

**Biodízel előállítás alapanyagainak és melléktermékeinek
vizsgálata állatkísérletekben**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Dr. Szele Eszter

B-149 Daganatok molekuláris epidemiológiája

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel

Program és témavezető: Prof. Dr. Ember István †

Prof. Dr. Kiss István

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

2014.

I. Bevezetés

I.1. A bioüzemanyagok jelentősége

A Földön jelenleg folyamatban lévő ipari fejlődéssel párhuzamosan növekszik az emberek energiaigénye, míg a ma használatos fosszilis energiaforrások mennyisége csökken. A fejlett országokban az energiaigény nagy részét az üzemanyag teszi ki, így a bioüzemanyag előállításával csökkenthető a fosszilis energiaforrások felhasználása. Az úgynevezett első generációs bioüzemanyagokat elsősorban az erre a célra termesztett növényekből állítják elő. A második generációs bioüzemanyagok alapanyaga lehet a mezőgazdaságból, erdőgazdálkodásból és a kapcsolódó iparágakból származó biológiai eredetű termék, melléktermék, vagy akár a települési hulladék még biológiailag lebontható része.

Az Európai Unió és hazánk is jogszabály, illetve cselekvési tervek szinten szabályozza a bioüzemanyagokra és folyékony bio-energiahordozókra (biomasszából előállított, a közlekedéstől eltérő célokra energiaforrásként használt folyékony üzemanyagok, pl. villamos energia, fűtés, hűtés) vonatkozó fenntarthatósági kritériumokat. A „Magyarország Megújuló Energia Hasznosítási Cselekvési Terve 2010-2020” című dokumentumban foglaltak szerint az első generációs bioüzemanyagokból – az élelmezési és takarmányozási célok biztosításával egyidejűleg – 2020. évi becsült felhasználás 10%-ot meghaladó mennyiség is előállítható.

I.2. Biodízel előállítása

I.2.1. Biodízel előállítása nyers növényi olajból

Magyarországon a jelenleg kihasználatlan földterületek bevonása a biodízel alapanyagú növénytermelésébe nem befolyásolja negatívan az élelmiszeripari igényeket, továbbá nemcsak energetikai szempontból lehet kedvező, de munkahelyteremtéssel a lakosság életszínvonalát közvetlenül is növeli.

A növényi olaj 3 azonos vagy különböző zsírsavnak glicerinnel alkotott észtere (triglicerid), nyers formában is használható lenne üzemanyagként, azonban a magas trigliceridtartalom számos motorteknikai és tárolási problémát okoz. A növényi olajokból metanollal végzett átészterezéssel a hagyományos motorokban is használható biodízel állítható elő. Az előállítás legnagyobb mellékterméke az észterezés során keletkező glicerín.

I.2.2. Biodízel előállítása állati zsiradékból vagy használt növényi olajból

A biodízel állati zsiradékból, használt étkezési olajokból is előállítható. A bonyolult tisztítási műveletek ellenére - a gazdaságos működés kényszere miatt - a biodízel üzemek jelentős részét alkalmassá tették az éttermi olajok, zsiradékok feldolgozására, tekintettel arra, hogy ezen alapanyagok sok esetben térítésmentesen állnak rendelkezésre, mivel a *hulladékgazdálkodásról szóló 2000. évi XLIII. törvény* 32. § (5) bekezdése szerint az éttermek gondoskodnia kell a veszélyes hulladéknak számító használt sütőolaj zsiradék ártalmatlanításáról.

I.3. Nyers növényi olajból előállított biodízel melléktermékeivel, továbbá a biodízelgyártásra szánt egyéb anyagokkal végzett vizsgálatok

I.3.1. Biodízel-glicerín

Becslések szerint 1 liter biodízel előállítása során 80-100 gramm glicerín keletkezik. A glicerín értékes, energiadús anyag, így felmerült, hogy akár állati takarmány dúsítására is alkalmas lehet. Az állatok energiaellátottságuktól függően a glicerint glükóz előállítására vagy zsírtermelésre, illetve energiatermelésre egyaránt felhasználhatják. Több tanulmány igazolta, hogy a biodízel-glicerinnel dúsított állati takarmány növeli az állatok húshozamát.

A Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdasági és Élelmiszer-tudományi Kar, Állattudományi Intézetének munkatársai takarmányozási vizsgálatokat végeztek a kukorica alapú biodízelgyártás során keletkezett glicerinnel. A vizsgálataik alapján a standard takarmányhoz 5%-ban kevert, 86,3% tisztasági fokú glicerinnel szignifikánsan nem befolyásolta a hízósertések és a pecsenyecsirkék súlygyarapodását és takarmányhasznosításuk nem tért el a standard takarmányt fogyasztó állatokétól.

A Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Orvosi Népegészségtan Intézetének (továbbiakban: Intézet) egyik munkacsoportja rövidtávú és szubkrónikus kísérletek során nőstény és hím Long Evans patkányok biodízel-glicerinnel való expozícióját követően Ames teszttel a mutagén hatást, míg a 24. órában vett vérmintával végzett üstökös elektroforézissel a DNS-lánctörést okozó hatást zárták ki az állatoknál, mindkét nemből.

1.3.2. Szappanos víz

A nyers biodízel enyhén savas, lágyított meleg vízzel történő tisztítása során a vízben jól oldódó alkohol, nátrium- és káliumsók eltávolíthatók, a szappanok kicsapódása elkerülhető és a kalcium-, illetve magnéziumszennyezés eltávolítható. Így keletkezik a gyártás úgynevezett „szappanos víz” mellékterméke, ami glicerint, zsírsavakat, zsírsav- metilésztert, valamint különböző sókat tartalmaz, felmerült, hogy talajminőség javító anyagként hasznosítható újra.

A talajhoz különböző koncentrációban kevert szappanos víz ökotoxikológiai hatása nem igazolódott fehér mustár gyökérnövekedési teszttel, illetve a krónikus vizsgálatok szerint trágyagiliszták túlélésére sem volt káros hatással.

1.3.3. Kukoricaolaj és sárgaszó

A biodízel előállítás technológiájának fejlesztése során vizsgáltuk a használt kukoricaolaj (kukoricaolaj) illetve a használt sütőolaj (sárgaszó) alapanyagként történő alkalmazásának környezeti hatásait. Ames teszttel egyik anyagnál sem igazoltak mutagén hatást, míg a fehér mustár gyökérnövekedési teszt alapján a két anyag ökotoxikus hatása feltételezhető, vélhetően magas olajtartalmuk miatt, így nem alkalmazhatók a talaj minőségének javítására, takarmánykomponensként történő felhasználásuk azonban nem zárható ki.

1.4. Molekuláris epidemiológiai vizsgálatok a növényi alapú biodízelgyártás melléktermékeivel és biodízelgyártás egyéb alapanyagaival

A növényi olajból előállított biodízel melléktermékeinek és a biodízel alapanyagának szánt kukoricaolaj és sárgaszó biotranszformációra, karcinogenezisre kifejtett hatásának mérésére irányuló vizsgálatok mindezekig nem történtek. A molekuláris epidemiológiai vizsgálatok egyik célja az egészséges sejtek károsodását legkorábban jelző, ún. korai biomarkerek felderítése, melyek expresszióváltozásukkal a primer prevenció eszközeként még az invazív daganatok kialakulását megelőzően jelzik a megváltozott állapotot.

1.4.1. Apoptózis/antiapoptózis szabályozása

A korai biomarkerek közé tartoznak a jelátviteli folyamatok szabályozásában szerepet játszó gének. Megváltozott kifejeződéséből következtetni lehet a külső ágens sejt túlélésre, vagy sejtciklusra gyakorolt hatására. Vizsgálataink során a sejtciklus szabályozásában szerepet játszó gének közül a nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells 1 (*Nfkb1*), a growth arrest and DNA-damage-inducible protein 45 alpha (*Gadd45a*) és a mitogen-activated protein kinase 8 (*Mapk8*, *JNK1*) expresszióváltozását mértük.

1.4.2. A sejtben zajló biotranszformáció szabályozása

A környezeti expozíció hatása a sejtekben zajló biotranszformációban bekövetkezett változásban is megfigyelhető. A biotranszformációban szerepet játszó enzimeink két nagy

csoportha bonthatók, I-es és II-es fázisú metabolizáló enzimek. Az I-es fázisú metabolizáló enzimek a szervezetbe került káros anyagokhoz funkciós csoportot kötnek. Ezt a reakciót elsősorban a citokróm P450 enzimrendszer tagjai végzik, aktivitásuk változása a korai biológiai hatás jele lehet. A biotranszformációra gyakorolt hatást a cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 1 (*Cyp1a1*), és a cytochrome P450, family 2, subfamily e, polypeptide 1 (*Cyp2e1*) gének kifejeződésének mérésével végeztük.

I.4.3. Onkogének és tumorszuppresszor gének

Az onkogének a humán genom proto-onkogénjeiből funkciónyeréssel járó mutációk következtében kialakuló gének, a tumorszuppresszor gének funkcióvesztéssel járó mutációk révén vesznek részt a daganatképződésben. Az onkogének és tumorszuppresszor gének expresszióváltozásai szintén a korai biomarkerek közé tartoznak. A v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (*K-ras*) mint klasszikus onkogén jelzi a daganatos elfajulás kezdetét, ezért választottuk a vizsgált gének közé.

I.4.4. A mikroRNS-ek

A mikroRNS-ek (miRNS) az RNS alapú génregulációban játszanak szerepet, patogenetikai szerepüket számos daganatos elváltozásban igazolták. Viselkedhetnek onkogénként (onkomir) vagy tumorszuppresszor géneként egyaránt, a különböző szövetekben, vagy ugyanazon szövetben más-más expozíció hatására ezen tulajdonság eltérő lehet. A miRNS expressziója alapján nemcsak a daganatképződés, de a kiújulás, a terjedés és az áttétképződés tendenciái is jósolhatók. A miRNS expresszióváltozását a májban 8 onkogénként (*miR-21*, *miR-27a*, *miR-93*, *miR-148a*, *miR-155*, *miR-196a*, *miR-205*, *miR-221*) és 5 tumorszuppresszorként (*miR-34a*, *miR-143*, *miR-146a*, *miR-203*, *miR-223*) viselkedő gén expressziójának mérésével vizsgáltuk.

II. Célkitűzések

A biodízel alapanyagok, melléktermékek újrahasznosításával kapcsolatos vizsgálatok népegészségügyi szempontból elengedhetetlenek, tekintettel arra, hogy a biodízel-glicerint fogyasztó, illetve szappanos vízzel kezelt talajról származó búzával hizlalt állatok emberi fogyasztásra kerülhetnek. Célunk a kukorica alapú biodízelgyártás melléktermékeinek és a biodízel alapanyagok szánt kukoricaolaj és sárgazsír karcinogenezisre gyakorolt hatásának vizsgálata az Intézetben alkalmazott rövidtávú állatkísérletes modellben.

II.1. Biodízel-glicerin hatásának vizsgálata

Célunk a biodízel-glicerin környezet-egészségügyi kockázatának felmérése a különböző tisztasági fokú biodízel-glicerin apoptózis folyamatára, biotranszformációra, a *K-ras* onkogén és különböző miRNS-ek kifejeződésére gyakorolt hatásának gén szintű vizsgálatával.

II.2. Szappanos víz hatásának vizsgálata

Célunk a szappanos vízzel különböző koncentrációban kezelt talajról betakarított búza környezet-egészségügyi kockázatának felmérése a különböző koncentrációban szappanos vízzel kezelt talajról betakarított búza apoptózis folyamatára, biotranszformációra és különböző miRNS-ek kifejeződésére gyakorolt hatásának gén szintű vizsgálatával.

