-396.
226. Szende B, Tyihák E, Kopper L, Lapis K. (1970) The tumour growth promoting effect of ϵ -N-trimethyl lysine. *Neoplasma*, 17: 433-434.
227. Szakály Z, Kiss M, Jasák H. (2014) Funkcionális élelmiszerek, fogyasztói attitűdök és személyre szabott táplálkozás. *Táplálkozásmarketing*, 1: 3-17.
228. Szarka E. A növények általános védekezési rendszerének biokémiai és genetikai vizsgálata. Doktori értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest, 2008
229. Szentmihályi K, May Z, Szénási G, Máthé C, Sebestény A, Albert M, Blázovics A. (2014) Cisplatin administration influences on toxic and non-essential element metabolism in rats. *J Trace Elem Med Biol*, 28: 317-321.
230. Szilvás A, Blázovics A, Székely G, Dinya E, Fehér J, Mózsik G. (2001) Comparative study between the free radicals and tumor markers in patients with gastrointestinal tumors. *J Physiol Paris*, 95: 247-252.
231. Tilg H, Kaser A. (2004) Diet and relapsing ulcerative colitis: take off the meat? *Gut*, 53: 1399-1401.
232. Tóth G, Sándor GL, Kleiner D, Szentmáry N, Kiss H, Blázovics A, Nagy ZZs. (2016) Szabadgyök-felszabadulás vizsgálata femtoszekundumos lézerrel asszisztált capsulotomiát követően. *Orv Hetil*, 157: 1880–1883.
233. Trézsl L, Hullán L, Szarvas T, Csiba A, Szende B. (1998) Determination of endogenous formaldehyde in plants (fruits) bound to L-arginine and its relation to the folate cycle, photosynthesis and apoptosis. *Acta Biol Hung*, 49: 253-263.
234. Tsuji H, Osaka S, Kiwada H. (1991) Targeting of liposomes surface-modified with glycyrrhizin to the liver. I. Preparation and biological disposition. *Chem Pharm Bull*, 39: 1004-1008.
235. Tu CT, Li J, Wang FP, Li L, Wang JY, Jiang W. (2012) Glycyrrhizin regulates CD4+T cell response during liver fibrogenesis via JNK, ERK and PI3K/AKT pathway. *Int Immunopharmacol*, 14: 410-421.
236. Tyihák E. (1987) Overpressured layer chromatographic methods in the study of the formaldehyde cycle in biological systems. *Trends Anal Chem*, 6: 89-84.
237. Tyihák E, Szende B, Lapi K. (1977) Biological significance of methylated derivatives of lysine and arginine. *Life Sci*, 20: 385-392.

238. Tyihák E, Trézl L, Szende B. (1998) Formaldehyde cycle and the phases of stress syndrome. *Ann N Y Acad Sci*, 851: 259-270.
239. Váli L, Hahn O, Kupcsulik P, Drahos A, Sárváry E, Szentmihályi K, Pallai Z, Kurucz T, Sípó P, Blázovics A. (2008) Oxidative stress with altered element content and decreased ATP level of erythrocytes in hepatocellular carcinoma and colorectal liver metastases. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 20: 393-398.
240. Váli L, Stefanovits-Bányai E, Szentmihályi K, Fébel H, Sárdi E, Lugasi A, Kocsis I, Blázovics A. (2007) Liver-protecting effects of table beet (*Beta vulgaris* var. *rubra*) during ischemia-reperfusion. *Nutrition*, 23: 172-178.
241. van Uum SH, Hermus AR, Smits P, Thien T, Lenders JW. (1998) The role of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in the pathogenesis of hypertension. *Cardiovasc Res*, 38: 16-24.
242. Vece MM, Agnoli C, Grioni S, Sieri S, Pala V, Pellegrini N, Frasca G, Tumino R, Mattiello A, Panico S, Bendinelli B, Masala G, Ricceri F, Sacerdote C, Krogh V. (2015) Dietary Total Antioxidant Capacity and Colorectal Cancer in the Italian EPIC Cohort. *PLoS One*, 10: e0142995.
243. Villanueva JA, Halsted CH. (2004) Hepatic transmethylation reactions in micropigs with alcoholic liver disease. *Hepatology*, 39: 1303-1310.
244. Wang A, Zhu C, Fu L, Wan X, Yang X, Zhang H, Miao R, He L, Sang X, Zhao H. (2015) Citrus Fruit Intake Substantially Reduces the Risk of Esophageal Cancer: A Meta-Analysis of Epidemiologic Studies. *Medicine (Baltimore)*. 94:e1390.
245. Wang X, Ouyang Y, Liu J, Zhu M, Zhao G, Bao W, Hu FB. (2014) Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ*, 349: g4490.
246. Wang Z, Kurosaki Y, Nakayama T, Kimura T. (1994) Mechanism of gastrointestinal absorption of glycyrrhizin in rats. *Biol Pharm Bull*, 17: 1399-1403.
247. Wang Z, Li S, Cao Y, Tian X, Zeng R, Liao DF, Cao D. (2016) Oxidative Stress and Carbonyl Lesions in Ulcerative Colitis and Associated Colorectal Cancer. *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 9875298.
248. Ward RJ, Zucca FA, Duyn JH, Crichton RR, Zecca L. (2014) The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. *Lancet Neurol*, 13: 1045-1060.

