

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI KAR
EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

Doktori Iskola vezető: Prof. Dr. Bódis József

Programvezető: Prof. Dr. Kovács L. Gábor

Témavezető: Dr. Varga Csaba

Experimentális balneológia: Kárpát-medencei gyógyvíz- és gyógyiszapminták
biológiai hatásai

Doktori (Ph.D.) értekezés

Gerencsér Gellért

Pécs, 2014.

Tartalom

1. BEVEZETÉS	4
1.1 A gyógyfürdőzés és a gyógyiszapkezelés története Magyarországon.....	4
1.2 Balneológiai alapfogalmak	5
1.3 Természetföldrajzi háttér	6
1.4 Ásvány- és gyógyvizek Magyarországon.....	8
1.5 Gyógyiszapok fogalma, osztályozása.....	9
1.6 Magyarországi gyógyiszapok	10
1.7 Gyógyiszapkezelések formái	12
1.8 Gyógyiszapok, gyógyvizek mikrobiológiája	13
1.9 Balneoprevenció	14
1.10 Statisztikai adatok a gyógyfürdő-kezelésekről	14
2. CÉLKITŰZÉSEK	18
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	19
3.1 Vizsgált peloidok és gyógyvizek tulajdonságai.....	19
3.1.1 Kolopi iszap	19
3.1.2 Hévízi iszap.....	20
3.1.3 Kakasszéki gyógyvíz.....	21
3.1.4 Gyopárosfürdői gyógyvíz	21
3.2 Vizsgálati módszerek.....	22
3.2.1 Gyógyiszapok mikrobiológiai vizsgálata.....	22
3.2.2 Ökotoxikológiai tesztek	24
3.2.3 Genotoxikológiai vizsgálatok	29
4. EREDMÉNYEK.....	39
4.1 Higiénés mikrobiológiai vizsgálatok eredményei	39
4.1.1 Össztelepszám.....	39
4.1.2 Coliformszám.....	39
4.1.3 Enterococcus-szám.....	40
4.1.4 Clostridium-szám	40
4.2 Ökotoxikológiai tesztek eredményei	40
4.2.1 Fehér mustár gyökérnövekedési teszt	40
4.2.2 Eisenia teszt eredményei.....	41

4.3 Genotoxikológiai vizsgálatok eredményei	46
4.3.1 Gyógyiszapok üstökös-elektroforézissel történt vizsgálatának eredményei.....	46
4.3.2 Gyógyvíz-koncentrátumok vizsgálata Ames teszttel.....	50
4.3.3 Keratinociták üstökös-elektroforézissel történő vizsgálatának eredményei	53
5. MEGBESZÉLÉS	68
6. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA	79
7. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK ÉS A KONGRESSZUSI PREZENTÁCIÓK... 80	
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	89
9. IRODALOMJEGYZÉK.....	89
10. FÜGGELÉK	98
10.1. Kolopi iszap.....	98
10.2 Hévízi iszap	100
10.3 Kakasszéki gyógyvíz	102
10.4 Gyopárosfürdői gyógyvíz	103

1. BEVEZETÉS

A gyógyfürdőzés, wellness napjainkban újabb fénykorát éli Magyarországon és a világ számos országában. Hazánk az egyik vezető balneológiai nagyhatalom, melynek háttérében kedvező természetföldrajzi adottságai állnak. Mind a magyar, mind a külföldi turisták körében kedveltek fürdőink, gyógyvizeink, iszapjaink. A fürdővendégek egy része betegségeinek gyógyulása érdekében keresi fel ezeket az intézményeket, azonban egyre jelentősebb, azoknak a vendégeknek a száma, akik kikapcsolódás, pihenés céljával vesznek részt különböző gyógyfürdőkezelésekben, ezeket a programokat nevezzük wellness szolgáltatásoknak. Ezeknek a kezeléseknél fontos szerepe van a különböző betegségek megelőzésében, így a balneológiának nagy jelentősége van a prevenció megvalósulásában. A kezelések, terápiák egyre modernebbek, míg a gyógyfürdőzés alapjai, pl.: az iszapok (peloidok) és vizek osztályozása, összetételének ismerete, alkalmazás alapjai, hatásmechanizmusok ismerete, még mindig a régi korok „dogmáin” nyugszik. Időszerű lenne ezeknek a régi ismereteknek, adatoknak a felülvizsgálata, kiegészítése és az egész tudomány egzaktabbá tétele, mely hozzájárulna a balneológia jelentőségének és betegségek megelőzésben betöltött szerepének a növelésében.

1.1 A gyógyfürdőzés és a gyógyiszapkezelés története Magyarországon

A fürdés, fürdőzés, vízhasználat különböző formái már több ezer éve az emberi kultúra szerves részét képezik, nem volt ez másképp a Kárpát-medence területén sem [1]. Az első nyilvános fürdők, közfürdők hazánk területén, akárcsak Európa nyugati felében a tisztálkodás legfontosabb lehetőségét jelentették. A Kárpát-medencében már ezekben az időkben is termálvizet használtak a fürdőzés során. A balneológia történetének első jelentős korszak a rómaiak korára tehető, akik fejlett fürdőkultúrával rendelkeztek, mely hazánk területén, Aquincumban virágzott a legmagasabb szinten. Ebből az időből a régészeti ásatások 14 fürdő romjait tárták fel. [1].

A török hódoltság idején a fürdőkultúra újabb lendületet kapott. Számos budapesti fürdő (Rudas, Király, Császár Fürdő) ebből az időből származik, mely az épületek elrendezésén ma is jól felismerhető.

A XVIII-XIX. században egyre több fürdő épült az ország területén, felismerve a Kárpát-medence kivételes adottságait. A Habsburg Birodalom korában kezdődött el a vizek fizikai és

kémiai (szervetlen analitikai) tulajdonságainak a vizsgálata. Ebből az időszakból ki kell emelni Kitaibel Pál munkásságát, akinek a „Hydrographia Hungariae” című munkája ma is a balneológia egyik alapműve [1].

A különböző geológiai folyamatok révén keletkezett iszapszerű anyagok gyógyászati célú felhasználása a történeti idők kezdetétől fogva nyomon követhető. Természetesen az iszapok esetében is igaz az a tény, hogy a tudományos kutatás, amely hivatott lett volna fényt deríteni a kémiai és fizikai tulajdonságokra és hatásmechanizmusra, messze elmaradt.

A 1800-as évek második felében indult meg az iszapok fizikai és kémiai vizsgálata, bár ezek a vizsgálatok nem voltak és nem is lehettek teljes értékűek [2].

1891-ben jött létre a Magyar Balneológiai Egyesület, melynek célja megismerni és megismertetni a hazai fürdőket és ásványvizeket, használatukat és felhasználásukat elősegíteni, a balneológiát tudományos alapokra helyezni [1].

1931-ben jött létre a Peloid Bizottság, melyben Magyarország is képviselve volt, azzal a céllal, hogy az iszapok kutatását és gyógyászati felhasználását egységes alapokra helyezték [2].

Ma több mint 1200 kúttal rendelkezünk, melyek jelentős része hasznosítható balneológiai céllal. Gyógyfürdőink száma is jelentős, melyek közül számos világhírű, mind a hazai, mind a külföldi vendégek körében népszerűek, kedveltek. A gyógyulás mellett a kikapcsolódás, pihenés lehetőségét is biztosítják fürdőink.

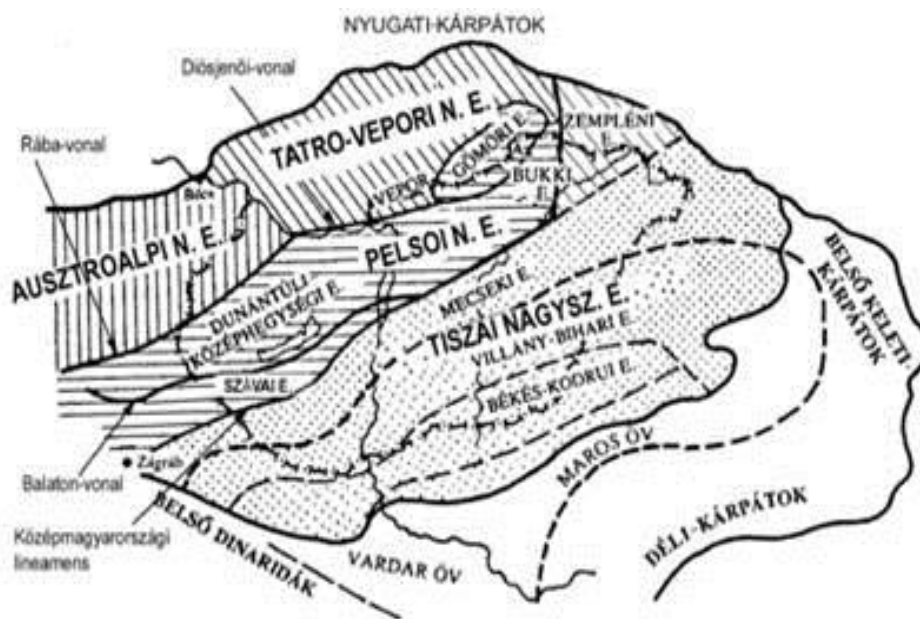
1.2 Balneológiai alapfogalmak

Balneológia vagy gyógyfürdőtan - a görög eredetű balaneion (βαλανεῖον) fürdő, fürdőintézet és tan (logos, λόγος) szóból ered - az a tudomány, mely gyógyvizek, ásványvizek és gyógyiszapok vizsgálatával és hasznosításával foglalkozik. Hasznosítás alatt azokat a kezeléseket, terápiákat értjük, melyek szerepe a már kialakult különböző betegségek gyógyítása (terápia) vagy a betegségek kialakulásának a megelőzése (balneoprevenció). A balneológiai kezelések számos formája ismert, mint például iszappakolás, gyógyfürdőzés, ivókúra, melyek egyéb fizioterápiai kezelésekkel is kiegészíthetők, kombinálhatók.

Gyógyiszapok, olyan geológiai eredetű iszapszerű anyagok, melyek szemcsézettsége és szemcseeloszlása, vízzel keverve fürdésre vagy göngyölésre alkalmassá teszi [3, 4].

1.3 Természetföldrajzi háttér

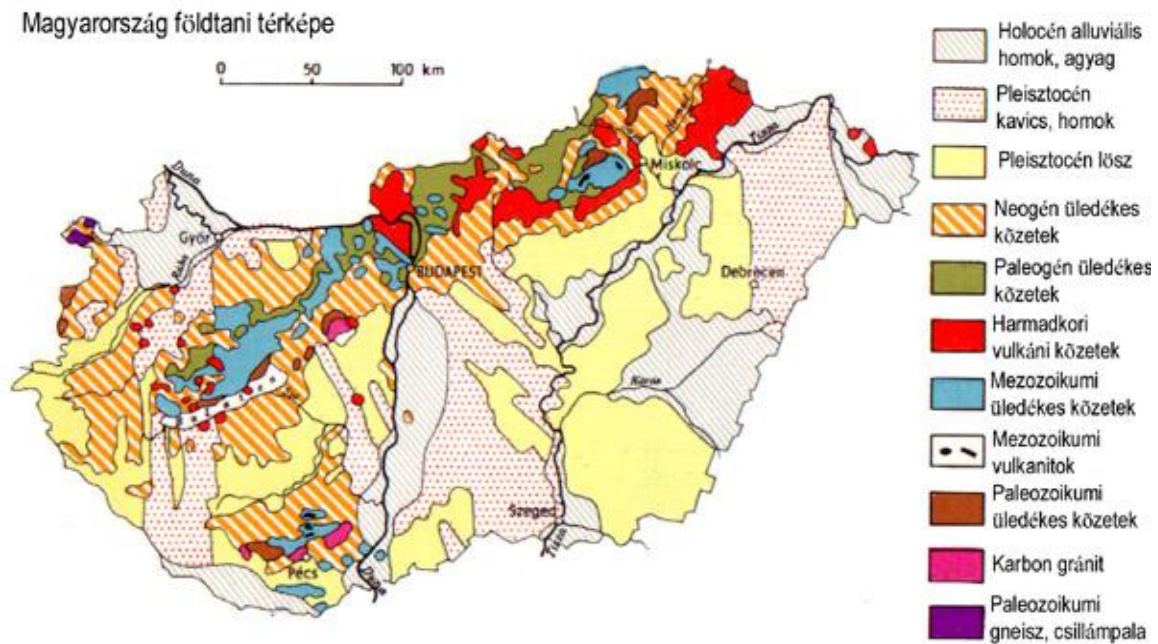
Magyarország balneológiai nagyhatalomnak számít, melynek háttérében számos klimatikus és geológiai tényező áll. Ezek a geológiai tényezők befolyással vannak a vizek mennyiségi és minőségi állapotára is. A Kárpát-medence földtani szempontból három nagyszerkezeti egységre osztható (Tiszai nagyszerkezeti egység, Pelsői nagyszerkezeti egység és az Ausztróalpi nagyszerkezeti egység) (1. ábra), melyek alapközei befolyásolják az ott raktározott vizek kémiai és fizikai, elsősorban hőmérsékleti, jellemzőit [5].



1. ábra A Kárpát-medence nagyszerkezeti egységei és az azokat elválasztó főszerkezeti vonalak [6]

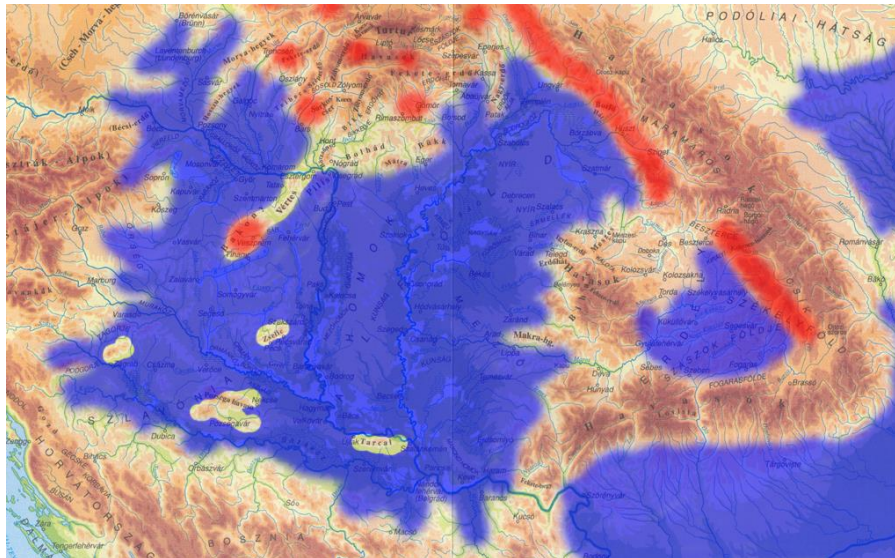
A termálvíz és ásványvíz kialakulásának számos geológiai feltétele van, ezek közül az egyik legfontosabb tényező, annak a kőzetestnek a tulajdonsága, amelyben ezek a vizek találhatóak. Ahhoz, hogy balneológiai szempontból megfelelő minőségű víz keletkezzen egy körülbelül 1 km vastag és 10x100 km kiterjedésű porózus, karbonátos üledékes tárolókőzet szükséges, melynek egy része a földfelszínen vagy annak a közelében helyezkedik el, így elősegítve a felszínről a megfelelő vízbeáramlást. A kőzetest másik részét pedig rossz víz- és hővezető kőzeteknek kell határolniuk, amelyek elősegítik a víz és a hő raktározását. Hazánkban a vízraktározó üledékes kőzetestek kiterjedése jelentős (2. ábra), melyek közül elsősorban a különböző mészköveket, dolomitot, agyagos, üledékes kőzeteket, breccsát és

konglomerátumot kell megemlíteni. Ezek a kőzetek és velük együtt a különböző vizek és iszapok is különböző földtörténeti korokban keletkeztek.



2. ábra Magyarország földtani térképe [7]

A legjelentősebb vízlelő rétegek a pleisztocén, pliocén, miocén és oligocén (kainozoikum vagy újidő) kőzetekben találhatóak, ezekben a korokban több fontos geológiai esemény is történt, többek között a Kárpát-medence jelentős részét elöntötte a Pannon-tenger (beltó), amelyet a geológiában Pannon-korszaknak neveznek, ami a miocén végét és az oligocén elejét foglalta magába, körülbelül 12-4 millió évvel ezelőtt. A Pannon-beltó édesvíz volt és kedvezett az édesvízi üledékes kőzetek képződésének (3. ábra). Agyagos, homokos üledékek halmozódtak fel, melyek például Hajdúszoboszló, Szentes, Debrecen, Berekfürdő termálvizét adják [5], továbbá a Simontornyai ásványvíz, a Csokonyavisontai hévíz, a kisújszállási és szolnoki fürdő vize is ilyen pannon korú rétegekből származik. A kainozoikumban nemcsak az üledék-felhalmozódás volt jelentős, hanem aktív vulkánosság is jellemző volt (Visegrádi-hegység, Börzsöny, Cserhát, Mátra, Bakony, Keszthelyi-hegység), ami szintén befolyásolja a vizek és iszapok kémiai tulajdonságát. Iszapjaink közül a hévízi peloid tartalmaz jelentős mennyiségben vulkanikus eredetű kőzeteket [3, 4].



3. ábra A Pannon-tenger a Kárpát-medencében [8]

Természetesen nemcsak újidei kőzetekben találhatók gyógy- és ásványvizek, hanem régebbi földtörténeti korokban képződött kőzetekben is, ilyen a mezozoos rétegekből származó zalakarosi, hévízi, harkányi víz, a budapesti gyógyfürdők vize is, melyek szintén elsősorban üledékes kőzetekben helyezkednek el. Devon korban keletkezett a büki víz és a rábasömjéni radioaktív tulajdonsággal rendelkező víz is.

1.4 Ásvány- és gyógyvizek Magyarországon

Magyarországon számos ásvány- és gyógyvíz található (4. ábra), melyeket szeretlen összetételük alapján csoportosítanak, a szerves komponensek jelenléte nem ismert és a jelenlegi osztályozás megalkotásakor nem vették figyelembe. A szeretlen vegyületek alapján az ásvány- és gyógyvizeket 10 osztályba sorolhatjuk.



4. ábra Fontosabb gyógyvíz-előfordulások Magyarországon [9]

1.5 Gyógyiszapok fogalma, osztályozása

A peloid szó a görög pelos (πηλός), sár jelentésű szóból ered, amely fogalom alatt olyan gyógyászati felhasználásra alkalmas geológiai eredetű, finom szemcsézettséggel rendelkező anyagokat értünk, amelyek vízzel elkeverve balneológiai kezelésekre alkalmasak. Az iszapoknak többféle osztályozása alakult ki. Eredetüket tekintve beszélhetünk természetes és mesterséges iszapokról. A természetes iszapok vagy eupeloidok felhasználás előtt sem fizikai (pl.: őrlés) sem kémiai (pl.: paraffin hozzáadás) átalakításon nem esnek át, natívan, a kitermelt formában kerülnek felhasználásra. A mesterséges iszapok vagy parapeloidok is természetes eredetűek csak sokszor a szemcsézettsége nem megfelelő, ezért őrlni kell az adott anyagot, vagy a jobb hőtároló- vagy vízmegkötő-képesség elérése érdekében kiegészítik egyéb komponensekkel [3, 4].

A peloidok másik osztályozása nemcsak azt veszi figyelembe, hogy az adott iszap, milyen eredetű, hanem azt is, hogy a szerves és szervetlen komponensek, milyen arányban fordulnak elő. Ez a klasszifikáció több nagyobb osztályt és azon belül több alosztályt különít el (I. táblázat) [3, 4].

I. táblázat Az iszapok osztályozása

Osztály	Alosztály	Példa
1, Szervetlen iszapok	A, hideg- vagy melegforrások termékei	-
	B, tavak, folyók üledékei	hajdúszoboszlói, makói és kolopi iszap
2, Szerves iszapok	A, limán	-
	B, szerves belvízi peloid	-
3, Tőzegek	A, felláptőzeg	„Georgikon” gyógytőzeg
	B, alláptőzeg	
	C, lápföld	
4, Kevert iszapok	-	hévízi peloid
5, Gyógyföldek	-	-
6, Mesterséges peloidok	-	parafango

1.6 Magyarországi gyógyiszapok

2007-ben hazánk engedélyezett és forgalomban lévő gyógyiszapjainak a száma 5 volt: a makói, kolopi, hévízi, hajdúszoboszlói és egy gyógytőzeg, az alsópáhoki „Georgikon” tőzeg (II. táblázat) [10]. Ezek az peloidok eredetüket tekintve három csoportba sorolhatók, a makói, kolopi és hajdúszoboszlói a szervetlen iszapok osztályába tartozik, mert jelentős az ásványi anyagok jelenléte, de szerves anyagokat csak minimális mennyiségben tartalmaznak. A második csoportot a kevert peloidok osztályát a hévízi iszap képviseli, mivel 20-25% növényi tartalom (Sphagnum tőzeg) mellett, gazdag vulkanikus eredetű ásványokban is. A „Georgikon” gyógytőzeg, amint a neve is mutatja, nagy mennyiségben szerves alkotórészekből áll, mely alapján az iszapok harmadik nagy csoportját képviseli, a tőzegek osztályát, mely huminanyagokban rendkívül gazdag.

II. táblázat Magyarországi gyógyiszapok listája 2007-ben (ÁNTSZ) [10]

Gyógyiszapok listája

2007. február

Sor-szám	Település /megye/	Megnevezés	Minősítés	Minősítés száma	Nyilvántartási szám
1.	Makó /Csongrád/	Marosi iszap	gyógyiszap	37.950/1951. mód. 480/Gyf/1983.	VIII/1
2.	Tizsasüly /Jász-Nagykun- Szolnok/	Kolopi iszap	gyógyiszap	405/Gyf/1968.	VIII/2
3.	Héviz /Zala/	Hévízi tó iszapja	gyógyiszap	34/Gyf/1972.	VIII/3
4.	Hajdúszoboszló /Hajdú-Bihar/	Városi Gyógyfürdő iszapja	gyógyiszap	229.108/1946. 546/Gyf/1976. 12-2/Gyf/2007.	VIII/4
5.	Alsópáhok /Zala/	„Georgikon” természetes tőzeg gyógyiszap	gyógyiszap	496/Gyf/2003.	VIII/5

Hazai peloidjaink felhasználási területe széleskörű, elsősorban mozgásszervi elváltozások kezelésére, műtétek elő- és utókezelésére alkalmazzák a különböző iszapkezelési eljárásokat. A mozgásszervi betegségek közül meg kell említeni a különböző csont-, ízületi (arthrosis, osteoarthrosis, spondyloarthrosis spondylosis, krónikus periostitis, tendinitis) és gerincmegbetegedéseket (arthrosis, lumbago, idült gyulladással degeneratív betegségek), valamint a különböző izom- és idegi eredetű kórokokat (lágyrész reuma, contractura, myalgia, neuralgia, neuritis). A kolopi, hévízi, hajdúszoboszlói és makói peloid indikációi között megtalálhatók a különböző krónikus nőgyógyászati betegségek is, mint meddőség, krónikus kismencedei-gyulladás, hypoplasiák és az endometriosis. Egyes bőrgyógyászati betegségek kezelésében is fontos szerepük lehet a különböző peloidoknak, ilyen megbetegedés a psoriasis, pruritus és az ekzema. Bőrgyógyászati terápiára a hajdúszoboszlói és a kolopi peloid alkalmas. A kolopi iszapot elsősorban pikkelysömör kezelésére használják.

A 2012 áprilisában megjelent, hazánkban —forgalomban lévő gyógyiszapok legújabb listáját tartalmazó táblázat (III. táblázat) alapján, az előző években kiadott listához képest— változás történt. Bár továbbra is öt iszap van forgalomban, de a listáról lekerült a hévízi peloid és helyette egy osztrák eredetű az úgynevezett „Neydharting” iszap került fel a jegyzékbe [11].

III. táblázat A 2012-ben forgalomban lévő peloidok listája (ÁNTSZ) [11]

Sor-szám	Település	Megye	Megnevezés	Minősítés	Minősítés száma	Nyilvántartási szám
1.	Makó	Csongrád	Marosi iszap	gyógyiszap	37.950/1951. mód. 480/Gyf/1983. 607/OTH/2010	VIII/1
2.	Tiszasüly	Jász-Nagykun-Szolnok	Kolopi iszap	gyógyiszap	405/Gyf/1968. OTH-GYÓGYF 187-2/2011	VIII/2
3.	Hajdúszoboszló	Hajdú-Bihar	Városi Gyógyfürdő iszapja	gyógyiszap	229.108/1946. 546/Gyf/1976. 12-2/Gyf/2007.	VIII/4
4.	Alsópáhok	Zala	„Georgikon” természetes tőzeg gyógyiszap	gyógyiszap	496/Gyf/2003.	VIII/5
5	Neydharting	Ausztria (Felső-Ausztria Szövetségi Tartomány)	Neydharting Gyógyiszap	gyógyiszap	125-3/OTH/2011	VIII/6

A „Neydharting” iszap egy síklápi tőzeg, amelyet fürdőzésre, iszappakolásra és ivókúrára is alkalmasnak tartanak. Felhasználási köre is széles, a mozgásszervi panaszok (reuma, sportsérülések, ficam) mellet, krónikus nőgyógyászati és bőrgyógyászati betegségek kezelésére is alkalmas, de ivókúra formájában gyomorégés, gyomor/bél-nyálkahártyagyulladás és vashiány esetén is ajánlják ezt a peloidot [12, 13].

1.7 Gyógyiszapkezelések formái

Az iszapkúrának két fő formáját különíthetjük el az aktív és a passzív kezelést. Az aktív kezelés során a páciensnek lehetősége van az iszapban mozogni. Aktív kezelés az iszaptóban, az iszapmedencében és az iszapkádban történő fürdőzés. Az iszaptó egy természetes tó, amelyben biztosított a függőleges testtartás és az iszap fizikai hatása is jobban érvényesül. Az iszapmedence és kád már egy kisebb mesterséges „edény”, amelyekben egy vagy több ember fürödhet, itt már hígabb iszapot kell alkalmazni, ezért az iszap kedvező tulajdonságai kevésbé érvényesülhetnek. Az aktív kezelési formák jelentősen ritkábbak, mint a passzívak.

A leggyakoribb passzív terápia a pakolás vagy göngyölés, az iszappaszta és a rész-pakolás. Mindhárom kezelési forma esetén az iszapot felhordják vagy az egész testre (pakolás, iszappaszta) vagy csak egy adott testrészre. A pakolás és a paszta esetében egy hármas takarást alkalmazva (lepedő-gumilepedő-pokróc), amivel elősegítik az iszap hőjének a megtartását. Az iszappasztát pár mm-es vastagságban, a pakolást kb. 4 cm-es vastagságban

alkalmazzák. A passzív kezelések közé tartoznak még a különböző krémek, szappanok és kenőcsmaszkok is, amelyeknek a jelentősége ma még kisebb, mint az előző formáké [3, 4].

1.8 Gyógyiszapok, gyógyvizek mikrobiológiája

Mind a gyógyiszapok, mind a gyógyvizek, mind az ásványvizek esetében fontos szerepe van a bennük élő élőlényeknek, elsősorban a mikroorganizmusoknak [14]. Ezeknek a mikroorganizmusoknak két nagy csoportját tudjuk elkülöníteni, egyrészt beszélhetünk autochton mikroflóráról, amelybe az adott peloid vagy víz eredeti, abban természetesen előforduló mikroba-közössége tartozik. A másik csoportba azokat a mikroorganizmusokat soroljuk, amelyek kívülről kerülhetnek a vizekbe, peloidokba, ezt allochton mikroflórának nevezzük. Ezeknek a vizeknek és gyógyiszapoknak az autochton flórájáról kevés információval rendelkezünk, vizsgálatokat elsősorban ásványvizekkel végeztek [15]. Ezeknek a mikroorganizmusoknak az ismerete rendkívül fontos lenne, mert szerepük lehet a vizek, peloidok hatásmechanizmusában is, valamint akár korokozó organizmusok is lehetnek. Autochton flóra képviselői elsősorban a termofil és halofil mikroorganizmusok közül kerülnek ki, melyeknek számos új fajtát mutatták ki hazai [16, 17] és külföldi gyógyvizekből [18].

