

**KÖRNYEZETI ÖSZTROGÉNEK VIZSGÁLATA
KLINIKAI ÁLLAPOTOKBAN**

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Dr. Vigh Éva

Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Dr. Barthó Lóránd

Programvezető: Dr. Pintér Erika

Témavezető: Dr. Garai János

Pécs

2012

1. Bevezetés

A „környezeti ösztrogén” kifejezés használata kiterjed mind a növényi eredetű ösztrogénekre (ún. fitoösztrogének), mind az antropogén ösztrogénekre (ún. xenoösztrogének). Habár mindkét csoport képviselői valóban megtalálhatók a környezetben, éles különbséget kell tenni köztük az emberekre és a vadvilágra esetlegesen gyakorolt kockázatuk értékelésekor. A xenoösztrogenékkal ellentétben, melyek az emberi tevékenység következményeként csupán a legújabb történelmi korban kerültek be a környezetbe, a fitoösztrogének az állatvilág evolúciójának során mindvégig jelen voltak a Föld bioszférájában, ezért természetes környezetünk szerves részének tekinthetjük őket. Igaz viszont, hogy a természetes eredetű anyagok sem feltétlenül ártalmatlanok vagy hasznosak.

1.1. Fitoösztrogének

A fitoösztrogének növényi eredetű vegyületek, melyek képesek az ösztrogén receptorokhoz kötődni és ösztrogénszerű vagy ösztrogén ellenes hatásokat kifejteni. A ma ismert fitoösztrogének túlnyomó többsége a növényi fenolok nagy csoportjába tartozik. További kategorizálásuk alapján az emberek által jelentős mennyiségben fogyasztott fitoösztrogének többsége az izoflavonoidok és a lignánok csoportjába sorolható.

Az elmúlt évtizedek kutatásai alapján úgy tűnik, hogy ezen anyagok növényi táplálékon keresztüli folyamatos, mérsékelt expozíciója valójában inkább előnyös az emberi szervezetnek, mivel a fitoösztrogének megelőzhetik a rosszindulatú daganatok kialakulását [1], és javíthatják a szív- és érrendszeri egészségi állapotot [2]. Ismert, hogy ezen hatásokat legalábbis nagy részben nukleáris receptorok közvetítik, úgymint az ösztrogén receptor α és β valamint az aril-hidrokarbon receptor. [3, 4] Úgy tűnik, hogy az antioxidáns aktivitás is hozzájárul a fitoösztrogének kedvező hatásaihoz. [5]

A kávésav az egyik leggyakoribb növényi fenol vegyület. Számos forrása ismert, mint például a cikóriakávé, az articsóka, az olívaolaj és a vörösbor. Befolyásolhatja a szérum ösztrogén szintet, valamint antioxidáns hatásának köszönhetően gyulladásgátló tulajdonsággal is rendelkezik. A kávésavról és származékairól leírták, hogy in vitro és in vivo körülmények között gátolják a trombocita aggregációt. [6, 7]

1.2. Xenoösztrogének

A II. világháború utáni ipari fejlődés számos új szintetikus vegyület előállítását hozta magával, melyek közül több vegyület széles körben elterjedt környezeti szennyezőanyaggá vált. Ezen vegyületek közül az ösztrogénszerű hatással rendelkezőket xenoösztrogénnek nevezük, melyek kémiai szerkezetükben nagy heterogenitást mutatnak. Sok közülük organoklorin vegyület, melyek a levegő porszemcséihez kapcsolódva messzire eljutnak, így jelen vannak az ipari tevékenységgel nem szennyezett területeken is. Ubiquiter (mindenütt jelenlevő) vegyületek, kimutathatók a levegőben, talajban, vízben. Ellenállóak a kémiai és a biológiai degradációval szemben: felezési idejük akár több évtized is lehet. Az állati és emberi szervezet nem képes lebontani/detoxikálni és/vagy kiválasztani ezen anyagokat, ezért igen hosszú ideig változatlanul fennmaradnak a környezetben (perzisztensek), és felhalmozódnak a táplálékláncban. Nagy zsírolékonyságuk okán, elsősorban a nagy zsírtartalmú szövetekben halmozódnak fel. A szakirodalom a perzisztens organikus pollutáns (peristent organic pollutant: POP) gyűjtőnévvel illetett vegyületcsoportba sorolja őket.

A xenoösztrogének hatásmechanizmusa lehet: a./ direkt hormon agonizmus vagy antagonizmus; b./ endogén hormonszintek megváltoztatása; c./ hormon receptorok módosítása. [8] Ezek a mechanizmusok valójában lefedik az endokrin diszruptió fogalmát, ezért a xenoösztrogének endokrin diszruptor vegyületek, melyek az ösztrogénhez hasonló hatást fejtenek ki. Mivel a xenoösztrogének a környezetben nem önállóan, hanem egymás mellett, mintegy keverékként vannak jelen, ezért általában több vegyület együttes expozíciójáról beszélhetünk.

A POP-ok legtöbbje szerkezetét tekintve polihalogénezett aromás szénhidrogén, ezen belül is három fő csoportjukat különböztetjük meg: poliklórozott bifenilek (PCB), poliklórozott dibenzo-p-dioxinok (PCDD) és poliklórozott dibenzofuránok (PCDF). Az egyes vegyületek változó számú és különböző helyzetű klór illetve bróm szubsztituenssel rendelkeznek.

A humán PCB és PCDD/F expozíció több mint 90%-ban az élelmiszerekből – ezen belül is a nagy zsírtartalmú, állati eredetű táplálékból – származik, az egyéb források, mint például a levegő vagy víz általi expozíció elhanyagolható mértékű. [9] Ezen vegyületek ismert endokrin diszruptorok, ezért az utóbbi évtizedekben számos tanulmány foglalkozott biológiai hatásaikkal. Szerepük lehet a magzatok és újszülöttek növekedési visszamaradásában, az újszülöttek és a gyerekek károsodott pszichomotoros, neuropszichológiai és neurokognitív fejlődésében. [10-12] Befolyásolhatják a reprodukív szervek, a pajzsmirigy valamint az immunrendszer működését [13, 14], és tumorok kialakulásához is hozzájárulhatnak. [15]

1.3. Makrofág migráció inhibitor faktor (MIF)

MIF az egyik legrégebben ismert immunmediátor. Mint szolubilis faktort 1966-ban fedezték fel [16], elsőként a későbbiekben citokinként számon tartott immunmediátorok közül. Kezdetben a T-limfociták kizárólagos termékének tekintették, melynek hatására a makrofágok random migrációja gátlódik in vitro. [16] Később számos nem immun sejtet azonosítottak, amelyekben megtalálható a MIF. A MIF-nek ma már számos kórfolyamatban tulajdonítanak szerepet: pl. endotoxémia és exotoxémia [17, 18], késői típusú hiperszenzitivitás, artritisz [19], transzplantátum kilökődés, tumor növekedés és angiogenezis [20, 21], gyulladáscsökkentő bélbetegségek, akut respiratórikus distressz szindróma, ateroszklerózis és még sok más.

A MIF a citokinek között egyedülálló módon enzimaktivitással rendelkezik, ezért citozimnek, vagy szekretált enzimnek is nevezik. Tautomeráz reakciójának szubsztrátja lehet D-dopakróm, L-dopakróm alfa metil észter, valamint fenilpiruvát és p-hidroxi- fenilpiruvát is. [22, 23] A MIF tautomeráz aktivitását bizonyos gyulladáscsökkentő polifenolok, köztük fitoösztrogének is, koncentrációfüggő módon gátolják. [24] Bár jelenleg nem tisztázott, hogy e katalitikus aktivitás egész pontosan milyen szerepet tölt be a MIF biológiai funkciójában, sokan feltételezik, hogy a MIF enzimaktivitásának kismolekulákkal történő gátlása hatékony terápiás lehetőség lehetne a gyulladáscsökkentő betegségek gyógyításában.