II.3. Kukoricaolaj és sárgazsír hatásának vizsgálata

Célunk a biodízel alapanyagok szánt kukoricaolaj és sárgazsír környezet-egészségügyi kockázatának felmérése az apoptózis folyamatára, *K-ras* onkogén és különböző miRNS-ek kifejeződésére gyakorolt hatásuk gén szintű vizsgálatával.

III. Anyagok és módszerek

III.1. Kísérleti állatok

A vizsgálatainkat egy konzorcium tagjaként végeztük. A konzorcium célja, hogy a biodízelgyártás melléktermékeiből - a vegyipari műveleti, állattenyésztési, közegészségügyi és technológiai kutatási feladatokat összehangolva - alakítson ki olyan anyagokat melyek biztonsággal újrahasznosíthatóak. A projektben Intézetünk feladata a környezet-egészségügyi vizsgálatok elvégzése volt.

Kísérleteinket az irányadó törvények, a Pécsi Tudományegyetem etikai kódexe és az Intézet vonatkozó engedélye alapján végeztük, az Intézetünkben kidolgozott rövidtávú állatkísérletes tesztrendszer szerint.

A konzorcium által előállított anyagok hatását az adott évben rendelkezésre álló beletenyésztett egértörzsön végeztük el. Összesen három különböző egértörzssel dolgoztunk: CBA/Ca, BALB/c és AKR/J, melyek mindegyike fokozott hajlamot mutat a daganatképződésre, a különböző karcinogén hatásokra gyakorlatilag egyformán érzékenyek.

III.2. Vizsgált anyagok

A vizsgált biodízel-glicerint, szappanos vizet Intézetünk részére a KUKK K+F Kft. (Budapest) a standard rágcsálótápot a Szinbád Kft (Gödöllő) biztosította, a sárgaszórt és kukoricaolajat QS Biodízel Kft. (Newton, USA) biztosította. Összetételük:

- standard rágcsáló takarmány: energia: 11 MJ/kg, száraz anyag: 86%, tiszta fehérje: 20%, enzim fehérje: 18,2%, lizin: 0,97%, methionin: 0,30%, cisztein: 0,64%, tiszta zsír: 4%, rostanyag: 4,30%, Ca: 1,08%, P: 0,85%, Na: 0,20%, Vitamin A: 18000 NE/kg, Vitamin D: 1000 NE/kg, Vitamin E: 75 mg/kg
- alacsony glicerintartalmú biodízel-glicerint: glicerint: 60%, növényi olaj: 20%, foszfor: 4%, nátrium: 1%, kálium: 5%, metanol: 0,04%, víz, egyéb ásványi anyagok: 9,96%
- magas glicerintartalmú biodízel-glicerint: glicerint: 86,3%, növényi olaj: 5%, foszfor: 2%, nátrium: 1%, kálium: 2%, metanol: 0,04%, víz, egyéb ásványi anyagok: 3,7%
- szappanos víz: metanol: 23,3 m/m%, glicerint <0,06 m/m %, klorid: 36,7 mg/l, foszfát: 71,7 mg/l, szulfát: 38,5 mg/l, nitrát: 0,3 mg/l, nitrát: 29,2 mg/l, zsírsavak <0,1 m/m%
- a biodízel alapanyagának szánt sárgaszórt és kukoricaolaj összetétele folyamatosan változik.

III.3. Expozíció

A kísérleti állatok az expozíció idejében 6 hetesek voltak, súlyuk 20-24 g között volt, a kísérlet során humánus bánásmódban részesültek. A biodízel-glicerint, kukoricaolajat, sárgaszórt 10%-ban kevertük az összetört standard rágcsálótáphoz, a szappanos vízzel kezelt talajról származó búzával történt kísérlet során az egerek 100%-ban a búzát fogyasztották. A kísérletet megelőző 6 órában a standard tápot az állatoktól megvontuk, az egerek tápanyagbevitelét 3g/24 óra mennyiségben határoztuk meg. A tápfogyasztásában szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk. A rövid expozíciós időre tekintettel az állatok súlyváltozását nem regisztráltuk. A szilárd táp mellett az egerek csapvizet fogyasztottak. Az expozíciót követően valamennyi vizsgált állat életben maradt. Az állatokat nyaki diszlokációval öltük el, a vizsgált szövetek boncolás során kerültek eltávolításra.

III.4. Kísérleti csoportok (A1, A2, A3, B, C)

Az egyes vizsgálati anyagokkal végzett kísérleteinket három fő csoportra bontottuk A, B és C, az A csoporton belül 3 alcsoportot hoztunk létre A1, A2, A3. A kísérleti csoportokban használt egértörzsekre, az expozíciós anyagra, az expozíciós időre, a vizsgált szövetekre és génekre vonatkozó adatokat a I. táblázat tartalmazza.

III.5. Génexpresszió vizsgálata

A génexpresszió meghatározása során a Roche (Berlin, Németország) cég által biztosított berendezéseket és kitéket használtuk. A vizsgált gének kiválasztása az adott évben Intézetünkben rendelkezésre álló mRNS és miRNS primerekből történt.

A vizsgált szövetekből kimetszett szövetdarabokat homogenizáltuk. Teljes RNS izolálást nukleinsav izoláló automata (Magna Pure Compact System) segítségével végeztük el. Az izolált RNS mennyiségét és minőségét mind a miRNS, mind a mRNS esetében abszorpciós fotometriával ellenőriztük 260/280 nm-en, az A>1,9 mintákat használtuk a további vizsgálathoz. Az így nyert RNS-t reverz transzkripció során DNS-re írtuk át, majd polimeráz láncreakció (PCR) során a vizsgált DNS szakasz sokszorosítását végeztük el, LightCycler 2.0 PCR Carousel alapú, vagy a LightCycler 480 PCR készülékben. A mRNS-ek génexpresszióját hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (*Hprt*), a miRNS-ekét az 5S RNS alegységhez, mint belső kontrollhoz viszonyítva határoztuk meg. A génexpresszió szintjét a belső kontrollra normalizált értékek alapján határoztuk meg relatív kvantifikációval, 2^{dCp} számításával, Exor 4 szoftver segítségével.

I. táblázat: Kísérleti csoportok

Vizsgálati csoportok	A1		A2		A3		B		C
Exponált állatok	CBA/Ca	CBA/Ca	CBA/Ca	Balb/c	AKR/J	Balb/c	Balb/c	Balb/c	Balb/c
Expozíciós anyagok	60%-os G-fázis 86,3%-os G-fázis	86,3%-os G-fázis	86,3%-os G-fázis	86,3%-os G-fázis	búza 1: kezeletlen, búza 2: 1000 l/ha, búza 3: 500 l/ha, búza 4: 250 l/ha, búza 5: 125 l/ha szappanos vízzel kezelt talajról	86,3%-os G-fázis	búza 1: kezeletlen, búza 2: 1000 l/ha, búza 3: 500 l/ha, búza 4: 250 l/ha, búza 5: 125 l/ha szappanos vízzel kezelt talajról	kukoricaolaj sárgaszír	
Expozíciós idő	3, 6 és 24 óra (ó)	3, 6 és 24 óra (ó)	3, 6 és 24 óra (ó)	24 óra	24 óra	24 óra	24 óra	24 óra	
Vizsgált csoportok									
nőstény (n)	1. kontroll (15) 2. 60%-os G-fázis, 3 ó (15) 3. 60%-os G-fázis, 6 ó (15) 4. 60%-os G-fázis, 24 ó (15) 5. 86,3%-os G-fázis, 3 ó (15) 6. 86,3%-os G-fázis, 6 ó (15) 7. 86,3%-os G-fázis, 24 ó (15)	1. kontroll (60) 2. 86,3%-os G-fázis, 3 ó (60) 3. 86,3%-os G-fázis, 6 ó (60) 4. 86,3%-os G-fázis, 24 ó (60)	1. kontroll (30) 2. 86,3%-os G-fázis (30) 3. 86,3%-os G-fázis (30) 4. búza 4 (10) 5. búza 5 (10)	1. kontroll (30) 2. 86,3%-os G-fázis (30) 3. 86,3%-os G-fázis (30) 4. 86,3%-os G-fázis (30) 5. kontroll (60) 6. 86,3%-os G-fázis, 3 ó (60) 7. 86,3%-os G-fázis, 6 ó (60) 8. 86,3%-os G-fázis, 24 ó (60) 9. 60%-os G-fázis, 3 ó (15) 10. 60%-os G-fázis, 6 ó (15) 11. 60%-os G-fázis, 24 ó (15) 12. 86,3%-os G-fázis, 3 ó (15) 13. 86,3%-os G-fázis, 6 ó (15) 14. 86,3%-os G-fázis, 24 ó (15)	6. búza 1 (10) 7. búza 2 (10) 8. búza 3 (10) 9. búza 4 (10) 10. búza 5 (10)	1. kontroll (30) 2. 86,3%-os G-fázis (30) 3. kukoricaolaj (24) 4. sárgaszír (24)	1. kontroll: A/3 2. kukoricaolaj (24) 3. kukoricaolaj (24) 4. sárgaszír (24)	kontroll: A/3 1. kukoricaolaj (24) 2. sárgaszír (24)	
Vizsgált szervek	máj, lép, csontvelő	máj	máj	máj	máj	máj	máj	máj	
Vizsgált gének	<i>Gadd45a</i> , <i>Nfkb1</i>	<i>Cyp1a1</i> , <i>Cyp2e1</i>	<i>Nfkb1</i> , <i>Mapk8</i> , <i>K-ras</i> , <i>miR-21</i> , <i>miR-27a</i> , <i>miR-34a</i> , <i>miR-93</i> , <i>miR-143</i> , <i>miR-146a</i> , <i>miR-148a</i> , <i>miR-155</i> , <i>miR-196a</i> , <i>miR-203</i> , <i>miR-205</i> , <i>miR-221</i>	<i>Nfkb1</i> , <i>Mapk8</i> , <i>Gadd45a</i> , <i>Cyp1a1</i> , <i>Cyp2e1</i> , <i>miR-21</i> , <i>miR-27a</i> , <i>miR-34a</i> , <i>miR-93</i> , <i>miR-143</i> , <i>miR-146a</i> , <i>miR-148a</i> , <i>miR-155</i> , <i>miR-196a</i> , <i>miR-203</i> , <i>miR-205</i> , <i>miR-221</i>	<i>Nfkb1</i> , <i>Mapk8</i> , <i>Gadd45a</i> , <i>Cyp1a1</i> , <i>Cyp2e1</i> , <i>miR-21</i> , <i>miR-27a</i> , <i>miR-34a</i> , <i>miR-93</i> , <i>miR-143</i> , <i>miR-146a</i> , <i>miR-148a</i> , <i>miR-155</i> , <i>miR-196a</i> , <i>miR-203</i> , <i>miR-205</i> , <i>miR-221</i>	<i>Nfkb1</i> , <i>Mapk8</i> , <i>K-ras</i> , <i>miR-21</i> , <i>miR-27a</i> , <i>miR-34a</i> , <i>miR-93</i> , <i>miR-143</i> , <i>miR-146a</i> , <i>miR-148a</i> , <i>miR-155</i> , <i>miR-196a</i> , <i>miR-203</i> , <i>miR-205</i> , <i>miR-221</i>	<i>Nfkb1</i> , <i>Mapk8</i> , <i>K-ras</i> , <i>miR-21</i> , <i>miR-27a</i> , <i>miR-34a</i> , <i>miR-93</i> , <i>miR-143</i> , <i>miR-146a</i> , <i>miR-148a</i> , <i>miR-155</i> , <i>miR-196a</i> , <i>miR-203</i> , <i>miR-205</i> , <i>miR-221</i>	<i>Hprt</i> , <i>5S RNS</i>	
Belső kontroll	<i>Hprt</i>	<i>Hprt</i>	<i>Hprt</i> , <i>5S RNS</i>	<i>Hprt</i> , <i>5S RNS</i>	<i>Hprt</i> , <i>5S RNS</i>	<i>Hprt</i> , <i>5S RNS</i>	<i>Hprt</i> , <i>5S RNS</i>	<i>Hprt</i> , <i>5S RNS</i>	

III.6. Eredmények értékelésének statisztikai módszerei

Minden PCR reakciót három külön futási ciklusban végeztünk el, az így kapott technikai replikátumokat átlagoltuk. A statisztikai vizsgálatokat STATA IC 11 szoftver segítségével, ANOVA analízissel, vagy két mintás t-próbával végeztük, szignifikancia szintet minden esetben: $p < 0,05$ -ben határoztuk meg.