Másik fontos kérdés az allochton szervezeteknek a jelenléte, akár a gyógyvizekben, akár az iszapokban. Ezek a szervezetek számtalan módon bekerülhetnek a vizekbe peloidokba, a kitermelés, szállítás, csomagolás során. Jelentőségük azért fontos, mert közéjük számtalan patogén csoport is tartozhat, melyek súlyos betegségeket okozhatnak. Ásványvizek esetében már számos esetben sikerült kórokozó mikroorganizmusokat kimutatni, melyek a kitermelés, a vízáadó berendezés meghibásodása vagy a palackozás során kerültek a vizekbe [19]. Természetesen a gyógyvizek és gyógyiszapok esetében is nagy a jelentősége ezeknek a kórokozóknak. A 74/1999-es Egészségügyi Miniszteri rendelet [20] gyógyvízzé és gyógyiszappá való minősítés egyik fontos kritériuma a mikrobiológiai tisztaság, amelyet megfelelő tesztekkel igazolni kell, de a rendelet nem tér ki arra, hogy melyek azok az alapvető vizsgálatok melyeket a gyógyvizek és gyógyiszapok esetében feltétlenül el kell végezni. Dirnberger [21] humánpatogén kórokozókat vizsgált mélylári tőzegekben, ezeket a tőzegeket különböző balneológiai céllal használják fel (iszapkúra, iszapkivonatok arckrémekhez). Vizsgálatai során megállapította, hogy az eredetileg patogénektől mentes peloid a kitermelést, csomagolást követően számtalan esetben szennyeződhet kórokozókkal, melyeknek a

megjelenése az iszap eredeti kémiai (pH) és mikrobiológiai tulajdonságának a megváltoztatásával hozhatók kapcsolatba [21].

1.9 Balneoprevenció

A balneoprevenció a balneológiának egy új és egyre ismertebb, fontosabb ága, egy új tudományterület. A balneoprevenciónak kettős jelentősége lehet, egyrészt a még ki nem alakult betegségek megelőzése, továbbá azoknak a komponenseknek az azonosítása, melyek a vizekben, iszapokban előfordulnak és az emberi szervezetre kockázatot jelentenek. A betegségek megelőzése különböző kúrákkal, wellness programokkal érhető el. A betegségek megelőzésben betöltött szerepét elsősorban jól megtervezett epidemiológiai vizsgálatokkal lehet nyomon követni [22].

A balneoprevenció másrészt magába foglalja, azoknak az peloidokban, ásvány- és gyógyvizekben előforduló anyagoknak a detektálását és hatásainak az azonosítását, melyek az emberi szervezetre veszélyesek lehetnek. Megfelelő analitikai módszerekre van szükség, melyekkel a vizek és peloidok komponensei, elsősorban szerves komponensei, megfelelően azonosíthatóak, kimutathatóak. Továbbá fontos a vizek, iszapok toxikológiai, ezen belül öko- és genotoxikológiai vizsgálata, annak érdekében, hogy a használatuk kockázatát mérsékelni tudjuk, esetleg a veszélyes komponenseket ki tudjuk vonni.

A manapság alkalmazott kezeléseket, terápiákat a szervetlenanyag-tartalomra alapozzák, ami erősen megkérdőjelezhető, mert nem ismertek azok a folyamatok, mechanizmusok, amelyek a pozitív hatás (gyógyulás) kialakulásában szerepet játszanak. Arról nem is beszélve, hogy az osztályozás és a terápiás javallat felállítása során sem vették figyelembe a szervesanyag-tartalmat. Ezek a szerves anyagok természetes úton, a vizek, peloidok keletkezésével párhuzamosan jönnek létre, a kialakulásukban a magas hőmérséklet és nyomás fontos tényező. Számos vizsgálat során kimutattak ösztrogénszerű anyagokat, szénhidrogén származékokat, aromás vegyületeket (benzol, xilol stb.) [23], melyek biológiai aktivitása vizekben, iszapokban nem ismert, interakcióikról nem is beszélve. Ezeknek a hatásoknak a detektálásban van fontos szerepe a toxikológiai vizsgálatoknak, a balneológiai toxikológiának vagy balneotoxikológiának.

1.10 Statisztikai adatok a gyógyfürdő-kezelésekről

A hazai gyógyfürdők forgalmáról és az elvégzett kezelések számáról pontos információval nem rendelkezünk, mert az adatközlés önkéntes alapon történik. Az Országos Gyógyhelyi és Gyógyfürdőügyi Főigazgatóság nyilvántartása alapján hazánk 1372 termálkúttal, 385 működő

termál és gyógy- és strandfürdővel, 70 minősített gyógyfürdővel, 17 minősített gyógyhellyel, 207 elismert gyógyvízzel, 224 elismert ásványvízzel és 5 gyógyiszap-kitermeléssel rendelkezik [24, 25].

Fürdőinket három kategóriába sorolhatjuk, a nemzetközi jelentőséggel bíró fürdők közül 17, az országos és regionális jelentőségű fürdők közül 60, a helyi jelentőségű létesítményekből 100 található Magyarországon. A 2009-es év látogatottsági adatai a nemzetközi jelentőségű fürdők esetében 9,5 milliónak, az országos és regionális jelentőségű intézmények esetében 9-10 milliónak és a helyi jelentőségű fürdők esetében kb. 4-4,5 milliónak adódott, az összlátogatottság 23-24,5 millió volt 2009-ben [25].

A Magyar Fürdőszövetség tagjainak önkéntes adatszolgáltatása alapján a 2008-as évben a nettó árbevétel meghaladta az 50 milliárd forintot.

Pontos információval csak a társadalombiztosító által támogatott kezelések (terápia) számáról és az egy lakosra jutó kiadásokról rendelkezünk. A terápiás céllal elvégzett kezelések száma az utóbbi néhány évben jelentős mértékben csökkent, de így is meghaladja a 6,5 milliót a 2012-es évben (IV. táblázat). Annak ellenére, hogy mind a társadalombiztosítási támogatás összege és mind az egy lakosra jutó összes kiadás összege az utóbbi években folyamatosan csökken, még mindig csaknem 4 milliárd forintot fordít a biztosító a különböző terápiákra (V. táblázat) [26, 27, 28].

IV. táblázat Az elvégzett terápiák száma és társadalombiztosítási támogatás összege

Megnevezés	2000	2005	2009	2010	2011	2012
Elvégzett kezelések száma, ezer	7 224,3	8 681,1	7349,6	6 967,4	6 844,1	6558,2
Társadalombiztosítási támogatás összesen, millió Ft	3 105,1	4 758,5	4 037,6	3 927,6	3 921,2	3874,8
Egy lakosra jutó összes kiadás, Ft	304	472	403	393	394	391

A támogatott kezelések köre nagyon széles a gyógyvizes medence- és fürdőkezelésektől egészen a csoportos gyógyúszásig sok minden megtalálható benne (V. táblázat). A gyógyvízzel történő kezelések és az iszappakolás adja a kezelések közel felét, az utóbbi három évben a gyógyvizes terápiák száma csökkenő tendenciát mutat, ezzel szemben a peloidok alkalmazása gyakoribb lett.

V. táblázat A különböző balneológiai kezelések száma 2009 és 2012 között

Ellátás formája	Elvégzett kezelések száma, ezer 2009-ben	Elvégzett kezelések száma, ezer 2010-ben	Elvégzett kezelések száma, ezer 2011-ben	Elvégzett kezelések száma, ezer 2012-ben
Gyógyvizes gyógymedence	2 544,6	2 344,7	2 255,7	2801,4
Gyógyvizes kádfürdő	9,7	8,5	7,2	6,6
Izappakolás	482,6	487,8	513,0	521,4
Súlyfürdő	236,6	218,8	225,9	230,0
Szénsavas fürdő	82,7	85,3	93,1	90,8
Orvosi gyógymassázs	1 973,0	1 828,8	1 746,5	1601,5
Víz alatti vízszugármassázs	588,9	563,7	544,6	520,0
Víz alatti csoportos gyógytorna	638,1	612,9	609,7	596,9
Komplex fürdőgyógyászati ellátás	228,0	230,3	263,8	273,3
18 éves kor alatti csoportos gyógyúszás	565,4	586,5	584,6	602,3
Országos összesen	7 349,6	6 967,4	6 844,1	6558,2

Bár összességében mind a kezelések száma, mind a ráfordított kiadások csökkentek, még mindig nagyon jelentős az a pénzmennyiség, amit a költségvetés balneológiai terápiára fordít. Arról nem is beszélve, hogy mekkora összeget fordíthatnak a magyar és a külföldi vendégek gyógyturisztikai szolgáltatásokra. Erről sajnos pontos statisztika nem áll rendelkezésünkre. Ezeknek az adatoknak az ismeretében is jogos az az elvárás, hogy minél több információval rendelkezünk vizeinkről, peloidjainkról. Fontos lenne a minél pontosabb összetétel megismerése, a különböző komponensek hatásának és a bőrön keresztül történő felvételének a megismerése. A toxikológiai kérdések, kockázatok tisztázása is fontos a biztonságos

felhasználás szempontjából. Ezek az adatok mind a terápiás, mind a prevenciók célokat elősegítenék és hosszú távon gazdasági jelentőséggel is bírnak.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálataink során célul tűztük ki különböző gyógyiszapok és gyógyvizek *in vivo* és *in vitro* körülmények közötti vizsgálatát különböző biológiai végpontok alkalmazásával. Továbbá a gyógyiszapok mikrobiológiai kockázatbecslését. A vizsgálatainkban az alábbi kérdésekre akartunk választ kapni.

1. Kimutatható-e a felhasználásra kerülő iszapok mikrobiológiai kockázata, van-e jelentős különbség az iszapokban előforduló indikátor csoportok számában?
2. Alkalmazhatóak-e az ökotoxikológiában használt talajtoxikológiai tesztek peloidok toxikológiai vizsgálatára?
3. Kidolgozható-e olyan eljárás üstökös gélelektroforézisre, amely segítségével a gyógyiszapok *in vivo* és *in vitro* kockázatbecslése elvégezhető?
4. Kimutatható-e genotoxikológiai kockázat különböző gyógyvíz-koncentrátumok esetében Ames tesztben és üstökös gélelektroforézisben?
5. Milyen kísérleti modellben vizsgálhatjuk a gyógyvíz-koncentrátumok UV-expozícióhoz köthető biológiai hatást módosító szerepét?

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

Munkánk során az öt hazai gyógyászati forgalomban lévő iszap közül kettőt vizsgáltunk ökotoxikológiai és genotoxikológiai tesztekkel. A két minta a kolopi és a hévízi gyógyiszap volt. Hazánkban az iszapok két fő csoportja fordul elő, az egyik a szervesetlen peloidok csoportja, ide tartozik a kolopi, marosi és a hajdúszoboszlói peloid. A másik csoportot a hévízi iszap képezi, mely jelentős szerves és szervesetlen tartalmával a kevert iszapok közé sorolható [3, 4].

3.1 Vizsgált peloidok és gyógyvizek tulajdonságai

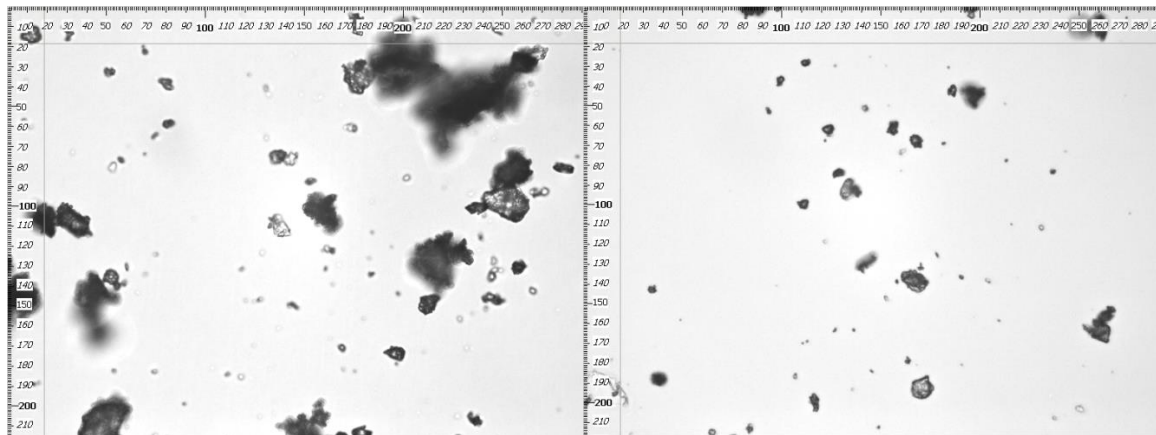
3.1.1 Kolopi iszap

A kolopi iszap eredetét és összetételét 10.1-es számú függelék tartalmazza.

Az iszap fizikai tulajdonságai közül a szemcsenagysága, plasztikus tulajdonsága, jó kenhetősége, és rádiumtartalma teszi alkalmassá balneológiai kezelésekre. Az iszap szemcsenagysága és eloszlása több mint 90%-ban az gyógyászati szempontból az ideális tartományba (0,02-0,002 mm) esik (VI. táblázat). Saját mikroszkópi felvételeinken a szemcsék alakja és nagysága is jól látható (5. ábra).

VI. táblázat A kolopi iszap szemcsenagysága és eloszlása [29]

Szemcsenagyság	
>0.02 mm	13.80%
0.02-0.002 mm	18.10%
<0.002 mm	60.00%
vesztesség	8,10%



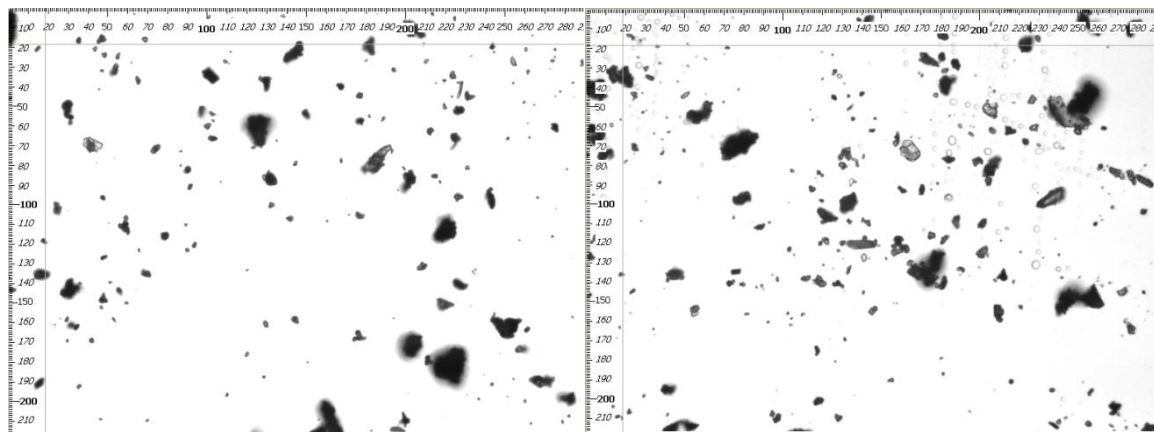
5. ábra Kolopi iszap szemcsemérete 40x-es nagyítással, a baloldali felvétel a nagyobb szemcséket, a jobboldali a kisebb szemcséket mutatja

3.1.2 Hévízi iszap

A hévízi peloid összetételét és eredetét a 10.2-es számú függelék tartalmazza. Az iszap fizikai tulajdonságai közül jelentős a duzzadóképesége, vízmegkötő-képesség és hőtároló-képessége, amelyek iszapgöngyölésre alkalmassá teszik. Szemcsenagysága és eloszlása is ideálissá teszi iszapkezelésekre (VII. táblázat, 6. ábra).

VII. táblázat A hévízi iszap szemcsenagysága és eloszlása

Szemcsenagyság	
1 mm<	1,10%
1-0,63 mm	2,40%
0,63-0,32 mm	3,90%
0,32-0,20 mm	5,50%
<0,20 mm	87,10%



6. ábra Hévízi peloid szemcsemérete 40x-es nagyítással

3.1.3 Kakasszéki gyógyvíz

A Kakasszéki Gyógyintézet vizének összetételét és eredetét a 10.3-as számú melléklet tartalmazza. A víz igen jó hatású a különböző mozgásszervi betegségeknél, poszttraumás elváltozásoknál, krónikus nőgyógyászati gyulladásoknál, továbbá bőrgyógyászati kórképeknél (ekzema, psoriasis) is [30].

3.1.4 Gyopárosfürdői gyógyvíz

Gyopárosfürdői gyógyvíz eredetét és összetételét a 10.4-es számú függelék tartalmazza. A fürdő vizét széles körben alkalmazzák, mozgásszervi, nőgyógyászati, urológiai, bőrgyógyászati és idegrendszeri betegségekben szenvedők számára egyaránt jótékony hatással bírhat [31].

3.2 Vizsgálati módszerek

3.2.1 Gyógyiszapok mikrobiológiai vizsgálata

Mivel 74/1999-es rendelet [20] pontosan nem tér ki azokra a mikroorganizmusokra, melyek előfordulása nem kívánatos az iszapokban, ezért vizsgálatainknál a 201/2001. (X. 25.) Kormányrendeletet [32], amely az ivóvíz minőségi követelményeiről és az ellenőrzés rendjéről szól, valamint a 65/2004. (IV. 27.) FVM-ESzCsM-GKM [33] együttes rendeletét vettük alapul, amely természetes és mesterséges ásványvíz, forrásvíz és ivóvíz palackozásának és forgalomba hozatalának szabályára vonatkozik. Ebben a rendeletben már meghatározásra kerül néhány indikátor csoport, melyeket a vizek esetében vizsgálni kell. Kísérleteinkben nem közvetlenül a patogén mikroorganizmusokat vizsgáltuk, mert ezeknek a száma általában alacsony, ezért a kimutatásuk nehezebb lenne. A patogének közvetlen kimutatása helyett elsősorban indikátor vizsgálatokat végeztünk, mert ha ezek a mikroorganizmusok jelen vannak, akkor nagy valószínűséggel patogének is találhatóak a mintákban. Vizsgálataink során általános talajmikrobiológiai módszereket [34] alkalmaztunk, amelyeket saját vizsgálataink céljának megfelelően módosítottunk.

3.2.1.1 Össztelepszám

Össztelepszám alatt a 37 °C-on 48 óra alatt képződött mezofil és heterotróf telepek számát értjük. A képződött telepek között baktériumokat és gombákat is találunk [35]. A vizsgálathoz tápagart használunk, mely 10 g peptont, 15 g agart és 5 g NaCl-ot tartalmaz, a pH-ja 7,2 (VIII. táblázat). Lemezöntéses technikát alkalmaztunk, melynek során a talajból szuszpenziót készítettünk és ebből 1 ml-t pipettáztunk Petri-csészébe és hozzá öntöttük a 40 °C-os tápagart, majd a mintát a táptalajjal alaposan homogenizáltuk. Az inkubálás 37 °C-on 48 óráig tartott, majd ezt követően megszámloltuk a képződött telepek számát, amit 1 g iszapra adtunk meg.

3.2.1.2 Coliformszám

A coliformszám vizsgálata során olyan indikátor baktériumokat mutatunk ki, melyek jelenléte friss fekális szennyeződésre utal. Ezek a baktériumok melegvérű állatok bélrendszerében élnek. Vizsgálatuk Endo-agaron történik (VIII. táblázat), mely laktózt és bázikus fukszint tartalmaz. Ezek a baktériumok képesek a laktózt fermentálni, mely során gáz és sav termelődik, mely megváltoztatja a táptalaj pH-ját és így a fukszin fekete színű lesz, amelyet a fekete, fémfényű telepek jeleznek. Ezeket a fekete telepeket számoljuk és a coliformszámot is 1 g peloidra vonatkoztatva adjuk meg. A teszt során, az előzőleg szűrőpapíron átszűrt 250 ml talajszuszpenziót (1g/100 ml) Zsigmondy-szűrővel membránfilteren átszűrtünk, majd a

membrán-korongot Endo-agarra helyeztük, és a táptalajt 37 °C-on 48 órán át inkubáltuk és ezt követően számoltuk a képződött telepeket.

3.2.1.3 Enterococcus-szám

Ez a vizsgálat is egy indikátor vizsgálat a fekális szennyeződésre, de az enterococcusok jelenléte egy régebbi szennyeződésre utal, mert ezek a baktériumok hosszabb időt képesek vízben, iszapban túlélni, mint a coliformok. Vizsgálatuk enterococcus táptalajon történik (VIII. táblázat), mely TTC-t (trifenil-tetrazolium-klorid) és nátrium-azidot tartalmaz. A nátrium-azid szelektívvé teszi a táptalajt, melyen csak enterococcusok képesek növekedni. Ebben a vizsgálatban is a membránszűrési technikát alkalmaztuk, mely során Zsigmondy-szűrővel membrán filteren átszűrtünk 250 ml talajszuszpenziót (1g/100ml) és a Petri-csészéket 37 °C-on 48 órán keresztül inkubáltuk. Természetesen a talajszuszpenziót ebben a vizsgálatban is először szűrőpapíron keresztül szűrtük meg. A képződött telepeket, melyek a táptalaj TTC-tartalma miatt barnás, vöröses színűek, számoltuk meg. A telepszámot 1 g peloidra vonatkoztatva adtuk meg.

3.2.1.4 Clostridium-szám

Ebben a vizsgálatban az anaerob spóráképző szulfitredukáló baktériumokat vizsgáltuk. Ide tartoznak a Clostridium fajok, melyek számos talajban és a kérődzők bélcsatornájában élnek. Számos fajuk termel toxint, amely súlyos megbetegedéseket képes okozni pl.: C. botulinum, C. tetani, C. difficile. Vizsgálataink során a gyári SPS agart használtuk, mely az eredeti Wilson & Blair táptalaj módosított változata clostridiumok kimutatásához. Az SPS agar egy szelektív agar (VIII. táblázat), amely elsősorban C. perfringens kimutatására szolgál, de mivel nem szélsőségesen szelektív, így más clostridiumok is nőhetnek a táptalajban. Vizsgálataink során a talajszuszpenzióból 0,5 ml-t adtunk a megolvasztott és 40 °C-ra lehűtött táptalajhoz, melyet 24 órán keresztül 37 °C-on inkubáltunk. A képződött telepeket a táptalaj feketedése alapján számoltuk és 1 g talajra adtuk meg a Clostridium-számot.

VIII. táblázat A mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok összetétele

Tápagar (Össztelepszámhoz)		Endo-agar (Coliformszámhoz)		Enterococcus-agar		SPS agar (Clostridiumhoz)	
Pepton	10 g	Bactopepton	5 g	Triptóz	20 g	Nátrium-szulfít	0,5 g
Agar	15 g	Agar	16 g	Agar	12 g	Agar	15 g
NaCl	5 g	NaCl	5 g	Élesztő-kivonat	5 g	Polymixin (B)-szulfát	0,1 g
		Lab Lemco' Powder	5 g	D-Glükóz	2 g	Nátrium-szulfadiazin	0,12 g
		Sterilezés után:		Kálium-dihidrogén-foszfát	4 g	Kazein-pepton	15 g
		Nátrium-szulfít	2,5 g/8 ml vízben oldva	Nátrium-azid	0,4 g	Élesztő-kivonat	10 g
		Bázikus fukszin	5 ml (10 g fukszin/200 ml alkohol)	TTC	lehülés után 1%-os oldat	Vas(II)-citrát	0,5 g
						Nátrium-tioglikolát	0,1 g
						Poliszorbát 80	0,05 g
végző pH	7,2	végző pH	7,0-7,2	végző pH	7,0-7,2	végző pH	7,0

3.2.2 Ökotoxikológiai tesztek

Munkánk során két ökotoxikológiai tesztet alkalmaztunk. Mindkét vizsgálati módszer a klasszikus talajtoxikológiai tesztek közé tartozik. Az egyik a trágyagiliszta vagy *Eisenia* teszt, a másik a fehér mustár csírázási és gyökérnövekedési teszt volt. Mindkét teszt esetében több vizsgálati végpontot is mértünk. A legtöbb vizsgálat esetében mesterséges talajt alkalmaztunk, amelynek az összetétele IX-es számú táblázatban látható („artificial soil” OECD 1984).

IX. táblázat „Artificial soil” százalékos összetétele (OECD Guideline for Testing of Chemicals, 1984)

10%	Sphagnum tőzeg (pH 5,5 és 6,0 között) finomra aprítva
20%	Kaolin (30% feletti kaolinit tartalommal)
0,50%	Kalcium-karbonát (a pH 6,0±0,5-re beállítása érdekében)
69,50%	Finom homok (legalább 50%-ban 200 µm- nél kisebb szemcseméret)

A standard talaj alkalmazásának számos előnye van, többek között pontosan ismert az összetétele, szemben a természetes talajokkal, melyek jelentősen eltérnek egymástól, továbbá jól szabályozható a pH-ja és nem tartalmaz mérgező anyagokat vagy olyanokat, melyek a vizsgált organizmusok fejlődését, szaporodását befolyásolnák.

3.2.2.1 Fehér mustár gyökérnövekedési teszt

A fehér mustár gyökérnövekedési teszt egy egy fajt alkalmazó, növényi, akut toxicitási teszt, amelyben a fehér mustármagját használjuk (*Brassicaceae: Sinapis alba*). Teljes talajok, talajkivonatok és vizek vizsgálatára is alkalmas ez a módszer. A teszt időtartama 72 óra.

Laboratóriumi feltételek

A laboratórium levegőjének optimális hőmérséklete a magok csírázásához 20-25 °C, külön megvilágításra nincs szükség.

Tesztparaméterek

Vizsgálati végpontként a kicsírázott magok számát és a 72 óra alatt képződött gyökerek hosszát figyeltük meg.

A vizsgálat menete

A vizsgálatokat két lépésben végeztük először, a mintáinkból desztillált vízzel talajkivonatot készítettünk és ezt teszteltük a mustármagokkal, majd teljes talajon is elvégeztük a kísérletet. A vizsgálandó iszapokat 105 °C-on tömegállandóságig kiszárítottuk, majd 4 g száraz iszaptól 20 ml desztillált vízzel egy órán keresztül tartó rázatással talajkivonatot készítettünk.

Ebből a kivonatból minden Petri-csészébe 3 ml-t cseppentettünk szűrőpapírra és erre helyeztük a 30-30 mustármagokat. Kontrollként desztillált vízzel átitatott szűrőpapírt használtunk. Ezt követően a csészéket szobahőmérsékleten 72 órán keresztül, teljes sötétségben inkubáltuk. A vizsgálat végén megszámloltuk a kicsírázott magok számát és lemértük vonalzóval a képződött gyökerek hosszúságát mm-es pontossággal és kiszámoltuk a növekedés százalékos arányát [36, 37, 38].

Második ütemben a talajokat közvetlenül, mindenféle átalakítás nélkül vizsgáltuk, a mintákból 10 g-ot mértünk be Petri-csészénként és erre helyeztük a mustármagokat. Kontrollként mesterséges talajt alkalmaztunk.

Az inkubálás ebben az esetben is 72 órán keresztül, teljes sötétségben tartott és a kísérlet végén itt is a kicsírázott magok számát és a képződött gyökerek hosszúságát vettük figyelembe [36, 37, 38].

3.2.2.2 Eisenia teszt

Az *Eisenia* teszt is egy egy fajt alkalmazó talajtoxikológiai teszt, amely akut és krónikus vizsgálatokra is alkalmas, a trágyagiliszta az egyik legjobb indikátorfaja a talajszennyezéseknek [39, 40, 41, 42]. Ezt a vizsgálatot elsősorban különböző peszticidek [43] és nehézfémek [44] tesztelésére használják, mivel ezekre a vegyi anyagokra az állatok fokozottan érzékenyek.

Laboratóriumi feltételek

Az állatok táplálkozási aktivitását, szaporodását és anyagcseréjét döntően befolyásolja a környezet hőmérséklete, ezért mind a tenyésztés, mind a kísérlet során biztosítani kell az optimális 20-25 °C-os hőmérsékletet.