2. Cikóriakávé fogyasztás egyes klinikai hatásainak vizsgálata

2.1. Bevezetés és célkitűzés

A mérsékelt vörösbor fogyasztás kedvező hatásait egyes kardiovaszkuláris rizikófaktorokra már korábban bizonyították. A másik széles körben kedvelt, polifenolban gazdag ital, a kávé lehetséges előnyei azonban még tisztázásra várnak. A kávéfogyasztásnak a kardiovaszkuláris kockázatra élethosszig kifejtett hatását nemrégiben két nagy kohorsz tanulmányban vizsgálták. Dózisfüggő, de a koffein tartalomtól független védőhatást mutattak ki, mely kifejezettebb a női fogyasztók esetében. [25, 26] Egy másik vizsgálat szerint a kávé trombocita aggregációt gátló hatása is független a koffein tartalmától, inkább azon fenol vegyületeinek tulajdonítható, melyek képesek a trombocitamembránba inkorporálódni. [27]

A kávé bőségesen tartalmaz klorogénsavat, azaz kinasavval észterifikált kávéssavat, melyből a kávéssav hidrolízist követően válik abszorpcióra alkalmassá a bélben. Az orálisan adagolt kávéssavnak mintegy 95%-a felszívódik a vékonybélből, csúcskoncentrációját a vérben a bevitel után két órával éri el. [28] A cikóriában (*Cichorium intybus*) is nagy mennyiségben található kávéssav és annak származékai, például a klorogénsav. A cikória pörkölt, darált gyökeréből készül a cikóriakávé, mely nem tartalmaz koffeint. Pótkávéként vagy kávé-adalékként való használatának hosszú időre visszanyúló hagyománya van.

A gyulladáskeltő MIF citokinnek számos gyulladásgátló kórfolyamatban tulajdonítanak jelentőséget. A MIF tautomeráz enzimaktivitását egyes gyulladásgátló fitokemikáliák koncentrációfüggő módon gátolják. [24] A kávéssav bizonyult az egyik legjobb gátló molekulának mind a fenilpiruvát, mind a dopakróm tautomeráz aktivitást illetően. [24, 29] Továbbá a kávéssavról és származékairól leírták, hogy in vitro és in vivo körülmények között gátolják a trombocita aggregációt [6, 7], ezt saját in vitro méréseink is megerősítették.

Jelen kísérletünkben célul tűztük ki a cikóriakávé fogyasztás klinikai hatásainak vizsgálatát a trombocita aggregációra, a hemorheológiai paraméterekre illetve a szérum MIF koncentrációra.

2.2. Módszerek

Résztvevők:

Önkontrollos vizsgálatunkban 27 egészséges önkéntest vontunk be (13 nő és 14 férfi). Átlagos életkoruk 23 ± 0.4 év, átlagos testtömegük pedig 59.2 ± 2.5 kg illetve 85.5 ± 3.9 kg volt. A vizsgálat ideje alatt és az azt megelőző héten a résztvevők nem fogyaszthattak alkoholos italokat (pl. bort), babkávét vagy teát, mert, bár alacsonyabb mennyiségben, de ezek is tartalmaznak kávéssavat.

Vizsgálati protokoll:

A vizsgálatba bevont személyeknek az egy hetes periódus alatt napi 3 dl (20 g pörkölt cikória granulátumból főzött) cikóriakávét kellett elfogyasztaniuk reggelenként. Vizsgáltuk a cikóriakávé akut és krónikus hatását a trombocita aggregációra, a hemorheológiai paraméterekre és a MIF koncentrációra. Egyénenként három alkalommal történt vérvétel: a kávéfogyasztást megelőzően éhgyomorral, az első kávéfogyasztás után 2 órával, illetve az egy hetes rendszeres kávéfogyasztást követően a 8. napon.

Trombocita aggregáció mérése:

A trombocita aggregáció vizsgálatát Carat Tx-4 négycsatornás trombocita

aggregométerrel (Carat Diagnosztika Kft., Budapest) végeztük. Induktorként kollagént (2 µg/ml), adrenalint (10 µM) illetve kétféle koncentrációjú adenzin difoszfátot (5 és 10 µM ADP) használtunk.

Teljes vér illetve plazma viszkozitás mérése:

A teljes vér és a plazma viszkozitás méréseket Hevimet 40 számítógépes kapilláris viszkoziméterrel (Hemorex Kft, Budapest) végeztük.

Vörösvérsejt deformabilitás mérése:

A vörösvérsejtek deformabilitását LORCA (Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer, RR Mechatronics, Hoorn, Hollandia) segítségével mértük. A készülék különböző nyíróerők (0.3–30 Pa) mellett lézer segítségével méri a vörösvérsejtek elongációs indexét, amelyből meghatározza a vörösvérsejtek deformabilitását.

Szérumban MIF koncentráció meghatározása:

A szérumban MIF tartalmat enzimcsalag immunszorbens teszttel (MIF Duo set ELISA Development System from R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) detektáltuk betartva a gyártó előírásait.

Statisztikai kiértékelés:

A statisztikai elemzést SPSS programmal végeztük. Az analízishez ismételt mérések varianciaanalízist illetve páros t-próbát alkalmaztunk. A kiértékelés során a $p < 0.05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak.

2.3. Eredmények

Trombocita aggregáció:

In vitro a kávésav hatékony trombocita aggregáció gátló képességgel rendelkezik. [6] Ezen eredményt előzetes vizsgálatunk során mi is megerősítettük: 1.2 mM kávésav a kollagénnel indukált aggregációt 50%-kal csökkentette in vitro.

A cikóriakávé egy hetes fogyasztása során gyűjtött vérminták trombocita aggregációjának vizsgálatakor különböző induktorok esetében eltérő eredményeket kaptunk. Míg 5 µM ADP induktor esetében nem találtunk szignifikáns változásokat, addig a 10 µM ADP-vel indukált aggregáció mind a két órában, mind az egy hetes mérésnél fokozottnak mutatkozott. A kollagénnel indukált trombocita aggregáció a két órában csökkent, az adrenalinnal indukált azonban nőtt.

Teljes vér illetve plazma viszkozitás:

Az egy hetes rendszeres cikóriakávé fogyasztás szignifikánsan csökkentette a teljes vér viszkozitását. Hasonlóan a plazma viszkozitás is csökkenést mutatott az egy hét elteltével levett mintákban. A vércép alapvető paraméterei, mint például hematokrit és vörösvérsejtszám nem mutattak változást. A fibrinogén koncentráció – mely a plazma viszkozitás egyik fő meghatározója – sem változott a vizsgálat ideje alatt.

Vörösvérsejt deformabilitás:

Az egy hetes cikóriakávé fogyasztást követően minden 30 Pa-nál kisebb nyírófeszültség esetén a vörösvérsejt deformabilitás szignifikáns növekedését tapasztaltuk.

Szérum MIF koncentráció:

Cikóriakávé fogyasztás hatására a szérum MIF szintekben jelentős, szignifikáns csökkenés volt tapasztalható egy hét elteltével.

2.4. Eredmények megbeszélése és következtetés

Vizsgálatunk során a cikóriakávé fogyasztással összefüggésbe hozható nem kívánatos eseményt (allergia, mellékhatás stb.) nem észleltünk, tehát a cikóriakávé rövidtávon jól tolerálható diétás intervenció lehetőségét nyújtja fenolos növényi hatóanyagok bevitelére. A trombocita aggregációra és hemorheológiai paraméterek alakulására gyakorolt hatásai azonban nagy valószínűséggel nem köthetők egyetlen vegyülethez, hanem sokkal inkább a cikóriakávéból abszorbeált számos hatóanyag együttesének tulajdoníthatók.