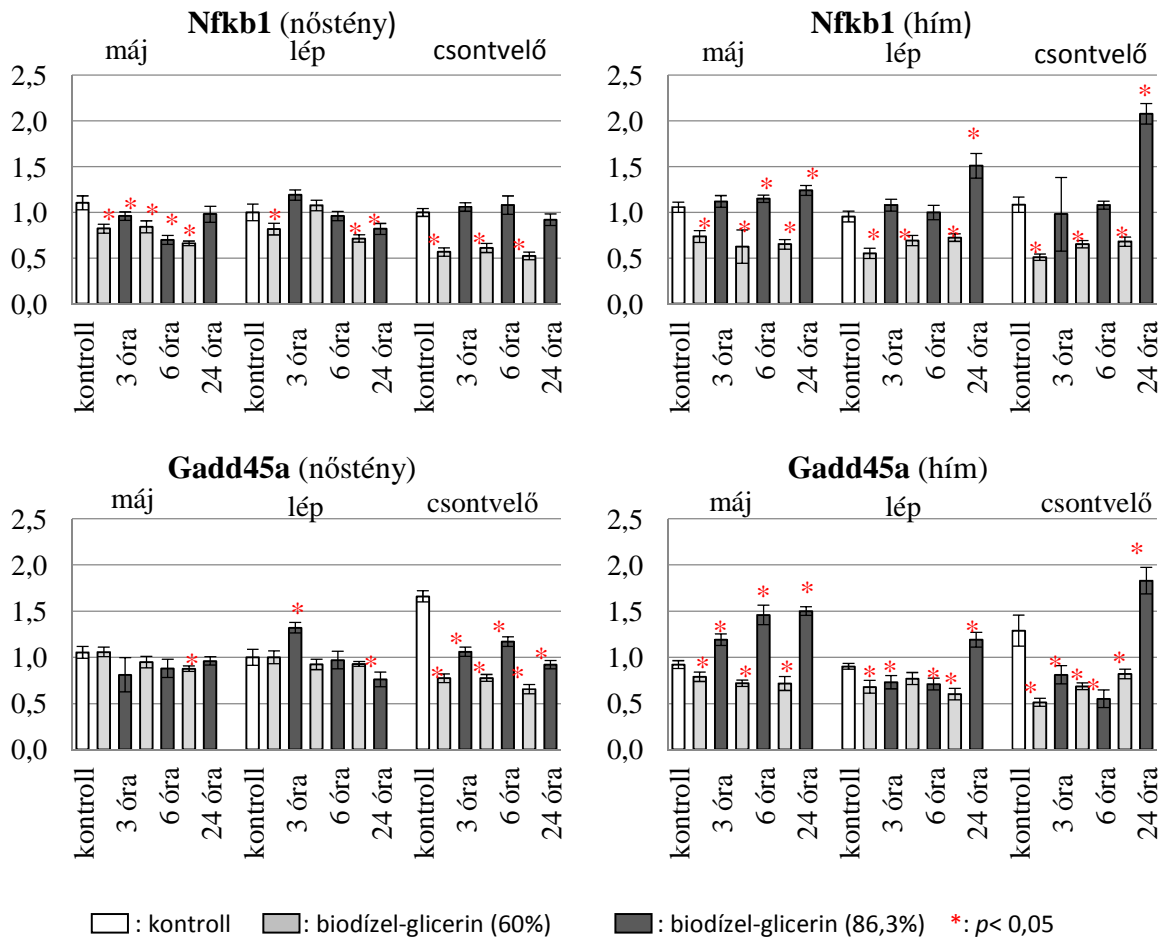
A miRNS expresszió mérések eredményének interpretálása során, a fals pozitív eredmények elkerülése érdekében a miRNS-ek esetében $p < 0,05$ szignifikancia szintet mutató eltérések közül a legalább háromszoros expresszióváltozást értékeltük a karcinogenezisre gyakorolt jelentős hatásként, mivel a jól ismert onkomirek, tumorszupresszor miRNS-ek normál és tumoros szövetekben mért expressziója kétszeres, de sok esetben akár több tízszeres eltérést jelez.

IV. Eredmények

IV.1. Biodízel-glicerinnel végzett vizsgálatok eredményei

IV.1.1. Az apoptózis folyamatára gyakorolt hatás biodízel-glicerinnel történt expozíciót követően (A1 kísérlet)

Különböző tisztasági fokú glicerín frakciók fogyasztását követően az apoptózis szabályozásában részt vevő gének expressziója a vizsgált csoportokban számos esetben mutatott eltérést a kontroll állatokban mért értékekhez képest (1. ábra).



1. ábra: *Nfkb1* és a *Gadd45a* gén kifejeződése nőstény és hím egerek különböző szerveiben, *Hprt* belső kontrollhoz viszonyítva két különböző tisztasági fokú biodízel-glicerinnel dúsított táppal végzett 3, 6 illetve 24 órás expozíciót követően.

A 60% glicerín tartalmú biodízel-glicerinnel dúsított tápot fogyasztó nőstény egereknél az *Nfkb1* szignifikáns expressziócsökkenését tapasztaltunk a májban és a csontvelőben 3, 6 és 24

órás, a lépben 3 és 24 órás expozíciót követően. A *Gadd45a* szintje is alacsonyabb volt. Hím egerekben az *Nfkb1* szintje valamennyi szövetben csökkent expressziót mutatott, valamennyi expozíciós időt követően, a *Gadd45a* szintje szintén csökkent, kivéve a lépben 6 órás etetést követően.

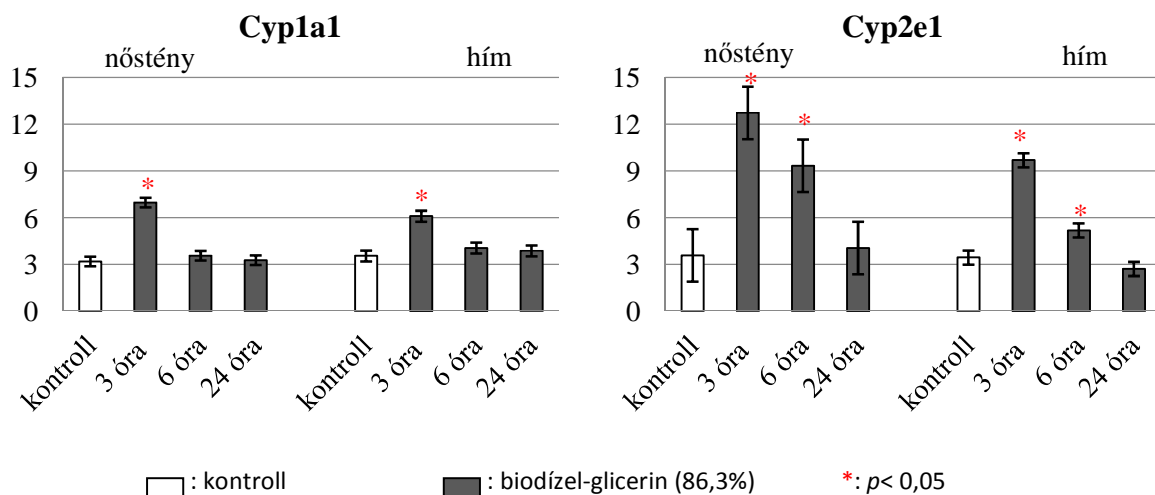
A 86,3%-os tisztaságú biodízel-glicerinnel dúsított tápot fogyasztó egércsoportokban az *Nfkb1* szintje csökkent expressziót mutatott nőtények májában 3 és 6 órás, lépében 24 órás expozíciót követően, hímeiben mennyisége növekedett a lépben és a csontvelőben 24 órás, a májban 6 és 24 órás expozíciót követően. A *Gadd45a* szintje szignifikánsan csökkent a kontrollhoz képest nőtények csontvelőjében, valamennyi időpontban és a lépben 24 órás etetést követően, míg 3 órás expozíció után a lépben fokozott expressziót mutatott. Hímeiben szintén csökkent *Gadd45a* szintje a lépben és a csontvelőben 3 és 6 órás expozíciót követően, míg 24 óra elteltével ugyanezen szövetekben fokozott expressziót mutatott. A májban minden időpontban fokozott expressziót találtunk.

Az A1 vizsgálat során kapott eredményeink alapján a 60%-os biodízel-glicerinnel nem folytattunk további vizsgálatot, mivel káros hatását nem tudtuk kizárni. A téziszűzet további részében amennyiben külön jelölése nem történik, biodízel-glicerinnel alatti a magasabb tisztasági fokú biodízel-glicerinnel értendő.

Az első kísérletsorozatban kapott eredmények alapján a gének expressziójának változása a májat jellemezte leginkább, így további kísérleteinkben a génexpresszió méréseket a májban végeztük el, mint a metanol metabolizmusában legfontosabb szerepet játszó szervben.

IV.1.2. A biotranszformációra gyakorolt hatás biodízel-glicerinnel fogyasztását követően (A2 kísérlet)

Ahogy az a 2. ábrán is látható a biodízel-glicerinnel dúsított tápot fogyasztó egerek májában mind a *Cyp1a1*, mind a *Cyp2e1* gén expressziója szignifikánsan emelkedett mindkét nemben 3 órás expozíciót követően a kontroll egerekben mért értékekhez képest.