Az trágyagiliszták esetében a médium nedvességtartalmának 60-70% körülnek kell lennie. Az optimális nedvességtartalom jelentősen befolyásolja a vizsgált talaj fizikai, kémiai tulajdonságát, ezért a minta nedvességtartalmát rendszeresen ellenőrizni kell. A rendszeres ellenőrzés mellett a megfelelő páratartalom és talajnedvesség biztosítása a szellőzőnyílásokkal ellátott műanyag dobozok használatával lehetséges.

A megvilágítás intenzitásának és a sötét-világos időszakok hosszának az *Eiseniák* életfolyamata, szaporodása szempontjából nincs jelentősége.

A kísérleti állatok biológiája, tenyésztése

Az trágyagiliszta (*Oligochaeta, Lumbricidae: Eisenia fetida* vagy *foetida*) biológiája jól ismert és laboratóriumi körülmények között is jól tenyészthető [45, 46, 47].

Optimális környezeti feltételek mellett (25 °C, 70%-os nedvességtartalom, megfelelő táplálék) a zigótától az ivarérettség eléréséig terjedő időszak körülbelül 40-60 nap, a párzás követően az első kokonok (petetokok) 4 nap múlva kerülnek lerakásra.

A trágyagiliszták hímnős állatok, a megtermékenyítés kölcsönösen történik, majd ezt követően mindkét egyed létrehoz kokont. A kokonok inkubációs ideje a fejlődésig átlagosan 23 nap, a teljes fejlettség eléréséhez szükséges idő 67-87 nap. A petetokokból kikelő utódok átlagos száma 3. Az ivarérett egyedek kb. 100 napos koruktól hetente átlag 2,5 kokont termelnek, amelyből átlagosan 7,5 utód kel ki. A kikelő giliszták átlagos testtömege 2,8 mg, amely 100 napos korukra már elérheti a 600 mg-ot is és egy éves korukra az 1000 mg-ot is meghaladja. Szaporodásuk intenzitása 500 napos koruk körül csökken, életidejük pedig nem éri el a 600 napot.

Tenyésztésük [48, 49] szellőzőnyílásokkal ellátott műanyag edényekben történik 20-25 °C-on. Az edényekben az „artificial soil” helyett úgynevezett semi-natural soilt alkalmazunk, mely jobban megfelel a természetes viszonyoknak. A semi-natural soil tőzeg és szikkasztott lótrágya 1:1 arányú keveréke. Ebben a médiumban a 200 mg körüli állatok testtömege 2 hét alatt több, mit kétszeresére, 4 hét alatt két és félszeresére növekszik, kokon-termelő képességük eléri a heti 2,5-et.

Tesztparaméterek

Az *Eisenia* teszt egyik nagy előnye, hogy akut és krónikus vizsgálatokra is alkalmas és több végpont is mérhető ezekben a vizsgálatokban.

A letalitás vizsgálata

A toxikológiai vizsgálatok egyik legdurvább, de legkönnyebben detektálható paramétere. Ebben az esetben az időegység alatt elhullott állatok számát és a túlélő állatok számát hasonlítjuk a kontroll állatszámához. Akut és krónikus tesztekben is jól alkalmazható végpont.

Különböző talajok vizsgálata esetén az állatoknak az elhullása nem minden esetben a vizsgálatok kezdetén történik, mert a talajok abszorpciós képessége jelentősen befolyásolja a felszívódásra kerülő anyagok mennyiségét. Ezért is van jelentősége a hosszabbtávú (krónikus) vizsgálatoknak is a letalitás szempontjából is.

Mivel a különböző korú, fejlettségű egyedek más és más érzékenységgel rendelkeznek, a tesztek során csak azonos testtömegű és korú állatokat használunk.

Az állatok pusztulását a vizsgált médium alacsony tápértéke is okozhatja, de mivel az állatok jól viselik az éhezést, nem jelent problémát a krónikus vizsgálatok esetében sem.

Szubletális hatások vizsgálata

Szubletális hatásokat csak krónikus tesztek esetében vizsgáljuk, amikor az állatok nem pusztulnak el és olyan jól mérhető elváltozások keletkeznek, melyek jól összehasonlíthatóak a kontroll egyedek adataival. A szubletális paraméterek érzékenyebb és pontosabb jelzői az adott anyag hatásának, mint a letalitás.

Szubletális végpontként a testtömegben bekövetkező változás mértékét és az kifejlett egyedek szaporodási ütemét vehetjük figyelembe.

Az állatok tömeggyarapodását és termékenységét a vizsgált közeg paraméterei, valamint a jelenlévő toxikus komponensek jelentősen befolyásolják. Ezért ezek a paraméterek nem szennyezett környezetben a tápanyag-ellátottságnak, optimális tápanyag ellátás mellett a közeg toxikus komponenseinek az indikátorai lehetnek.

Mivel a testtömeg változását és a reprodukciós képességet hőmérséklet és a közeg nedvességtartalma is befolyásolja, ezért a vizsgálatokat mindig azonos hőmérséklet és nedvességtartalom mellett kell elvégezni.

A vizsgálat menete

Vizsgálati mintánk a hévízi és a kolopi gyógyiszap volt. Mivel a hévízi iszap szervesanyag-tartalma jelentősen magasabb (20% körüli), ezért ezzel az iszappal végeztünk egy előkísérletet, azzal a céllal, hogy meg tudjuk állapítani, hogy a természetes szervesanyag-tartalma az *Eiseniák* számára megfelelő-e.

Előkísérlet a hévízi gyógyiszappal

A vizsgálat során a 10-10 trágyagilisztát telepítettünk 500 g tesztközegbe, az egyik minta 100%-ban hévízi peloidot, a másik 90%-ban iszapot és 10%-ban *Sphagnum* tőzeget tartalmazott. Mindkét minta esetében mértük a giliszták testtömegét heti rendszerességgel és a vizsgálat harmadik hetétől számoltuk a képződött kokonok számát. A kapott eredményeket a kontroll csoport értékeivel vetettük össze.

Hévízi és kolopi iszap vizsgálata

Az előkísérlet eredményei alapján állítottuk össze a második vizsgálat tesztközegét. Minden egyes mintából három párhuzamos tesztedényt állítottunk be, minden tesztedénybe 10-10 állatot telepítettünk, melyeknek az átlag testtömege 200 mg volt. A hévízi és a kolopi peloidokból is 300 g-hoz 200 g lótrágyát mértünk és ezekbe helyeztük a kísérleti állatokat. A kontroll is tartalmazott 200 g lótrágyát, melyet 300 g mesterséges talajjal (artificial soil) egészítettünk ki 500 g-ra.

Tesztparaméterként a letalitás alakulását, a testtömegben bekövetkező változások mértékét és a reprodukciós képességet kísértük figyelemmel. A túlélő egyedeket hetente számoltuk és lemértük század mg pontossággal a testtömegüket. A harmadik héttől a hetente lerakott kokonok számolásával követtük nyomon a szaporodási aktivitást.

Az eredményeket ebben az esetben is a kontrollhoz viszonyítottuk, amelyből statisztikai elemzést végeztünk.

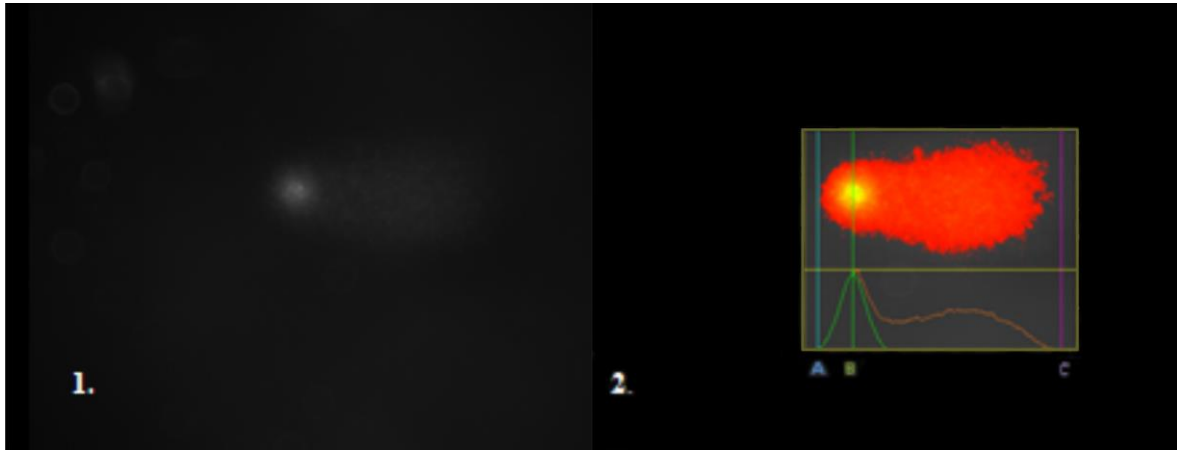
Statisztikai elemzés

Az eredmények statisztikai értékeléséhez a Microsoft Excel kétmintás t-próbáját alkalmaztuk. A szignifikánsnak a $p < 0,05$ értéket tekintettük.

3.2.3 Genotoxikológiai vizsgálatok

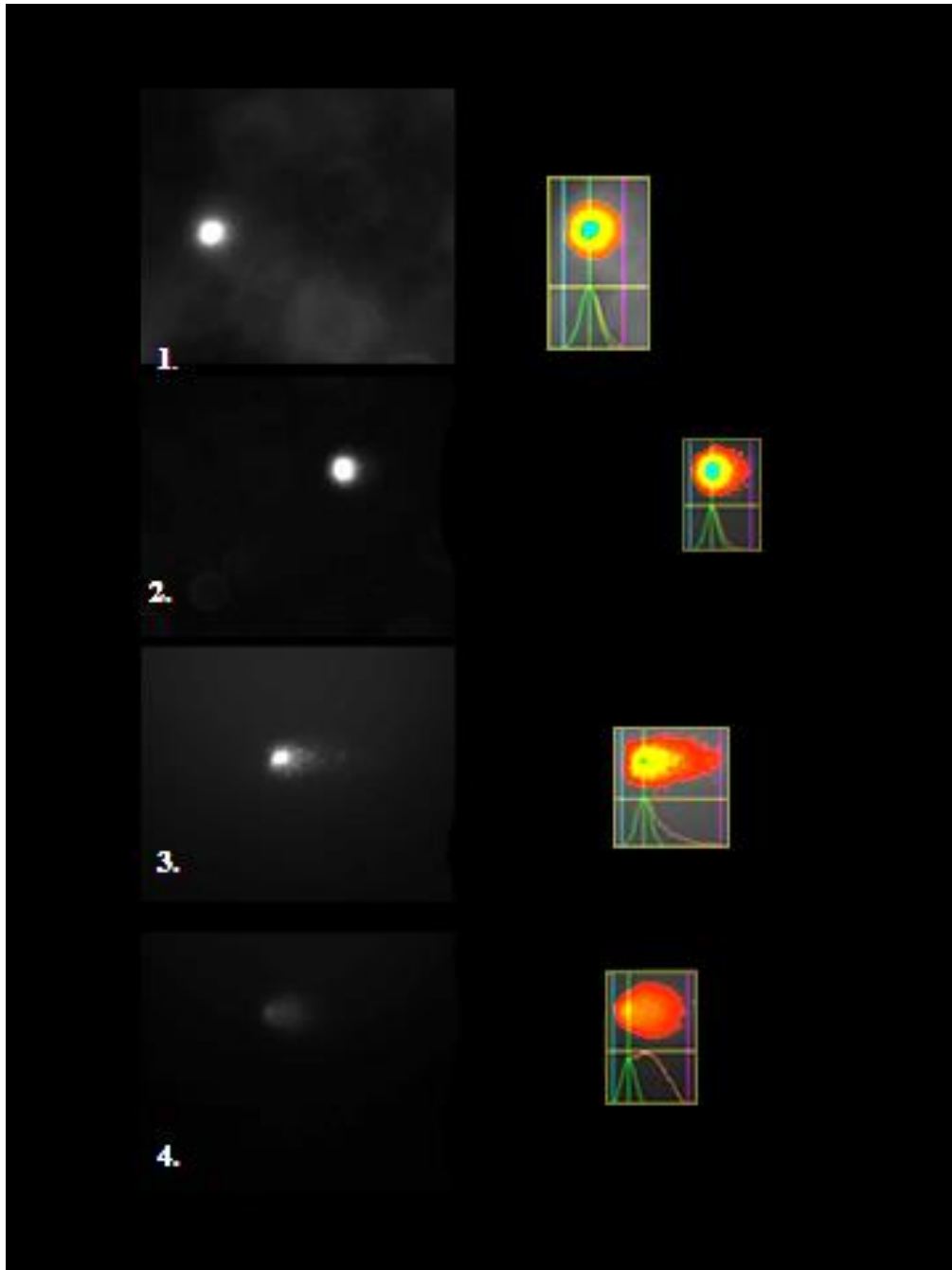
Genotoxikológiai vizsgálatunk az üstökös gélelektroforézis más néven comet assay volt, mellyel a DNS-ben történő száltöréseket tudjuk kimutatni, mely a DNS-károsodás a

biomarkere (7. ábra). Az üstökös gélelektroforézis alkalikus verzióját használtuk, mely alkalmas az egyszálú és a dupla-szálú DNS törések kimutatására is. A módszer nagy előnye, hogy mindig egyedi sejtekről kapunk információkat és a különböző fokú DNS-károsodások kimutatására is alkalmas [50].



7. ábra Egy károsodott sejtről készült felvétel (1.) (üstökös) és a számítógépes programmal kiértékelt felvétel (2.), ahol A: az üstökös fejének a kezdőpontja, B: a fej középpontja és C: az üstökös csóvájának a vége (400 X)

A DNS károsodásának a mértéke különböző fokú lehet, amelyet a 8. számú ábrán szemléltetünk.



8. ábra Különböző mértékben károsodott DNS-ek. 1. ép DNS, 2. kismértékben károsodott DNS, 3. jelentősen károsodott DNS, 4. apoptotikus sejt (400 X)

3.2.3.1 Gyógyiszapok vizsgálata üstökös-elektroforézissel

Vizsgálataink során a kolopi és a hévízi iszap *in vitro* és *in vivo* DNS-károsító hatását vizsgáltuk emlős limfocitán (humán, patkány) és trágyagiliszta cölomasejteken.

Limfociták vizsgálata

In vitro vizsgálataink során a perifériás teljes vérben jelenlévő emlős limfocitákra kifejtett hatást vizsgáltuk. A vizsgálatot humán és patkány limfocitákon is elvégeztük, mindkét esetben ugyanazt a metodikát alkalmaztuk. Mivel az irodalomban számtalan eltérő metodika lelhető fel [51, 52], ezért saját módszerünket alkalmaztuk a kísérletek során. A vizsgálatainkat sötétben végeztük azért, hogy az UV-sugárzás hatását kizárjuk. Munkánk során a szendvics agaróz gél struktúrát alkalmaztuk, mely azt jelenti, hogy két különböző olvadáspontú gélt 3 rétegben vittünk fel maratott tárgylemezre. Az alsó réteg (150 μ l), amely egy normál olvadáspontú agaróz gél (NMA) volt, tartalmazta a vizsgálandó iszapmintákat 10 mg iszap/1 ml gél koncentrációban. A következő réteg (75 μ l) már egy alacsony olvadáspontú gél (LMA) volt, melyhez hozzákevertük a limfocitákat 60 μ l vér/ ml koncentrációban. A patkány esetében farkból nyert vérrel, míg embernél ujjbegyből vett vérrel dolgoztunk. A harmadik agaróz réteg (75 μ l) ismét egy LMA volt, amely már nem tartalmazott sem vizsgálati mintát, sem vért. Minden egyes réteg felvitelét követően, a még folyékony géltre egy nagyméretű fedőlemezt helyeztünk, mellyel a gél egyenletes szétterülését értük el. A gél megszilárdulását követően (5-10 perc) a fedőlemezt eltávolítottuk, és felhelyeztük a következő réteg agaróz gélt. A harmadik réteg felhelyezését követően a lemezeket nedves kamrában, 37 °C-on inkubáltuk egy órán keresztül. Ez idő alatt az iszapban előforduló potenciálisan genotoxikus anyagok kifejthették hatásukat a limfocitákra. Az inkubálást követően a lemezeket nagy koncentrációjú sóoldatba, úgynevezett lizáló oldatba helyeztük, amelyben a sejtek lízise történt. A sóoldatot minden vizsgálat során frissen készítjük és 4 °C-on tároljuk benne a tárgylemezeket. Az oldat 1% nátriumszarkozinátból, 2.5 M NaCl-ből, 100 mM Na₂-EDTA-ból, 1% Triton X-100-ból, 10% DMSO-ból és 10 mM Tris-ből áll. A lízist legalább 1 órán keresztül 4 °C-os hűtőben végezzük. Miután szabaddá tettük a DNS-t, elvégezzük az elektroforézist lúgos körülmények között. A futtatókádat megtöltjük puffer oldattal (200 mM EDTA, 10 N NaOH, pH 10), majd a tárgylemezeket óvatosan a kádba helyezük az anódhoz közel, és a lemezeket ebben a pufferben hagyjuk állni 20 percen keresztül. A 20 perc letelte után az elektroforézist 40 percen keresztül végeztük 0,46 V/cm-rel, 132 mA áramerősséggel, teljes sötétségben. A futtatást követően a mintákat festőállványon neutralizáló oldattal cseppenként lefedtük, és 5 percig állni hagytuk ebben a pufferben. Majd leitattuk a

tárgylemezeket és ezt a folyamatot még kétszer ismételtük. Végezetül etidium-bromiddal megfestettük a mintákat, amely majd a mikroszkópban zöld gerjesztőfény hatására vörösen fog fluoreszkálni. Fluoreszcens mikroszkóppal 400x nagyítás mellett vizsgáltuk a sejtmagokat. Megfelelő számítógépes program alkalmazásával a mikroszkópban látott képekről felvételeket készítettünk, melyeket a későbbiekben a program (Comet assay IV. Perceptive Instruments Ltd.) segítségével elemezni tudtunk. Az elemzés során végpontként a fej és a csóva intenzitás arányát, a tail momentet (TM) határoztuk meg és ezeket elemeztük statisztikailag. Kísérletünkben negatív és pozitív kontrollt is alkalmaztunk. Negatív kontrollként a kezeletlen limfociták szolgáltak, pozitív kontrollként 0,6% mmol-os H₂O₂ oldatot használtunk, melyben a sejteket 10 percig exponáltuk.

Cölomasejtek vizsgálata

Vizsgálataink során a gilisztákat 3 hétre kolopi és hévízi iszapot tartalmazó edénybe telepítettük, a peloidon kívül a közeg mást nem tartalmazott. Ezt követően a testfal pórusain keresztül kivontuk a cölomasjetekeket és elvégeztük velük a Comet assay-t.

A cölomasejtek izolálására Fourie és munkatársai által kidolgozott módszert alkalmaztuk kis módosításokkal [53].

A három hét letelte után a megtisztított állatokat a sejtek kivonására alkalmas oldatba helyeztük. A 1-1,5 ml extraháló oldatban (95% PBS, 5% abszolút etanol, 2,5 mg/ml EDTA és 10 mg/ml gvajakol-glicerín-éter) az állatok 3-5 percet töltöttek. Ezt az extraktumot (20 µl) adtuk a középső réteg agaróz gélhez, és a további lépéseket a limfocita-vizsgálatokhoz hasonlóan végeztük.

Negatív kontrollként kezeletlen, „artificial soil-ba” telepített állatokat, pozitív kontrollként 0,6% mmol-os H₂O₂ oldatot használtunk, melyben a cölomasejteket 10 percig exponáltuk.

Statisztikai elemzés

Az eredmények értékeléséhez az SPSS Statistics 19 program Mann-Withney U statisztikai próbáját használtuk [53] és az eredmények ábrázolásához a Microsoft Excel 2010-es programját alkalmaztuk. Szignifikánsnak a p<0,05 szintet tekintettük.

3.2.3.2 Gyógyvíz- és termálvíz-koncentrátumok genotoxikológiai vizsgálata és lehetséges szerepük az UV-sugárzás elleni védelemben

Intézetünkben korábban már vizsgáltuk a gyopárosi gyógyvíz potenciális mutagén hatását és az UV-expozíció elleni védelemben betöltött szerepét Salmonella Ames mutagenitási tesztben [54].

Jelen munkánk során azonos metodikát alkalmazva Ames teszttel vizsgáltuk a kakasszéki kivonat mutagén hatását és jelentőségét az UV-sugárzás elleni védelemben.

Továbbá vizsgáltuk ezeknek a koncentrátumoknak (gyopárosfürdői, kakasszéki) az esetlegesen felmerülő genotoxikus hatását és védő szerepét az UV-sugárzással szemben üstökös gélelektroforézis segítségével.

Gyógy(termál)víz-töményítés

Vizsgálataink során a felhasznált gyógyvizekből, termálvizekből 1000-szeres töménységű koncentrátumot hoztunk létre. A koncentrációhoz különböző típusú XAD műgyantákat használtunk, melyeket vizek és vizes oldatok szervesanyag-tartalmának töményítésére használnak [55, 56, 57]. Különböző típusú gyanták léteznek, melyek különböző szerves komponensek megkötésére képesek. Munkánk során a XAD-4-es és a XAD-1180-as jelzésű műgyantákat alkalmaztuk. A XAD-4-es gyanta egy sztirol-divinilbenzol kopolimer alapú apoláros vegyület, mely kisebb molekulák (pl: fenolszármazékok) adszorpciójára használható. A XAD-1180-as gyanta szintén egy sztirol-divinilbenzol kopolimer alapú műgyanta, amely nagy (>1000D) molekulák megkötésére jobban alkalmas. A gyantákat felhasználás előtt acetonban, éterben és metanolban Soxhlet-extraktorban átmostuk, felhasználásig metanolban tároltuk. A kromatográfias oszlopba a kéttípusú gyanta 1:1 arányú keverékét mértük be. Ezt követően engedték át a vizsgálandó gyógyvizet 1 ágytérfogat/perc sebességgel. A teljes átfolyás után 1 ágytérfogatnyi 96%-os analitikai tisztaságú etanollal oldottuk le a megkötött anyagokat az oszlopról. Az elúciós idő 10 perc volt, majd ezt követően az etanos mintát leengedtük az oszlopról és 4 °C-on, sötétben tároltuk felhasználásig a mintáinkat.

Germicidlámpa

A germicidlámpát elsősorban légterek fertőtlenítésére használják (műtők, várók). A lámpa sugárzása az UV-C és UV-B tartományba esik. Ez a tartomány alkalmas baktériumok, vírusok és gombák elpusztítására, mert a sugárzás roncsolja a kórokozók DNS-ét. A lámpa intenzitása 15 cm-es távolságból UV-B:0,65 MED/HR (SOLAR LIGHT CO. INC. SUV/UVA Meter Model 3D készülékkel mérve, UV-C tartományba nem mér a készülék). Munkánk során a

keratinociták besugárzására germicidlámpát használtuk. Az általunk használt lámpa típusa: Philips TUV 30 W Germicide G30 T8.

3.2.3.2.1 Gyógyvízkivonatok vizsgálata Salmonella Ames mutagenitási tesztben

Salmonella Ames teszt

A Salmonella Ames tesztet ma már rutinszerűen alkalmazzák különböző fizikai és kémiai ágensek mutagén hatásának a kimutatására. Az egyik legalapvetőbb mutagenitási vizsgálati módszer, melyet a gyógyszerektől kezdve a különböző vegyi anyagok tesztelésén át a fizikai komponensek vizsgálatáig alkalmazhatunk.

A módszer lényege, hogy olyan genetikailag módosított, hisztidin szintetizálásra nem képes *Salmonella typhimurium* TA törzseket használunk, melyeket, ha mutagén hatás ér, akkor visszanyerik a hisztidin szintetizáló képességüket és így olyan minimális hisztidin tartalmú táptalajon is képesek növekedni, amelyen eredetileg nem. A reverz mutáció következtében ún. „revertáns” telepeket kapunk, melyek száma a mutagén hatás erősségével egyenes arányban nő. Munkánk során a TA98-as és a TA100-as törzseket alkalmaztuk. A TA98-as Salmonella törzs a frameshift mutációk kimutatására, míg a 100-as törzs a bázispár-szubsztitúciót okozó mutációk kimutatására szolgál [58].

A kísérlet során a vizsgálathoz használt Salmonella baktériumokat táplevesben (Oxoid nutrient broth) felszaporítjuk úgy, hogy elérjék a 10^8 /ml baktériumszámot. Majd 100 µl baktériumtenyészetet, a vizsgálandó anyagot, 0,4 ml foszfátpuffert és 2 ml topagart rétegzünk a minimál táptalajra (X. táblázat).

X. táblázat Az Ames tesztben felhasznált oldatok összetétele

Minimál-glükózagár	Topagar	Vogel-Bonner médium
15 g agar	6 g agar	10 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
930 ml desztillált víz	5 g NaCl	100 g citromsavas monohidrát
20 ml 50X Vogel-Bonner médium	1000 ml-re kiegészítjük desztillált vízzel	500 g K_2HPO_4
	felhasználás előtt hisztidin-biotin oldatot adunk hozzá, amely a topagar mennyiségének 10%-a	175 g $NaNH_4HPO_4 \cdot 4H_2O$
50 ml 40%-os glükóz-oldat		670 ml desztillált víz (45 °C)

Mivel számos kémiai anyag csak metabolikus aktivációt követően válik mutagénné, karcinogénné, ezért ezt is vizsgálunk kell. Az Salmonella-teszttel ezt is tudjuk modellezni patkány májából készült enzim preparátum (S9) segítségével. Az S9 frakciót Aroclor 1254-el indukált patkányok májból nyerjük ki. Majd a tesztek során ezt alkalmazzuk 4%-os koncentrációban, ezt nevezzük kofaktorokkal kiegészítve S9 mixnek (XI. táblázat).

XI. táblázat Az S9 mix összetétele

4%-os S9 mix
4 ml S9 frakció
2 ml MgCl ₂ -KCl
0,5 ml glükóz-6-foszfát oldat
4 ml NADP oldat
50 ml foszfát-puffer (pH 7,4)
39,5 ml steril desztillált víz

A vizsgálat során mindig alkalmaztunk negatív és pozitív kontrollt is. A TA98-as törzs esetében pozitív kontrollként 4-nitro-o-feniléndiamin, a TA100-es törzsnél pedig nátriumazidot használtunk.

Minden kísérlet esetében 3-3 párhuzamos vizsgálatot végzünk, a baktériumokat 37 °C-on 48 órán keresztül inkubáljuk, majd megszámloljuk a revertáns telepeket.

Statisztikai értékelés

Az Ames teszt eredményeinek értékeléséhez többféle lehetőségünk is van. A klasszikus értékelés alapján, ha a revertáns telepek száma a vizsgált minta esetében (metabolikus aktiválással és/vagy metabolikus aktiválás nélkül) legalább kétszer nagyobb, mint a kontroll esetében, akkor beszélhetünk mutagén hatásról [59, 60, 61]. Azonban különböző statisztikai próbát is végezhetünk, leggyakrabban a t-próbát és a Mann-Withney U-tesztet alkalmazzák [60] $p < 0,05$ szignifikancia szint mellett. Eredményeink statisztikai értékeléséhez az SPSS Statistics 19 programját, a grafikonok elkészítéséhez a Microsoft Excel 2010-es programját használtuk.

A vizsgálat menete

Kísérleteink során a két gyógyvíz-koncentrátummal (kakasszéki, gyopárosi termálvíz) több párhuzamos vizsgálatot is végeztünk.

Elsőként a koncentrátumoknak a mutagén hatását vizsgáltuk 100 µl/lemez koncentrációban, metabolikus aktiváció nélkül és aktivációval is, UV-sugárzást nem alkalmaztunk.