A cikóriakávé fogyasztás trombocita aggregációra kifejtett hatása úgy tűnik függ az alkalmazott inductortól. Az *in vivo* aggregáció gátló aktivitás sokkal alacsonyabb volt, mint azt a kávésavval – ezen ital legfőbb növényi fenolvegyületével – végzett előzetes *in vitro* vizsgálatok alapján vártuk.

Az egy hetes cikóriakávé fogyasztás azonban szignifikánsan javította a hemorheológiai paramétereket, azaz a plazma és teljes vér viszkozitást, valamint a vörösvérsejt deformabilitást. Ezen változások arra utalnak, hogy a rendszeres cikóriakávé fogyasztás kedvező hatású lehet a mikrocirkuláció egyes rendellenességeinek megelőzésében. A teljes vér viszkozitás csökkenése feltehetően nagyrészt a vörösvérsejt deformabilitás növekedésének tulajdonítható. Igen figyelemre méltó a változatlan fibrinogén szint mellett tapasztalt szerény, de szignifikáns plazma viszkozitás csökkenés. További vizsgálatok szükségesek a pontos hatásmechanizmusok tisztázásához, valamint azon hatóanyagok azonosításához, melyek a cikóriakávé leírt hatásaiért felelősek.

Baskurt és mtsai. [30] a vörösvérsejt deformabilitás szignifikáns csökkenését figyelték meg szeptikus állapotokban 5 Pa-nál kisebb nyíróerők alkalmazásakor mind patkányok, mind emberek esetében. Az emelkedett MIF értékek a szeptikus állapot elfogadott indikátorai. [17] A kávésavban gazdag burgonyahéj extraktumról bebizonyították, hogy megvédi a vörösvérsejteket az oxidatív károsodástól, melyről ismert, hogy csökkenti a sejt deformabilitást. [31] A gyulladásgátló fenolokban (beleértve a kávésavat) gazdag cikóriakávé napi fogyasztása egy hét elteltével jelentősen csökkentette a vizsgálatunkban résztvevő egészséges önkéntesek szérum MIF szintjét, ezzel párhuzamosan javította a vörösvérsejt deformabilitást. További vizsgálatok szükségesek annak eldöntéséhez, hogy e két jelenség között van-e oki összefüggés. Tekintettel arra, hogy a MIF adhézións molekulák expresszióját indukálja az endotél sejteken [32], a MIF szintek csökkenése kardiovaszkuláris rizikó szempontjából preventív hatású lehet, mivel a monocita adhézió és emigráció az ateroszklerózis kialakulásának egy kulcseleme.

Egy, a közleményünk megjelenését követően publikált tanulmány a mi adatainkkal egybehangzó eredményre jutott a polifenolokban gazdag táplálék szérum MIF szintre gyakorolt hatását tekintve. Broekhuizen és mtsai. [33] vizsgálatában a kardiovaszkuláris rizikófaktorokkal rendelkező résztvevők polifenolban gazdag szőlőből és almából készült extraktumot fogyasztottak négy héten át napi rendszerességgel, ami 11%-kal csökkentette a bazális plazma MIF szintjüket.

Eredményeink alapján úgy tűnik, hogy vizsgálatunk jó kiindulási alap a cikóriakávében található fenolvegyületek antitrombotikus, gyulladásgátló, illetve kedvező hemorheológiai hatásainak további célzott vizsgálataihoz.

3. PCB és PCDD/F vegyületek jelenlétének vizsgálata magyar anyatejmintákban

3.1. Bevezetés és célkitűzés

Napjainkra az ipari fejlődés hatására drámaian megnőtt a környezetbe került organohalogen POP szennyezőanyagok mennyisége. Zsíroldékonyságuk és rendkívüli stabilitásuk miatt felhalmozódnak a táplálékláncban. Ezen vegyületek megtalálhatók a humán anyatejben is annak nagy zsírtartalma miatt. [34] Az anyatejjel táplált újszülöttek ezért jelentős POP expozíciónak lehetnek kitéve ezen érzékeny életszakaszban, mely a szervek fejlődése és érése szempontjából meghatározó. Számos tanulmány igazolta, hogy az anyatej általi POP expozíció az újszülöttek illetve csecsemők károsodott neurológiai, immunológiai és endokrinológiai fejlődéséhez vezethet. [10-14]

Az elmúlt 30 év során számos országból közöltek adatokat az anyatej POP szintekről. Magyar anyatejminták POP tartalmára vonatkozóan azonban nem rendelkezünk még kielégítő adatokkal. Ismert, hogy az anyatej POP tartalma visszatükrözi az anya előzetes hosszú távú expozícióját és egyben az anyatejjel táplált újszülött expozícióját jelenti. Vizsgálatunkban ezért célul tűztük ki, hogy megbízható információkat nyerjünk magyar anyatejminták POP tartalmáról, hogy összehasonlíthassuk más európai országok közölt adataival. Vizsgáltuk továbbá az anyatejminták POP koncentrációjának időbeli változását is. Így jutottunk olyan adatokhoz, melyek segítségével megbecsülhettük az anyatej révén az újszülötteket érő POP expozíciót.

3.2. Módszerek

Résztevők:

Vizsgálatunkba 34 olyan egészséges anyát vontunk be (átlag életkor 26.7 ± 4.9 év), akik érett, egészséges újszülöttet hoztak világra a Baranya Megyei Kórház Szülészeti Osztályán 2007-ben, és az első 3 hónapban kizárólag anyatejjel táplálták őket, valamint önként jelentkeztek az anyatejdonációra.

Anyatejminták gyűjtése:

Vizsgálatunkban a résztvevőktől 50-50 ml anyatejmintát gyűjtöttünk a szülést követően 3 különböző alkalommal. Az első minta gyűjtése a szülést követő 5. napon, a következő a 12., a harmadik pedig a 84. napon történt. A mintákat a reggeli első szoptatás alkalmával gyűjtöttük acetonnal előzőleg átöblített és kiszáritott üveg gyűjtőedényekbe. A mintákat a vizsgálatok elvégzéséig -20°C -on tároltuk.

Anyatejminták analízise:

Az analitikai eljárást az Amerikai Környezetvédelmi Ügynökség előírásai (US EPA method 1613) alapján végeztük kis módosítással.

Zsírtartalom extrahálása:

A minták zsírtartalmát Accelerated Solvent Extractor (Dionex ASE 300; Dionex, Sunnyvale, CA, USA) segítségével extraháltuk. Az extrakcióhoz dietil-éter és izopropanol 2:1 keverékét használtuk, az eljárást 2 ciklusban, 1500 psi nyomáson, $+120^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleten végeztük. Ezt követően az extraktum teljes folyadéktartalmát elpárologtattuk, majd gravimetriásan meghatároztuk a zsírtartalmat.

Többlépcsős tisztítási eljárás:

A mintákat tömény kénsavval (98%) kezeltük, majd Extrelut oszlopokra (Merck, Németország) vittük fel őket tisztítás céljából, melyeket másnap n-hexánnal eluáltuk. A második tisztítási lépésben elválasztottuk egymástól a PCB illetve a PCDD/F kongenereket egy 400°C-on aktivált alumínium-oxid oszlop segítségével. Ennek során az alumínium-oxid oszlopra szén-tetraklorid (CCl₄) oldószert vittünk fel, mely frakcióba a nem dioxinszerű PCB-k (non-dioxin-like PCB, NDL-PCB) és a mono-orto dioxinszerű PCB-k (dioxin-like PCB, DL-PCB) oldódtak. Majd diklór-metánt (CH₂Cl₂) vittünk az oszlopra, mely frakcióba a PCDD-k, PCDF-k és a non-orto DL-PCB kongenerek oldódtak.