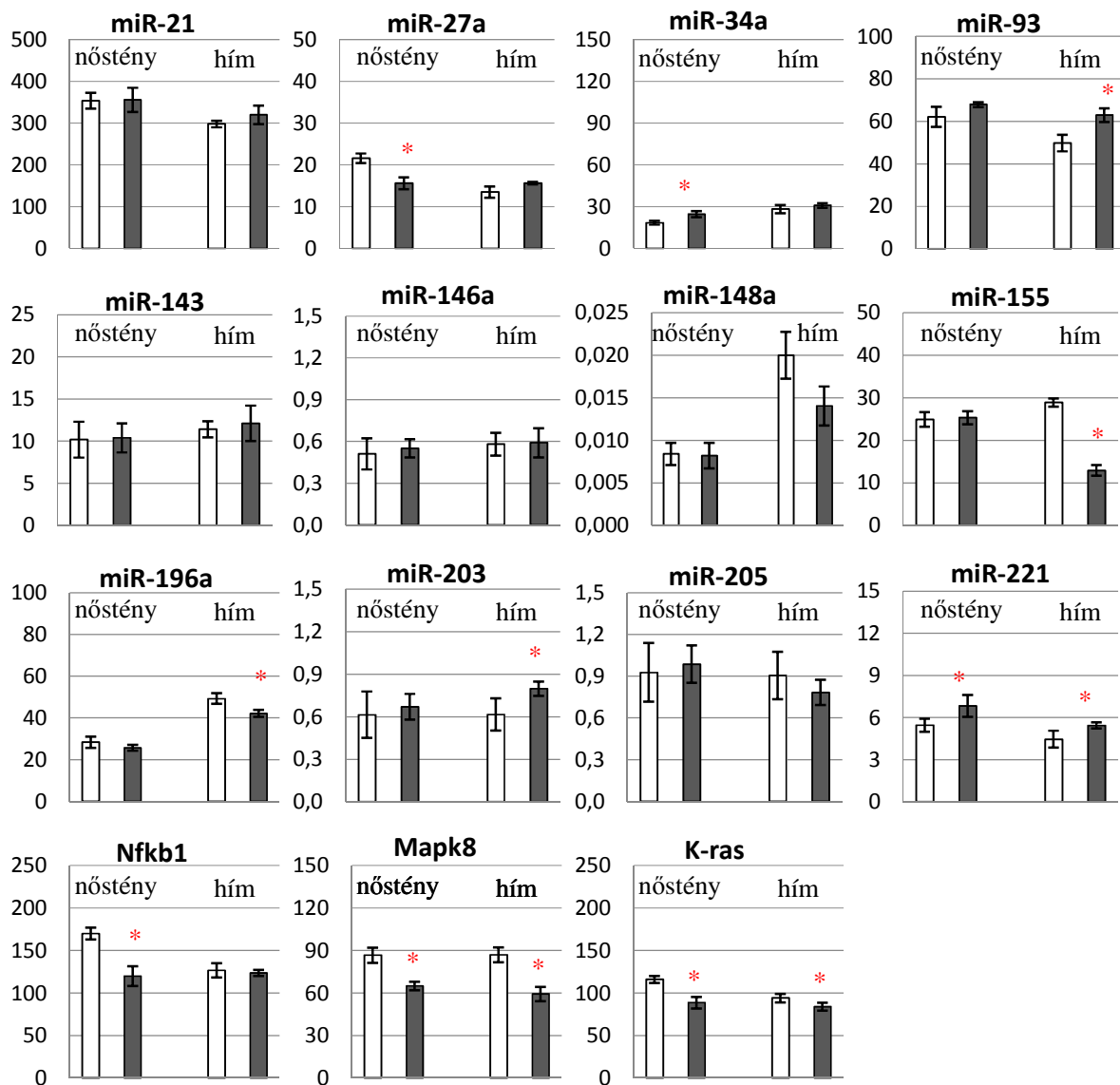
2. ábra: *Cyp1a1* és *Cyp2e1* gének kifejeződése nőtény és hím egerek májában, *Hprt* belső kontrollhoz viszonyítva, biodízel-glicerinnel dúsított táppal végzett 3, 6 illetve 24 órás expozíciót követően.

A *Cyp2e1* expresszió fokozódás jelentősebb volt mindkét nemben, négyszeres emelkedést mértünk nőtény egerekben, és háromszoros emelkedést a hímeknél. A 6 órás expozíciót követően a *Cyp1a1* kifejeződése megegyezett a kontroll állatokban mérttel, a *Cyp2e1* kifejeződése is csökkenő tendenciát mutatott. A gének kifejeződése 24 óra után nem tért el a standard rágcslótápot fogyasztó egerektől.

Az expozíciós idő szempontjából az A1 és A2 kísérletben kapott eredmények alapján a vizsgálati csoportok számát csökkentettük, mivel az anyag tartós expozíciót követő hatása a 24 órás eredményekkel korrelál, ezért 3 és 6 órás expozíciós csoportokat a továbbiakban nem alakítottunk ki.

IV.1.3. A *K-ras* onkogén, az *onkomir* és *tumorszuppresszor miRNS-ek*, valamint *mRNS-ek* kifejeződésére gyakorolt hatás biodízel-glicerinnel fogyasztását követően (A3 kísérlet)

A vizsgált 12 miRNS tekintetében az expresszióváltozások nemenként eltérőek voltak. (3. ábra). A nőstényeknél a *miR-27a* csökkent, a *miR-34a* és a *miR-221* emelkedett kifejeződést mutatott. A *miR-221* expressziója hím egerekben szintén fokozott volt, emellett nőtt a *miR-93* és a *miR-203* mennyisége, míg csökkent a *miR-155* és a *miR-196a* szintje. Az expressziócsökkenés vagy növekedés a miRNS-ek tekintetében egyik nemben sem érte el a háromszoros szintet.



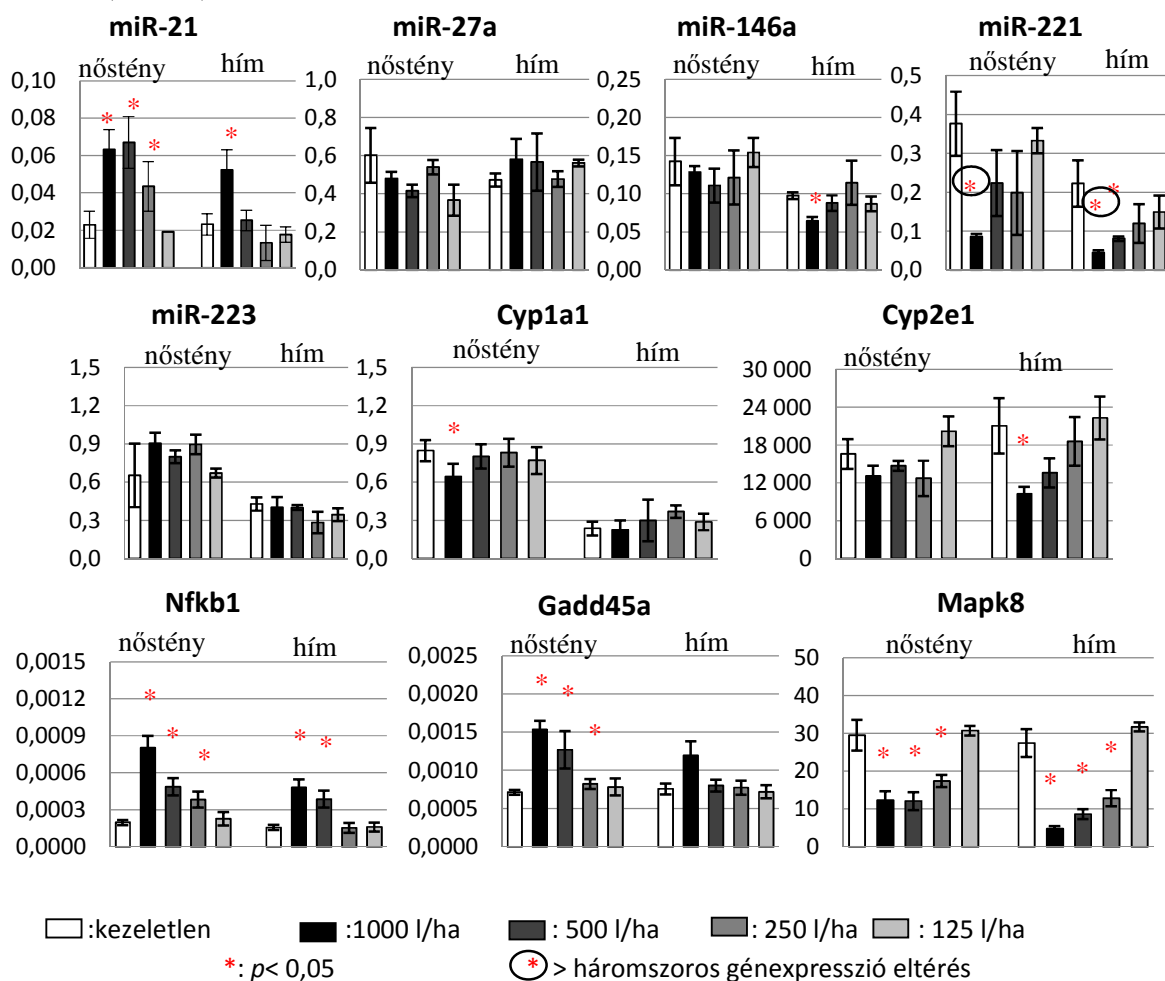
□: kontroll ■: biodízel-glicerinnel (86,3%) *: $p < 0,05$ >: háromszoros génexpresszió eltérés

3. ábra: miRNS-ek kifejeződése 5S RNS belső kontrollhoz, *Nfkb1*, *Mapk8*, *K-ras* gének kifejeződése *Hprt* belső kontrollhoz viszonyítva, nőstény és hím egerek májában, biodízel-glicerinnel dúsított táppal végzett 24 órás expozíciót követően.

A mRNS-ek tekintetében a nemek között egyedül az *Nfkb1* esetében tapasztaltunk eltérő expresszióváltozást. A hím egerekben nem tért el az expressziós szintje a kontrollhoz képest, nőstényekben viszont szignifikánsan csökkent. A *Mapk8* és a *K-ras* expressziója mindkét nemben csökkent a biodízel-glicerinnel dúsított táp fogyasztását követően.

IV.2. Szappanos vízzel kezelt talajon termelt búzával történt expozíció hatása az apoptózis szabályozására, az onkogén és tumorszuppresszor miRNS-ek kifejeződésére és a biotranszformációra (B kísérlet)

A kezeletlen talajról származó búzát fogyasztó egerekhez képest azon egerekben figyelhettük meg a legtöbb expresszióváltozást, melyek az 1000 l/ha (liter/hektár) szappanos vízzel kezelt talajon termelt búzát fogyasztották. Hímekben szignifikáns növekedést mutatott a *miR-21* kifejeződése, a *miR-146a* szignifikáns expressziócsökkenést, de ezek nem érték el a háromszoros szintet. A *miR-221* szintje azonban több mint harmadára csökkent mindkét nemben. (4. ábra)



4. ábra: miRNS-ek kifejeződése 5S RNS belső kontrollhoz, és *Nfkb1*, *Gadd45a*, *Mapk8*, *Cyp1a1*, *Cyp2e1* gének kifejeződése *Hprt* belső kontrollhoz viszonyítva nőstény és hím egerek májában, különböző mennyiségű szappanos vízzel kezelt talajról származó búzával végzett 24 órás expozíciót követően.

Az 500 l/ha szappanos vízzel történt talajkezelést követően a miRNS-ek kifejeződésében a *miR-221* szintje hímekben szignifikánsan csökkent, de a csökkenés alig 60%-os volt.