Korábbi vizsgálatainkból [54] már ismert volt a különböző törzsek UV-érzékenysége, az az expozíciós idő, amelyet még képesek a baktériumok túlélni. A TA98-as törzs esetében már a 2 s-os besugárzás is a baktériumok pusztulásához vezetett, míg ezt a TA100-as törzs esetében csak a 4 s-ig tartó besugárzással értük el ugyanazt a hatást. Ezekből az ismert adatokból kiindulva a baktériumokat 100 µl koncentrátummal/lemez kezeltük, majd azonnal germicidlámpa alá helyeztük őket. A sugárzás 15 cm távolságból történt a TA98-as esetében 2 s-ig, a 100-as esetében 4 s-ig, úgy hogy a Petri-csésze egyik felét kartonlappal letakartuk (kontroll) és csak a másik kapott UV-expozíciót.

A harmadik sorozatban a baktérium-tenyészeteket ismét kivonattal kezeltük (100 µl/Petri-csésze), de a besugárzást nem közvetlenül a leoltást követően, hanem 8 órás inkubáció (37°C) után alkalmaztuk, természetesen itt is csak a lemezek egyik felénél.

Mindenegyed sorozatban 3-3 párhuzamos leoltást készítettünk, kontrollokkal kiegészítve, majd 48 órás inkubálást követően számoltuk a képződött revertáns telepeket és elvégeztük a statisztikai elemzést. Kontrollként negatív kontrollt, S9-es kontrollt és oldószeres kontrollt (etanol) használtunk.

3.2.3.2.2 Gyógyvíz-koncentrátum vizsgálata üstökös gélelektroforézissel

Keratinociták tenyésztése

Vizsgálatainkhoz humán HaCaT keratinocita sejtvonalat használtunk fel. Ezt a sejtvonalat egy melanómában szenvedő férfibeteg bőréből izolálták, de a sejtek nem szenvedtek malignus transzformációt [62, 63]. A sejtek tenyésztése RPMI tápoldatban 37 °C-on 5%-os CO₂ koncentráció mellett termosztátban történik. Az RPMI tápoldat 10% főtális borjúsavót, 2 g/l NaHCO₃-t és antibiotikumot (penicillin: 100 U/ml, sztreptomycin: 100 µg/ml) tartalmaz.

Felhasználás előtt a letapadt sejteket tripszines kezeléssel választottuk el egymástól és a Petri-csészétől, majd a sejteket 10 ml RPMI tápoldatban centrifugáltuk és a felülúszót leszívtuk, a lecentrifugált sejteket pedig fiziológiás sóoldatban szuszpendáltuk, s így kerültek felhasználásra.

Keratinociták vizsgálata

Vizsgálataink során első lépésként meghatároztuk a keratinociták UV-érzékenységét [64], ehhez a klasszikus üstökös gélelektroforézist végeztünk. Ebben a vizsgálatban is háromrétegű gél alkalmaztunk, az alsó réteg NMA volt a következő kettő pedig LMA volt, a középső réteg tartalmazta a vizsgálandó sejteket (keratinociták). A háromrétegű gél elkészítését követően a sejteket 15 cm-es távolságból germicidlámpával besugároztuk, az expozíciós idő 10, 20, 30, 40 és 50 másodperc volt. Majd ezt követően a sejtek lízisét nagy koncentrációjú sóoldatban végeztük és a már korábban ismertetett metodika alapján elvégeztük a futtatást, a minták neutralizálását és festését is. Az számítógépes értékelést követően a sejtek UV-érzékenységét grafikonon ábrázoltuk (tail moment).

Következő lépésként a sejteket gyógyvíz-koncentrátummal kezeltük. Ez úgy történt, hogy normál olvadáspontú gélhez hozzákevertük a kivonatot. Az így kapott gél 50%-ban gyógyvízkivonatot és 50%-ban NMA-t tartalmazott, majd erre rétegeztük a hámsejteket tartalmazó LMA-s réteget, melyet végül egy újabb LMA-val fedtünk le. Ezt követően a sejteket 10, 20, 30, 40 és 50 másodpercig UV-sugárzással kezeltük, majd elvégeztük a gélelektroforézis hátralévő lépéseit.

Harmadik esetben ugyanazt a gyógyvíz-koncentrátum mennyiséget és expozíciós időt alkalmazva, a kezelt és exponált sejteket a lízist megelőzően nedveskamrában 37 °C-on egy órán keresztül inkubáltuk, majd elvégeztük a comet assay további lépéseit és az eredményeket itt is grafikusán ábrázoltuk.

Végül az 50%-os koncentrációt meghagyva a vizsgálandó sejteket 30 s-on keresztül besugároztuk, majd fél, egy, másfél, kettő és két és fél órás inkubálást követően végeztük el a comet assay további lépéseit. Ezzel az utolsó vizsgálattal a gyógyvíz-koncentrátumnak a reparációs mechanizmusokra kifejtett hatását kívántuk tesztelni.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Higiénés mikrobiológiai vizsgálatok eredményei

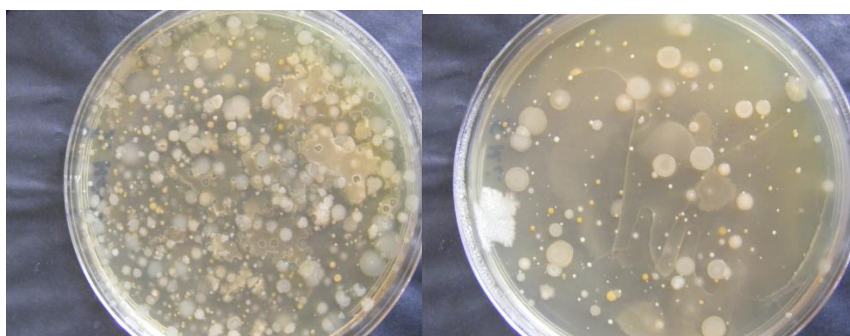
Vizsgálatainkat az ivóvízre és az ásványvizekre vonatkozó jogszabályok figyelembevételével végeztük, meghatároztuk az össztelepszámot, a Coliform-számot, az Enterococusszámot és Clostridiumok számát 1 g talajban. Mivel a gyógyiszapokra és gyógyvizekre vonatkozó rendelet [20] nem adja meg pontosan az adott mikroorganizmusok megengedhető számát, ezért eredményeinket az ivóvízre és az ásványvizekre vonatkozó jogszabályokban [32, 33] található értékekkel vetettük össze.

4.1.1 Össztelepszám

Az össztelepszám vizsgálatát tápagarral végeztük és az eredményeket 1 g talajra adjuk meg. A hévízi peloid esetében az össztelepszám 2794 telep/g (9. ábra), míg a kolopi iszap esetében ez csak 372 telep/g (9. ábra) volt (XII. táblázat).

XII. táblázat Az iszapok mikrobiológiai vizsgálatának eredményei 1 g iszapra megadva

	Hévízi minta		Kolopi minta
	Össztelepszám	Clostridium-szám	Össztelepszám
1.	3115	672	432
2.	2448	953	315
3.	2819	775	369
Átlag	2794	800	372
Szórás	334,20	142,16	58,56



9. ábra A hévízi és a kolopi iszap össztelepszáma

4.1.2 Coliformszám

Coliformok jelenlétét egyik iszapmintából sem sikerült igazolni, mely arra utal, hogy egyik peloidot sem érte fekális szennyezés.

4.1.3 Enterococcus-szám

Enterococcusokat sem mutattunk ki vizsgálataink során. A két paraméter hiánya (Coliformok, Enterococcusok) kizárja mind a friss, mind a régebbi székletszennyezés lehetőségét.

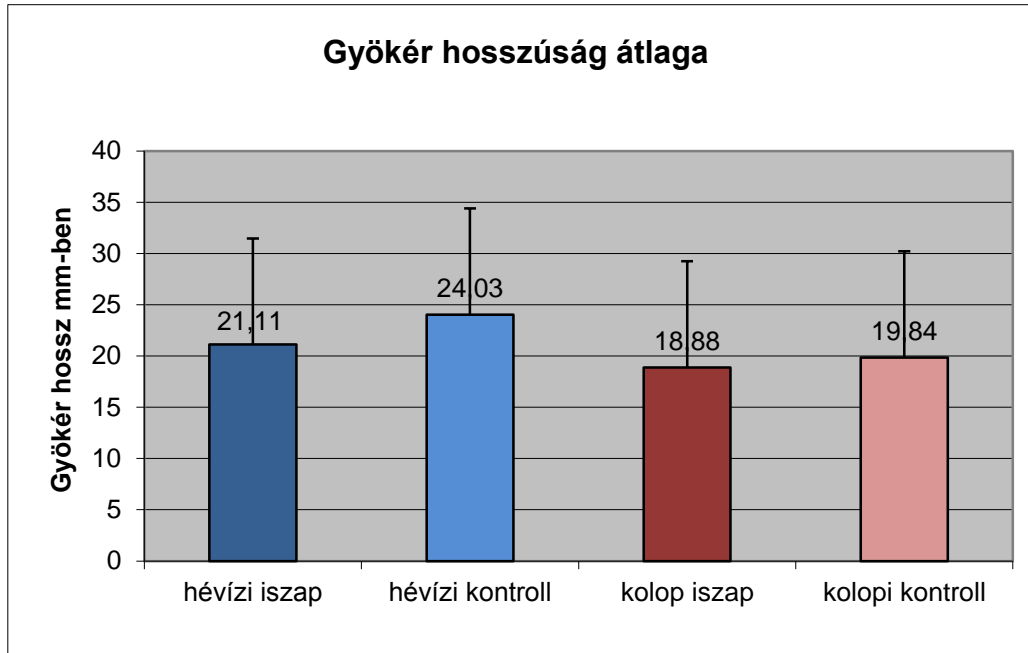
4.1.4 Clostridium-szám

Az SPS agar használatával a peloidokban előforduló szulfitredukáló clostridium baktériumok kimutatását tűztük ki célul. Kolopi iszap esetében ezek jelenlétét nem sikerült igazolnunk, míg a hévízi mintánkban 800 telep/g-nak adódott a baktériumoknak a száma (XII.táblázat).

4.2 Ökotoxikológiai tesztek eredményei

4.2.1 Fehér mustár gyökérnövekedési teszt

Vizsgálatainkat két ütemben végeztük, elsőként az iszapokból talajkivonatokat készítettünk, majd ezeknek a talajoldatoknak a csírázásra és gyökérfejlődésre kifejtett hatását vizsgáltuk. Eredményeinket a 10-es ábrán foglaltuk össze. A magok csírázásában a kontrollhoz viszonyítva nem találtunk eltérést. Mindkét vizsgált minta esetében a gyökérnövekedés hosszúsága kisebb mértékű volt a kontrolléhoz képest, de nem szignifikánsan.

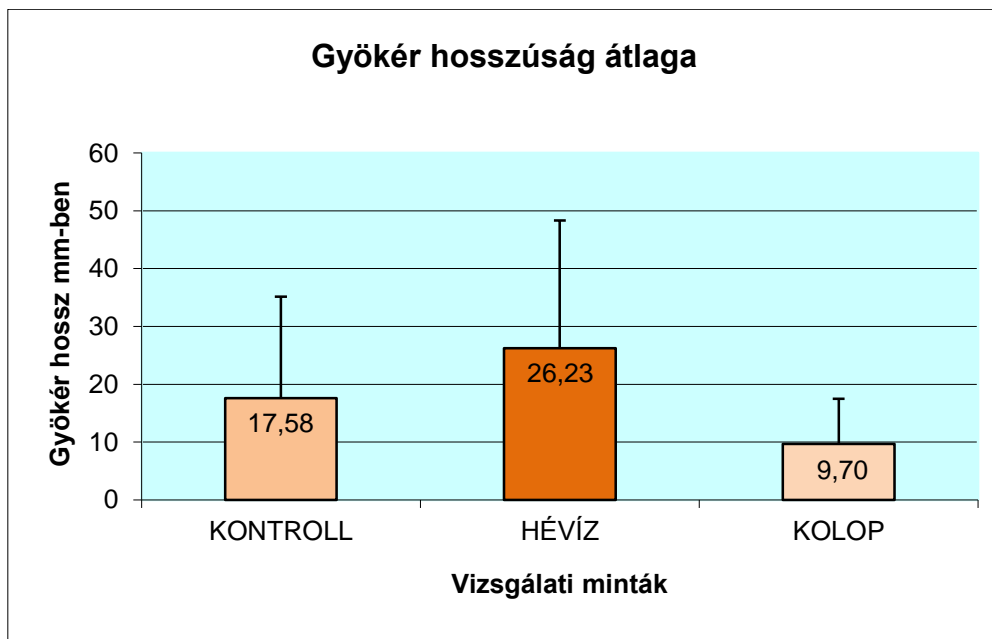


10. ábra A gyökér hosszúság átlaga mm-ben, talajoldatok vizsgálatánál

A hévízi minta gyökérnövekedésének különbségében szignifikancia nem figyelhető meg ($p=0,44$), bár a gyökér hosszúsága nagyobb mértékben elmaradt a kontrollhoz képest, mint a

kolopi peloid esetében. Az átlagos eltérés a kontrollhoz képest a hévízi mintánál 2,92 mm a kolopinál csak 0,96 mm volt.

Második lépésben a peloidokat közvetlenül vizsgáltuk, mely során a mustármagokat az adott peloid felületére helyeztük. A kicsírázott magok számában itt sem találtunk eltérést a kontrollhoz képest.



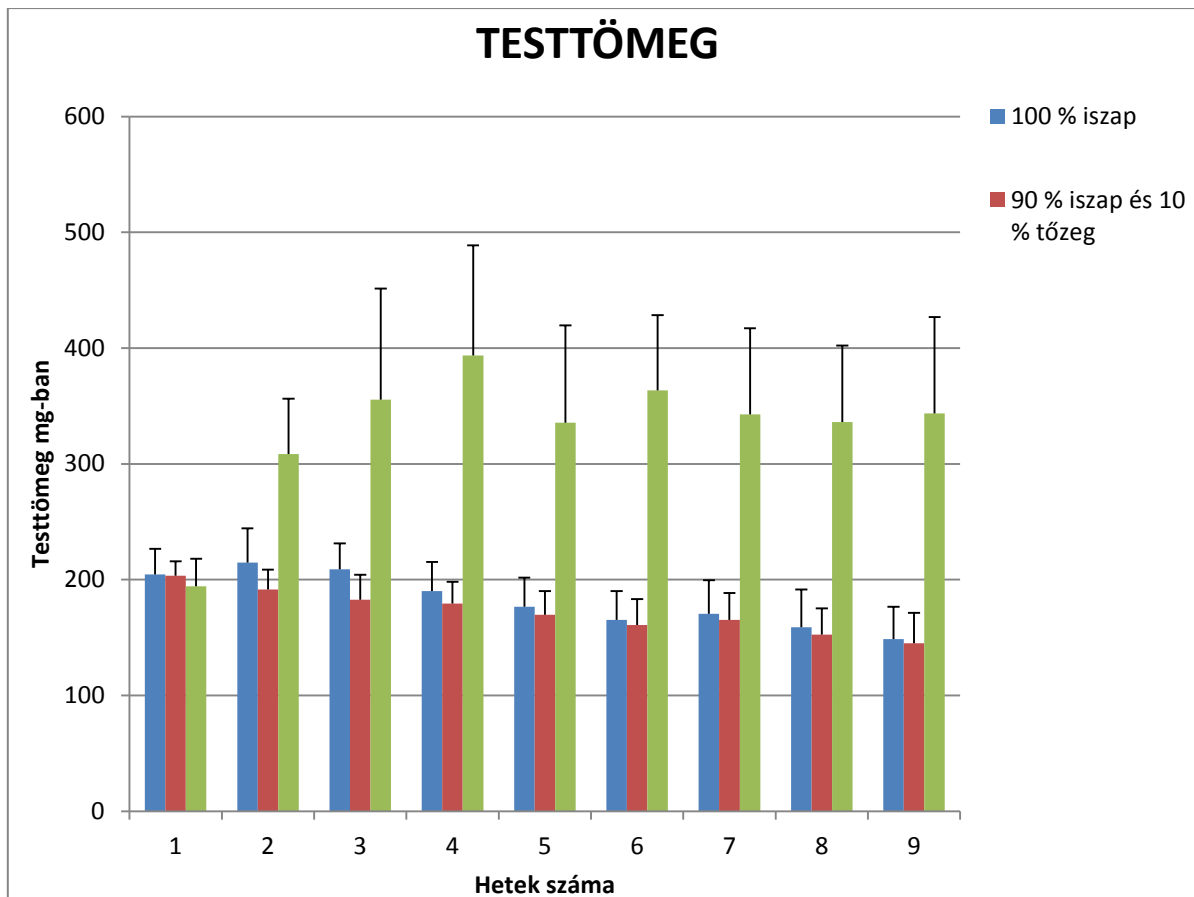
11. ábra Kolopi és hévízi iszap gyökérnövekedésre kifejtett hatása

Ebben a vizsgálatban eltérő eredményeket kaptunk az első vizsgálathoz képest. Itt is megfigyelhető különbségek a minták és a kontroll között, de ez nem minden esetben jelenti a gyökérnövekedés elmaradását. A kolopi peloid esetében a gyökér ismét kisebb lett, mint a kontroll esetében, az eltérés 7,88 mm, ez a különbség már szignifikáns ($p=0,012$) (11. ábra). Ezzel szemben a hévízi iszapban képződött gyökerek hossza meghaladja a kontroll gyökerek hosszát. Az eltérés nem szignifikáns.

4.2.2 Eisenia teszt eredményei

Az *Eisenia* teszt során először a hévízi mintával egy előkísérletet végeztünk, melynek célja az volt, hogy eldöntsük, hogy az iszap eredeti szervesanyag-tartalma elegendő-e a trágyagiliszták növekedéséhez és szaporodásához. Azért a hévízi iszappal végeztük az előkísérletet, mert a hazai iszapok közül ez rendelkezik a legmagasabb szervesanyag-tartalommal. A kolopi peloid szervesanyag-tartalma a hévízihez képest jelentéktelen.

Az előkísérlet során a hévízi mintát kétféle koncentrációban alkalmaztuk. Az első vizsgálatban 100%-ban a peloidot tartalmazott a tesztedény, míg a második esetben a vizsgált iszaphoz 10 m/m % tőzeget is kevertünk. Eredményeinket a 12-es számú ábrán foglaltuk össze.



12. ábra A testtömeg változása a hévízi iszappal végzet előkísérlet során

Letalítás

A kísérlet során elhullás sem a kontroll, sem a minták esetében nem történt, melynek az lehet az oka, hogy az iszap nem tartalmaz olyan komponenseket, amelyek akut toxicitással rendelkeznek vagy ezeknek a koncentrációja túl alacsony.

Testtömegváltozás

A grafikonon jól látható, hogy a hévízi peloidba telepített giliszták testtömege jelentősen kisebbnek adódott a kontroll testtömegéhez képest, mindkét koncentráció esetében. Ez a testtömegcsökkenés mindkét esetben szignifikáns is volt. A kontroll esetében is látható az 5.

hét környékén egy testtömegcsökkenés, de ez normálisnak mondható és több esetben is megfigyelhető.

A tömeggyarapodás elmaradásának hátterében két tényező állhat, egyrészt a nem megfelelő tápanyag-ellátottság, másrészt olyan anyagoknak a jelenléte az iszapban, amelyek bár elhullást nem okoznak, de a giliszták fejlődését akadályozzák.

Szaporodás

A kísérlet 3. hetétől folyamatosan minden héten figyeltük a képződő petetokok számát (13. ábra). A kontroll esetében ez az átlagos heti 2,5 kokon/egyednek adódott, ezzel szemben a hévízi iszapban a 8 hét alatt egyetlen egy kokon sem termelődött, amelynek elsősorban a tápanyaghiány lehet az oka.



13. ábra *Eisenia fetidák* kokonjai

Hévízi és kolopi iszap vizsgálatának eredményei

Az előkísérletet követően, melynek eredményei alapján úgy tűnt, hogy az iszapok szervesanyag-tartalma a giliszták számára túl alacsony, a további vizsgálatainknál minden mintához 200 g lótrágyát, mint táplálékforrást adtunk. Ugyanezt megtettük a kontroll esetében is, azért hogy azonos körülményeket biztosítsunk.

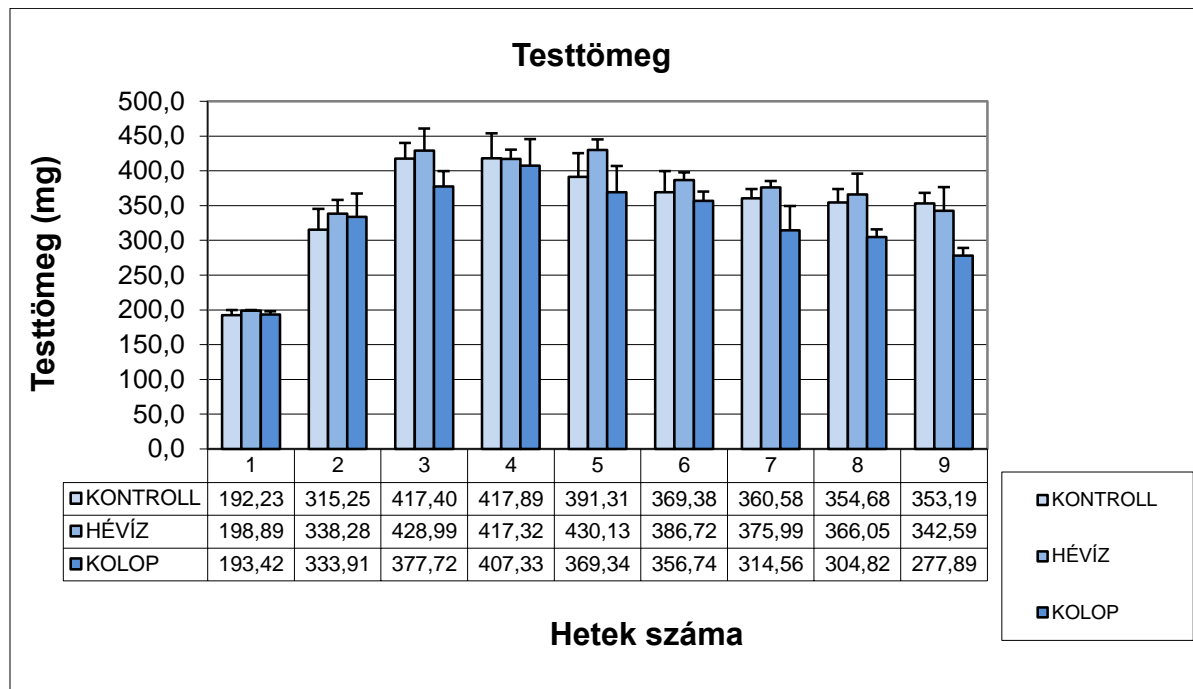
Letalitás

A 8 hét során sem a peloidok, sem a kontroll esetében nem történt pusztulás, ebből arra következtethetünk, hogy az iszapnak nincs akut toxicitása, mert nem tartalmaz olyan

vegyületeket vagy csak kis koncentrációban, amelyek az állatokra nézve erősen toxikusak lennének.

Tömeggyarapodás

A vizsgálataink során 8 héten keresztül mindig azonos időpontban lemértük a trágyagiliszták testtömeg változását, amelyet grafikusán ábrázoltunk (14. ábra). Megfigyelhetjük, hogy már a kontroll esetében, és a két vizsgált iszap esetében is, a 4-5. héttől egy lassú, de egyenletes testtömeg vesztés indult meg. Mivel ez a testtömegcsökkenés mind a kontroll, mind a minták esetében fennáll, ezért ennek oka a tápanyag-ellátottság hiányával indokolható, nem pedig a különböző iszapok kedvezőtlen vagy káros összetételéből adódik.



14. ábra A trágyagiliszták testtömeg változása a vizsgálat során

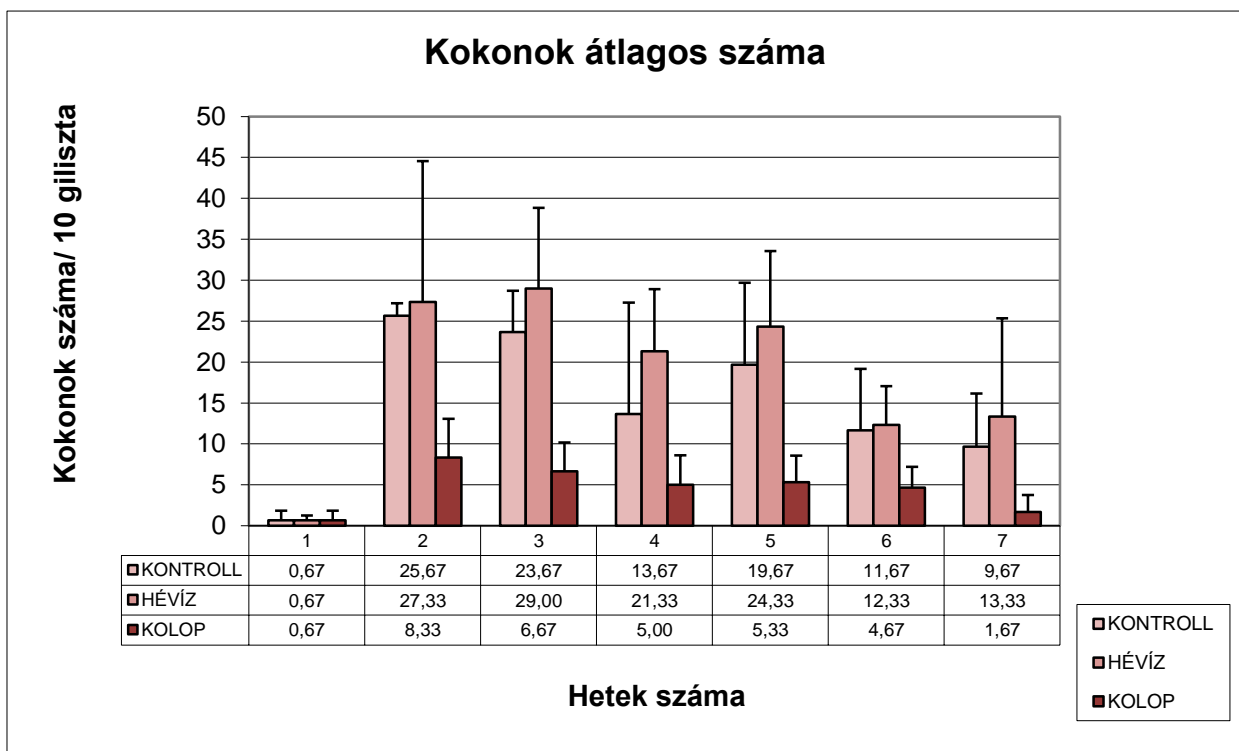
Ha a hévízi iszap és a kontroll eredményeit összehasonlítjuk, akkor megállapítható, hogy az adatokban jelentős különbséget nem figyelhetünk meg, ugyanez mondható el a kolopi iszap és a kontroll eredményeiről is.

A vizsgálat utolsó heteiben a hévízi és a kolopi minták között jelentősebb eltérést figyelhetünk meg a giliszták testtömegében, mint a kontroll és a kolopi peloid között. A két minta közötti különbség azzal magyarázható, hogy a hévízi iszapnak eredendően magasabb a szervesanyag-tartalma, mint a kolopinak. Ez a plusz szervesanyag-tartalom jó

táplálékforrásként szolgált a hévízi iszapban még akkor is, amikor már a kolopiból elfogyott a hozzáadott tápanyag, a lótrágya.

Szaporodás

A 3. héttől folyamatosan dokumentáltuk a képződött kokonok számát. A grafikonon jól látható a 7 hét során képződött összes kokonok száma, a grafikon alatti táblázat az egy egyedre eső kokonok számát adja meg (15. ábra). A számolás első hetében a képződött peték száma darab pontossággal megegyezett, ezt követően a kontroll és a hévízi minta esetében jelentős mértékű számbeli növekedés történt. A kolopi kompressz esetében is nőtt a keletkezett petetokok száma, de csak elhanyagolható mértékben, amely a hetek előrehaladtával csak tovább csökkent. A kontroll és a kolopi minta közötti különbség szignifikáns ($p=0,02$), továbbá a hévízi és a kolopi iszap közötti eltérés is szignifikáns ($p=0,01$).