PCB és PCDD/F tartalom mérése:

A vegyületek nevét a Nemzetközi Elméleti és Alkalmazott Kémiai Egyesület (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) által meghatározott IUPAC számok segítségével adtuk meg. A következő PCB kongenereket vizsgáltuk: 28, 52, 77, 81, 101, 105, 114, 118, 123, 126, 138, 153, 156, 157, 167, 169, 170, 180 és 189. Továbbá tizenhét 2,3,7,8-klór-szubsztituált PCDD és PCDF kongener jelenlétét vizsgáltuk.

A PCB és PCDD/F tartalom kvantitatív meghatározását nagyfelbontású TRACE GC 2000, Thermo Finnigan típusú gázkromatográfiás készülékkel összekapcsolt nagyfelbontású Mat 95 XP típusú tömegspektrométerrel (MS) végeztük.

Újszülöttek POP expozíciójának becslése:

Az anyatej általi POP expozíció becslésekor az anyatej szennyezőanyag tartalma mellett az elfogyasztott anyatej mennyisége a másik meghatározó tényező. A kizárólag anyatejjel táplált újszülöttek testtömegét a születést követő 1., 3., 5., 7., 9., 11. és 13. hét egy meghatározott napján 24 órán át mértük minden szoptatás előtt és után. Ebből számítottuk ki a napi anyatejfogyasztást.

Statisztikai kiértékelés:

A statisztikai elemzést SPSS programmal végeztük. Az analízishez ismételt méréses varianciaanalízist illetve Pearson korrelációt alkalmaztunk. Többszörös lineáris regresszió analízis segítségével vizsgáltuk az egyes anyai és újszülött jellemzők hatását a POP szintekre. A kimutatási határ (limit of detection, LOD) alattinak mért POP szinteket a kimutatási határ értékének felével vettük figyelembe. A DL-PCB és PCDD/F koncentrációkat a WHO által ajánlott toxicitási egyenérték faktorok (TEF) segítségével toxikus egyenértékben (TEQ) is kifejeztük. A kiértékelés során a $p < 0.05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak.

Az újszülöttek anyatej általi POP expozíciója függ a fogyasztott anyatej mennyiségétől, az anyatej zsírtartalmától, valamint annak POP tartalmától. A becslés során a TEF-fel rendelkező kongenereket, azaz a DL-PCB, PCDD és PCDF anyatejbeli koncentrációját vettük alapul. Az expozícióbecslést a következő sztochasztikus képlet segítségével végeztük el:

$$\text{napi POP expozíció} = (V \times F \times C) / 100$$

ahol V= napi fajlagos anyatejfogyasztás (g/ttkg); F= anyatej zsírtartalma (g%); C= a DL-PCB és PCDD/F koncentrációk összessége (pg TEQ/g zsír).

3.3. Eredmények

Anyatejminták zsírtartalma:

Az anyák tejmintáinak zsírtartalma minden vizsgált időpontban nagy szórást mutatott.

Az átlagos zsírtartalom alacsonyabbnak tűnt a szoptatás elején, habár szignifikáns változást nem detektáltunk az anyatej zsírtartalmában a szoptatási időszak során. Az egyes anyák három különböző alkalommal nyert tejmintáinak zsírtartalmai nem korreláltak egymással.

PCB koncentráció:

A domináns kongenerek a NDL-PCB-k csoportjába tartoztak: 153, 180, 138, és 101. Mindhárom mérési alkalommal ezen négy kongener összessége a teljes PCB koncentrációnak több mint 75%-át adta. A legnagyobb mennyiségben jelenlévő DL-PCB kongener a PCB-118 (mono-orto DL-PCB) és a PCB-77 (non-orto DL-PCB) volt. Mindhárom mérési alkalommal a DL-PCB vegyületek a teljes PCB koncentrációnak csupán 11%-át tették ki.

PCDD/F koncentráció:

A legnagyobb mennyiségbe jelenlévő PCDD/F vegyület az OCDD volt. A koncentrációkat dioxin toxikus egyenértékben (TEQ) is kifejeztük. TEQ-ben kifejezve a domináns kongener az 1,2,3,7,8-PeCDD és a PCB-126 volt. Mindhárom mérési alkalommal ezen két kongenerből számított TEQ érték a teljes (DL-PCB+PCDD/F)-TEQ koncentrációnak kb. 40%-át adta. Mindhárom mérési alkalommal a DL-PCB kongenerek összesen kb. 30%-át tették ki a teljes (DL-PCB+PCDD/F)-TEQ-nek.

POP értékeket befolyásoló tényezők:

A szülést követő 12. napon mért anyatejbeli POP koncentrációértékek kapcsolatát vizsgáltuk az anyai POP forrással összefüggő egyes jellemzőkkel. A korábbi terhességek száma szignifikánsan negatívan befolyásolta a teljes NDL-PCB, teljes PCB valamint a teljes (DL-PCB+PCDD/F)-TEQ értékeket. A vizsgált koncentrációkat az anyai életkor, a terhesség előtti anyai BMI vagy az anyai testsúlynövekedés mértéke a terhesség során nem befolyásolta.

Anyatejminták POP tartalmának időbeli változása a szoptatás során:

A szoptatás során három alkalommal mért PCB kongener koncentrációk erősen korreláltak egymással. A PCB kongener értékek csökkentek a szoptatás első három hónapja során, jóllehet ezen csökkenő trend csak a következő PCB kongenerek esetében volt szignifikáns: 114, 118, 126, 138, 156, 157, 167, 169, 170, 189, valamint teljes NDL-PCB, teljes DL-PCB és teljes PCB. A PCB kongenerek csökkenése sokkal kifejezettebb volt az 5.–12. nap között, 2% – 34% (átlagosan 13%). Ezt követően a 12. nap és a 84. nap között ezen utóbbi kongenerek koncentrációi átlagosan 0.2%-kal változtak.

A szoptatás során három alkalommal mért PCDD/F kongener koncentrációk erősen korreláltak egymással. A PCDD/F kongener értékek csökkentek a szoptatás első három hónapja során, jóllehet ezen csökkenő trend csak a következő kongenerek esetében volt szignifikáns: 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,4,7,8-HeCDD, 1,2,3,6,7,8-HeCDD, OCDD és OCDF. Ezen felül a teljes PCDD/F-TEQ és a teljes (DL-PCB+PCDD/F)-TEQ is szignifikánsan csökkent. A több klórt tartalmazó PCDD/F kongenerek gyorsabban eliminálódtak, mint a kevesebb klórt tartalmazók. A PCDF-k gyorsabban eliminálódtak, mint a PCDD vegyületek. A magas klórtartalmú OCDF legalább kétszer gyorsabban eliminálódott, mint más kongenerek. A csökkenés sokkal kifejezettebb volt az 5.–12. nap között, átlagosan 16%, míg a 12. nap és a 84. nap között a koncentrációk átlagosan 7%-kal csökkentek.

Újszülöttek POP expozíciójának becslése:

Az újszülöttek testtömege folyamatosan és gyors ütemben nőtt a születésük után, majdnem megduplázódott a szoptatás időszak első 3 hónapjában. A 24 óra alatti anyatejfogyasztás is szignifikánsan nőtt a szoptatás előrehaladtával. A napi anyatejfogyasztás

növekedése alapvetően nem a szoptatási gyakoriság emelkedésének, hanem az alkalmanként fogyasztott tejmenyiség növekedésének volt köszönhető. Az újszülöttek napi anyatej fogyasztása és testtömege erősen korrelált egymással minden vizsgálati napon, ezért az expozícióbecslés során a testtömegre vonatkoztatott napi anyatej fogyasztást használtuk. Az így számított anyatej fogyasztás is szignifikánsan változott az első három hónap alatt, meredeken nőtt a 3. hétig, majd a következő hetekben fokozatosan kismértékben csökkent a 13. hét végéig.