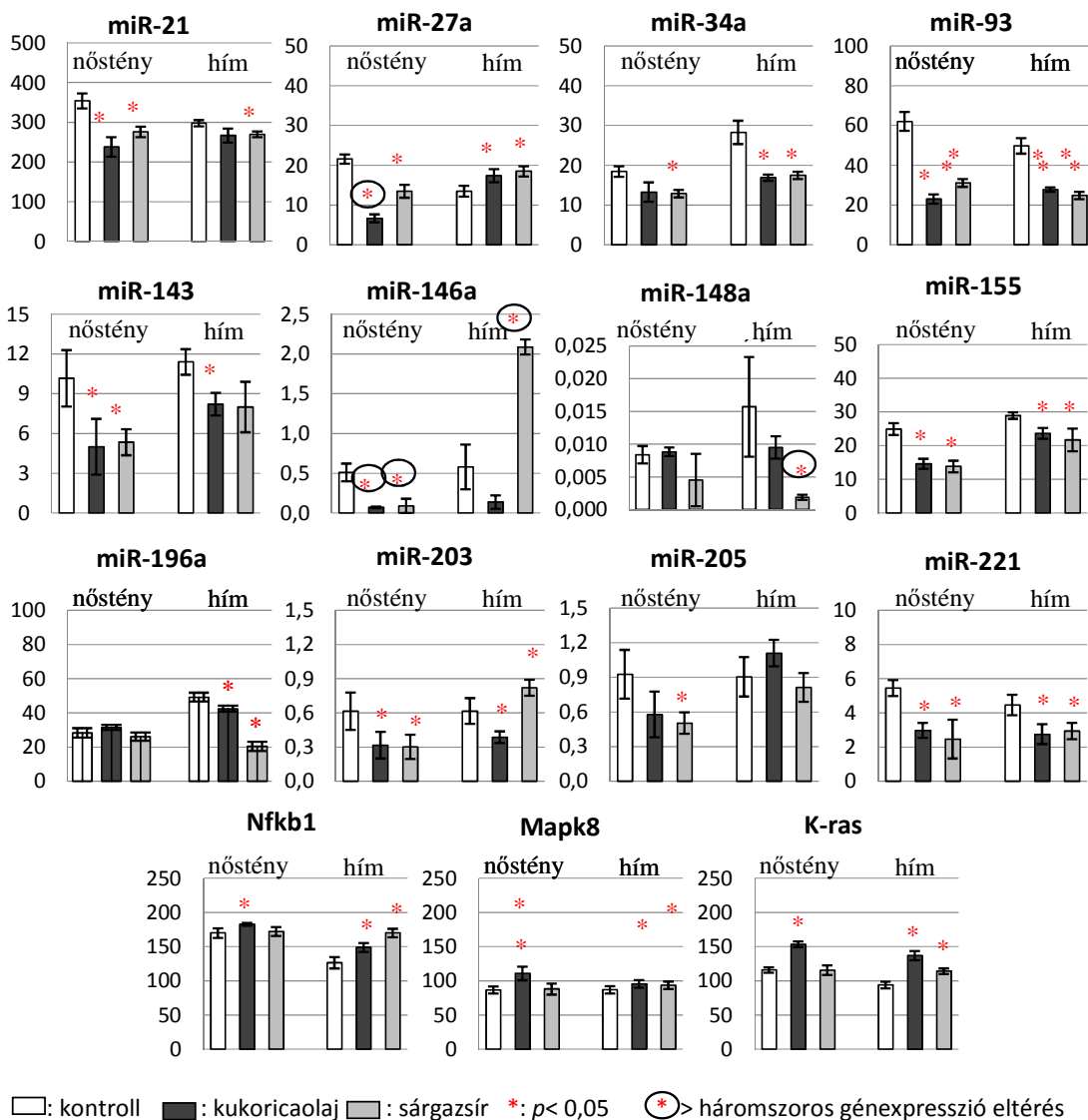
A *miR-21* szintje szignifikánsan emelkedett volt nőstényekben 500 l/ha és 250 l/ha szappanos vízzel történt talajkezelést követően is, az emelkedés nem érte el a háromszoros szintet.

A miRNS-ek szintje nem tért el egy esetben sem szignifikánsan a 125 l/ha koncentrációban kezelt talajról származó búzával történt expozíciót követően a kezeletlen talajról származó búza fogyasztását követően mértekhez képest.

Az *Nfkb1* kifejezett expressziónövekedése mellett a *Mapk8* csökkent kifejeződése volt megfigyelhető 1000 l/ha és 500 l/ha szappanos vizes talajkezelést követően mindkét nemben, a *Mapk8* a 250 l/ha koncentráció esetében is alulexpresszált volt, a *Gadd45a* expresszió csak nőstényekben mutatott szignifikáns eltérést, ezen három koncentráció alkalmazását követően. A biotranszformációban szerepet játszó *Cyp1a1* szintje nőstényekben, míg a *Cyp2e1* szintje hímelekben csökkent 1000 l/ha szappanos víz adagolását követően.

IV.3. Kukoricaolaj és sárgaszír expozíció hatása az apoptózis szabályozására, az onkogén és tumorszuppresszor miRNS-ek és a K-ras onkogén kifejeződésére (C kísérlet)

Mind a kukoricaolajjal, mind a sárgaszírral végzett expozíciót követően számos génexpresszió eltérést tapasztaltunk (5. ábra).



5. ábra: miRNS-ek kifejeződése 5S RNS belső kontrollhoz, és *Nfkb1*, *Mapk8*, *K-ras* gének kifejeződése *Hprt* belső kontrollhoz viszonyítva nőstény és hím egerek májában, kukoricaolajjal vagy sárgaszírral végzett 24 órás expozíciót követően.

A kukoricaolajjal dúsított táp fogyasztását követően nőstény egerekben csökkent a miRNS-ek közül a *miR-21*, a *miR-27a*, a *miR-93*, a *miR-143*, a *miR-146a*, a *miR-155*, a *miR-203* és a *miR-221* szintje, azonban csak a *miR-27a* és a *miR-146a* esetében csökkent a kifejeződésük legalább a harmadára. A hímek májában a *miR-93*, *miR-143*, *miR-146a*, *miR-155*, *miR-203*, *miR-221* a *miR-34a* és a *miR-196a* esetében génexpresszió-csökkenést tapasztaltunk, ebből a *miR-146a* szintje csökkent harmadára. A nőstényekkel ellentétesen a *miR-27a* szintje hímekben fokozódott.

A vizsgált mRNS-ek expresszió fokozódást mutattak, az *Nfkb1* és a *K-ras* esetében mindkét nemből, míg a *Mapk8* esetében csak nőstény egerekben.

A sárgazsírral történt expozíciót követően a *miR-21*, a *miR-27a*, a *miR-34a*, a *miR-93*, a *miR-155* és a *miR-221* mindkét nemből csökkent expressziót mutatott. A *miR-143* és a *miR-205* nőstényekben, a *miR-148a* és a *miR-196a* hímekben mutatott csökkent expressziót. Két miRNS kifejeződése fokozódott hím egerek májában: a *miR-146a* és a *miR-203*. A *miR-146a* expressziója nőstényekben ötödére csökkent, míg hímekben négyszeresére nőtt.

A sárgazsír a mRNS-ek expressziójára kisebb hatást gyakorolt. Nőstény egereknél egyáltalán nem tapasztaltunk szignifikáns expresszió eltérést, a *Mapk8* szintje hímeknél sem változott. Az *Nfkb1* és a *K-ras* kifejeződése nőtt a hím egerek májában.

V. Megbeszélés

A biodízel előállításához szükséges metanol és a különböző katalizátorként használt anyagok a gyártás melléktermékeit is szennyezhetik, így felhasználásukat megelőzően elengedhetetlen a karcinogenezisben betöltött szerepük vizsgálata.

A biodízel alapanyagként felmerült kukoricaolaj és sárgazsír keletkezésük okán feltételezhető, hogy élelmiszeripari felhasználásra nem alkalmasak, azonban ennek bizonyítása eddig nem történt meg.

V.1. Az apoptózis/antiapoptózis szabályozása

Az NF- κ B egy olyan protein komplex, mely transzkripciós faktorként szerepet játszik a sejt szaporodás-, sejt túlélés folyamatában, szabályozza más gének kifejeződését, illetve a gyulladási folyamatok egyik fő mediátora. Gyakorlatilag minden sejtben megtalálható, homo- és heterodimerekből épül fel, 5 alegységre bontható: p50 (*Nfkb1*), p52 (*Nfkb2*), p65 (RelA), c-Rel és Rel B. Különböző külső hatásokra apoptózis indukálásában és gátlásában is szerepet játszik a jelátviteli útvonalon keresztül. Nemcsak az expozíció típusától, de az exponált sejtípustól is függ, hogy a sejt túlélés szabályozásában az adott szervben milyen hatást fejt ki az NF- κ B indukálta kaszkádrendszer. Az antiapoptózis során a NF- κ B az apoptózisban szerepet játszó gének átíródását gátolja, többek között a GADD45a/b szuppresszállásával gátolja a MKK/JNK1 útvonalon keresztüli sejtpusztulást. Proapoptotikus hatás érvényesülése esetén az NF- κ B az antiapoptotikus gének promotor régiójának deacetilálásával gátolja azok átíródását, illetve a tumorsuppresszor eag-related protein 1 (*Erg-1*) gén aktiválásán keresztül a *Gadd45a* szintjét emeli. A *Gadd45a* útvonalon keresztüli sejtpusztulásban az activator protein 1 (AP-1) transzaktivációnak is bizonyítottak szerepet, illetve a *Mapk8* az *Nfkb* antiapoptotikus hatásának gátlásával fokozza a károsodott sejtek elpusztulását.

V.1.1. A biodízel-glicerinnel hatása az apoptózis folyamatára

Kísérleteink során a 60%-os tisztaságú biodízel-glicerinnel dúsított tápot fogyasztó egerekben az *Nfkb1* és a *Gadd45a* szintje is számos esetben mutatott szignifikánsan csökkenést. A

Gadd45a csökkent szintje a károsodott sejtek túlélését okozhatja, tehát az expresszióváltozások miatt a vizsgált anyag káros hatása feltételezhető.

Eredményeink alapján a 60%-os biodízel-glicerinnel takarmány-kompozícióként történő alkalmazását munkacsoportunk nem tartja biztonságosnak, ezért további génextpressziós vizsgálatokat az anyaggal nem folytattunk.

A 86,3%-os tisztaságú biodízel-glicerinnel etetését követően a *Gadd45a* expresszióemelkedése alapján a vizsgált anyag apoptotikus hatására következtethetünk. A *Mapk8* 24 órás expozíciót követő BALB/c egerek májban mért alulexpresszálttsága mellett az *Nfkb1* csökkent kifejeződést mutatott nőstény BALB/c egerekben, nem változott CBA/Ca egerekben, míg hímeknél a BALB/c egerekben szignifikáns elérést nem mutatott, CBA/Ca hímegekben expressziója fokozódott. Az észlelt különbség a különböző egértípusokban azok eltérő érzékenységeinek tulajdonítható.

A *Mapk8* és az *Nfkb1* gének expresszió eltérése alapján önmagában egyértelműen nem határozható meg, hogy a vizsgált anyag az apoptózisra serkentő vagy gátló hatást gyakorol-e, de összességében eredményeink nem mutatnak arra, hogy a magasabb tisztasági fokú, 86,3%-glicerinnel tartalmú biodízel-glicerinnel a jelátviteli folyamatban szerepet játszó gének expresszióját kedvezőtlenül befolyásolja.

V.1.2. A szappanos vízzel kezelt talajon termelt búza hatása az apoptózis folyamatára

A biodízel szappanos víz melléktermékével végzett vizsgálatok során az esetleges szennyezőként visszamaradt metanol apoptózisra, biotranszformációra gyakorolt hatását kívántuk meghatározni a választott mRNS-ek és miRNS-ek expresszió eltérése alapján.

A magas koncentrációban szappanos vízzel kezelt talajról származó búza 24 órás fogyasztását követően a *Mapk8* csökkent expressziójával ellentétesen az *Nfkb1* és a *Gadd45a* fokozott expresszióját figyeltük meg az egerek májában. A *Gadd45a* expressziójának fokozásával apoptotikus hatást fejtett ki, és apoptotikus hatása feltételezhető az *Nfkb1*-nek is, melyre a *Mapk8* - csökkent expressziója alapján - nem fejtett ki gátló hatást. A 125 l/ha szappanos vízzel kezelt talajról származó búza egyik génextpressziót sem befolyásolta.

Eredményeink alapján a szappanos vízzel kezelt talajon termelt búza káros hatása nem igazolódott.