249. Wee CC, McCarthy EP, Davis RB, Phillips RS. (2000) Screening for cervical and breast cancer: is obesity an unrecognized barrier to preventive care? *Ann Intern Med*, 132: 697-704.
250. Winther JR, Thorpe C. (2014) Quantification of thiols and disulfides. *Biochim Biophys Acta*, 1840: 838-846.
251. Witkowska AM, Zujko ME, Waśkiewicz A, Terlikowska KM, Piotrowski W. (2015) Comparison of Various Databases for Estimation of Dietary Polyphenol Intake in the Population of Polish Adults. *Nutrients*, 7: 9299-9308.
252. Wu P, Zhang Y, Liu Y, Wang X, Guo Z, Liang X, Lai W. (1999) Effects of glycyrrhizin on production of vascular aldosterone and corticosterone. *Horm Res*, 51: 189-192.
253. Ye J, McGuinness OP. (2013) Inflammation during obesity is not all bad: evidence from animal and human studies. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 304: E466-77.
254. Yin F, Sancheti H, Cadenas E. (2012) Mitochondrial thiols in the regulation of cell death pathways. *Antiox Redox Signal*, 17: 1714-1727.
255. Ying W. (2008) NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. *Antiox Redox Signal*, 10: 179-206.
256. Yoshizaki N, Fujii T, Masaki H, Okubo T, Shimada K, Hashizume R. (2014) Orange peel extract, containing high levels of polymethoxyflavonoid, suppressed UVB-induced COX-2 expression and PGE2 production in HaCaT cells through PPAR- γ activation. *Exp Dermatol*, 1: 18-22.
257. Zeisel SH, Mar MH, Howe JC, Holden JM. (2003) Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. *J Nutr*, 133: 1302-1307.
258. Zhang H, Rong R. (2016) Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. 8: 33-42.
259. Zhao S, Xu W, Jiang W, Yu W, Lin Y, Zhang T, Yao J, Zhou L, Zeng Y, Li H, Li Y, Shi J, An W, Hancock SM, He F, Qin L, Chin J, Yang P, Chen X, Lei Q, Xiong Y, Guan KL. (2010) Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation. *Science*, 327: 1000-1004.
260. Zhou Y, Zheng J, Li S, Zhou T, Zhang P, Li HB. (2016) Alcoholic Beverage Consumption and Chronic Diseases. *Int J Environ Res Public Health*, 13: 522.

261. Zhu Y, Han CT, Zhang GM, Liu F, Ding Q, Xu JF, Vidal AC, Freedland SJ, Ng CF, Yeb DW. (2016) Effect of Body mass index on the performance characteristics of PSA-related markers to detect prostate cancer. *Sci Rep*, 6: 19034.
262. Zujko ME, Witkowska AM, Waśkiewicz A, Sygnowska E. (2012) Estimation of dietary intake and patterns of polyphenol consumption in Polish adult population. *Adv Med Sci*, 57: 375-384.