Az újszülöttek anyatej általi POP expozíciójának becslését a fentebb ismertetett képlet segítségével végeztük. A DL-PCB, PCDD és PCDF kongenerek általi össz expozíció a szoptatási időszak első 3 hónapjában végig magasabb volt, mint a Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) és a Scientific Committee on Food (SCF) szervezetek által megállapított tolerálható napi bevitel (TDI: 2 pg-TEQ/ttkg). Az újszülöttek átlagos POP expozíciója öt- hétszer magasabb volt, mint a TDI. A POP expozíció a 12. napon szignifikánsan magasabb volt, mint az 5. illetve a 84. napon.

3.4. Eredmények megbeszélése és következtetés

Az átlagos zsírtartalom nőtt a szoptatási időszak alatt, mely megegyezik más tanulmányok eredményeivel. [35] A zsírtartalom szórása magas volt, annak ellenére, hogy épp a szórás csökkentése érdekében gyűjtöttük a reggeli első szoptatás anyatejmintáit. Ismert, hogy az anyatej zsírtartalma nem csak a nap során változik, hanem az egyes szoptatási alkalmakon belül is, sőt a két emlő között is lehet eltérés.

Ez az első vizsgálat, mely egyéni magyar anyatejminták POP tartalmáról szolgáltat adatokat. Általánosságban elmondható, hogy a jelen vizsgálat során mért koncentrációk alacsonyabbnak tűnnek, mint más európai országok nemrégiben közölt adatai. [36-38] Ezt számos lehetséges ok magyarázhatja. Vizsgálatunk alanyai fiatal és egészséges nők voltak, akiknek nagy valószínűséggel nem volt magasabb expozíciós kockázatuk, pl. munkával kapcsolatos tevékenységek vagy szennyezett ételek fogyasztása által. Az észlelt viszonylag alacsony anyatejbeli POP szintek talán – legalább részben – magyarázhatók a hazai alacsony tengeri hal és tenger gyümölcsei fogyasztással [39], hiszen a tengeri hal fogyasztását tekintik a humán POP expozíció egyik fő forrásának. [40]

Csak kevés korábbi tanulmány áll rendelkezésre magyar anyatejek POP tartalmával kapcsolatban. Az ország a WHO által koordinált, az anyatejek PCDD/F és PCB tartalmát összehasonlító nemzetközi expozíciós kutatás mind a négy fordulójában részt vett [41-44], ahol összeöntött, elegy (ún. pooled) anyatejmintákat vizsgáltak. Magyarországot rendre a legkevésbé szennyezett európai országgént rangsorolták. Egyéni minták elemzésével kapott eredményeink jó egyezést mutatnak a WHO tanulmányokban mért szintekkel. Az észlelt alacsony koncentrációk talán magyarázatul szolgálhatnak arra, hogy vizsgálatunkban a POP koncentrációk miért korreláltak a szülések számával, és miért nem az anya életkorával. Jóllehet korábban leírták, hogy a terhességek száma illetve a korábbi szoptatás időtartama csökkent, míg az anyai életkor emeli a PCB és PCDD/F kongenerek anyatejbeni koncentrációját. [45]

Jelen vizsgálatunkban számos PCB kongener koncentráció csökkent a szoptatási időszak első három hónapja során. A csökkenés sokkal kifejezettebb volt (átlagosan 13%) az 5.–12. nap között, majd eléggé alacsonnyá vált (átlagosan 0.2%) a 12.–84. nap között. Eredményeink jó összhangban vannak azon kutatásokkal, melyek a PCB koncentrációk nagyobb arányú csökkenését mutatták a szoptatás első hónapja alatt, majd a második hónap után sokkal állandóbb értékeket találtak. [35, 46] Más tanulmányok által közölt eliminációs ráták azonban kismértékű – havonta néhány százalékos –, de konzisztens csökkenést mutattak

a szoptatás teljes időtartama alatt. [47, 48]

Jelen vizsgálatunkban a PCDD/F koncentrációk csökkentek a szoptatási időszak első három hónapja során. A csökkenés sokkal kifejezettebb volt az 5.–12. nap között, majd tovább csökkent a 12.–84. nap között. A szoptatás első három hónapja során a teljes PCDD/F-TEQ 19%-kal csökkent. A több klórt tartalmazó PCDD/F kongenerek gyorsabban eliminálódtak, mint a kevesebb klórt tartalmazók, továbbá a PCDF-k gyorsabban eliminálódtak, mint a PCDD vegyületek. Eredményeink jó összhangban vannak más kutatások eredményeivel, melyek a szoptatás első három hónapja során a teljes PCDD/F-TEQ 25% illetve 18%-os csökkenését mutatták ki. [49, 50]

Vizsgálatunkban az újszülöttek testtömege és napi anyatejfogyasztása is szignifikánsan nőtt a szoptatás első három hónapja során, valamint ezen két paraméter erősen korrelált egymással minden vizsgálati napon. Korábbi vizsgálatokból ismert, hogy ezen korreláció következtében a g/nap vagy ml/nap mértékegységben kifejezett anyatejfogyasztás nagy eltérést mutat az újszülöttek között. Ezért kockázatbecslés során a preferált mértékegység a testtömegre vonatkoztatott dózis. Ha csupán a napi anyatejfogyasztás átlagát osztanánk el a testtömegek átlagával az téves becsléshez is vezethetne. A becslés pontossága fokozható, ha azonos újszülöttektől, azonos mérései napon nyert anyatej fogyasztási és testtömeg adatokat használunk. Ezen kritériumnak megfelelő korábbi tanulmányok eredményeit felhasználva Arcus-Arth és mtsai. [51] megállapították, hogy az újszülöttek testtömegre vonatkoztatott napi anyatejfogyasztása az életkorral csökkent, és a legmagasabb az első hónapban volt. Azonban e tanulmányok nem longitudinális vizsgálatok voltak, azaz az egyes mérési időpontokban nem azonos újszülöttek vettek részt. Jelen longitudinális vizsgálatunkban az újszülöttek testtömegre vonatkoztatott napi anyatejfogyasztása az első hónap végén volt a legmagasabb.

Bár a magyar anyatejminták POP tartalma európai összehasonlításban viszonylag alacsonynak tekinthető, azonban a szoptatási időszak első 3 hónapjában az újszülöttek anyatej általi POP expozíciója még így is jelentősen meghaladta a JECFA és a SCF szervezetek által nemrégiben felülvizsgált és újonnan megállapított tolerálható napi bevitelt, azaz a 2 pg-TEQ/ttkg-t.

Eredményeink alapján elmondható, hogy magyar anyatejmintákban toxikus POP vegyületek konzisztens jelenlétét mutattuk ki, és hogy fokozott figyelemmel kell lennünk ezen káros szennyezőanyagok anyatejben való jelenlétére, mivel az újszülöttek nagy mennyiségű POP expozíciónak lehetnek kitéve a szoptatási időszak alatt.

4. MIF jelenlétének vizsgálata anyatejmintákban

4.1. Bevezetés és célkitűzés

Az anyatej egy olyan komplex biológiai folyadék, mely optimális táplálékul szolgál az újszülöttek számára. Az újszülött fejlődésére, az immunrendszer érésére kifejtett kedvező hatásai, valamint pszichológiai, gazdasági és gyakorlati előnyei széles körben ismertek, ezért a WHO kizárólagos szoptatást ajánl a csecsemő hat hónapos koráig.