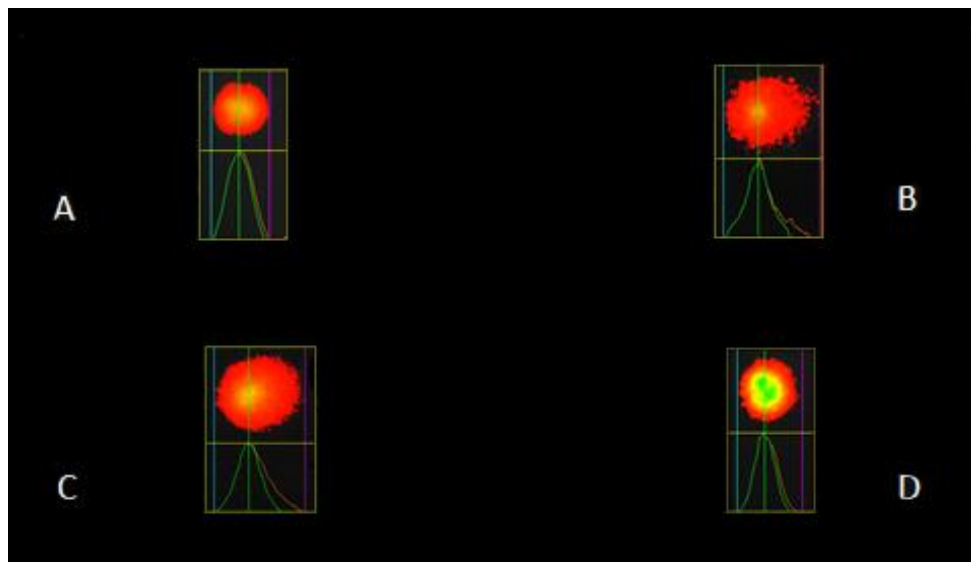
15. ábra 10 egyedre eső átlagos kokonszám a vizsgálat során

4.3 Genotoxikológiai vizsgálatok eredményei

4.3.1 Gyógyiszapok üstökös-elektroforézissel történt vizsgálatának eredményei

Humán limfociták vizsgálata

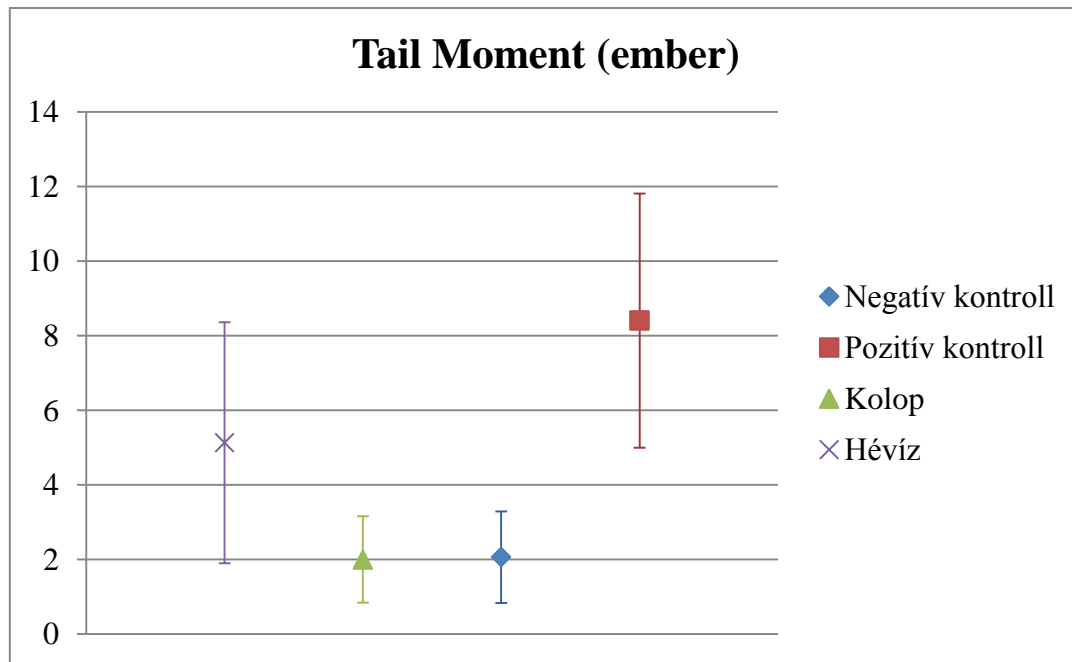
Az *in vitro* vizsgálat során jól értékelhető eredményeket kaptunk az emberi limfocitákról (16. ábra). Mind a kontrolloknál, mind a vizsgált peloidok esetében minimum 50 sejtről készítettünk felvételt és a felvételek alapján értékeltük a DNS károsodását. A károsodás mértékének meghatározásához a számítógépes program segítségével kiszámoltuk a tail moment értéket (TM) minden sejt esetében. Ez az arány annál nagyobb, minél nagyobb arányban károsodott a DNS. Az iszapok és a negatív kontroll TM értékeiből statisztikai elemzést végeztünk Mann-Whitney U próbával. Pozitív kontrollt is készítettünk, ebben az esetben a sejteket H₂O₂-dal kezeltük.



16. ábra Humán limfocitákról készült felvétel. Kolopi iszap (A), hévízi iszap (B), pozitív kontroll (C) és negatív kontroll (D) (400x)

Az emberi limfocitáknál a negatív kontroll és a kolopi peloid közötti különbség nem szignifikáns, ezzel szemben a hévízi iszap DNS-károsító képessége jelentős ($p < 0,001$) (17. ábra).

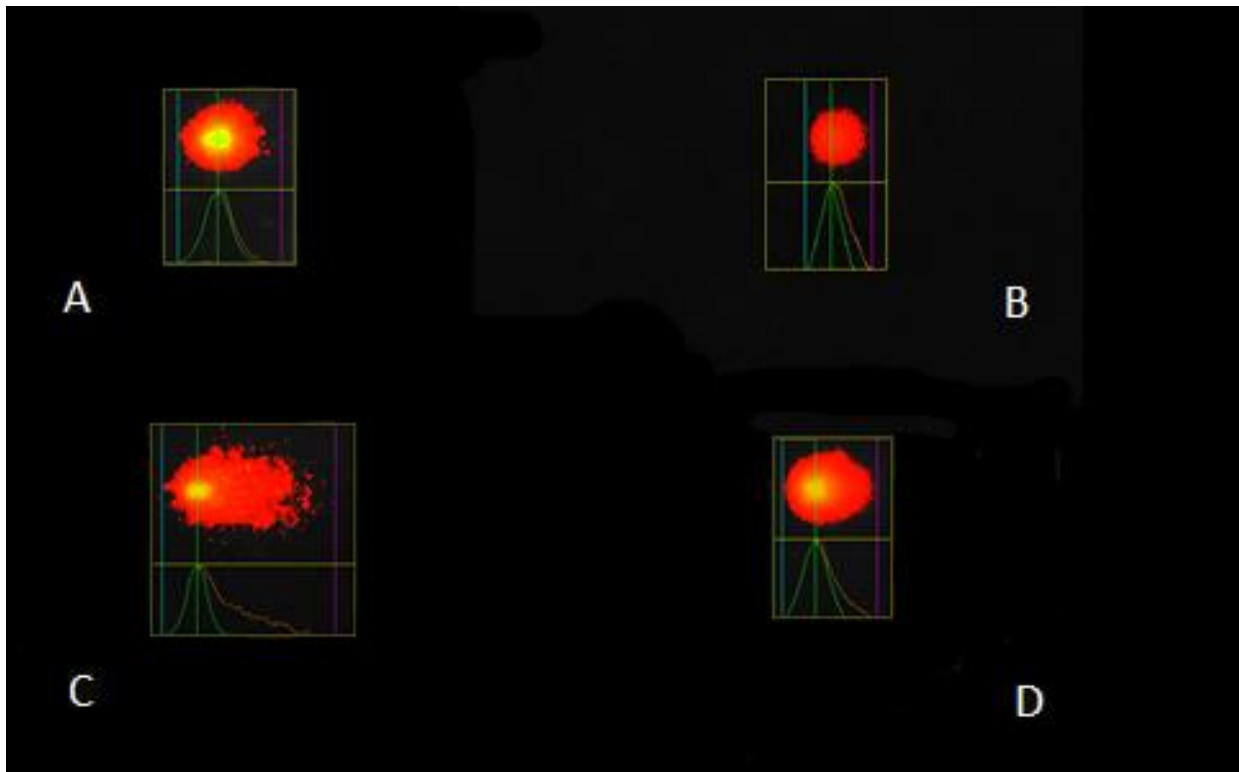
Az eredményekből jól látható, hogy a hévízi iszapnak a humán limfocitákra nézve genotoxikus hatása van.



17. ábra Emberi limfociták DNS-károsodásának mértéke.

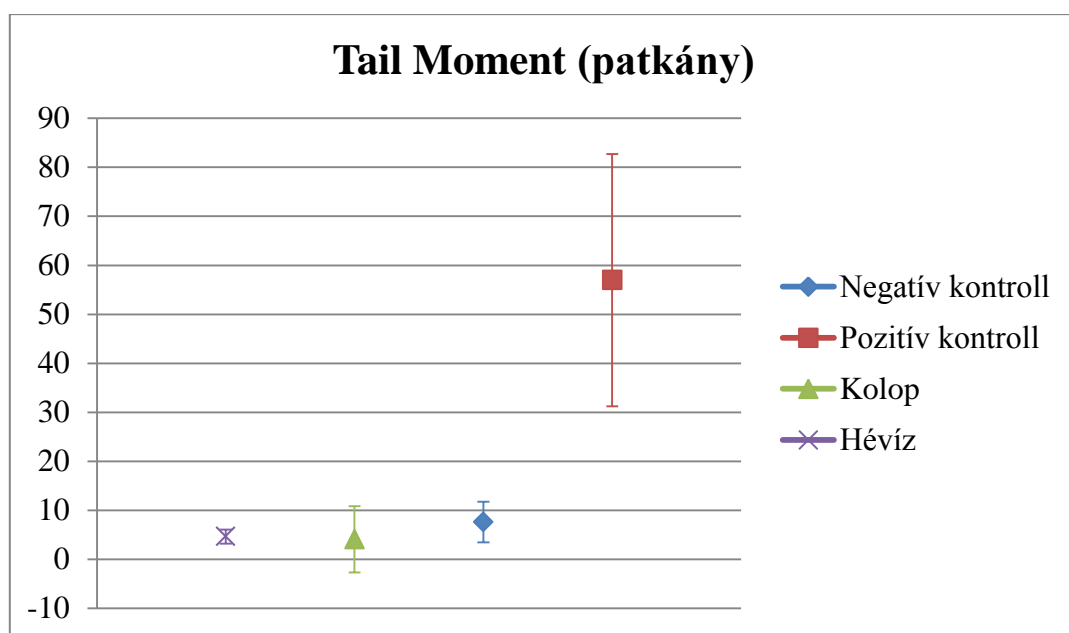
Patkány limfociták vizsgálata

A patkány limfociták vizsgálata során is ugyanazt a metodikát követtük, mint a humán limfocitáknál, meghatároztuk a TM értékét és statisztikailag értékeltük. A DNS-ekről készült felvételeket a 18-as számú ábrán mutatjuk be.



18. ábra Patkány limfocitákról készült felvétel. Kolopi iszap (A), hévízi iszap (B), pozitív kontroll (C) és negatív kontroll (D) (400x)

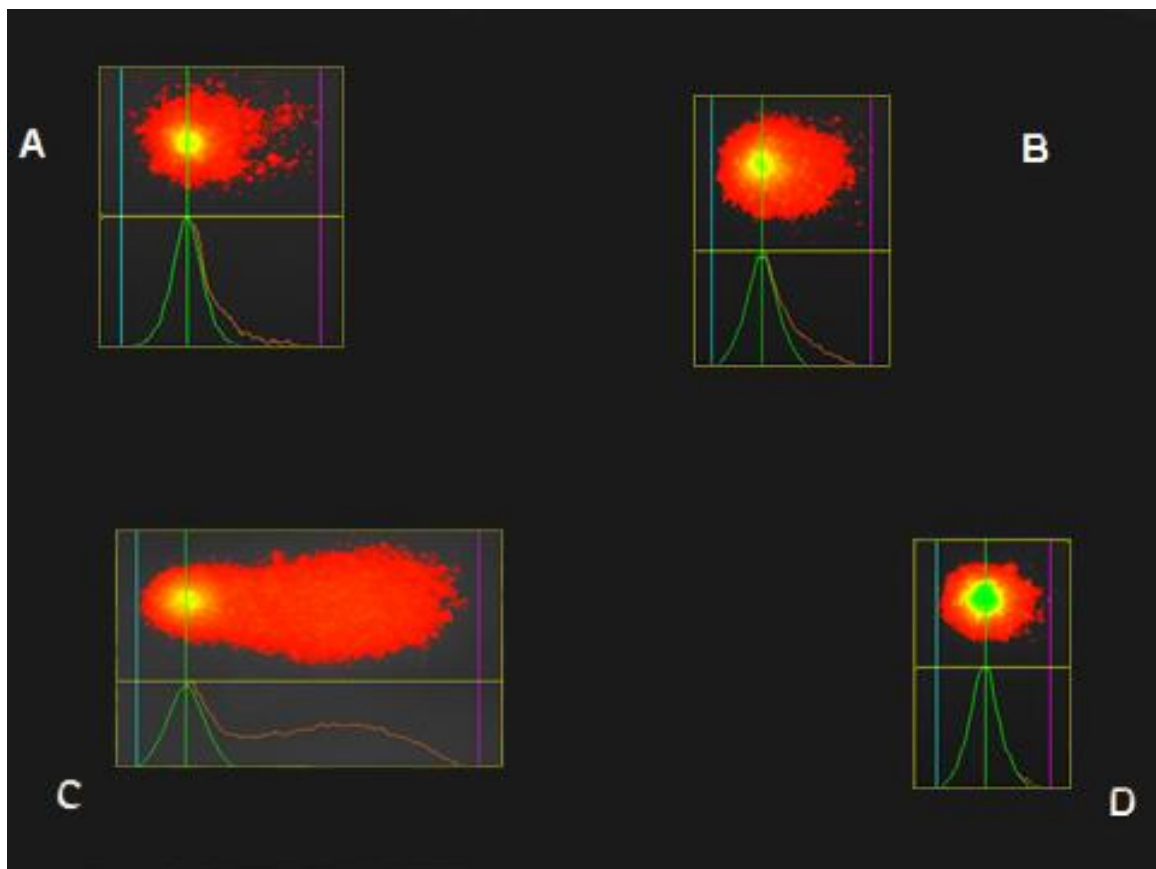
A patkány limfociták vizsgálata során sem a hévízi, sem a kolopi peloid nem mutatott szignifikáns eltérést a negatív kontrollhoz képest, sőt a TM értéke kisebb mindkét iszap esetében, mint a negatív kontrollnál, bár ez sem szignifikáns (19. ábra).



19. ábra Patkány DNS-károsodásának ábrázolása

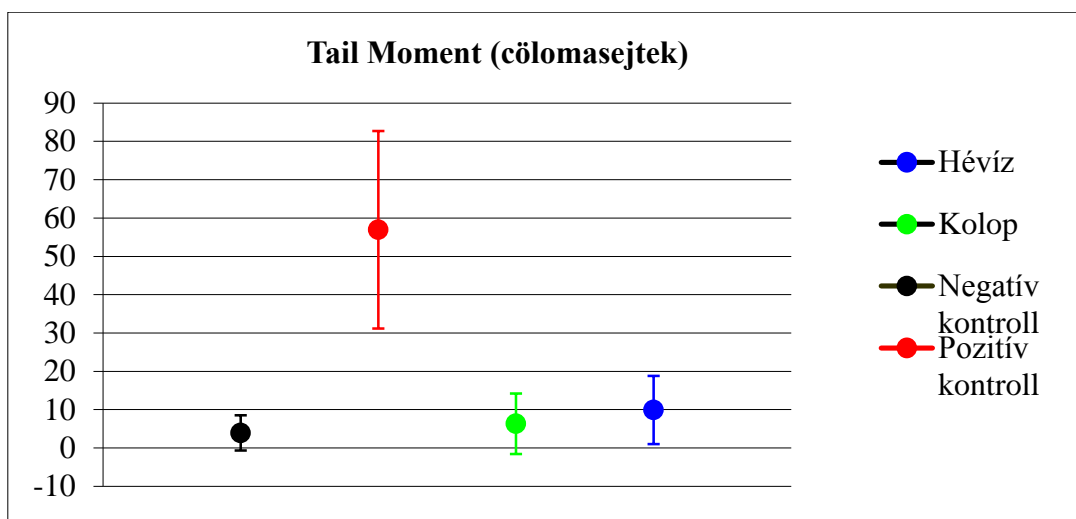
Cöломasejtek vizsgálatának eredményei

Vizsgálataink során a kísérleti állatokat 3 hétre hévízi és kolopi peloidokba telepítettük, majd ezután a testfalon keresztül kivontuk a cöломasejteket és elvégeztük rajtuk az üstökös-elektroforézist. Minden egyes minta esetében legalább 50 sejtről származó adatokat dokumentáltunk, a mikroszkópban látott eredményekről felvételeket készítettünk és az eredményeket a kezeletlen negatív kontrollal és a hidrogén-peroxidos pozitív kontrollal hasonlítottuk össze. Az értékeléshez a Mann-Whitney U statisztikai próbát használtuk és az eredményeket grafikusán ábrázoltuk (Microsoft Excel 2010).



20. ábra Cöломasejtekről készült felvétel a comet assay során. Kolopi iszap (A), hévízi iszap (B), pozitív kontroll (C) és negatív kontroll (D) (400x)

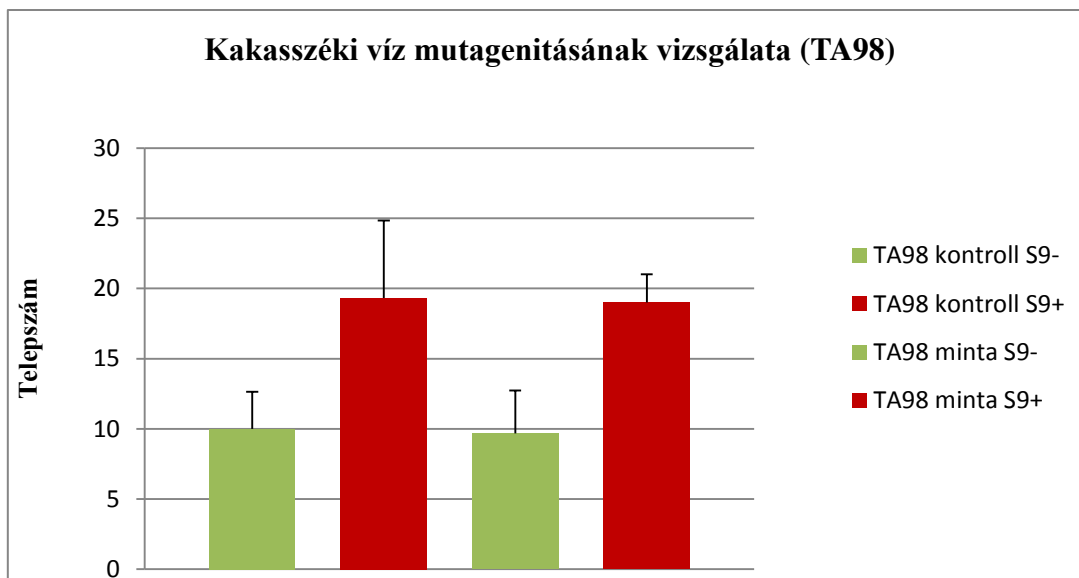
Az *Eisenia* vizsgálatánál a kolopi és a hévízi mintáról is jól értékelhető eredményeket kaptunk (20. ábra). A kolopi iszap és a negatív kontroll között nem találtunk szignifikáns eltérést ($p=0.075$), viszont a hévízi minta és a negatív kontroll közötti különbség szignifikánsnak adódott ($p<0,001$) (21. ábra). Ezen kísérleti eredmények alapján elmondhatjuk, hogy a hévízi peloid igen, de a kolopi minta nem rendelkezik genotoxikus hatással a trágyagilisztákra nézve.



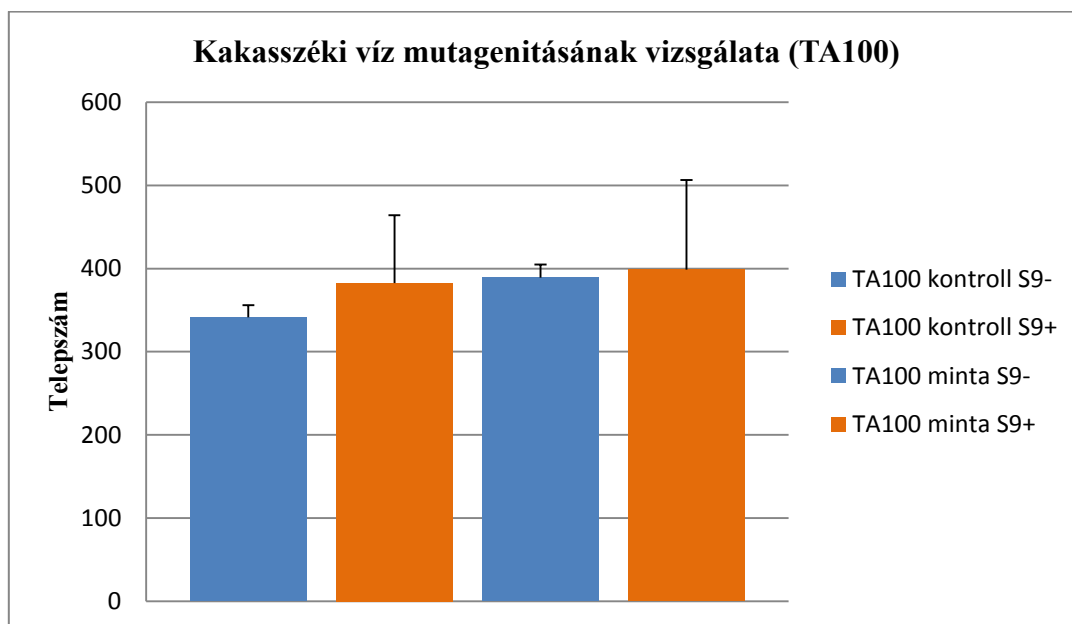
21. ábra Cölmasejtek DNS-károsodásának mértéke

4.3.2 Gyógyvíz-koncentrátumok vizsgálata Ames tesztel

Vizsgálataink során az Ames tesztben 3 különböző sorozatban teszteltünk a kakasszéki gyógyvíz-koncentrátumot. Korábbi munkánk során már kiderült, hogy Gyopárosfürdő gyógyvize nem rendelkezik mutagén hatással [54], így most csak a kakasszéki víz eredményeit mutatjuk be részletesen. Elsőként felmértük a kakasszéki gyógyvíz mutagenitását a TA98-as és a TA100-as törzssel is, metabolikus aktiváció nélkül (S9-) és metabolikus aktivációval (S9+) is. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a kakasszéki gyógyvízkivonat nem mutat genotoxikus hatást egyik törzs esetében sem, az S9 mix hiányában sem és az S9 mix jelenlétében sem (22. és 23. ábra).



22. ábra A kakasszéki gyógyvíz bakteriális mutagenitási vizsgálatának eredménye TA98-as törzs esetében



23. ábra A kakasszéki gyógyvíz bakteriális mutagenitási vizsgálatának eredménye TA100-as törzs esetében

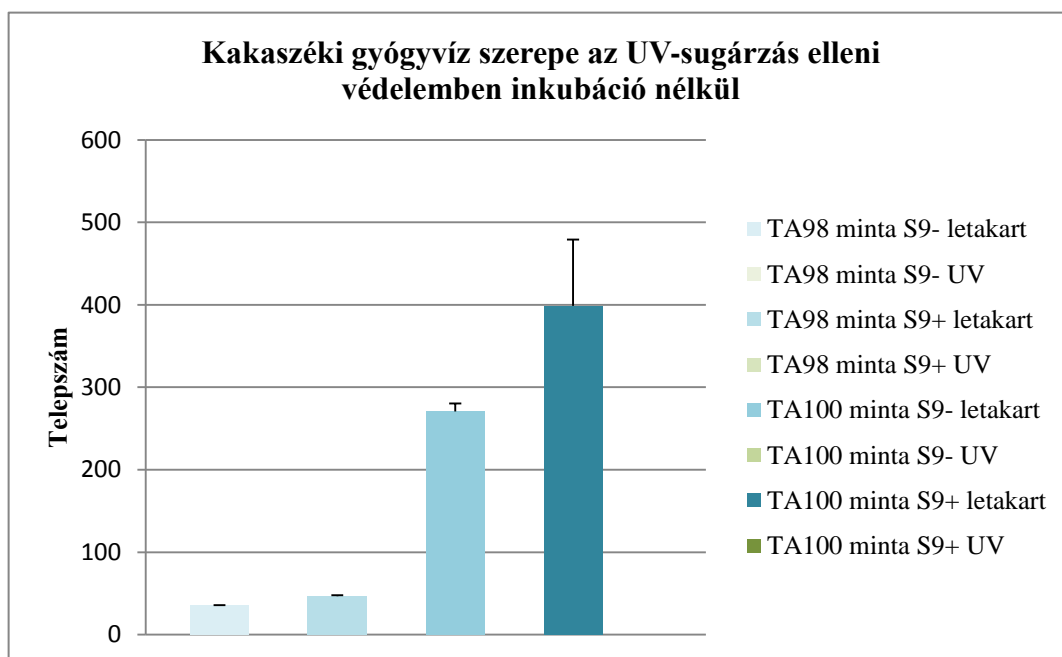
A továbbiakban a gyógyvíz-koncentrátumoknak az UV-sugárzás elleni szerepét vizsgáltuk. Első lépésben a leoltást követően történt az UV-expozíció, második sorozatnál a leoltás és a besugárzás közé egy 8 órás inkubációt iktattunk be, ezzel biztosítva elég időt, hogy a koncentrátumok ki tudják fejteni védőhatásukat.

A gyopárosi termásvíz vizsgálata során kapott eredményekről elmondható, hogy a termásvíz-koncentrátum inkubáció hiányában sem a TA98-as, sem a TA100-as törzs esetében nem mutat

védő szerepet az UV-expozícióval szemben, sem S9 mix jelenlétében, sem hiányában. Ezzel szemben, ha beiktattuk a 8 órás inkubációt, akkor a TA100-as törzs esetében, mind metabolikus aktiváció mellett és aktiváció nélkül is kaptunk baktériumtelepeket. A TA98-as törzs esetében ezt a kedvező hatást nem sikerült kimutatni [54].

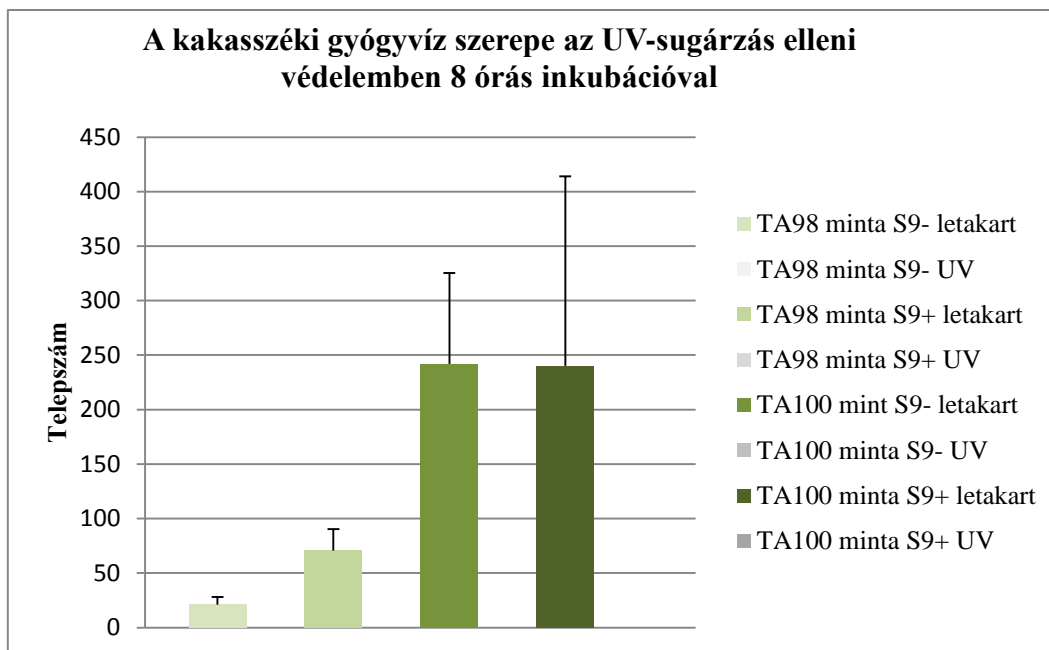
Továbbiakban a kakasszéki víz eredményeit ábrázoltuk, külön az inkubáció nélküli (24. ábra) és külön az inkubációs eredményeket (25. ábra).