Internetes hivatkozások:

1. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer, L. Section 30. 5. Ethanol Alters Energy Metabolism in the Liver. *Biochemistry*. 5th edition. W H Freeman, New York, 2002. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22524/>
2. KSH. Gyorstájékoztató. Külkereskedelmi termékforgalom, 2016. november (második becslés). <http://www.ksh.hu/docs/hun/xftp/gyor/kul/kul1611.html> (2017.02.11.)
3. National Institutes of Health (US). Information about Alcohol. In: *Biological Sciences Curriculum Study. NIH Curriculum Supplement Series* [Internet]. Bethesda (MD): National Institutes of Health (US); 2007. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20360/> (2017.03.06.)
4. OGYÉI. NRV és UL értékek: https://www.ogyei.gov.hu/nrv_es_ul_ertekek/ (2017.02.10.)
5. OGYÉI. Gyógyszeradatbázis. Detralex 500 mg filmtabletta https://www.ogyei.gov.hu/gyogyszeradatbazis/index.php?action=show_details&item=12917 (2017.02.10.)
6. Souci-Fachmann-Kraut food composition and nutrition tables, medpharm online database. Medpharm GmbH Scientific Publishers. Stuttgart. <http://www.sfkonline.net> (2014.12.23.)

10. Saját publikációk jegyzéke

10.1. A dolgozathoz kapcsolódó közlemények

1. Blázovics A, Kursinszki L, Papp N, Kleiner D, Szőke É, Hegyi G, Szilvás Á. (2016) Is professional prescribing of a commercially derived dietary supplement in colectomised patients necessary? *Eur J Integr Med*, 3: 219-226. [IF (2015).: 0,769]
2. Czigány Z, Turóczy Zs, Kleiner D, Lotz G, Homeyer A, Harsányi L, Szijártó A. (2015) Neural elements behind the hepatoprotection of remote preconditioning. *J Surg Res*, 193: 642-651. [IF (2015).: 2,198]
3. Ditrói K, **Kleiner D**, Böszörményi A, Szentmihályi K, Fébel H. (2013) The alimentary impact of the hemp seed. *Acta Aliment*, 42: 410-416. [IF (2013).: 0,427]
4. **Kleiner D**. Szelénpótlás; növényi eredetű táplálékaink szeléntartalma. In.: Blázovics A. Mézes M. (Szerk) Természetes eredetű hatóanyagok a modern orvoslásban 2013. Szent István Egyetemi Kiadó Nonprofit Kft. Gödöllő. 2014: 112-116.
5. **Kleiner D**. Alkoholos májkárosodás és transzmetilezés. In: Blázovics A. Róth E. Mézes M. (szerk.), Oxidatív stressz és betegségek. Szent István Egyetemi Kiadó Nonprofit Kft. Gödöllő. 2015: 141-147.
6. **Kleiner D**, Bersényi A, Fébel H, Hegedűs V, Máti E, Sárdi E. (2013) Transzmetilezési folyamatok és a redox homeosztázis. *Orv Hetil*, 154: 1180-1187.
7. **Kleiner D**, Ditrói K. (2012) A kannabidiol gyógyászati alkalmazhatósága metabolikus szindrómában. *Orv Hetil*, 153: 499-504.
8. **Kleiner D**, Hegyi G, Urbanics R, Dézsi L, Robotka H, Fehér E, Sárdi É, Szabeni J, Blázovics A. (2016a) Hepatoprotective liposomal glycyrrhizin in alcoholic liver injury. *Eur J Integr Med*, 8: 23-28. [IF (2015).: 0,769]
9. **Kleiner D**, Kurucz D, Bersényi A, Szentmihályi K, Skesters A, Liga Z, Blázovics A. (2016) Berries, the antioxidant sources of the boreal cold and arid regions. *Acta Aliment*, 45: 317-322. [IF (2015).: 0,333]
10. **Kleiner D**, Máti E, Süle K, Molnár J (2015a) A szelén élettani szerepe és jelentősége. *Gyógyszerészet*. 58: 148-153.
11. **Kleiner D**, Sárdi É, Ficsor E, Balázs A, Lemberkovics É, Blázovics A. A redox-homeosztázis és a transzmetilezés kapcsolata táplálkozás-élettani szempontból. *Aktualitások a táplálkozástudományi kutatásokban, workshop*. Megjelent:

Aktualitások a táplálkozástudományi kutatásokban című workshop összefoglalói. Budapest, 2014: 6. (ISBN 978-963-88108-7-8)

12. **Kleiner D**, Süle K, Windisch V, Szabó G, Blázovics A. Citrus sinensis levének redox-paraméterei frissen facsart és gyárilag feldolgozott mintáiban. Aktualitások a táplálkozástudományi kutatásokban, Ph.D. konferencia. Megjelent: Aktualitások a táplálkozástudományi kutatásokban című V. PhD Konferencia összefoglalói. Budapest, 2015b: 26. (ISBN 978-963-88108-8-5)
13. **Kleiner D**, Szilvás Á, Szentmihályi K, Süle K, Blázovics A. Fémelem-akkumuláció kemoterápia indukált kognitív funkcióromlás esetén. A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság VIII. Kongresszusa. Budapest, 2015c.
14. **Kleiner D**, Szilvás Á, Szentmihályi K, Süle K, Blázovics A. (2016) Changes of erythrocyte element status of colectomised cancerous patients: Retrospective study. J Trace Elem Med Biol, 33: 8-13. [IF (2015).: 2,55]
15. Skesters A, **Kleiner D**, Blázovics A, May Z, Kurucz D, Silova A, Szentmihályi K. (2014) Mineral element content and antioxidant capacity of some Latvian berries. Eur Chem Bull, 3: 98-101.
16. Tóth G, Sándor GL, **Kleiner D**, Szentmáry N, Kiss H, Blázovics A, Nagy ZZs. (2016) Szabadgyök-felszabadulás vizsgálata femtoszekundumos lézerrel asszisztált capsulotomiát követően. Orv Hetil, 157: 1880–1883. [IF (2015).: 0,291]

10.2. Disszertációtól független közlemények

1. **Kleiner D**, Mátis E, Ditrói K. (2012) A kender (Cannabis sativa L.) magyar orvoslásban betöltött szerepe kábítószerrel nyilvánításáig. Farmakognóziai Hírek, 7: 2-4.

11. Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Tulassay Tivadar D.Sc. egyetemi tanárnak, és néhai Dr. Rácz Károly D.Sc. egyetemi tanárnak, a Semmelweis Egyetem Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola vezetőinek a doktori képzésben való részvétel biztosításáért. Szeretnék továbbá köszönetet mondani programvetőmnak, Dr. Somogyi Anikó D.Sc. egyetemi tanárnak a támogatásért.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Blázovics Anna D.Sc. egyetemi tanárnak, témavezetőmnak, akit problémáimmal mindig megkereshettem, ötletei felbecsülhetetlen értéket képviseltek. Hálás vagyok továbbá Dr. Nagyné Sárdi Éva D.Sc., c. egyetemi tanárnak, a Szent István Egyetem Kertészettudományi Kar Genetika és Növénynevelési Tanszék tudományos tanácsadójának a transzmetilezés szerteágazó szerepének értelmezésében nyújtott segítségével. A növényi minták elemzésénél nyújtott segítségével köszönettel tartozom továbbá Dr. Hegedűs Attila D.Sc. a Szent István Egyetem Kertészettudományi Kar dékánjának és Dr. Papp Nóra Ph.D. adjunktusnak.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Béni Szabolcs Ph.D. egyetemi docens igazgatónak, a Semmelweis Egyetem Farmakognóziai Intézetben elkezdett munkám folytatásának lehetőségéért. Köszönöm továbbá Dr. Kursinszki László Ph.D. egyetemi docensnek, Dr. Alberti-Dér Ágnes Ph.D. egyetemi adjunktusnak, dr. Ditrói Kálmán tudományos munkatársnak, dr. Tóth Anitának, Bertóti Reginának, dr. Mátis Eszternek, dr. Kurucz Dórának, dr. Windisch Viviennek, dr. Szabó Gergőnek, dr. Hegedűs Viktornak és Süle Krisztinának a szakmai publikációkban és a disszertáció megírásában nyújtott segítséget, valamint az Farmakognóziai Intézet összes dolgozójának az elmúlt években nyújtott segítséget.