V.1.3. A kukoricaolaj és a sárgaszín hatása az apoptózis folyamatára

A kukoricaolajjal végzett kísérleteink során mindkét nemben nőtt az *Nfkb1* gén expressziója, emellett a *Mapk8* szintje is nőtt a nőstény egerek májában, így nem jelenthető ki, hogy a sejtekben zajló folyamatokra nem volt hatással.

A biodízel alapanyagának szánt sárgaszín 24 órás fogyasztását követően a *Mapk8* expressziója nem mutatott szignifikáns változást, az *Nfkb1* szintje hím egerek májában nőtt a kontroll egerekben mértékhez képest, nőstények májára gyakorolt káros hatása nem igazolódott.

V.2. A biotranszformáció szabályozása

A *Cyp1a1* a sejt endoplazmatikus retikulumának egyik fehérjéjét kódolja, endogén szubsztátjai a szteroidok, zsírsavak, de részt vesz a koffein, fetidin, fenacetin és a policiklusos aromás szénhidrogének metabolizmusában is. A *Cyp2e1* szintén az endoplazmatikus retikulumban található, endogén szubsztátjai: az acetone és az acetone, exogén szubsztátjai többek között: az acetaminofén, a halotán, az izoflurán, a paracetamol, a benzol, az anilin, a nitrozamin, az etanol és a metanol. Rágcsálók alkohol dehidrogenációja inkább a *Cyp2e1*-hez kötött, mint az alkohol dehidrogenáz enzimhez. Rágcsáló máj *in vivo* vizsgálata során bizonyították a *Cyp2e1* emelkedett szintjének szerepét a zsírsavak kiváltotta oxidatív stressz kialakulásában, mely zsírmáj kialakulásához vezet.

V.2.1. A biodízel-glicerin hatása a biotranszformációra

Az eredményeink szerint a vizsgált két monooxidáz enzim, a *Cyp11a1* és a *Cyp2e1* expressziója emelkedett a kísérleti állatokban, miután diétájukat biodízel-glicerinnel dúsítottuk, köszönhetően a vizsgált frakció lipidösszetételének, valamint a metanol-tartalomnak. Ez az expressziófokozódás gyorsan lecsengett, amiből arra következtethetünk, hogy az biodízel-glicerin csak átmeneti hatást gyakorolt az állatok biotranszformációs folyamataira. A vizsgált citokróm gének expresszióváltozása alapján a 86,3% tisztaságú biodízel-glicerin állati takarmánykomponensként való alkalmazásának közegészségügyi kockázata nem merül fel.

V.2.2. A szappanos vízzel kezelt talajon termelt búza hatása a biotranszformációra

A metabolizáló enzimek esetében az 1000 l/ha szappanos vízzel kezelt talajról származó búzával történt expozíciót követően észleltünk szignifikáns génexpresszió-csökkenést a citokróm gének esetében, a *Cyp11a1* szintje csökkent nőstény egerekben, míg a *Cyp2e1* szintje a hímekben. Nem zárható ki, hogy ebben a koncentrációban a még jelen lévő metanol okozott metabolikus terhelést, így magas koncentrációban talajkezelőként történő alkalmazása nem javasolt. A szappanos vízzel alacsonyabb koncentrációban történt talajkezelés egyáltalán nem befolyásolta a vizsgált gének kifejeződését az egerek májában.

V.3. A *K-ras* onkogén kifejeződésére gyakorolt hatás

A vizsgált anyagok egy részében azok hatásának további megismerése céljából mértük a *K-ras* onkogén kifejeződésének változását.

A rat sarcoma virus onkogén (RAS) fehérjét eredetileg retrovirális onkogénként fedezték fel, mint kis GTP-ázok. Számos humán tumorban figyelhető meg a *Ras*-gén mutációja, melyek a karcinogenezis folyamatát indítják be. A legújabb kutatások azonban igazolták, hogy önmagában a *Ras* gén mutációja nem vezet daganatképződéshez, sokkal inkább a normál szövetekben mért expresszióhoz képest emelkedett *Ras* gén expresszió játszik kulcsszerepet a daganatképződésben.

V.3.1. A biodízel-glicerin hatása a *K-ras* onkogén kifejeződésére

A 86,3%-os tisztasági fokú biodízel-glicerin fogyasztását követően a *K-ras* expressziója szignifikáns csökkenést mutatott mindkét nem májában, mely alapján protektív hatású lehet, így takarmánykomponensként alkalmazása előnyös.

V.3.2. A kukoricaolaj és a sárgaszírt hatása a *K-ras* onkogén kifejeződésre

A kukoricaolaj fogyasztását követően nőstény és hím egerek májában egyaránt, míg sárgaszírt fogyasztását követően hím egerekben nőtt a *K-ras* kifejeződése. Mindezek alapján a sárgaszírt és a kukoricaolaj karcinogén hatása feltételezhető, így takarmánykomponensként, vagy talajjavításra nem javasoljuk.

V.4. Az onkogén és tumorszuppresszor miRNS-ekre gyakorolt hatás

A sejtciklust szabályozó kaszkádok tagjainak, az onkogén és tumorszuppresszor géneknek a kifejeződését a miRNS-ek befolyásolják.

A miRNS mintázat eltér az alkoholos eredetű és a nem alkoholos eredetű zsírmájban, illetve eltérő lehet a különböző sejttípusokban pl. hepatocita, billiáris sejt, endotél sejt, csillagsejt, Kupffer-sejt, „pit” sejt. Mivel a májszövet nagy részét a parenchymális hepatociták teszik ki, így a homogenizált májban mért expressziós mintázat a hepatocitákra jellemző képet mutat.

Onkogénként viselkedő miRNSek: *miR-21*, *miR-27a*, *miR-93*, *miR-148a*, *miR-155*, *miR-196a*, *miR-205* és a *miR-221*. A *miR-21* majdnem minden szövetben onkogénként viselkedik, a sejt proliferációját, migrációját és túlélését promotálja. A cyclinD1 transzlációjának fokozásával a regenerálódó májsejtek G₁ fázisból S fázisba lépését indukálja, illetve a RAS kaszkád

aktiválásával játszik szerepet a daganat kialakulásában. A *miR-23a-miR-27a-miR-24* klaszter fokozott expressziója csökkent a transforming growth factor-beta (*Tgf-b*) tumorszuppresszor hatását májtumorkban, illetve a *miR-27a* a zinc finger and BTB domain containing 10 (*Zbtb10*) és myelin transcription factor 1 (*Myt-1*) tumorszuppresszorok gátlásán keresztül elősegíti a sejtek G₂-M fázisba lépését, így fokozza a tumorok növekedését. A *miR-93* az integrin-béta-8 (*Itgb8*) expressziójának gátlásán keresztül fokozza a sejt túlélést, a tumor növekedést és az angiogenezist, hatását kifejti továbbá a fused in sarcoma 1 (*Fus1*) tumorszuppresszor gén kifejeződésének gátlásával. A *miR-148a* gátlását követően májban a phosphatase and tensin homolog (PTEN) protein szintje emelkedett, fokozott expressziója agresszív tumor megjelenése esetén észlelhető, azaz növeli a metasztatikus potenciált. A *miR-155* onkomir tulajdonságát speciális diétával kiváltott, nem alkoholos májtumorkban igazolták. A *miR-196a* emelkedett expressziójával ellentétesen csökken a *p27* tumor szuppresszor expressziója. A *p27* csökkent kifejeződésének következtében a sejtciklus G₁- S fázisba lépésre gyakorolt gátló hatását nem tudja kifejteni. A *miR-205* targetje többek között a *K-ras* onkogén. A *miR-221* cyclin-dependent kinase inhibitor, *p27*-re gyakorolt hatását bizonyították májban, megnövekedett expressziója kóros sejtszaporulathoz vezet.

A *miR-34a* tumorszuppresszorként a sejtciklus G₁ fázisba lépését aktiváló gének gátlásán keresztül fejti ki hatását májban, valamint a met proto-onkogén (*c-Met*) kifejeződésére gyakorolt negatív hatásával gátolja. A *miR-143* targetje a *K-ras* onkogén, expressziójuk közötti inverz eltérés látható. A *miR-146a* gátolja az interleukin 1 (IL-1) és a toll like receptor (TLR) mediálta jelátviteli útvonalon keresztül az NF-κB kifejeződését, melynek eredményeként a tumoros szövet metasztatikus potenciálja csökken, illetve polimorfizmusa befolyásolja a hepatocelluláris karcinoma kialakulásának kockázatát. Májtumoros szövetekben a *miR-203* csökkent szintjét igazolták, az ATP-binding cassette, sub-family E (OABP), member 1 (*Abce1*) lehet az egyik célpontja, ami egy ATP-hez kötött transzporter és kifejeződése emelkedett tumoros szövetekben. A *miR-223* tumorszuppresszor hatását az insulin-like growth factor-1 receptor (IGF1R) gátlásán keresztül fejti ki.

V.4.1. A biodízel-glicerin hatása a miRNS-ek kifejeződésére

A biodízel-glicerinnel történt expozíciót követően vizsgált miRNS-ek kifejeződésében mért expresszióváltozások egyetlen esetben sem érték el a háromszoros szintet, illetve nem csökkent a mennyiségük a harmadára, így a biodízel-glicerin a vizsgált miRNS-ekre gyakorolt hatás szempontjából semlegesnek tekinthető.

V.4.2. A szappanos vízzel kezelt talajon termelt búza hatása a miRNS-ek kifejeződésére

A szappanos vízzel kezelt talajról származó búza fogyasztását követően háromszoros expresszió emelkedést nem tapasztaltunk, míg az onkogén *miR-221* szintje mindkét esetben harmadára csökkent az 1000 l/ha szappanos vizes talajkezelést követően, mely alapján az anyag protektív hatása feltételezhető.

V.4.3. A kukoricaolaj és a sárgazsír hatása a miRNS-ek kifejeződésére

A kukoricaolaj fogyasztását követően nőstényeknél egy onkogén (*miR-27a*) és egy tumorszuppresszor gén (*miR-146a*) expressziója csökkent több mint harmadára.

A sárgazsírral történt expozíció hatására a tumorszuppresszor *miR-146a* expressziója nőstény egerek májában több mint harmadára csökkent, míg hímelekben több mint négyszeresére nőtt. Hímelekben emellett körülbelül nyolcadára csökkent az onkogén *miR-148a* expressziója.

Egyértelmű karcinogén hatás nem igazolódott a miRNS expresszió eltérések alapján sem a kukoricaolajjal, sem a sárgazsírral dúsított táp fogyasztását követően.

VI. Összefoglalás, új eredmények

A biodízel üzemeket elsősorban a nyers, kisajtolt növényi olaj feldolgozásra tervezték, de a gazdaságossági követelmények miatt az üzemeket használt növényi olajok és állati zsiradék feldolgozására is célszerű alkalmassá tenni. A használt növényi olajok és zsírok a biodízelgyártás olcsóbb alapanyagai, mint a nyers növényi olajok.

Az Intézetünkben alkalmazott, CBA/Ca, BALB/c és AKR/J egerekkel végzett rövidtávú állatkísérletes modellben elsőként a biodízelgyártás alapanyagainak és újrahasznosítható melléktermékeinek a karcinogenezisre és a biotranszformációra gyakorolt hatását vizsgáltuk, a molekuláris epidemiológiai módszerek legújabb lehetőségeinek felhasználásával, a legmodernebb és legmegbízhatóbb technológiákkal.

Irodalmi adatok hasonló vizsgálatokról nem állnak rendelkezésre, így vizsgálataink minden szempontból egyedülállóak, valamennyi eredményünk a témában új eredménynek tekintendő.