A kakasszéki minta sem a TA98-as, sem a TA100-as törzsnél nem mutatott védő hatást az UV-expozícióval szemben, egyetlen telep sem képződött az UV-expozíciónak kitett felületeken. A metabolikus aktiváció és a 8 órás inkubáció sem segítette a baktériumok túlélését. A kartonlappal letakart részen a képződött telepek száma az adott törzsre jellemző spontán mutációs rátát mutatta.



24.

ábra A kakasszéki gyógyvíz vizsgálatának eredményei UV-besugárzást követően (az eredmények egész Petri-csészére lettek megadva)

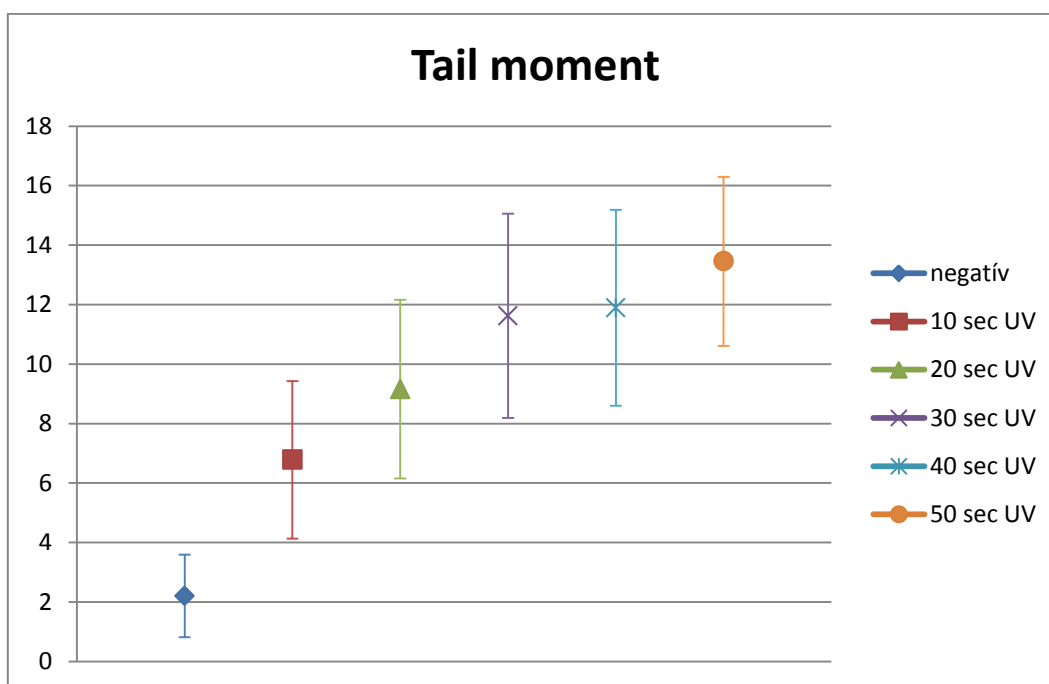


25. ábra A kakasszéki gyógyvíz vizsgálatának eredményei UV-besugárzást követően, 8 órás inkubáció beiktatásával (az eredmények egész Petri-csészére lettek megadva)

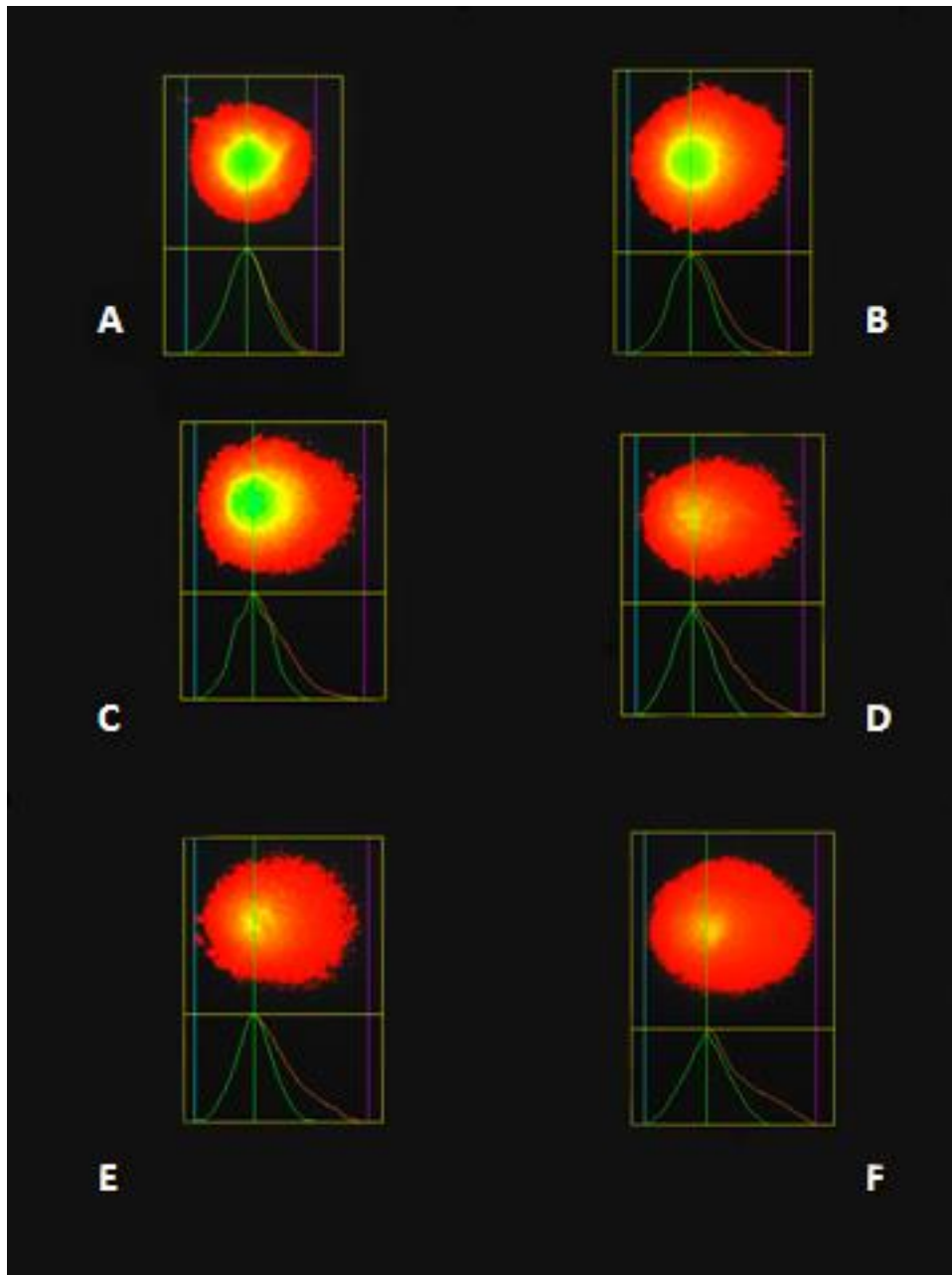
4.3.3 Keratinociták üstökös-elektroforézissel történő vizsgálatának eredményei

UV-érzékenység eredményei

A keratinocitákat 10, 20, 30, 40 és 50 másodpercig UV expozíciónak tettük ki, majd a DNS-károsodás mértékét detektáltuk, felvételek készítettünk és a tail momentet grafikusán ábrázoltuk (26. ábra).



26. ábra A keratinociták UV-érzékenysége különböző hosszúságú expozíciót követően



27. ábra A keratinociták UV-érzékenységének felvételei különböző hosszúságú expozíció eredményeként. (A) negatív kontroll, (B) 10 sec UV, (C) 20 sec UV, (D) 30 sec UV, (E) 40 sec UV és (F) 50 sec UV (400x)

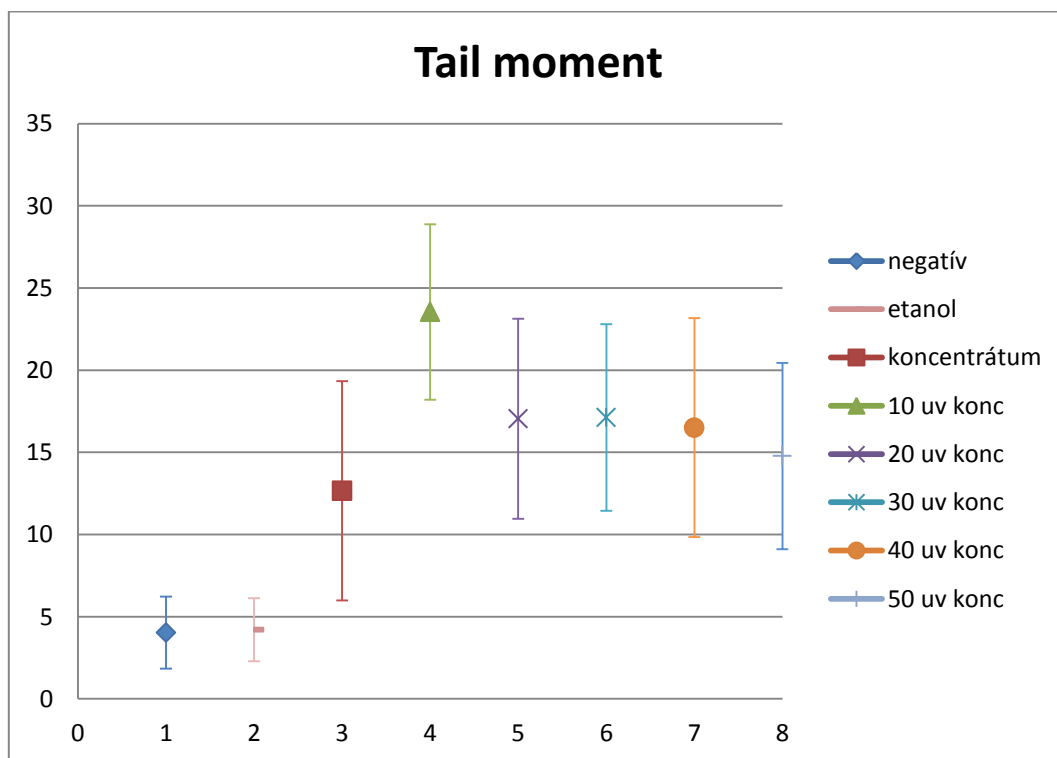
Az 26-os ábrán jól látható, hogy a legrövidebb UV-expozíció is szignifikáns DNS-károsodást okozott a negatív kontrolhoz képest, továbbá a besugárzás hossza és a kialakult károsodás mértéke közötti egyenes arányosság is van. Ez az összefüggés a DNS-károsodását ábrázoló felvételeken is jól megfigyelhető (27. ábra).

Kakasszéki víz szerepe az UV-sugárzás elleni védelemben

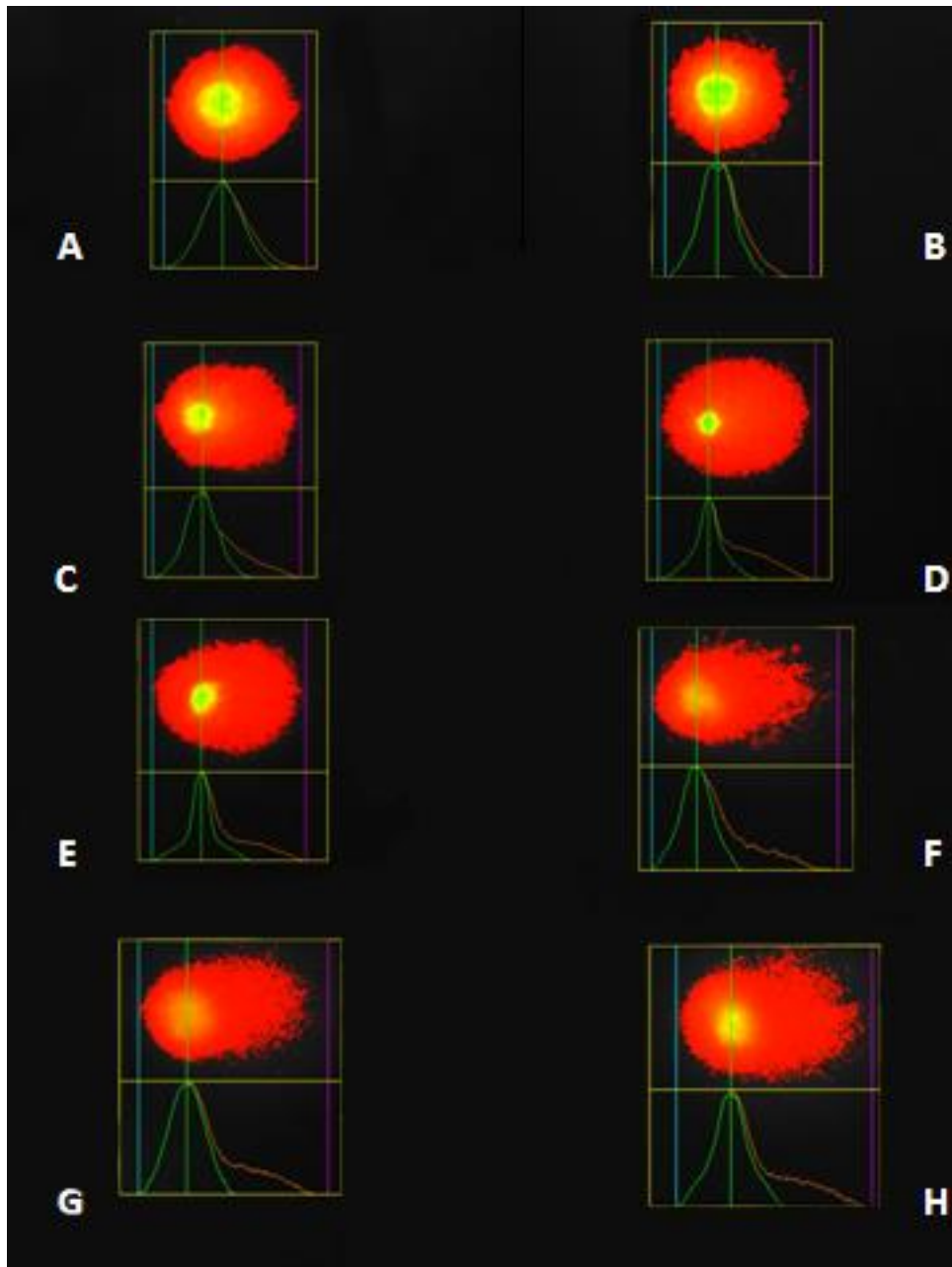
A következő vizsgálatok során a gyógyvíz-koncentrátum UV-sugárzás elleni védelemben betöltött szerepét vizsgáltuk. Minden egyes normál olvadáspontú agar (legalsó réteg) 50%-ban gyógyvíz-koncentrátumot tartalmazott, a vizsgálandó sejteket pedig a második réteghez kevertük. Az UV-expozíció idejét nem változtattuk. Ennek a vizsgálatnak az eredményeit a 28-as és a 29-es számú ábrán foglaltuk össze. 3 kontrollt különböztethetünk meg:

- egy negatív, amely nem tartalmazott mást, csak a sejteket,
- az etanolos kontroll, amely 80%-os etanolt és a sejteket tartalmazott, és
- a koncentrátumos kontroll, pedig gyógyvíz-koncentrátumot és sejteket tartalmazott.

Mann-Whitney U statisztikai teszttel történő elemzést követően elmondhatjuk, hogy a 10 s-os UV-expozíció és mind három kontroll közötti különbség szignifikáns, sőt a kontrollokon belül a negatív és etanolos kontroll DNS-károsító képessége szignifikánsan alacsonyabb, mint a koncentrátumos kontrollé. A többi expozíciós idő esetében a DNS-károsodás kisebb mértékű, mint a 10 s-os esetében, de ez az eredmény is szignifikánsan magasabb, mint a kontrolloké (28., 29. ábra).



28. ábra A DNS károsodásának mértéke koncentrátummal való kezelést és különböző idejű UV-expozíciót követően



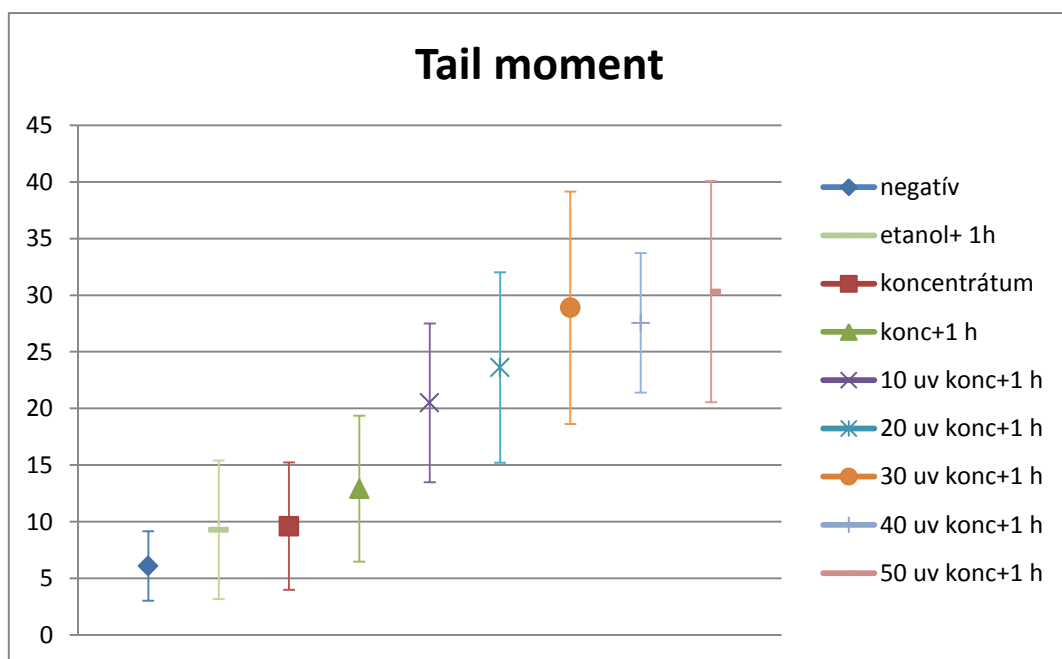
29. ábra Keratinocitákról készült felvétel gyógyvíz-koncentrátummal és különböző idejű UV-besugárzást követően. (A) negatív kontroll, (B) etanolos kontroll, (C) kakasszéki koncentrátum, (D) koncentrátum + 10 sec UV, (E) koncentrátum + 20 sec UV, (F) koncentrátum + 30 sec UV, (G) koncentrátum + 40 sec UV, (H) koncentrátum + 50 sec UV (400x)

Ezt követően azt néztük meg, hogy ha a vizsgálat paraméterein semmit sem változtatunk, csak az UV-besugárzást követően egy 1 órás inkubációt beiktatunk a sejtek lízise előtt, akkor ez hogy befolyásolja az eredményeket. Ebben az esetben 4 különböző kontrollt alkalmaztunk:

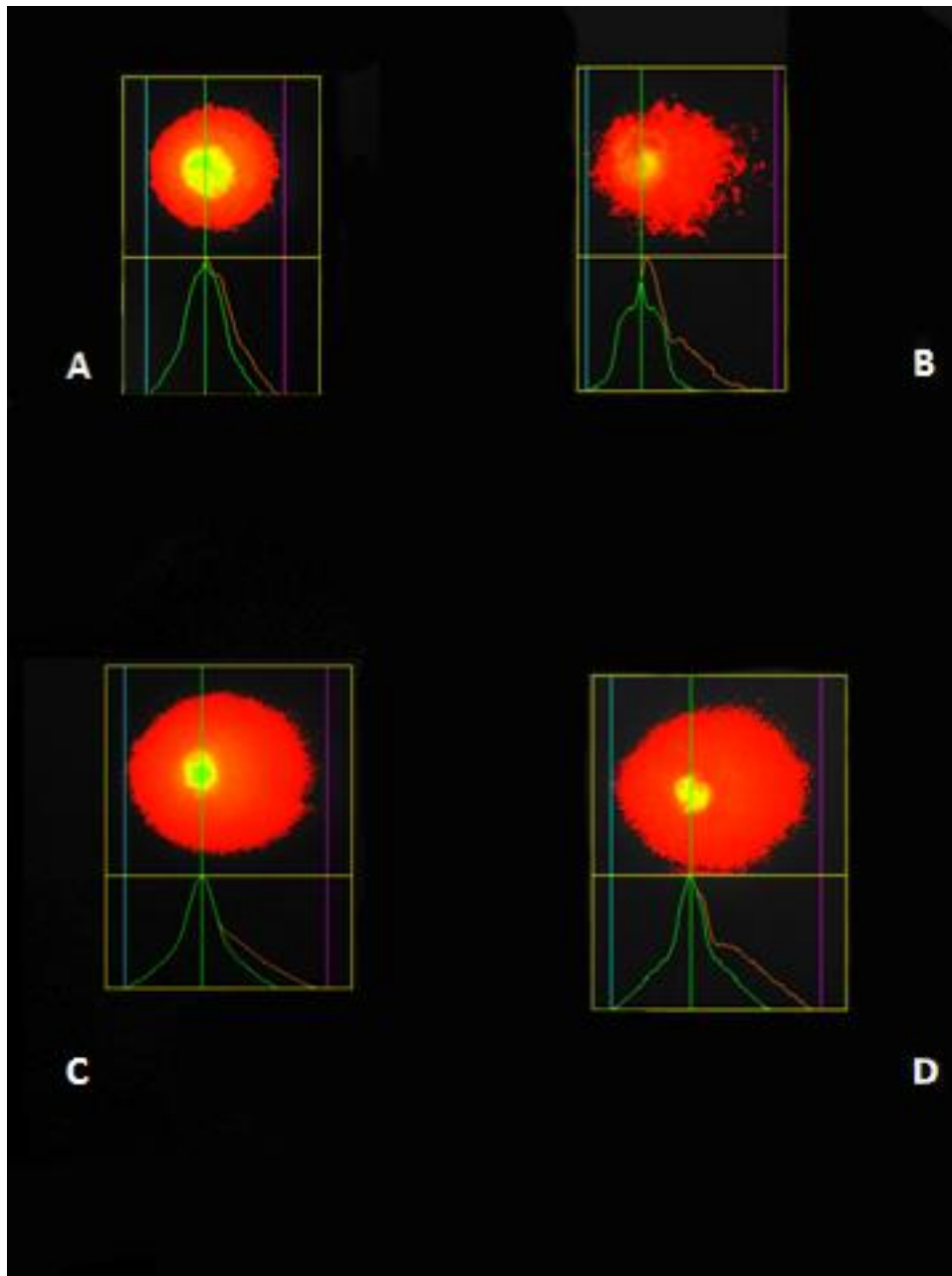
- negatív kontroll, csak sejteket tartalmaz,
- 80% etanolt tartalmazó kontroll 1 órás inkubációval,
- koncentrátumos kontroll és
- koncentrátumos kontroll 1 órás inkubálással.

A kontrollok között a negatív kontroll mindhárom másik kontrollhoz képest szignifikánsan alacsonyabb károsodást mutatott. Ezen kívül az etanolos 1 órás inkubálású kontroll és a koncentrátumos 1 órás inkubálású kontroll közötti különbség adódott szignifikánsnak (30. ábra).

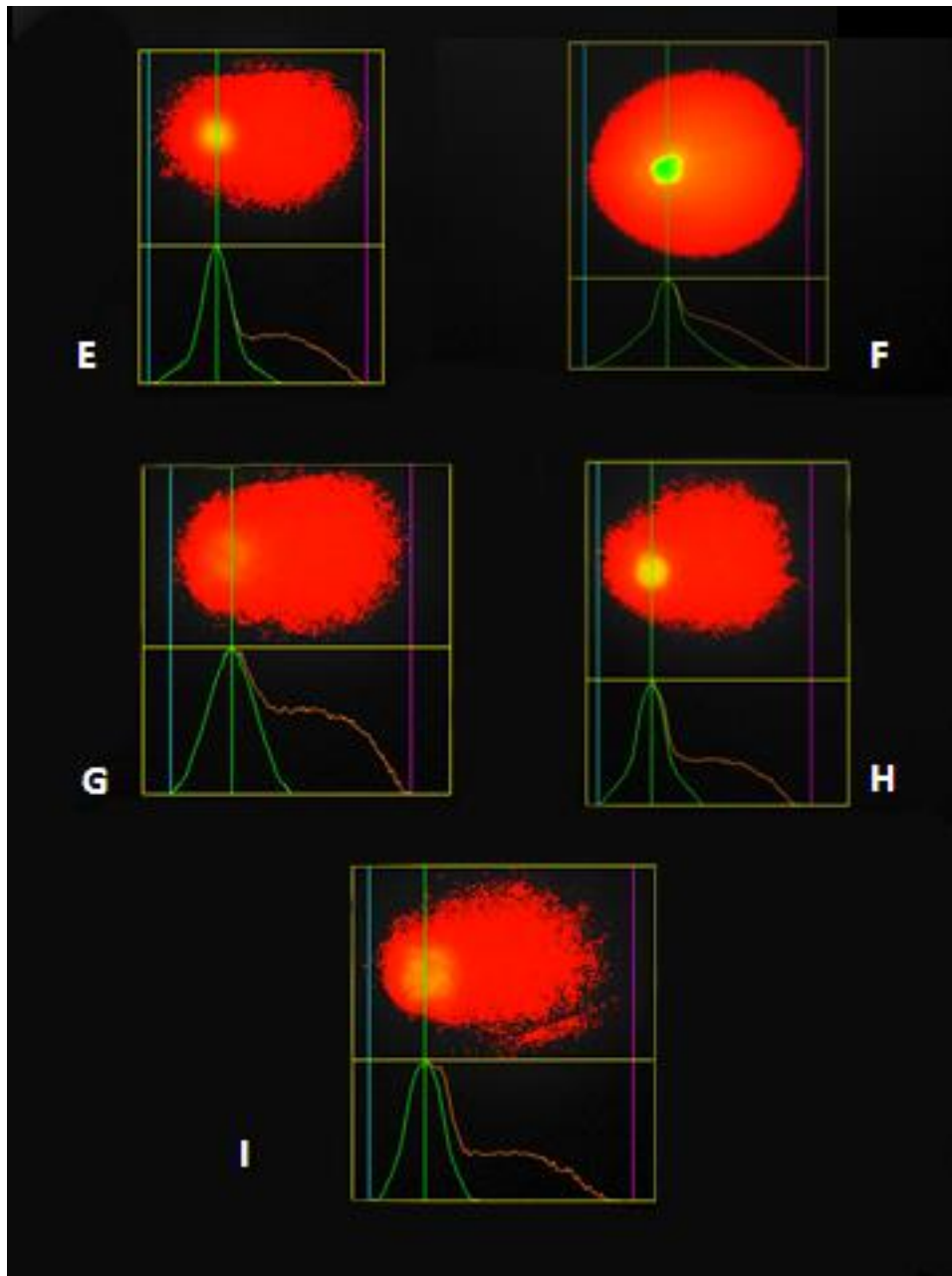
Az expozíciónak is kitett keratinociták DNS-törése minden esetben szignifikánsan magasabb volt, mint bármely kontrollnál (30. ábra, 31/A. és 31/B. ábra).