Az anyatej számos bioaktív vegyületet tartalmaz, köztük hormonokat, növekedési faktorokat és a veleszületett és az adaptív immunvédelem mediátorait. [52, 53] Számos gyulladáskeltő és gyulladásgátló citokint mutattak ki olyan mennyiségekben a humán anyatejben, mely alapján valószínűsíthető élettani jelentőségük, és a detektált mediátorok listája napjainkban is intenzíven növekszik. [53, 54] Ezen anyagok védelmet biztosíthatnak kiegészítve az újszülött veleszületett immunrendszerét, továbbá módosíthatják annak érési folyamatát.

A gyulladáskeltő MIF citokint számos humán sejtféleség termeli illetve szekretálja, jelenlétét már kimutatták humán anyatejmintákban is. [55] Azonban koncentrációjának változását a szoptatási időszak különböző fázisaiban eddig még nem vizsgálták, jóllehet jelentősége lehet az újszülött immunkompetenciájának kialakulásában. Ezért célul tűztük ki a humán anyatej MIF tartalmának időbeli változásának vizsgálatát.

4.2. Módszerek

Résztvevők:

Vizsgálatunkba 21 egészséges, szoptató édesanyákat vontunk be (átlag életkor 27.5 ± 4.4 év), akik érett, egészséges újszülötteket hoztak világra a Baranya Megyei Kórház Szülészeti Osztályán 2007-ben.

Vizsgálati protokoll:

A résztvevőktől 25-30 ml anyatejmintát gyűjtöttünk a szoptatási időszak első három hónapja során, a szülést követő 5., 12., és 84. napon (colostrum, átmeneti tej, érett női tej). A mintákat a reggeli első szoptatás során gyűjtöttük – elkerülendő az esetleges diurnális változásból eredő eltéréseket –, és a vizsgálatok elvégzéséig -20°C -on tároltuk.

MIF koncentráció mérése:

Centrifugálással (13000 rpm, 5 perc) az anyatejmintákat három fázisra választottuk szét: a felülúszó lipidrétegre, a közbenső vizes fázisra és a sejteket tartalmazó üledékretegre. Ezt követően a vizes fázis fehérjetartalmát Bradford módszerrel határoztuk meg, a MIF tartalmát pedig ELISA teszttel detektáltuk.

Statisztikai kiértékelés:

A statisztikai elemzést SPSS programmal végeztük. Az adott paramétertől függően az analízishez ismételt méréses varianciaanalízist, Pearson korrelációt illetve Friedman tesztet és Spearman korrelációt alkalmaztunk. Többszörös lineáris regresszió analízis segítségével vizsgáltuk az egyes anyai és újszülött jellemzők hatását a MIF és a fehérje szintekre. A kiértékelés során a $p < 0.05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak.

4.3. Eredmények

A gyűjtött anyatejminták mindegyikében kimutatható volt a MIF citokin jelenléte. A szoptatás során a MIF anyatejbeli szintje minden résztvevő esetében hasonló időbeli trendet követett. A különböző időpontokban gyűjtött minták MIF koncentrációi szignifikánsan korreláltak egymással.

A MIF értékekben egy szignifikánsan csökkenő időbeli trend volt megfigyelhető a szoptatás első három hónapja során. Ezen belül a 84. napon gyűjtött anyatejminták MIF szintje szignifikánsan alacsonyabb volt, mint az 5. vagy a 12. napon gyűjtöttekben.

Az anyatejminták fehérjetartalma szignifikánsan csökkent a szoptatás során. A különböző időpontokban gyűjtött minták fehérjetartalmai szignifikánsan korreláltak egymással. A csökkenés időbeli trendje egyenletes volt: a 12. és a 84. napon a fehérjetartalmak szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint az 5. napon, valamint a 84. nap gyűjtött minták fehérjeszintje kisebb volt, mint a 12. napon gyűjtött mintáké.

A MIF szintek és a minták fehérjetartalmai nem korreláltak egymással. A fehérjetartalomra vonatkoztatott citokin értékek nem mutattak szignifikáns változást a szoptatás első három hónapja során.

Az anyatej MIF szintek és a vizsgált anyai illetve újszülött jellemzők (anyai életkor, anyai BMI terhesség előtt illetve szülés előtt, terhességi hét szüléskor, szülés módja, valamint az újszülött neme, paritása, születési súlya) között nem találtunk szignifikáns összefüggést. Hasonlóan, a fehérjetartalmat nem befolyásolták a résztvevők vizsgált paraméterei.

4.4. Eredmények megbeszélése és következtetés

Az anyatej immunológiailag aktív vegyületekben gazdag, természetes táplálékul szolgál az újszülöttek számára, akiknek még éretlen és fejlődésben van az immunrendszere, ami fogékonyra teszi őket a fertőzésekre. A belőlük hiányzó immunanyagok viszont jelentékeny mennyiségben megtalálhatók az anyatejben. [54] Az orálisan bejutó citokinek feltehetően a szájüreg mucosa és nyiroksejtjeire, valamint a bélrendszer nyirokrendszerére hatnak és elősegítik az immunrendszer érését. [56]

Vizsgálatunk során jelentékeny mennyiségű MIF jelenlétét mutattuk ki a szoptatás első három hónapja során gyűjtött anyatejminták vizes fázisában. Sőt, a MIF koncentrációk kb. egy nagyságrenddel nagyobbak voltak, mint más anyatejben talált citokin koncentrációk. [57] A szérumhoz képest [58] a MIF anyatejbeni koncentrációja kb. tízszer magasabb, mely aktív szekrécióra utal.

Az általunk mért MIF koncentrációk megegyeztek az irodalomból ismert adatokkal. Nevezetesen Magi és mtsai. [55] mutatták ki először MIF jelenlétét a szülést követő 5. napon gyűjtött humán anyatejmintákban.

Az anyatejminták vizes fázisának fehérjetartalma egyenletesen csökkent a szoptatás első három hónapja során. Eredményeink összhangban vannak az irodalomból ismert adatokkal, az anyatej csökkenő fehérjetartalmát írták le a szoptatás előrehaladtával, mely csökkenés kifejezettebb volt a szoptatás első hónapjában. [59, 60]

Korábbi kutatások immunológiailag aktív vegyületek csökkenő időbeli trendjét mutatták ki a szoptatás alatt. [59] Vizsgálatunkban az anyatejminták vizes fázisának MIF tartalma csökkenést mutatott a szoptatás első három hónapja során.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a MIF nagy mennyiségben van jelen az anyatejben, különösen a szoptatás első hónapjában. Jelenléte szerepet játszhat az anya és újszülöttje közti komplex immunológiai interakciókban, melyek jelentőséggel bírhatnak a fertőzések elleni védekezésben ezen érzékeny és sebezhető időszakban.