- A 60%-os tisztaságú biodízel-glicerin a vizsgált gének expresszióváltozása alapján antiapoptotikus ágensnek tekintendő.
- A 86,3%-os tisztaságú biodízel-glicerin a vizsgált gének expresszióváltozása alapján az apoptózis folyamatára negatív hatást nem gyakorolt, a biotranszformációra átmeneti hatást gyakorolt, a *K-ras* onkogén expresszióváltozása alapján protektív hatása feltételezhető, a vizsgált miRNS-ek kifejeződését nem befolyásolta jelentős mértékben.
- Az 1000 l/ha szappanos vízzel kezelt talajról betakarított búza a vizsgált gének expresszióváltozása alapján az apoptózis folyamatát serkenti, a májban metabolikus terhelést jelent, a vizsgált miRNS-ek közül az onkogén miRNS kifejeződésének gátlása alapján, protektív hatása feltételezhető.
- Az 500 l/ha szappanos vízzel kezelt talajról betakarított búza a vizsgált gének expresszióváltozása alapján az apoptózis folyamatát serkenti, a biotranszformációra és a vizsgált miRNS-ek kifejeződésére nem gyakorolt hatást.
- A 250 l/ha szappanos vízzel kezelt talajról betakarított búza a vizsgált gének expresszióváltozása alapján az apoptózis folyamatát serkenti, a biotranszformációra és a vizsgált miRNS-ek kifejeződésére nem gyakorolt hatást.
- A 125 l/ha szappanos vízzel kezelt talajról betakarított búza a vizsgált gének expresszióváltozása alapján az apoptózis folyamatára, a biotranszformációra és a vizsgált miRNS-ek kifejeződésére nem gyakorolt hatást.
- A kukoricaolaj a vizsgált gének expresszióváltozása alapján az apoptózis folyamatára pozitív hatást gyakorolt, a *K-ras* onkogén kifejeződését fokozta, a vizsgált miRNS-ek kifejeződésére gyakorolt hatása alapján nem tekinthető egyértelműen karcinogénnek, de az nem is zárható ki.
- A sárgazsír a vizsgált gének expresszióváltozása alapján az apoptózis folyamatára pozitív hatást gyakorolt nőstény egerekben, míg hímekben semlegesnek bizonyult, a *K-ras* onkogén kifejeződésére negatív hatást gyakorolt nőstény egerekben, hímekben semlegesnek bizonyult, a vizsgált miRNS-ek kifejeződésére gyakorolt hatása alapján nem tekinthető egyértelműen karcinogénnek, de az nem is zárható ki.

Összességében, kísérleteink alapján a megfelelő tisztaságú, 86,3% glicerintartalmú biodízel-glicerint állati takarmánykomponensként, a szappanos víz 500 l/ha alatti koncentrációban, talajjavítóként történő újrahasznosítása környezet-egészségügyi szempontból nem jelent kockázatot.

A kukoricaolaj és sárgazsír biodízel alapanyagként történő hasznosítása növeli a költséghatékonyságot, tekintettel arra, hogy összetételük alapján az élelmiszer körforgásba visszakerülésük nem biztonságos. Üzemanyagként történő újrahasznosításuk során nem vonnak el értékes forrást az élelmiszeripartól.

VIII. Értekezés alapjául szolgáló közlemények és kongresszusi összefoglalók jegyzéke

Az értekezés alapjául szolgáló idegen nyelvű közlemények

1. Szele E, Gombos K, Kovács A, Ember I: Feeding purified glycerol from biodiesel to CBA/CA mice: effects on Gadd45 α and Nfkb1 expressions. In Vivo 24(3): 303-307, 2010. **imp.f.: 1,159**
2. Szele E, Gombos K, Kovács A, Ember I: Effects of purified glycerol from biodiesel on Cyp11a1 and Cyp2e1 expressions in CBA/CA mice. In Vivo 25(2): 237-240, 2011. **imp.f.: 1,264**
3. Szele E, Gombos K, Juhász K, Wohler V, Kovács A, Ember I: Effects of purified glycerol from biodiesel on miRNAs compared to the expression profile of selected mRNAs in BALB/c mice. In Vivo 27(1): 107-111, 2013. **imp. f.: 1,264**
4. Kádár B, Gombos K, Szele E, Beregi A, Varga Zs, Sebestyén A, Ember I: Effects of Isoflurane Exposure on Oncogene and Tumour Suppressor Gene Expressions in Vital Organs of CBA/CA Mice. In Vivo 21(5): 861-865, 2007. **imp. f.: 1,143**
5. Szanyi I, Lujber L, Gerlinger I, Pytel J, Bauer M, Csejtej A, Szele E, Gombos K, Kiss I, Seredenin S, Yarkova M, Ember I: In vivo effects of Afobazole (2-Mercaptobenzimidazole Derivate) on the 7,12-Dimethylbenz [a] anthracene-induced oncogene and suppressor gene expression. In Vivo 21(6): 1059-1063, 2007. **imp. f.: 1,143**
6. Gombos K, Szele E, Kiss I, Varjas T, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Kovács E, Szanyi I, Ember I: Characterization of microarray gene expression profiles of early stage thyroid tumours. Cancer Genomics and Proteomics 4(6): 403-409, 2007.
7. Göbel GY, Gombos K, Szele E, Kálmán E, Budán F, Gerlinger I, Fiscina F, Szanyi I, Ember Á, Németh Á, Ember I: Retrospective analysis of malignant salivary gland tumors in Hungarian population between 1987-2006. European Journal of Oncology, 14(4): 209-215, 2009. **imp.f.: 0,325**
8. Kádár B, Gombos K, Szele E, Ember I, Iványi JL, Csejtej A, Pajkos G: Effects of Isoflurane on Nfkb p65, Gadd45a and Jnk1 expression in the vital organs of CBA/CA mice. In Vivo 25(2): 241- 244, 2011. **imp.f.: 1,264**

Az értekezés alapjául szolgáló magyar nyelvű közlemények

1. Szele E, Gombos K, Ember I: Biodízel előállítás során a glicerín-fázis melléktermékek állati takarmánykompozícióként való alkalmazásának vizsgálata – Az SZME2 hatása az NFkB1 és GADD45 α expresszióra. Magyar Epidemiológia 6(1): 21-26, 2009.
2. Szele E, Gombos K, Juhász K, Wohler V, Kovács A, Ember I: Biodízel előállításra felhasznált kukoricaolaj és sárgaszója karcinogenezisben betöltött szerepének állatkísérletes vizsgálata különböző mRNS-ek és miRNS-ek kifejeződésének mérésével. Magyar Epidemiológia 9(3): 173-182, 2012.
3. Szele E, Gombos K, Juhász K, Kovács A, Ember I: Biodízelgyártás során visszamaradt szappanos vízzel kezelt talajon termesztett búza metabolizmusra és karcinogenezisre gyakorolt hatásának vizsgálata állatkísérletes modellben. Magyar Epidemiológia 9(3): 183-192, 2012.
4. Kádár B, Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Az Isoflurane in vivo hatástani vizsgálata. Magyar Epidemiológia 5(3-4): 181-190, 2008.
5. Ember I, Gombos K, Prantner I, Szele E: A betegségmegelőzés általános alapjai. Népegészségügyi orvostan (szerk.: Ember I.) Dialóg Campus, Pécs, 2007.
6. Ember I, Gombos K, Szele E: Genetika/genomika a népegészségügyben, genomikai epidemiológia. Népegészségügyi orvostan (szerk.: Ember I.) Dialóg Campus, Pécs, 2007.
7. Fehér K, Prantner I, Szele E, Németh Á, Berényi K, Huszár A, Iványi JL, Csejtej A, Sebestyén A, Ember I: A rosszindulatú daganatok megelőzése-prevenációs modell a házi orvostól a molekuláris epidemiológiáig. Magyar Epidemiológia 8(3): 145-161, 2011.
8. Göcze K, Marek E, Gombos K, Prantner I, Szele E és Ember I: A betegségmegelőzés általános alapjai. Népegészségügyi Orvostan 2. kiadás (szerk.: Ember I, Kiss I, Cseh K; Dialóg Campus): 125-127, 2013.
9. Kiss I, Orsós Zs, Gombos K, Prantner I, Szele E, Ember I: Szűrés, szűrővizsgálatok. Népegészségügyi Orvostan 2. kiadás (szerk.: Ember I, Kiss I, Cseh K; Dialóg Campus): 128-132, 2013.

Az értekezés témájában készült idegen nyelvű konferencia absztraktok

1. Szele E, Gombos K, Kovács A, Ember I: Feeding purified glycerol from Biodiesel to CBA/CA mice: effects on single strand DNA damage inducible GADD45 α and NFkB expressions. Anticancer Research 28: 3297, 2008. **imp. f: 1,39**
2. Gombos K, Szele E, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Analysis of the connections between signal transduction mechanisms in early stage thyroid tumours. Anticancer Research 28: 3296, 2008. **imp. f: 1,39**
3. Kádár B, Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Effects of Isoflurane on NFkB1, GADD45 α JNK1 expressions in the vital organs of CBA/CA mice. Anticancer Research 28: 3296, 2008. **imp. f: 1,39**

Az értekezés témájában készült magyar nyelvű konferencia absztraktok

1. Szele E, Gombos K, Varjas T, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Ember I: Microarray módszer alkalmazása a pajzsmirigy daganatok korai felismerésében. Magyar Epidemiológia Supplementum 5: 95-96, 2008.
2. Szele E, Gombos K, Ember I: Az SZME2 biodízel előállítás során nyert tisztított glicerín frakció NFKB, JNK és GADD45A génekre gyakorolt hatásának vizsgálata állatkísérletes modellben. Magyar Epidemiológia Supplementum 5(2): 174, 2008
3. Szele E, Gombos K, Ember I: Biodízel előállítása során nyert tisztított glicerín frakció apoptikus génekre gyakorolt hatásának vizsgálata állatkísérletes modellben. Magyar Epidemiológia Supplementum 6: 104, 2009.
4. Gombos K, Szele E, Herceg M, Brunner Zs, Szanyi I, Molnár K, Gergely P, Mucsi Gy, Varga Zs, Ember I: A VitaCalen® krónikus fogyasztása során észlelt eredményeink állatkísérletes modellben. Magyar Epidemiológia Supplementum 3: 41, 2006.
5. Gombos K, Szele E, Varjas T, Tetinger A, Molnár K, Varga Zs, Sebestyén A, Tibold A, Ember I: A VitaCalen® nevű étrendkiegészítő hatása onko- és tumorszuppresszor gén expressziókra. Magyar Epidemiológia Supplementum 3: 42, 2006.
6. Gombos K, Szele E, Varjas T, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Ember I: Jelátviteli mechanizmusok összefüggéseinek vizsgálata pajzsmirigy daganatokban. Magyar Epidemiológia Supplementum 5: 44, 2008.
7. Kádár B, Gombos K, Szele E, Beregi A, Varga Zs, Sebestyén A, Ember I: Az izoflurán onko- és tumorszuppresszor génekre kifejtett hatásának vizsgálata CBA/Ca egerekben. Magyar Epidemiológia Supplementum 5: 55, 2008.
8. Kádár B, Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Az Isoflurane hatása az NFKB1, JNK1 és GADD45α gének expressziós mintázatára. Magyar Epidemiológia Supplementum 5(2): 150, 2008.
9. Göbel Gy, Gerlinger I, Pytel J, Szanyi I, Szele E, Gombos K, Ember I: A Malignus nyálmirigy daganatok retrospektív vizsgálata az 1986-2006-os időtartamban. Magyar Epidemiológia Supplementum 5(2): 145, 2008 .
10. Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Ember I: Pajzsmirigy daganatok génextpressziós profiljának meghatározása cDNS microarray módszerrel. Magyar Epidemiológia Supplementum 6: 42-43, 2009.
11. Göbel Gy, Gerlinger I, Pytel J, Szanyi I, Szele E, Gombos K, Ember I: Malignus nyálmirigy daganatok epidemiológiai sajátosságai. Magyar Epidemiológia Supplementum 6: 44, 2009.
12. Kádár B, Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Az Isoflurane hatása apoptikus jelátviteli gének expressziójára. Magyar Epidemiológia Supplementum 6: 53-54, 2009.