30. ábra Keratinociták tail moment-je koncentrátummal, UV-sugárzással történő kezelés és 1 órás inkubálást követően



31/A. ábra Keratinociták koncentráttal, UV-sugárzással történő kezelés és 1 óras inkubálást követően. (A) negatív kontroll, (B) etanolos kontroll, (C) koncentráttal kezelt sejtek, (D) koncentráttum+1 óra inkubálás (400x)

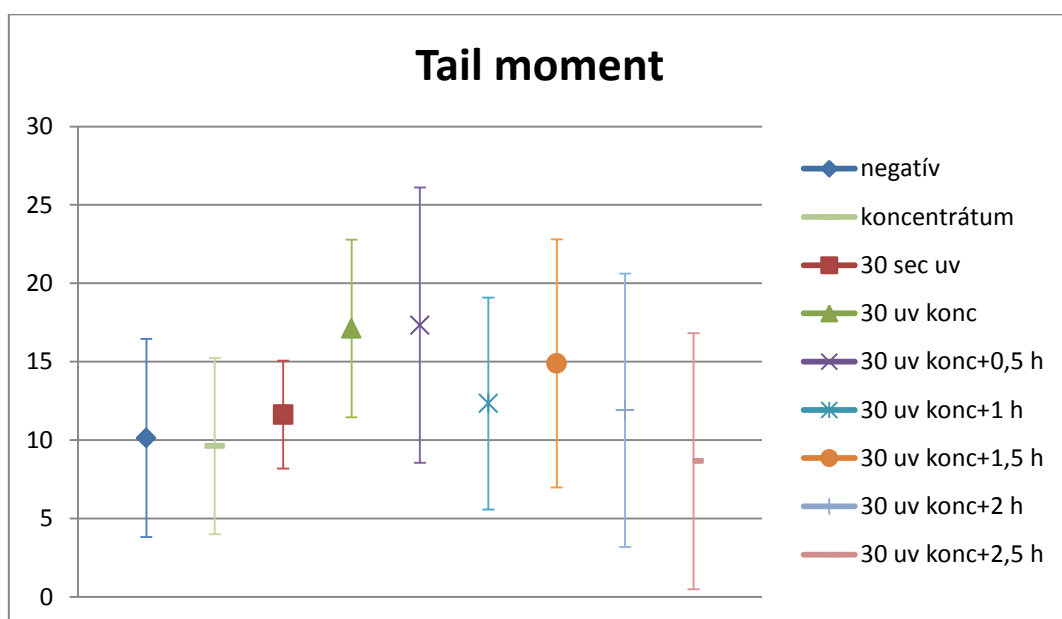


31/B. ábra Keratinociták koncentráttal, UV-sugárzással történő kezelés és 1 óras inkubálást követően. (E) koncentrátum+10 sec UV+1 óra inkubálás, (F) koncentrátum+20 sec UV+1 óra inkubálás, (G) koncentrátum+30 sec UV+1 óra inkubálás, (H) koncentrátum+40 sec UV+1 óra inkubálás, (I) koncentrátum+50 sec UV+1 óra inkubálás (400x)

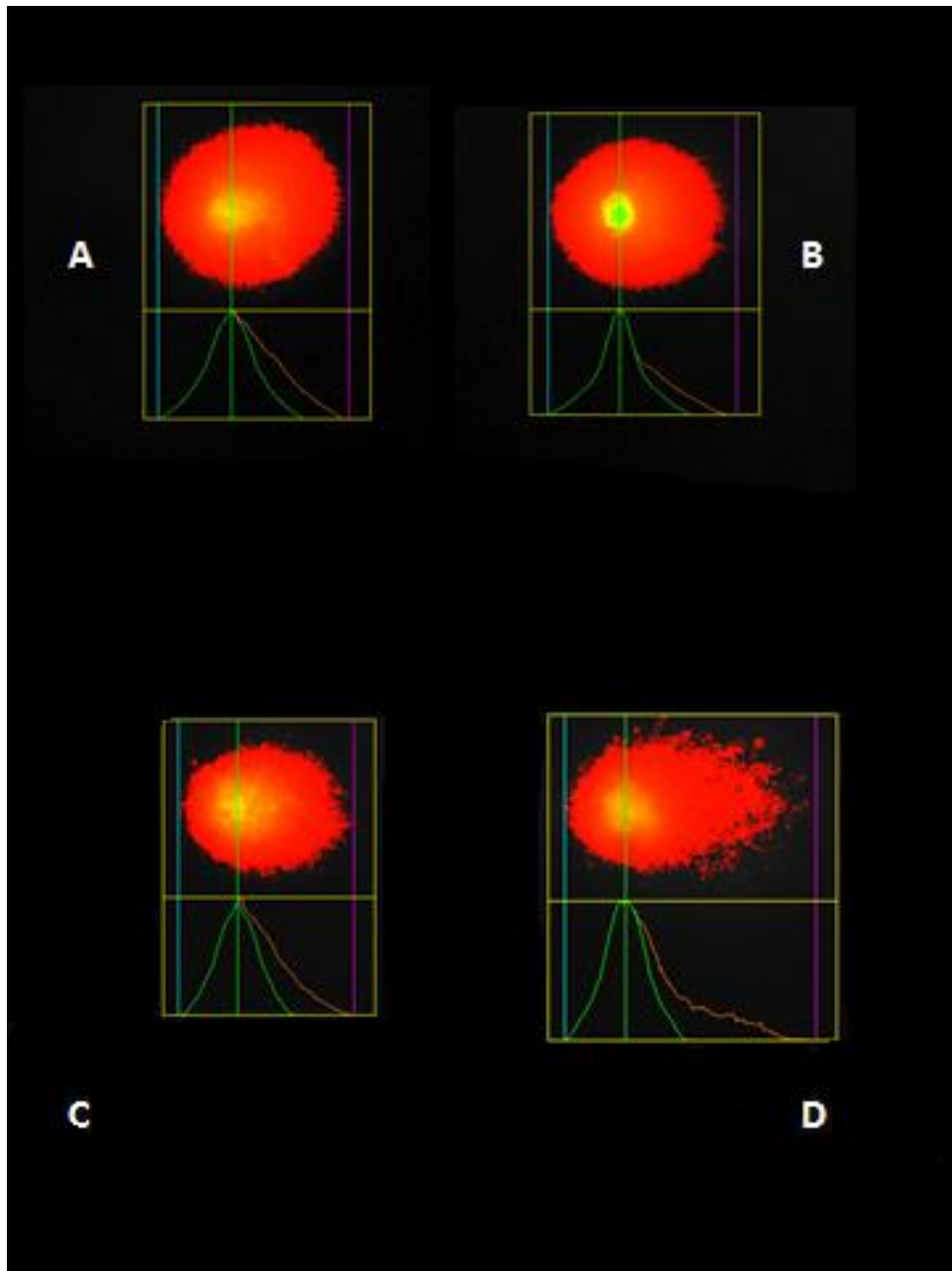
Legvégül a kakasszéki koncentrátum és az inkubációs idő hosszának a hatását vizsgáltuk a DNS-károsodását javító mechanizmusokra. Ebben a vizsgálatban az UV-besugárzás idejét 30 s-nak határoztuk meg és az inkubációs idő 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 óra volt. Itt 4 kontroll határozható meg:

- egy csak sejteket tartalmazó negatív,
- egy sejteket és koncentrátumot tartalmazó kontroll,
- egy 30 s-os UV-sugárzásnak kitett és
- egy koncentrátumos 30 s-os UV-expozíciós kontroll (32. ábra).

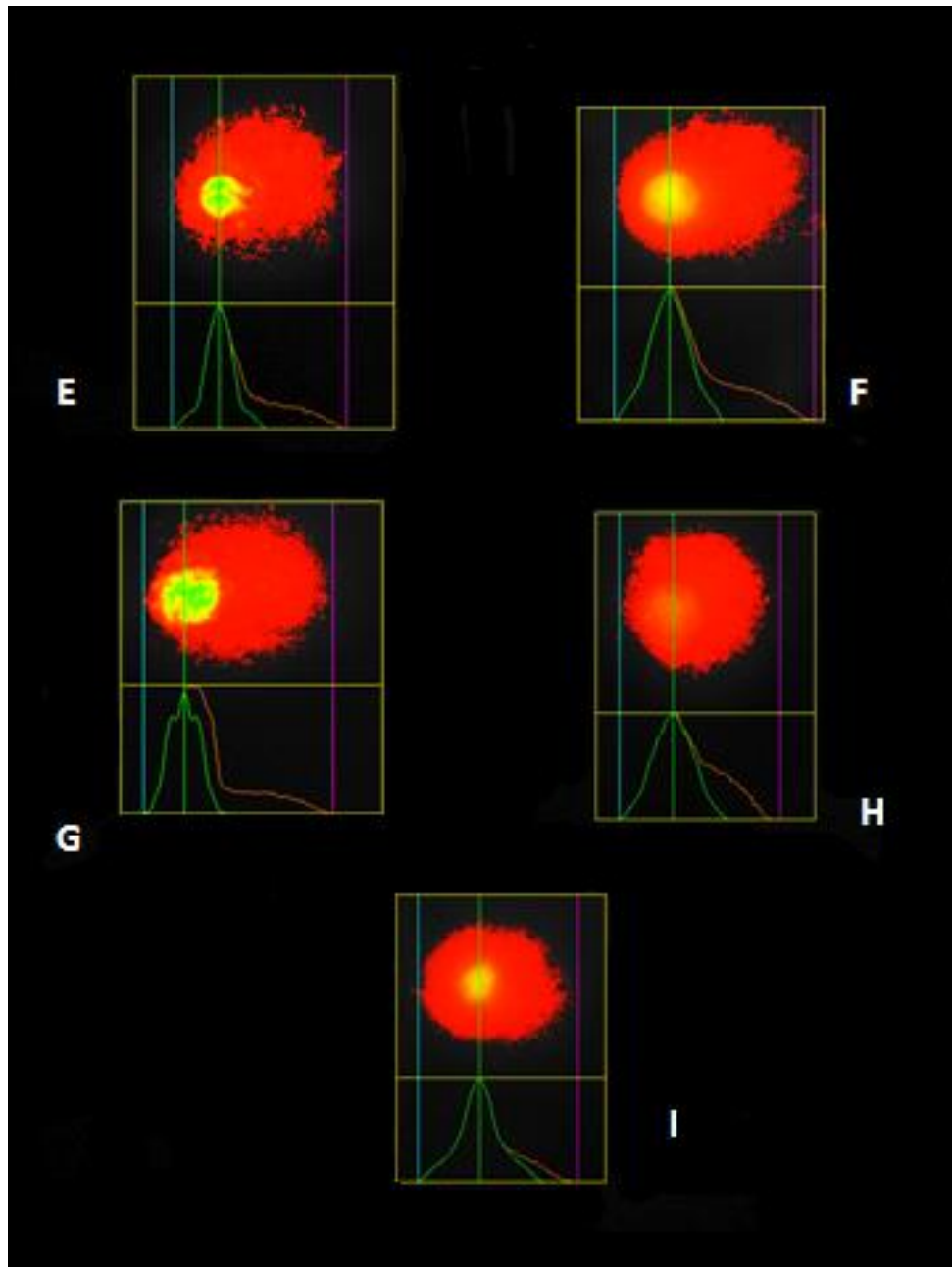
A negatív kontroll és a koncentrátumos kontroll között nincs szignifikáns különbség. Ezzel szemben a negatív és a koncentrátumos kontroll és a másik kettő besugárzott kontroll között szignifikáns különbség van, ami természetesen az UV-sugárzásnak köszönhető. A negatív kontrollt csak annak bizonyítékaként tettük be, hogy a sejtek DNS-e nem volt sérült. A 30 s-os fél óráig inkubált minta esetében a DNS-károsodás a negatív, a koncentrátumos kontroll és a 30 s-os UV-sugárzásnak kitett kontrollhoz képest is szignifikánsan nagyobb, de a koncentrátumot is tartalmazó és 30 s-os expozíciónak kitett kontrollhoz képest nem. Jól látható, hogy az inkubációs idő hosszával arányosan csökken a károsodás mértéke, ami 2-2,5 órás inkubálást követően eléri a 30 s-os UV-besugárzott kontroll és a negatív kontroll értékét, sőt a 2,5 órás inkubáció esetében a DNS-károsodás mértéke, már szignifikánsan alacsonyabb, mint a két besugárzott kontroll esetében. A 33-as számú ábra egy-egy jellegzetes sejt DNS-károsodását ábrázolja. Ennek a vizsgálatának az eredményei alapján elmondhatjuk, hogy a legalább 2-2 és fél órás inkubáció már elég időt biztosít arra, hogy a reparációs mechanizmusok kijavítsák a 30 s-os UV-sugárzás által okozott, DNS-ben bekövetkező száltöréseket (32. és 33/A. és 33/B. ábra).



32. ábra Kakasszéki gyógyvíz-koncentrátum és 30 sec-os UV-sugárzást követő, különböző idejű inkubációnak kitett sejtek eredményei



33/A. ábra Keratinocitákról készült felvételek kakasszéki koncentráttal és 30 sec-os UV-sugárzással kezelt sejtekről, melyeket ezt követően eltérő ideig inkubáltunk. (A) negatív kontroll, (B) koncentrátum, (C) 30 sec UV-expozíció, (D) koncentrátum+30 sec UV (400x)



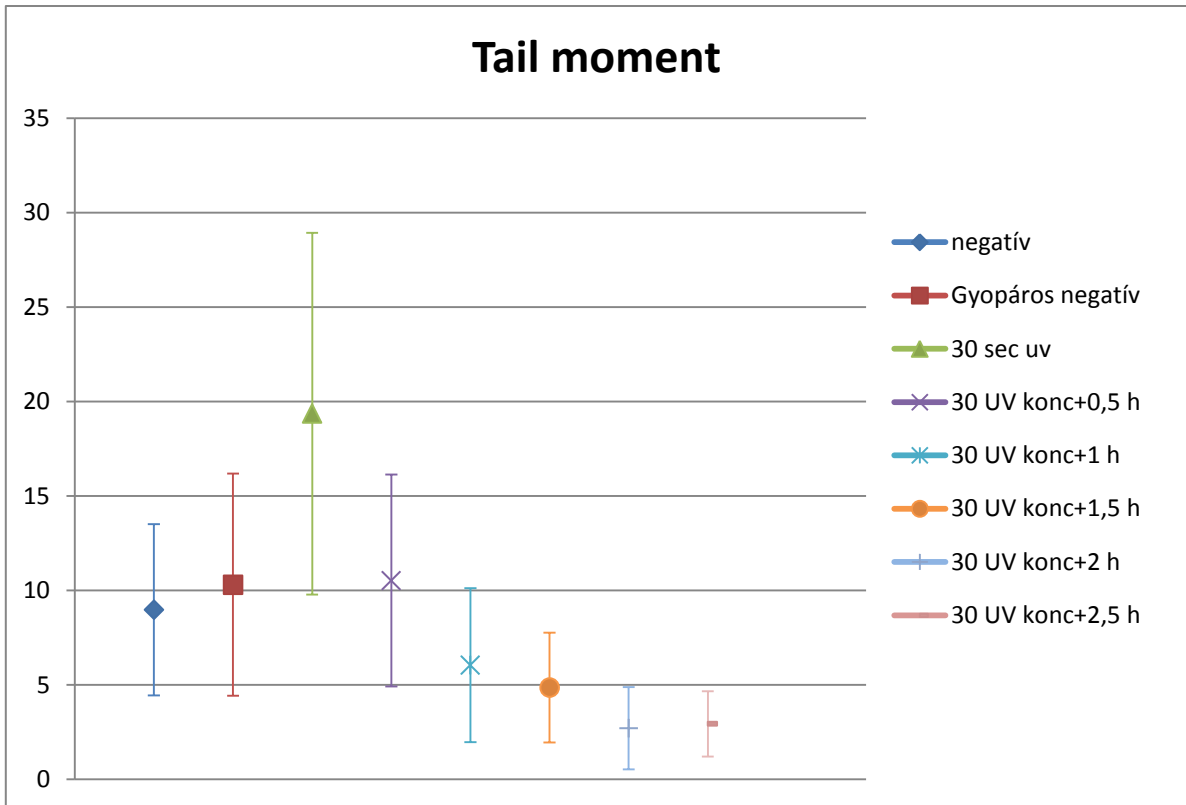
33/B. ábra Keratinocitákról készült felvételek kakasszéki koncentráttal és 30 sec-os UV-sugárzással kezelt sejtekről, melyeket ezt követően eltérő ideig inkubáltunk. (E) koncentrátum+30 sec UV+0,5 óra inkubálás, (F) koncentrátum+30 sec UV+1 óra inkubálás, (G) koncentrátum+30 sec UV+1,5 óra inkubálás, (H) koncentrátum+30 sec UV+2 óra inkubálás, (I) koncentrátum+30 sec UV+2,5 óra inkubálás (400x)

Gyopárosfürdő vízének szerepe az UV-sugárzás elleni védelemben

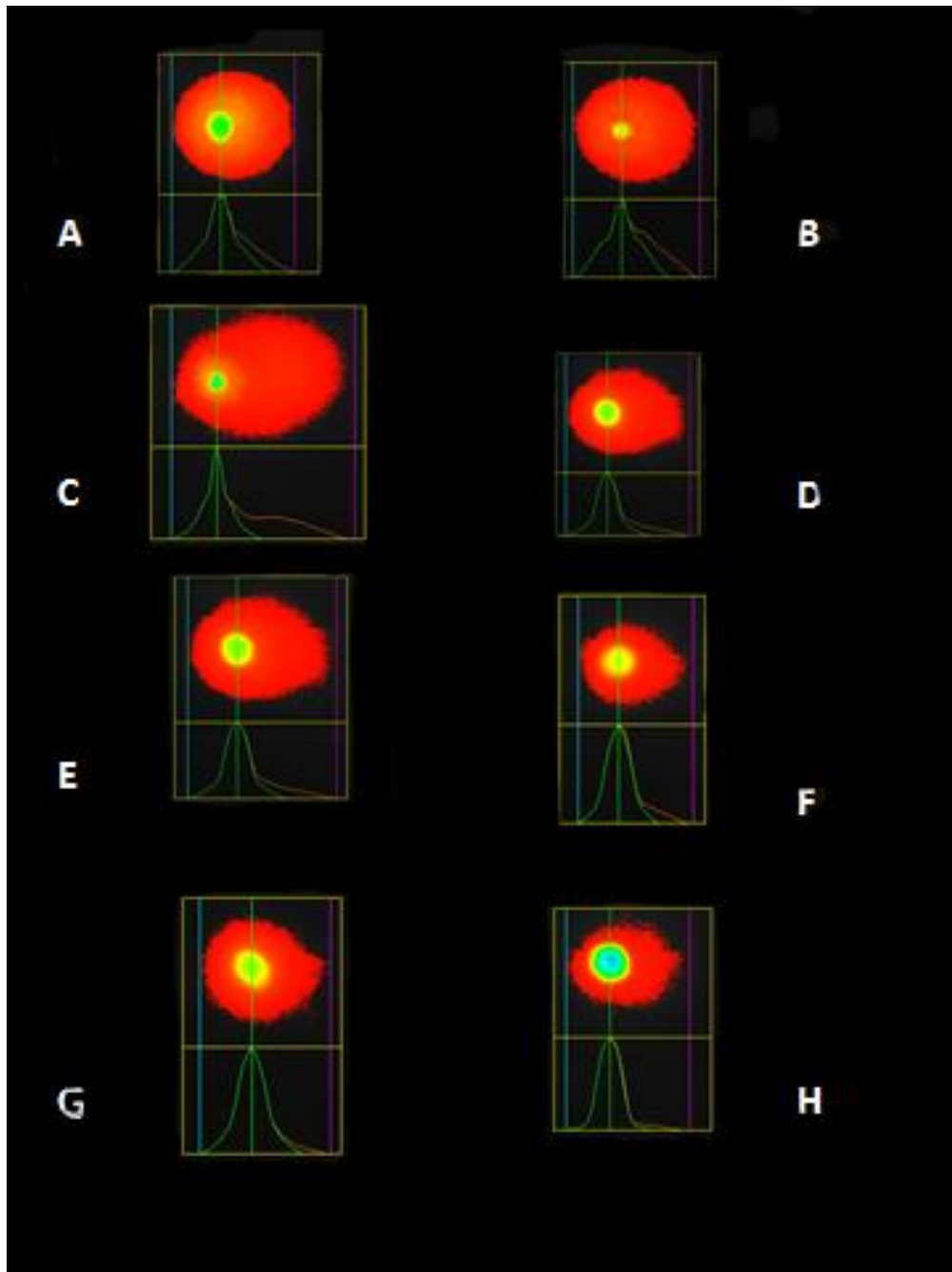
Következő vizsgálatunkban Gyopárosfürdő vízkoncentrátumának a szerepét vizsgáltuk az UV-expozíció elleni védelemben. Korábbi vizsgálataink során Salmonella/Ames tesztben felmerült a víz jelentős szerepe az ultraibolya-sugárzás elleni védelemben TA100-as törzsnél, mind metabolikus aktivációval, mind metabolikus aktiváció nélkül 8 órás inkubáció során. A koncentrátum a kakasszéki vízzel azonos módon készült és a normál olvadáspontú agar 50% gyógyvíz-koncentrátumot tartalmazott. Ebben a vizsgálatban már nem alkalmaztuk a 10, 20, 40, 50 s-os UV-besugárzást, csak a 30 s-ost, mert az előző vizsgálatok eredményei alapján megállapítottuk, hogy ez az expozíciós idő már szignifikáns mértékű károsodást okozott a DNS-ben a negatív kontrollhoz képest. A kakasszéki víz esetében, akkor tudtunk védőhatást kimutatni, amikor az inkubációs idő legalább 2-2,5 óra volt. Ezért ebben az esetben is beiktattuk a 0,5; 1, 1,5; 2; 2,5 órás inkubációt. A vizsgálat során 3 különböző kontrollt alkalmaztunk:

- egy negatív kontroll, ami csak a sejteket tartalmazta,
- egy pozitív kontrollt, ami csak sejteket tartalmazott és 30 s-os UV-besugárzást kapott,
- egy gyógyvíz-koncentrátumot tartalmazó negatív kontrollt, ami nem kapott UV-sugárzást és inkubációban sem részesült.

A két negatív kontroll és a pozitív kontroll közötti különbség az UV-sugárzás miatt szignifikáns volt. A gyógyvízkivonattal kezelt minták a pozitív kontrollhoz képes minden esetben szignifikánsan alacsonyabb DNS-károsodást mutattak függetlenül az inkubáció hosszától. Az inkubációs idő hosszával arányban a DNS-károsodás mértéke is csökkent, 1 órás inkubációt követően már a kontrollok szintje alatt volt, sőt 1,5-2,5 órás inkubációt követően szignifikánsan kisebb volt, mint a negatív kontrollok esetében (34. és 35. ábra).



34. ábra Gyopárosfürdői gyógyvíz-koncentrátum és 30 sec-os UV-sugárzást követő, különböző idejű inkubációnak kitett sejtek eredményei

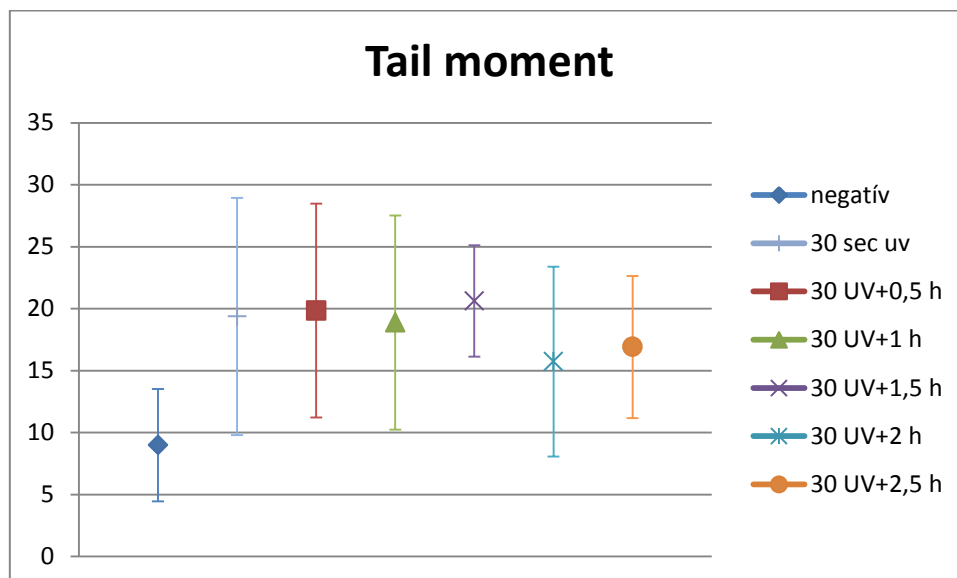


35. ábra Keratinocitákról készült felvételek gyopárosfürdői koncentrátummal és 30 sec-os UV-sugárzással kezelt sejtekről, melyeket ezt követően eltérő ideig inkubáltunk. (A) negatív kontroll, (B) Gyopárosfürdő (negatív) kontroll, (C) 30 sec UV-expozíció, (D) koncentrátum+30 sec UV+0,5 óra inkubálás, (E) koncentrátum+30 sec UV+1 óra inkubálás, (F) koncentrátum+30 sec UV+1,5 óra inkubálás, (G) koncentrátum+30 sec UV+2 óra inkubálás, (H) koncentrátum+30 sec UV+2,5 óra inkubálás (400x)

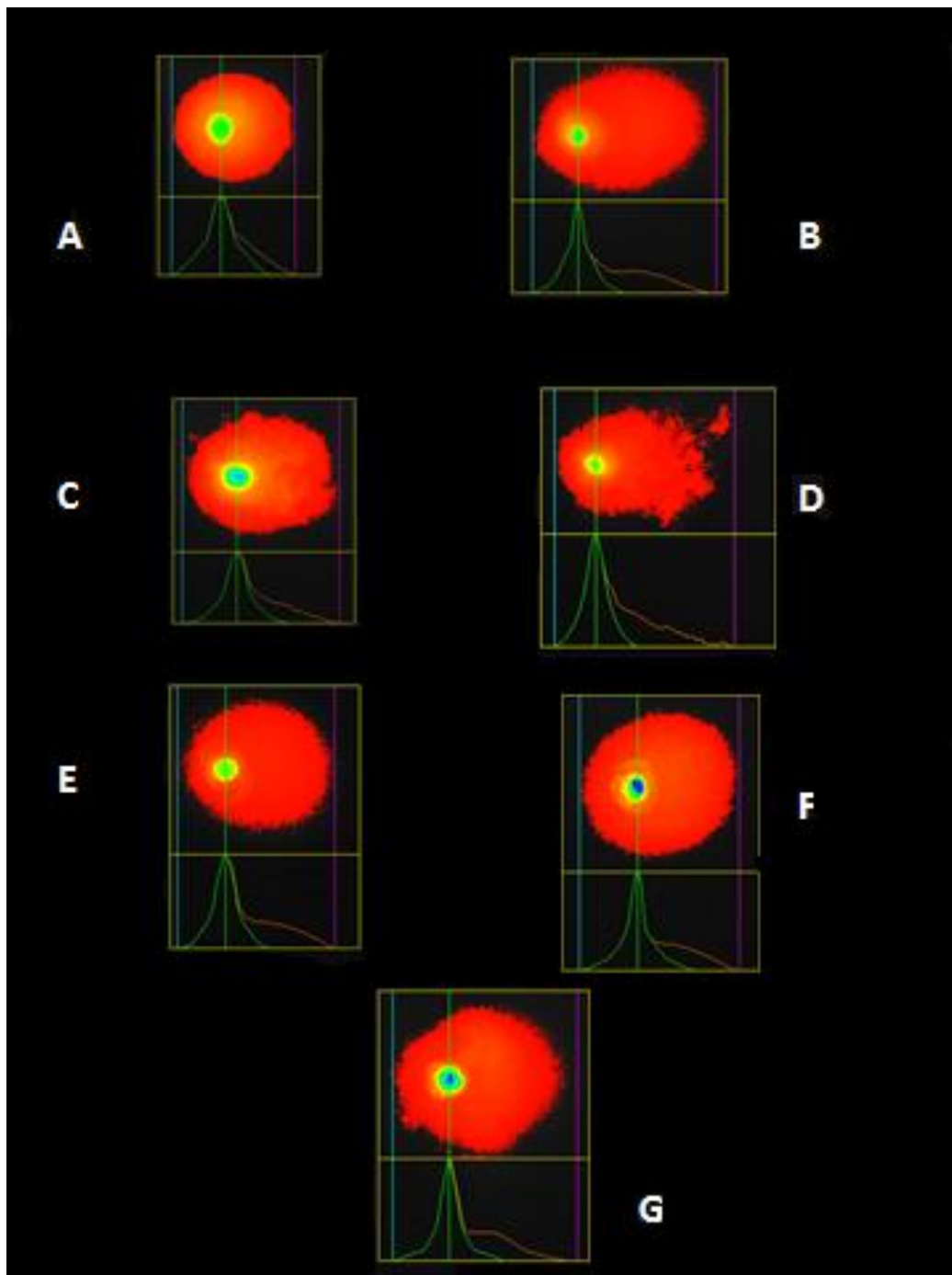
Mind a kakasszéki, mind a gyopárosfürdői minta esetében sikerült kimutatni védőhatást az UV-expozícióval szemben, igaz csak abban az esetben, ha bizonyos idejű inkubációt is beiktattunk. Az eredmények alapján felmerült az a kérdés, hogy vajon az inkubációs idő vagy/és az alkalmazott gyógyvíz-koncentrátumok segítették a reparációs mechanizmusok aktiválódását.