5. Új eredmények összefoglalása

1. Klinikai tanulmányunkban a polifenolokban gazdag cikóriakávé fogyasztás hatásait vizsgáltuk egészséges önkéntesek bevonásával.
 - Egy hetes cikóriakávé fogyasztás hatása a trombocita aggregációra függ az alkalmazott inductortól.
 - Egy hetes cikóriakávé fogyasztás szignifikánsan javította a hemorheológiai paramétereket: a plazma és teljes vér viszkozitást, valamint a vörösvérsejt deformabilitást.
 - Egy hetes cikóriakávé fogyasztás szignifikánsan és számottevően csökkentette a szérum MIF szintet. Elsőként mutattuk ki, hogy polifenolokban gazdag táplálék fogyasztása kedvező hatással van a szérum MIF szintre.
2. Klinikai vizsgálatunkban PCB és PCDD/F kongenerek jelenlétét és szoptatási időszak alatti változását követtük magyar anyatejmintákban.
 - Ez az első olyan vizsgálat, mely nem összeöntött („pool”-olt), hanem egyéni magyar anyatejminták PCB és PCDD/F tartalmáról szolgáltat megbízható adatokat.
 - Számos PCB és PCDD/F kongener koncentrációja szignifikánsan csökkent a szoptatási időszak első három hónapja során. A csökkenés mértéke sokkal kifejezettebb volt az 5.–12. nap között. Ezen eredményeink hozzájárulhatnak a POP kongenerek eliminációs rátáinak pontosabb meghatározásához.
 - A magyar anyatejminták POP tartalma európai összehasonlításban viszonylag alacsonynak bizonyult.
 - A újszülöttek testtömegre vonatkoztatott napi anyatejfogyasztása az első hónap végén volt a legmagasabb. Kutatásunk hiányt pótló, mivel longitudinális vizsgálatunkban a szoptatási időszak első időszakában mértük mind az újszülöttek napi anyatejfogyasztását, mind testtömegét. Ezáltal vizsgálatunk a jövőben lehetőséget biztosít pontosabb expozícióbecslések készítésére.
 - A szoptatási időszak első három hónapjában az újszülöttek anyatej általi POP expozíciója végig jelentősen meghaladta a JECFA és a SCF szervezetek által megállapított tolerálható napi bevitelt.
3. Kutatásunkban MIF citokin jelenlétét és szoptatási időszak alatti változását vizsgáltuk anyatejmintákban.
 - Elsőként mutattuk ki, hogy az anyatejminták vizes fázisának MIF tartalma szignifikánsan csökkent a szoptatási időszak első három hónapja során.

6. Irodalomjegyzék

1. Ramos S. *J Nutr Biochem* 2007, 18:427-442.
2. Siow RC, Li FY, Rowlands DJ, et al. *Free Radic Biol Med* 2007, 42:909-925.
3. Turner JV, Agatonovic-Kustrin S, Glass BD. *J Pharm Sci* 2007, 96:1879-1885.
4. Medjakovic S, Jungbauer A. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008, 108:171-177.
5. Pietta PG. *J Nat Prod* 2000, 63:1035-1042.
6. Hung CC, Tsai WJ, Kuo LM, et al. *Bioorg Med Chem* 2005, 13:1791-1797.
7. Hsiao G, Lee JJ, Lin KH, et al. *Cardiovasc Res* 2007, 75:782-792.
8. Sonnenschein C, Soto AM. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1998, 65:143-150.
9. Fürst P, Beck H, Theelen RMC. *Toxic Subst J* 1992, 2:133-150.
10. Koopman-Esseboom C, Weisglas-Kuperus N, de Ridder MA, et al. *Pediatrics* 1996, 97:700-706.
11. Schantz SL, Widholm JJ, Rice DC. *Environ Health Perspect* 2003, 111:357-376.
12. Boersma ER, Lanting CI. *Adv Exp Med Biol* 2000, 478:271-287.
13. Nagayama J, Okamura K, Iida T, et al. *Chemosphere* 1998, 37:1789-1793.
14. Weisglas-Kuperus N, Patandin S, Berbers GA, et al. *Environ Health Perspect* 2000, 108:1203-1207.
15. Schecter A, Olson JR. *Chemosphere* 1997, 34:1569-1577.
16. Bloom BR, Bennett B. *Science* 1966, 153:80-82.
17. Bernhagen J, Calandra T, Mitchell RA, et al. *Nature* 1993, 365:756-759.
18. Calandra T, Echtenacher B, Roy DL, et al. *Nat Med* 2000, 6:164-170.
19. Leech M, Metz C, Santos L, et al. *Arthritis Rheum* 1998, 41:910-917.
20. Takahashi N, Nishihira J, Sato Y, et al. *Mol Med* 1998, 4:707-714.
21. Ogawa H, Nishihira J, Sato Y, et al. *Cytokine* 2000, 12:309-314.
22. Rosengren E, Bucala R, Aman P, et al. *Mol Med* 1996, 2:143-149.
23. Rosengren E, Aman P, Thelin S, et al. *FEBS Lett* 1997, 417:85-88.
24. Molnar V, Garai J. *Int Immunopharmacol* 2005, 5:849-856.
25. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Li TY, et al. *Ann Intern Med* 2008, 148:904-914.
26. Lopez-Garcia E, Rodriguez-Artalejo F, Rexrode KM, et al. *Circulation* 2009, 119:1116-1123.
27. Natella F, Nardini M, Belevi F, et al. *Br J Nutr* 2008, 100:1276-1282.
28. Olthof MR, Hollman PC, Katan MB. *J Nutr* 2001, 131:66-71.
29. Senter PD, Al-Abed Y, Metz CN, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99:144-149.
30. Baskurt OK, Gelmont D, Meiselman HJ. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157:421-427.
31. Singh N, Rajini PS. *Chem Biol Interact* 2008, 173:97-104.
32. Amin MA, Haas CS, Zhu K, et al. *Blood* 2006, 107:2252-2261.
33. Broekhuizen LN, van Wijk DF, Vink H, et al. *Br J Nutr* 2011, 106:1416-1422.
34. Gallenberg LA, Vodcnik MJ. *Drug Metab Rev* 1987, 21:277-317.
35. Yu Z, Palkovicova L, Drobna B, et al. *Chemosphere* 2007, 66:1012-1018.
36. Colles A, Koppen G, Hanot V, et al. *Chemosphere* 2008, 73:907-914.
37. Raab U, Preiss U, Albrecht M, et al. *Chemosphere* 2008, 72:87-94.
38. Schuhmacher M, Kiviranta H, Ruokojärvi P, et al. *Environ Int* 2009, 35:607-613.
39. Byrd-Bredbenner C, Lagiou P, Trichopoulou A. *J Hum Nutr Diet* 2000, 13:197-204.
40. Bergkvist C, Oberg M, Appelgren M, et al. *Food Chem Toxicol* 2008, 46:3360-3367.
41. ENHIS 2009. Persistent organic pollutants in human milk, ENHIS fact sheet 4.3. (RPG4_Food_Ex2) European Environment and Health Information System, WHO Regional Office for Europe.

42. Malisch R, van Leeuwen FXR. *Organohalogen Compounds* 2003, 64:140-143.
43. WHO 1996. Levels of PCBs, PCDDs and PCDFs in Human Milk: Second Round of WHO-coordinated exposure study, *Environmental Health in Europe* No. 3, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark.
44. WHO 1989. Levels of PCBs, PCDDs and PCDFs in breast milk, *Environmental Health Series* No. 34, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark.
45. Albers JM, Kreis IA, Liem AK, et al. *Arch Environ Contam Toxicol* 1996, 30:285-291.
46. Ramos L, Hernández LM, González MJ. *Arch Environ Contam Toxicol* 1997, 33:97-103.
47. Thomsen C, Haug LS, Stigum H, et al. *Environ Sci Technol* 2010, 44:9550-9556.
48. Hooper K, She J, Sharp M, et al. *Environ Health Perspect* 2007, 115:1271-1275.
49. Beck H, Dross A, Mathar W. *Environ Health Perspect* 1994, 102:173-185.
50. Takekuma M, Saito K, Falandysz J, et al. *Sci Total Environ* 2011, 409:1368-1377
51. Arcus-Arth A, Krowech G, Zeise L. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 2005, 15:357-365.
52. Hmaosh M. *Pediatr Clin North Am* 2001, 48:69-86.
53. Garofalo RP, Goldman AS. *Biol Neonate* 1998, 74:134-142.
54. Chirico G, Marzollo R, Cortinovia S, et al. *J Nutr* 2008, 138:1801S-1806S.
55. Magi B, Ietta F, Romagnoli R, et al. *Pediatr Res* 2002, 51:619-624.
56. Bocci V. *J Interferon Cytokine Res* 1999, 19:859-861.
57. Hawkes JS, Bryan DL, James MJ, et al. *Pediatr Res* 1999, 46:194-199.
58. Beishuizen A, Thijs LG, Haanen C, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:2811-2816.
59. Montagne P, Cuillière ML, Molé C, et al. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999, 29:75-80.
60. Saarela T, Kokkonen J, Koivisto M. *Acta Paediatr* 2005, 94:1176-1181.