Hálásan köszönöm Med. habil. Dr. Dank Magdolna Ph.D. egyetemi docensnek, a Semmelweis Egyetem Onkológiai Központ igazgatójának a klinikai kutatásokban és azok értékelésében nyújtott segítséget. Szeretnék emellett köszönetet mondani Dr. Dohán Orsolya Ph.D. klinikai főorvosnak, Dr. Tőkés Tímea Ph.D. rezidensnek, Dr. Torgyík László főorvos igazgatóhelyettesnek, dr. Mühl Dorottya Ph.D. hallgatónak és Csajbókné Kovács Mária vezető főnővérnek és az Onkológiai Központ összes munkatársának a támogatásért.

Köszönettel tartozom munkám folytatásának biztosításáért, Prof. Dr. Zelkó Romána D.Sc., a Semmelweis Egyetem Gyógyszerésztudományi Kara dékánjának és az Egyetemi

Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézete igazgatójának, valamint Dr. Hankó Balázs Ph.D. főgyógyszerész egyetemi docensnek, igazgatóhelyettesnek.

Köszönöm Dr. Szebeni Jánosnak D.Sc. egyetemi tanárnak, a Semmelweis Egyetem Nanomedicina Kutató és Oktató Központ igazgatójának, Dr. habil. Dézsi László Ph.D. tudományos főmunkatársnak, Dr. Urbanics Rudolf Ph.D. kutatásvezetőnek, Dr. Robotka Hermina Ph.D. kutatónak, Mészáros Tamás beosztott kutatónak a liposzómákkal elvégzett kísérletekben nyújtott segítségét. Köszönettel tartozom továbbá Dr. Fehér Erzsébet professzor emeritának a szövettani elemzésben nyújtott segítségével, és Dr. Zelles Tivadar professor emeritus úrnak a polimerszómákkal elvégzett kísérletekért.

Hálás vagyok Dr. Fébel Hedvig Ph.D. egyetemi magántanárnak, az Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet fősztályvezetőjének és Dr. Bersényi András Ph.D., a budapesti Állatorvostudományi Egyetem egyetemi adjunktusának az állatkísérletekben nyújtott felbecsülhetetlen segítségével. Az elemek meghatározása során nyújtott segítségével szeretnék köszönetet mondani Dr. Szentmihályi Klára Ph.D. tudományos csoportvezetőnek és Dr. May Zoltán Ph.D., az MTA Természettudományi Kutatóközpont tudományos főmunkatársának. Hálás vagyok emellett az áfonyaminták elemzéséhez nyújtott támogató konzultációkért a Rīga Stradiņš University tanárának Prof. Dr. Andrej Skestersnek és a Silvanols Ltd. munkatársának, Dr. Līga Zukának.

Köszönöm továbbá Dr. Szijártó Attila egyetemi docensnek, a Semmelweis Egyetem I. Sz. Sebészeti Klinika igazgatóhelyettesének, a közös munkákban való részvétel lehetőségét, Dr. Czigány Zoltán Ph.D. sebész rezidensnek, Dr. Budai András Ph.D. hallgatónak, és az I. Sz. Sebészeti Klinika munkatársainak a segítségét, akik a közös kutatásokban részt vettek.

Köszönetet szeretnék mondani a Semmelweis Egyetem Szemészeti Klinikája munkatársainak, kiemelten Dr. Nagy Zoltán Zsolt D.Sc. egyetemi tanárnak, dr. Sándor Gábornak és dr. Tóth Gábornak a közös kutatások lehetőségéért.

Köszönöm továbbá Dr. Szilvás Ágnes Ph.D., a Szent János Kórház főorvosának és Prof. Dr. Hegyi Gabriella, a Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Kara professzorának és a Yamamoto Intézet igazgató főorvosának a humán tanulmányoknál nyújtott segítséget.

A növényi eredetű mintákért, köszönettel tartozom a GPS-Powder Kft. szakembereinek, Marusnik Bélának, Horváth Csillának és a cég vezetőjének, Papp Lászlónénak.

Hálával tartozom Istennek mindazért a szeretetért, türelemért és odaadásért, melyet munkatársaimtól, családomtól kaptam, és ami nélkül nem születhetett volna meg ez a disszertáció sem.