Az értekezés témájában tartott idegen nyelvű előadások

1. Szele E, Gombos K, Ember I: Effects of biodiesel glycerol on DNA damage inducible and apoptotic genes. Népegészségügyi Tudományos Társaság XVII. Nemzetközi Kongresszusa, 2009. április 17-18., Marosvásárhely
2. Szele E, Gombos K, Ember I: Effects of Purified Glycerol from Biodiesel on Cyp1a1 and Cyp2e1 Expressions in CBA/CA Mice. International Conference of Preventive Medicine and Public Health, Pécs, 2010. november 19-20., Pécs
3. Szele E, Gombos K, Ember I: 2011. április: Feeding Animals with Biodiesel Glycerol. Effect of Biodiesel G- fractions on Genes Regulating Microsomal Metabolism. BIT's 1st Annual World Congress of Bioenergy, 2011. április 25-29., Dalain, China
4. Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Ember I: Pajzsmirigy daganatok génextpressziós profiljának meghatározása cDNS microarray módszerrel. Népegészségügyi Tudományos Társaság XVII. Nemzetközi Kongresszusa, 2009. április 17-18., Marosvásárhely
5. Kádár B, Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Az Isoflurane hatása apoptikus jelátviteli gének expressziójára. Népegészségügyi Tudományos Társaság XVII. Nemzetközi Kongresszusa, 2009. április 17-18., Marosvásárhely

Az értekezés témájában tartott magyar nyelvű előadások

1. Szele E, Gombos K, Ember I: Biodízel előállítás során nyert tisztított glicerín frakció apoptikus génekre gyakorolt hatásának vizsgálata állatkísérletes modellben. Fiatal Higiénikusos V. Fóruma, 2009. május 14-16., Eger
2. Szele E, Gombos K, Ember I: Biodízel előállítás során nyert különböző tisztaságú glicerín frakciók apoptikus génekre gyakorolt hatásának összehasonlítása állatkísérletes modellben. Magyar Higiénikusok Társasága XXXIX, 2009. október 6-8., Balatonvilágos
3. Szele E, Gombos K, Ember I: Biodízel előállítás során visszamaradt glicerín frakció hatásának vizsgálata a metabolizmusban kulcsszerepet játszó citokróm gének kifejeződésére. Magyar Higiénikusok Társasága IX. Nemzeti Kongresszusa, 2010. október 5-7., Balatonvilágos

4. Szele E., Gombos K, Ember I: A biodízel-glicerín hatásának vizsgálata jelátviteli folyamatokban és metabolizmusban kulcsszerepet játszó gének kifejeződésére CBA/CA egerekben. A glicerín takarmányozási hasznosítása, 2011. május 6., Mosonmagyaróvár
5. Szele E., Gombos K, Juhász K, Wolher V, Kovács A, Ember I: Biodízelgyártás során keletkezett anyagok hatása a sejttúlélésben kulcsszerepet játszó microRNS-ek és messenger RNS-ek kifejeződésére BALB/c egerekkel végzett rövidtávú állatkísérletes modellben. Fiatal Higiénikusok VI. Fóruma, 2012. május 10-11., Esztergom
6. Szele E., Gombos K, Juhász K, Wolher V, Ember I: Biodízelgyártás során melléktermékként keletkezett „szappanos vízzel” kezelt talajon termesztett búza hatásának vizsgálata daganatképződésben és metabolizmusban kulcsszerepet játszó miRNS-ek és mRNS-ek génexpressziójának mérésével. Magyar Higiénikusok Társasága XLI. vándorgyűlése, 2012. október 3-5., Esztergom
7. Gombos K, Szele E., Varjas T, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Ember I.: Budapest: Microarray módszer alkalmazása pajzsmirigydaganatok korai felismerésében. Magyar Onkológusok Társaságának XXVII. Jubileumi Kongresszusa, 2007. november 8-10., Budapest
8. Gombos K, Szele E., Varjas T, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Ember I: Microarray módszer alkalmazása pajzsmirigy daganatok korai felismerésében. Fiatal Higiénikusok Fóruma, 2008. május 29-31., Győr
9. Göbel Gy, Gerlinger I, Pytel J, Szanyi I, Szele E., Gombos K, Ember I: A Malignus nyálmirigy daganatok retrospektív vizsgálata az 1986-2006-os időtartamban. Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa, 2008. november 25-26., Pécs

Az értekezés témájában készült idegen nyelvű poszterek

1. Szele E., Gombos K, Kovács A, Ember I: Feeding purified glycerol from Biodiesel to CBA/CA mice: effects on single strand DNA damage inducible GADD45 α and NF κ B expressions. Eighth International Conference of Anticancer Research, 2008. október 17-22., Kos, Görögország
2. Ember I, Gombos K, Varjas T, Kiss I, Szele E., Puskás L, Kozma L, Juhász F, Varga Zs, Ember Á: Characterization of microarray gene expression profiles of thyroid tumours. Dubai International Oncology Conference, 2007. február 19-27., Al Ain, Egyesült Arab Emírségek
3. Kádár B, Gombos K, Szele E., Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Effects of Isoflurane on NF κ B1, GADD45 α JNK1 expressions in the vital organs of CBA/CA mice. Eighth International Conference of Anticancer Research, 2008. október 17-22., Kos, Görögország
4. Gombos K, Szele E., Puskás L, Kozma L, Juhász F, Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Analysis of the connections between signal transduction mechanisms in early stage thyroid tumours. Eighth International Conference of Anticancer Research, 2008. október 17-22., Kos, Görögország
5. Göbel Gy, Gerlinger I, Pytel J, Szanyi I, Szele E., Gombos K, Ember I: Malignus nyálmirigy daganatok epidemiológiai sajátosságai. Népegészségügyi Tudományos Társaság XVII. Nemzetközi Kongresszusa, 2009. április 17-18., Marosvásárhely

Az értekezés témájában készült magyar nyelvű poszterek

1. Szele E., Gombos K, Varjas T, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Ember I: Microarray módszer alkalmazása a pajzsmirigy daganatok korai felismerésében. Népegészségügyi Tudományos Társaság XVI. Nemzetközi Kongresszusa, 2008. április 17-19., Pécs
2. Szele E., Gombos K, Ember I: Az SZME2 biodízel előállítás során nyert tisztított glicerín frakció NF κ B, JNK és GADD45A génekre gyakorolt hatásának vizsgálata állatkísérletes modellben. Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa, 2008. november 28-29., Pécs
3. Szele E., Gombos K, Kovács A, Ember I: Biodízel-glicerín hatása a sejttúlélésben kulcsszerepet játszó microRNS-ek és messenger RNS-ek kifejeződésére BALB/c egerekkel végzett rövidtávú állatkísérletes modellben. Magyar Epidemiológiai Társaság VI. Nemzetközi Kongresszusa, 2011. november 25-26., Pécs
4. Gombos K, Szele E., Herczeg M., Brunner Zs, Szanyi I, Molnár K, Gergely P, Mucsi Gy, Varga Zs, Ember I: Effects of VitaCalen consumption on the survival of CBA/CA mice. Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság Kongresszusa, 2006. november 3-5., Pécs
5. Gombos K, Szele E., Varjas T, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Ember I: Jelátviteli mechanizmusok összefüggéseinek vizsgálata pajzsmirigy daganatokban. Kertai emlékülés, 2007. június, Pécs
6. Gombos K, Szele E., Varjas T, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Ember I: Jelátviteli mechanizmusok összefüggéseinek vizsgálata pajzsmirigy daganatokban. Népegészségügyi Tudományos Társaság XVI. Nemzetközi Kongresszusa, 2008. április 17-19., Pécs
7. Kádár B, Gombos K, Szele E., Beregi A, Varga Zs, Sebestyén A, Ember I: Az izoflurán onko- és tumorszuppresszor génekre kifejtett hatásának vizsgálata CBA/Ca egerekben. Népegészségügyi Tudományos Társaság XVI. Nemzetközi Kongresszusa, 2008. április 17-19., Pécs
8. Kádár B, Gombos K, Szele E., Göbel Gy, Szanyi I, Ember I: Az Isoflurane hatása az NF κ B1, JNK1 és GADD45 α gének expressziós mintázatára. Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa, 2008. november 28-29., Pécs

9. Göbel Gy, Gerlinger I, Pytel J, Szanyi I, Szele E, Gombos K, Ember I: A Malignus nyálmirigy daganatok retrospektív vizsgálata az 1986-2006-os időtartamban. Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa, 2008. november 28-29., Pécs
10. Gombos K, Szele E, Göbel Gy, Puskás L, Kozma L, Juhász F, Ember I: Pajzsmirigy daganatok génexpressziós profiljának meghatározása cDNS microarray módszerrel. Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa, 2008. november 28-29., Pécs

VIII. Megjegyzés

A dízel motorokban használatos biodízel előállítással kapcsolatos vizsgálatok végzésére a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Orvosi Népegészségtan Intézete egy konzorcium tagjaként a Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatal Jedlik Ányos Program keretében meghirdetett pályázatainak keretében két alkalommal kapott támogatást. („*Technológia és állati takarmány kompozíciók biodízel G-fázis melléktermék hasznosításával*” (azonosító: NFKP07-aAGROÖK07), „*Fenntartható biodízel technológia és hozzáadott értékű melléktermékek*” (azonosító: TECH-09-A4-2009-0133, BDREVAM2))
Dolgozatomban ismertetett vizsgálatainkat fenti két pályázat keretében végeztük.

IX. Köszönetnyilvánítás

A primer prevencióval, daganatkutatással és a molekuláris epidemiológiával kapcsolatos érdeklődésemet - hatalmas szakmai tapasztalatával, elhivatottságával és nem utolsósorban személyisével - Prof. Dr. Ember István keltette fel. Professzor Úr tanítványaként sajátítottam el valamennyi, értekezésem témájához kapcsolódó ismeretemet. Tudományos munkám a kezdeti lépésektől dolgozatom elkészültéig nyomon követte, tanácsai, építő jellegű kritikái segítettek folyamatos fejlődésem. Nem csupán értekezésem létrejöttéhez nyújtott tanításáért és támogatásáért tartozom Professzor Úr emlékének köszönettel, hanem tudományos lelkesedésre való szeretetteljes neveléséért.

Köszönöm továbbá, Prof. Dr. Kiss István témavezetőm szakmai tanítását és támogatását.

Köszönöm Dr. Kovács András közreműködését a pályázat kezelésében és a vizsgálati anyagok rendelkezésre bocsátásában.

Köszönöm Dr. Gombos Katalinnak valamennyi vizsgálatomban történt közreműködését és szakmai segítségét.

Köszönöm a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Orvosi Népegészségtan Intézet valamennyi munkatársának a vizsgálataink végzésében és kongresszusi részvételek szervezésében nyújtott adminisztratív segítségét.

Köszönöm munkahelyi vezetőim és munkatársaim támogatását.

Köszönöm családomnak szeretetüket, türelmüket, figyelmességüket és gondoskodásukat, mellyel dolgozatom összeállítása során segítettek és lehetővé tették, hogy otthonomban munkámra összpontosíthassak.