7. Köszönetnyilvánítás

Őszinte hálával és köszönettel tartozom témavezetőmnek Dr. Garai Jánosnak, aki lehetőséget adott kutatási munkám elvégzéséhez, bevezetett a kísérletezés rejtelseibe és lehetőséget biztosított külföldi tanulmányutakon való részvételre. Köszönöm Dr. Emilio Benfenati Professzor Úr, Helen Håkansson Professzor Asszony és Marika Berglund támogatását és irányítást a külföldön végrehajtott tanulmányok során. Nagyon köszönöm Dr. Székely Miklós és Dr. Szelényi Zoltán Professzor Urak segítő támogatását és biztatását. Külön köszönet illeti Dr. Szekeres-Solymár Margitot, kinek önzetlen baráti támogatására mindig bízton számíthattam. Köszönöm Dr. Balaskó Márta, Dr. Soós Szilvia és Dr. Pétervári Erika tanácsait és baráti segítségét. Hálával tartozom Girán Juditnak és Szommer Zsuzsanna Dalmának a kísérletek kivitelezésében való segítségért, továbbá a Kóréletani és Gerontológiai Intézet valamennyi munkatársának lelkes támogatásukért.

8. Publikációs jegyzék

Közlemények:

1. **Vigh É**, Molnár V, Garai J, Varga T, Koppán M, Bódis J. Endometriózis: az ektópiásan túlélő szövet ártalma. I. rész: Az endometriózis patomechanizmusa. Magyar Nőorvosok Lapja 2009, 72(2): 79-97.
2. **Vigh É**, Molnár V, Garai J, Varga T, Koppán M, Bódis J. Endometriózis: az ektópiásan túlélő szövet ártalma. II. rész: Az endometriózis klinikuma. Magyar Nőorvosok Lapja 2009, 72(3): 141-148.
3. Lóránd T, **Vigh É**, Garai J. Hormonal action of plant derived and anthropogenic non-steroidal estrogenic compounds: phytoestrogens and xenoestrogens. Current Medicinal Chemistry 2010, 17(30): 3542-3574.
Független citáció: 13 **(IF: 4,630)**
4. **Vigh É**, Bódis J, Garai J. Longitudinal changes in macrophage migration inhibitor factor in breast milk during the first three months of lactation. Journal of Reproductive Immunology 2011, 89(1): 92-94.
Független citáció: 1 **(IF: 2,966)**
5. Schumacher E, **Vigh É**, Molnár V, Kenyeres P, Fehér G, Késmárky G, Tóth K, Garai J. Thrombosis preventive potential of chicory coffee consumption: a clinical study. Phytotherapy Research 2011, 25(5): 744-748.
Független citáció: 1 **(IF: 2,086)**
6. **Vigh É**, Colombo A, Benfenati E, Håkansson H, Berglund M, Bódis J, Garai J. Changes in concentrations of PCBs and PCDD/Fs in breast milk from Hungary during the first three months of lactation. (kézirat beküldve)

Idézhető előadáskivonatok:

1. Garai J, Molnár V, Gabrieli P, **Vigh É**. The enzymatic activity of MIF cytokine might functionally contribute to its activation mechanisms. Acta Physiologica Hungarica 2004, Vol 91, No. 3-4: 297.
2. Molnár V, Gabrieli P, Németh E, Schumacher E, **Vigh É**, Garai J. The effects of plant phenols and polyphenols on the enzyme activity of macrophage migration inhibitory factor (MIF). Acta Physiologica Hungarica 2005, Vol 92, No. 3-4: 286.
3. **Vigh É**, Gabrieli P, Schumacher E, Molnár V, Garai J. Anti-inflammatory molecules affect macrophage migration inhibitory factor and tubulin polymerization. Acta Physiologica Hungarica 2005, Vol 92, No. 3-4: 319-321.
4. Schumacher E, **Vigh É**, Bíróné Molnár V, Kenyeres P, Fehér G, Késmárky G, Garai J, Tóth K. A kávésav in vivo hemoreológiai és trombocytta aggregáció gátló hatásának vizsgálata. Érbetegségek 2007, Suppl. 1: 16.

5. **Vigh É**, Schumacher E, Molnár V, Kenyeres P, Fehér G, Garai J. The effects of chicory coffee consumption on serum MIF level, on haemorheological parameters and on platelet aggregation. *Acta Physiologica Hungarica* 2007, Vol 94, No. 4: 402-403. **(IF: 0,453)**
6. Garai J, Schumacher E, **Vigh É**, Molnár V, Kenyeres P, Fehér G, Késmárky G, Tóth K. Hemorheologic and thrombosis preventive potential of chicory coffee consumption: a clinical study. *Journal of Vascular Research* 2008, 45 (Suppl 2): 79. **(IF: 2,463)**
7. **Vigh É**, Bódis J, Garai J. Macrophage migration inhibitor factor in breast milk during the first 3 months of lactation. *Acta Physiologica Hungarica* 2010, Vol 97, No. 1: 147. **(IF: 1,226)**
8. **Vigh É**, Colombo A, Benfenati E, Håkansson H, Berglund M, Garai J. Exposure assessment of breastfed infants in Hungary to persistent organic pollutants. *Acta Physiologica Hungarica*, 2010, Vol 97, No. 3: 335. **(IF: 1,226)**
9. Garai J, **Vigh É**, Lóránd T. The macrophage migration inhibitory factor (MIF) alias the *most interesting factor*. *Acta Physiologica Hungarica* 2010, Vol 97, No. 4: 440-441. **(IF: 1,226)**
10. **Vigh É**, Schumacher E, Molnár V, Kenyeres P, Fehér G, Késmárky G, Tóth K, Garai J. Chicory coffee: a thrombosis preventive beverage? *Acta Physiologica Hungarica* 2010, Vol 97, No. 4: 484-485. **(IF: 1,226)**
11. Németh Á, Lenkey Zs, Ajtay Z, Cziráki A, Sulyok E, Horváth I, Szabados S, **Vigh É**, Lobenhoffer JM, Awiszus F, Bode-Böger SM. Stent implantáció hatása a koszorúérbetegek aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) szintjére akut miokardiális infarktus után. *Cardiologia Hungarica* 2010, 40: G65.
12. Párniczky A, Solymár M, **Vigh É**, Miseta A, Németh Á, Lenkey Zs, Szabados S, Cziráki A, Koller Á. A perikardiális folyadék összetétele koszorúér-revaszkularizációs műtéten (CABG) és műbillentyűbeültetésen átesett (VR) betegekben. *Cardiologia Hungarica* 2011, 41: F39-40.
13. Garai J, Colombo A, Benfenati E, Håkansson H, Berglund M, Bódis J, **Vigh É**. Changes in concentrations of PCBs and PCDD/Fs in breast milk from Hungary during the first three months of lactation. *Endocrine Reviews*, 2012;33(03_MeetingAbstracts): SAT-576. **(IF/2011: 19,929)**