Ennek tisztázása érdekében egy olyan vizsgálatot is elvégeztünk, melyben nem használtunk koncentrátumokat, csak az inkubációs idő hatását vizsgáltuk. A keratinociták ebben az esetben is 30 s-os UV-besugárzásnak tettük ki, majd a korábban már ismertetett inkubációs időket (0,5; 1, 1,5; 2; 2,5 óra) alkalmazva végeztük a vizsgálatot. Negatív kontrollként kezeletlen sejteket, pozitív kontrollként 30 s-os UV-expozícióban részesült sejteket használtunk.

A vizsgálat során kapott eredményeket a 36-os és a 37-es ábrán foglaltuk össze. Az inkubált sejtek DNS-ről kapott eredményeket minden esetben a negatív és a pozitív kontrollal is összevetettük. Mann-Whitney U statisztikai teszt alapján megállapítható, hogy a sugárzásnak kitett inkubált minták szignifikánsan magasabb DNS-károsodást mutattak a negatív kontrollhoz képest (36. ábra). Ezzel ellentétben a pozitív kontroll és az inkubált minták között nincs különbség, tehát a DNS-károsodás mértéke az idő hosszával nem csökkent egyenes arányban (36. ábra).



36. ábra Keratinociták tail momentje különböző hosszúságú inkubációs időt alkalmazva



37. ábra 30 sec-os UV-expozíciónak és különböző hosszúságú inkubációnak kitett hámsejtekről készült felvételek. (A) negatív kontroll, (B) pozitív kontroll (30 sec UV), (C) 0,5 óra inkubálás, (D) 1 óra inkubálás, (E) 1,5 óra inkubálás, (F) 2 óra inkubálás, (G) 2,5 óra inkubálás (400x)

5. MEGBESZÉLÉS

Hazánk történelmének, kultúrájának szerves részét képezi a gyógyfürdőzés és a balneológia. A tudománynak kevés olyan ága van, amelyet ilyen széleskörűen, nagy népszerűséggel alkalmaznak, mint a balneológia, és amelyről rengeteg információval, adattal rendelkezünk, de sokszor ezek az adatok nem elég egzaktak.

Mit is jelent az, hogy ilyen széleskörűen alkalmazzák? Ha megnézzük, a balneológia fő felhasználási területei igen változatosak. Használjuk különböző betegségek, elváltozások elő- és utókezelésére [65, 66], de nemcsak betegségek esetén van jelentősége, hanem turisztikai, rekreációs célú felhasználási területe is jelentős, sőt, ha megnézzük a fürdőlátogatottsági mutatókat, mind a hazai, mind a külföldi vendégek körében nagyon népszerűek ezek a kikapcsolódási formák [67]. Tehát jól látszik, hogy a balneológia, mind a terápia számos lehetőségét, mind a pihenés, kikapcsolódás lehetőségét is magában foglalja, ami már a betegségek megelőzésében is fontos szerepet játszhat [22, 68, 69].

A különböző terápiák számos szervrendszer megbetegedése, sérülése esetén alkalmazhatóak, sőt ami nagy előny jelent, hogy ezek a különböző kezelések egymással jól kombinálhatóak, kiegészíthetőek. A prevenció területén elsősorban a pszichés úton létrejövő hatásokat kell megemlíteni, melyek a lelki nyugalom megvalósulása, és a fizikai kikapcsolódás (aktív, passzív) révén hatnak pozitívan a szervezet működésére.

A balneológiai kezeléseknak a jelentősége, nemcsak egészségügyi szempontból, hanem gazdasági szempontból sem hanyagolható el. Mind a fürdőző vendégek, mind a különböző kezelésekre beutalóval érkező vendégek jelentős összeget hagynak azon létesítményekben, amelyek ezeket a szolgáltatásokat nyújtják. Az évente elvégzett kezelések száma meghaladja 6,5 milliót és a társadalombiztosító által fizetett kezelések összege is 4 milliárd forint körül mozog [26, 27, 28]. A beutaló nélkül, a vendégek által finanszírozott kezelések számáról és a befizetett összegekről nem rendelkezünk pontos információkkal.

A társadalombiztosítási adatokból egyértelműen az következik, hogy rendkívül népszerűek és sokba kerülnek a kezelések. Szükségesnek tartjuk, hogy megfelelő, egzakt tudományos adatokkal alátámasszuk, ezeknek a vizeknek, iszapoknak a jelentőségét. A világon csak kevés ország rendelkezik olyan sok ásvány-, gyógyvízzel és peloiddal, mint hazánk és a Kárpát-

medence. A nemzetközi irodalomban is csak néhány adatot találunk gyógyvizek, gyógyiszapok biológiai hatásáról.

Ezek a biológiai hatások sokfélék lehetnek, ezek közül jelen dolgozatban néhány lehetséges hatást vizsgáltunk különböző végpontok alkalmazásával. Elsősorban különböző toxikológiai, mutagenitási vizsgálatot végeztünk, továbbá ezeknek a teszteknek a módosításával a gyógyvíz-koncentrátumok fotobiológiai jelentőségét vizsgáltuk különböző újabb végpontok beiktatásával.

Az egyszerű csapvízből is ezerszámra mutatnak ki kis mennyiségben előforduló, olyan biológiailag aktív (pl.: mutagén) komponenseket [55, 56, 70], melyek kockázatosak lehetnek az egészségünkre.

Az irodalomban nagyon kevés gyógyvíz szervesanyag-tartalmáról találunk adatokat, ezek közül is elsősorban hazai és néhány dél-európai víz szerves analitikai vizsgálatát említhetjük meg [71, 72]. Ezek a vizsgálatok gázkromatográfiás és tömegspektrometriás vizsgálatokon alapulnak. Hazai vizeink szerves összetevőiről elsőként Agyagási [73] publikált, aki egyszerűen telített nyíltláncú olefineket tudott kimutatni. A szerves analitika fejlődésével lehetővé vált hazai vizekből egyéb szerves anyagok kimutatása is [74, 75, 76], amelyek a terápiás hatékonyságban fontos szerepet tölthetnek be. Jelenleg is zajlik egy igen átfogó a Kárpát-medencében feltárt gyógyvizek szervesanyag-spektrumának a felmérése [77].

Nemcsak a terápiás kérdés merül fel a vizek és iszapok felhasználásával kapcsolatban, legyen az orvos által előírt terápia vagy otthoni kezelés (ehhez bárki szabadon hozzáférhet), hanem a toxikus hatás lehetősége is. Ezek az ásványkincsek olyan szélsőséges körülmények között keletkeznek (nyomás, hőmérséklet, közettani háttér), amelyek kedvezhetnek káros, toxikus alkotók kialakulásának, megjelenésének vizekben, iszapokban (benzol, xilol, toluol) [23]. Arról nem is beszélve, hogy ezeknek az anyagoknak egyenként sem ismerjük biológiai hatásukat, nemhogy interakciójukat. Továbbá ezek a szerves anyagok különböző talajösszetevőkkel komplexeket is képezhetnek például iszapok esetében. Ez a változás mind a felszívódásra, mind a különböző összetevők oldódására hatással lehet.

Peloidokban előfordulhatnak potenciálisan veszélyes szervesetlen komponensek is (As, Hg, Cd, Pb), példaként az ivóvíz arzéntartalmát is megemlíthetjük, mint természetes eredetű szennyeződés [70]. Sőt már antropogén eredetű szennyeződéseket is sikerült kimutatni iszapokból [78], melyek akár hazai vizeinket és iszapjainkat is érinthetik (pl.: Hévíz).

Higiénés mikrobiológiai vizsgálatainkat az ivóvízre és az ásványvizekre vonatkozó jogszabályok figyelembevételével végeztük [20, 32, 33], meghatároztuk az össztelepszámot, a Coliform-számot, az Enterococcus-számot és Clostridiumok számát.

A hévízi peloidban jóval magasabb volt az össztelepszám, mint a kolopi esetében, továbbá a hévízi iszapban a Clostridiumoknak a jelenlétét is sikerült igazolni. A két iszap közötti jelentős különbség háttérében a szerves anyag eltérő mennyisége állhat, a hévízi iszap szervesanyag-tartalma sokkal jelentősebb, mint a kolopié. Ez a magas tápanyagtartalom optimális körülményeket biztosít a szaprofita mikroorganizmusok (gombák, baktériumok) elszaporodásához. Továbbá a hévízi iszapot ömlesztett nedves formában, míg a kolopit kompressz formában (kiszárítva, felhasználásra kész formában) kaptuk meg. Mindkét iszap esetében a kapott össztelepszám meghaladja mind az ivóvízre és mind az ásványvizekre vonatkozó jogszabályokban előírt határértékeket [20, 32, 33].

Egyik iszap esetében sem mutattuk ki a coliform és enterococcus baktériumok jelenlétét, ami arra utal, hogy az iszapokat sem korábbi, sem friss székletszennyeződés nem érte. A hévízi peloid esetében a Clostridiumok jelenléte az iszap keletkezési körülményeivel magyarázható. Az iszap jelentős mennyiségben tartalmaz szerves anyagot, tőzeg formájában, ami lápokban keletkezik nagy mennyiségben, ahol anaerob körülmények uralkodnak és ez a környezet kedvez az anaerob Clostridium fajok elszaporodásának.

Hasonló vizsgálatokat az osztrák Dirnberger végzett, aki mélylári tőzegek humánpatológiai kórokozóit vizsgálta [21]. Ezeket a tőzegeket balneológiai és kozmetikai céllal használják. Munkájában felhívja a figyelmet arra, hogy még mindig nincs egységes EU szabályzás az iszapok mikrobiológiai követelményeire. Munkája során a kozmetikai termékek mikrobiológiai tisztaságára vonatkozó szabályozást javasolja használni a peloidok esetében is. Így az össztelepszámot max. 1000 telep/g peloidban határozza meg, míg a coliformok és enterococcusok jelenlétének negatívnak kellene lennie 1 g peloidban. Vizsgálataink során ez csak a kolopi iszap esetében valósult meg teljes mértékben, a hévízi mintánál nem. A szerző arra is felhívja a figyelmet, hogy bizonyos körülmények között (tárolás, időjárás hatása), jelentős mértékben megváltozhat a peloidok mikroba közössége, bizonyos „védő” baktériumok elpusztulhatnak, kórokozók, penészgombák elszaporodhatnak. Sőt bizonyos tartósító szerek hatására a clostridiumok elszaporodását figyelte meg.

A vizsgálatok eredményei felvetik az iszapok otthoni felhasználásának kockázatát. Nem lehet pontosan nyomon követni azt, hogy hányszor, milyen körülmények között kerülnek felhasználásra ezek az iszapok. Ezért mindenféleképpen üdvözlendő lenne, olyan szabályok,

rendeletek, vizsgálat módszerek kidolgozása, melyek pontosan meghatároznák a vizsgálandó mikroorganizmusok körét és amelyek a „házi” iszapkezeléseket szabályoznák.

Ezt követően különböző iszap- és gyógyvízminták vizsgálatát végeztük el egyszerű öko- és genotoxikológiai tesztekkel *in vivo* és *in vitro* körülmények alkalmazásával. Ezen vizsgálatok célja az adatgyűjtés volt, amely a balneológia tudományos alapokra helyezésének első és nagyon jelentős állomása.

Vizsgálatainkat az ökötoxikológiai tesztekkel kezdtük, melyekkel két különböző típusú peloidunkat vizsgáltuk.

Elsőként a fehér mustár gyökérnövekedési tesztel végeztük el, melyben a mintákat talajkivonatként és teljes talajként is teszteltük. A kicsírázott magok számában egyik esetben sem találtunk eltérést a kontrollhoz képest. Ha talajként teszteltük az iszapokat, akkor a hévízi minta esetében nem, de a kolopi peloidnál a kontrollhoz képest szignifikáns eltérést kaptunk [79, 80] (11. ábra), amely alapján kijelenthetjük, hogy a kolopi minta negatívan befolyásolja a gyökéreképződést.

A hévízi iszapban és iszapkivonatban keletkezett gyökerek szerkezetükben jóval törékenyebbek, vékonyabbak, sérülékenyebbek voltak, mint a kontroll esetében, amelynek háttérében az áll, hogy a közvetlen érintkezés során olyan anyagok juthattak be nagyobb mennyiségben a gyökérkezdeményekbe, amelyek eredményeként hosszabb, de vékonyabb, gyengébb gyökerek képződtek.

Következő ökötoxikológiai vizsgálatunk az *Eisenia* teszt volt. Itt is a hévízi és a kolopi peloidot vizsgáltuk. Elsőként az állatokat 100%-os hévízi iszapba telepítettük, majd 3 végpontot követtünk figyelemmel hétről-hétre: túlélést, testtömegben bekövetkező változások mértékét, szaporodás ütemét. A vizsgálat során az akut toxicitás lehetőségét kizártuk, de a giliszták testtömege a hévízi iszap esetében elmaradt a kontrollhoz képest, továbbá a betelepített állatok nem szaporodtak. Irodalmi adatok alapján jól ismert, hogy a trágyagiliszták növekedését és szaporodását a vizsgálati edénybe telepített állatok populációjának nagysága [81, 82] és a rendelkezésre álló szerves anyagok minőségi és mennyiségi mutatói is befolyásolják [83]. A populáció nagyságának a negatív hatását kizárhatjuk, mert a negatív kontroll esetében nem tapasztaltuk ezt az eltérést. Az eredmények alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a szerves anyagban gazdagabb hévízi minta is

túl kevés tápanyagot tartalmaz a férgek számára, ezért a további vizsgálatokban a mintákat lótrágyával egészítettük ki.

Felvetődik a kérdés, hogy az eltérést az iszapok alacsony szervesanyag-tartalma és/vagy a bennük előforduló komponensek okozzák.

Ebben a vizsgálati sorozatban is kizárhatjuk az iszapok akut toxicitását, mert nem történ elhullás. A kontroll és a minták testtömege közötti változás sem mutat jelentős különbséget. Ezzel szemben a giliszták reprodukációs képessége a kolopi iszapban jelentősen elmaradt a kontrollhoz képest, sőt a hévízi peloidhoz képest is [80, 84, 85].

A kolopi peloid esetében tapasztalt különbség (fehér mustár gyökérnövekedési és *Eisenia* teszt) nem magyarázható egyszerűen a tápanyag-ellátottság hiányával, hiszen a csírázáshoz, a gyökérnövekedéshez nincs szükség külső tápanyagokra, mert ezt az érett mag tartalmazza, továbbá az *Eiseniák* szaporodásában tapasztalt különbséget sem az alacsony szervesanyag-tartalom okozza, mert akkor már a testtömegben is jelentős eltérést kellett volna tapasztalnunk. Ezért az eredményekből arra következtethetünk, hogy a kolopi iszap olyan vegyületeket tartalmazhat, amelyek károsan befolyásolhatják a különböző élőlények bizonyos életfolyamatait, ezek között akár hormonszerű vegyületek is előfordulhatnak, amelyek például a giliszták szaporodására hathatnak. Irodalmi adatok alapján ismert, hogy a hévízi peloid tartalmaz hormonhatású anyagokat [30], az iszapok képződési feltételeit ismerve a kolopi peloidban is előfordulhatnak ilyen hatású komponensek.

Ezt követően az iszapoknak a genotoxikológiai minősítését végeztük el humán, patkány limfocitákon, valamint *Eisenia* cölomasejteken [85, 86, 87]. A DNS-károsodásának a vizsgálatára az üstökös gélelektroforézist alkalmaztuk. A gilisztákat 3 hétre csak peloidot tartalmazó közegben tartottuk, majd az állatokból cölomasejteket izoláltunk [54] és elvégeztük a comet assay-t [88, 89].

A limfociták esetében egy általunk kidolgozott metodikát alkalmazva a sejteket közvetlen érintkezésbe hoztuk a vizsgált iszappal. A cölomasejtek esetében a kolopi iszap nem, de a hévízi peloid DNS-károsító hatása szignifikánsan magasabb volt (21. ábra). Hasonló eredményt kaptunk a humán limfociták esetében is (17. ábra), ahol szintén csak a hévízi minta mutatott jelentős eltérést a kontrollhoz képest. Ezzel szemben a patkány limfocitáknál sem a kolopi, sem a hévízi iszap nem okozott száltörést (19. ábra). A teszt eredményei alapján elmondhatjuk, hogy a hévízi peloidnak van DNS szintű hatása a féreg cölomasejtek és a

humán limfociták esetében. Természetesen a két egymástól különböző (genetikai, élettani, rendszertani szempontból) faj eredményei között nem vonhatunk párhuzamot, mert a gyűrűsférgék hosszabb idejű expozíciónak voltak kitéve (3 hét), mint a humán limfociták (1 óra), továbbá egész testfelületükön (sőt még a tápcsatornán keresztül is!) érintkeztek az iszapban lévő komponensekkel. A 3 faj közötti különbség természetesen az eltérő genetikai háttérnek, a reparációs mechanizmusok különbözőségével, sebességével is magyarázható. Hertel-Aas és munkatársai kimutatták, hogy a különböző fajokban a reparációs mechanizmusok sebessége eltérő, ők az *Eisenia fetida* esetében azt találták, hogy ezeknek a javító folyamatoknak a beindulásához jóval hosszabb idő szükséges, mint a legtöbb emlős (humán, rágcsálók) és ízeltlábúak esetében [90].

Intézetünkben már korábban is vizsgáltuk ennek a két iszapnak a mutagén hatását Salmonella Ames tesztben [91, 92, 93]. Kísérleteinket előkezelés nélküli (*in toto*) peloidmintákkal kezdtük, amelyeket az Ames teszt egy érzékenyebb formájával, az előinkubációs teszttel végeztünk. Itt a minták egy dózisa esetében sem kaptunk statisztikailag szignifikáns különbségeket.

A módszer továbbfejlesztéseként klasszikus talajkémiai eljárással a peloidokból szerves és szervetlen kivonatokat készítettünk, amelyeket Ames tesztben vizsgáltunk tovább. Szervetlen oldószerek használata esetén kétszer több statisztikailag szignifikáns eredményt kaptunk, mint a szerves oldószeres mintáknál, mindkét peloidnál. A kísérletsorozat ismétlése során eredményeinkben fluktuációt tapasztaltunk: a mutagén mintázat teljes mértékben különbözött az előzőtől, csupán kismértékű átfedés volt megfigyelhető. A fenti eredményeket az iszapban élő, biológiai-metabolikus aktivitással rendelkező mikroorganizmusok jelenléte okozhatja [94].

Jól látható, hogy vizsgálataink során az Ames tesztben és a comet assay-ben tapasztalt eredmények nem minden esetben mutatnak azonosságot. Míg az Ames teszt esetében nem sikerült egyértelműen bizonyítani, azt a logikusnak tűnő feltételezést, hogy a szerves anyagban gazdagabb iszap (hévízi 20%) valószínűleg több genotoxikus komponenst tartalmazhat, addig a comet assay esetében a hévízi mintánál számos esetben (különböző magasabbrendű fajokon) kaptunk statisztikailag szignifikáns különbségeket, amelyek mégis alátámasztják az alapfeltételezést.

A különbség hátterében több tényező is állhat. A mintákat különböző biológiai végpontokon teszteltük, amelyek különböző mutációkra különböző mértékben érzékenyek. Továbbá az alkalmazott koncentrációk, valamint az iszapok állapota (szárított, oldószerrel kezelt) is eltérő

volt. A felhasznált iszapokat a vizsgálatok előtt hosszabb-rövidebb ideig tároltuk, mely során a bennük előforduló komponensek mennyiség és minőségi átalakuláson mehetnek keresztül, ezért is kaphattunk a különböző vizsgálatok során eltérést, sőt azonos feltételekkel megismételt kísérlet során is (Ames teszt). Ebben az átalakulásban fontos szerepet játszhatnak az iszapokban előforduló mikroorganizmusok, melyek a tárolás során különböző érési folyamatokat indukálhatnak, ezzel befolyásolva a peloidokban előforduló szerves anyagoknak a biológiai-metabolikus aktivitását [61, 94].

További vizsgálataink során gyógyvízkivonatok genotoxikus és védőhatását teszteltük. Korábbi munkánk során már vizsgáltunk öt különböző eredetű, összetételű, de gázkromatográfiás analízis alapján változatos szervesanyag-tartalmú vizeket (Hévíz, Hajdúszoboszló, Gyopárosfürdő, Tiszakécske és Zalakarosi termálvíz).

Ezeknek a vizeknek a potenciális mutagén hatását és az UV-expozícióban betöltött védő szerepét teszteltük Salmonella/Ames teszttel. A teszt során egyik minta esetében sem kaptunk mutagén hatást [54]. Ezt követően a baktériumok UV-érzékenységét teszteltük gyógyvízkivonattal és gyógyvízkivonat nélkül is. Az ultraibolya-sugárzás elleni érzékenység tesztelése során azt tapasztaltuk, hogy a Salmonella TA98-as törzse már 2 s-os besugárzásnál, míg a TA100-as törzs 4 s-os besugárzásnál elpusztult.

A védő hatás vizsgálata során a kapott eredményekből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy 4 vízminta (Hévíz, Gyopárosfürdő, Tiszakécske, Zalakaros) UV-sugárzás elleni védőhatását sikerült igazolni TA100-as jelű törzs esetén metabolikus aktiválás és 8 órás inkubálás mellett. Ezt a metodikát követve vizsgáltuk a kakasszéki szanatórium gyógyvizét, amely a gázkromatográfiás elemzés alapján szintén gazdag különféle szerves anyagokban. Vizsgáltuk a mutagén hatást, a védőhatást előinkubációval (8 óra) és anélkül, metabolikus enzimekkel és nélkülük, mindkét törzsen (TA98, TA100). A kakasszéki víz sem mutatott mutagén hatást egyik törzsnél sem metabolikus aktiválással, sem anélkül (22. ábra, 23. ábra). Ennél a koncentrációnál nem sikerül igazolnunk a víz UV-sugárzás elleni védőhatását (24. ábra, 25. ábra). Az eredmények alapján elmondható, hogy a kakasszéki minta nem tartalmaz olyan hatóanyagokat, melyek a baktériumok túlélését segítenék, de olyan komponenseket sem, amelyek az Salmonella tesztben mutagénnek bizonyulnának, vagy a potenciálisan veszélyes összetevők mennyisége, még a koncentrált mintában sem éri el azt a koncentrációt, amely mutációt tudna kiváltani. Természetesen ezek alapján még nem vonhatjuk le azt a következtetést, hogy a vizek nem jelenthetnek kockázatot a kezelések során, mert itt a kapott információk prokariótákat alkalmazó vizsgálatból származnak. Bár az is igaz, hogy egy

kezelés során nem érintkezik a szervezet ilyen mértékben koncentrált hatóanyagokkal mint az általunk alkalmazott kísérletben. A jelenség tisztázása érdekében néhány gyógyvíz-koncentrátum hatását humán sejteken is vizsgáltuk.

Munkánk utolsó nagy vizsgálati sorozatában két már korábban említett, szerves anyagban gazdag gyógyvízből (kakasszéki, gyopárosfürdői) készült koncentrátum hatását vizsgáltuk keratinocitákon (HaCat) üstökös gélelektroforézis segítségével. Azért választottuk a keratinocitákat, mert a gyógy- és termálvizekben található illékony szerves anyagok szervezetbe jutásának két lehetséges módja lehet, bőrön keresztül és inhalációval [95], ezen belül is a hámrétegnek van jelentősebb szerepe.

Elsőként meghatároztuk a sejtek UV-érzékenységét különböző hosszúságú expozíciós időt alkalmazva. Eredményeink egyértelműen igazolták azt a feltételezést, hogy az UV-sugárzás időtartalma és DNS-károsodás mértéke között egyenes arányosság áll fenn (26. ábra). Az irodalomban is számtalan példát találunk erre a pozitív összefüggésre UVC- [96] és UVB-sugárzás [97, 98] hatásának vizsgálata esetén is.

Következő lépésben vizsgáltuk a gyógyvizek mutagén hatását, amelyet különböző idejű UV-expozícióval is kiegészítettünk. Ezekkel a vizsgálatokkal egyrészt felmértük a vizek potenciális genotoxikus hatását, továbbá azt, hogy az UV-sugárzás és a vízkoncentrátum együttesen, milyen hatást fejt ki a hámsejtek DNS-ére.

A kakasszéki gyógyvízből készült koncentrátum több esetben is nagyobb arányú száltörést mutatott a negatív kontrollhoz képest (28. ábra, 30. ábra), de mégsem jelenthető ki egyértelműen, hogy genotoxikus hatású lenne, mert olyan eredményeket is kaptunk, amelyeknél a negatív kontroll és a kakasszéki minta között nincs szignifikáns eltérés (32. ábra). Ezzel szemben, ha a kakasszék mintához (kontrollként alkalmazva) hasonlítottuk a koncentrátumos és inkubált vagy nem inkubált, besugárzott mintákat (kakasszéki), akkor minden esetben szignifikánsan magasabb volt a mintákban a DNS-károsodás mértéke, mint a kakasszéki kontrollban (28. ábra, 30. ábra és 32. ábra).

Azt is megállapíthatjuk, hogy adott hosszúságú ($20 \text{ s} \leq$) UV-besugárzást követően a DNS-ben bekövetkező károsodások mértéke között nincs szignifikáns különbség (28. ábra). Ez abban az esetben is igaz, ha az expozíciót követően a reparációs mechanizmusok működésének 1 órás inkubációs időt biztosítottunk (30. ábra).

Ezt követően az alkalmazott inkubációs idő hosszának a hatását teszteltük gyógyvíz-koncentrátummal együtt.

A kakasszéki koncentrátum vizsgálat során megállapítottuk, hogy a 30 s-os ultraibolya-kezelés már minden esetben statisztikailag jelentős eltérést okoz a kontrollokhoz képest (28. ábra, 30. ábra), ezért a további kísérleteinknél ezt az expozíciós időt alkalmaztuk.

Az inkubációs időt a következőekben 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 órában határoztuk meg és a koncentrátum, valamint a 30 s-os expozíció mellett detektáltuk a DNS-ben bekövetkező száltörések mértékét. A statisztikai értékelést követően elmondhatjuk, hogy ha az inkubációs időt elég hosszúnak (legalább 2-2,5 óras) választottuk meg, akkor a negatív és a koncentrátumos kontroll szintjére csökkent a DNS-károsodás mértéke (32. ábra). Természetesen ebből az eredményből még egyértelműen nem dönthető el, hogy a koncentrátum és/vagy az inkubációs idő játszik fontos szerepet a reparációs mechanizmusok működésében.

Következőekben a Gyopárosfürdő vizét vizsgáltuk, megtartva a 30 s-os UV-besugárzást és a 0,5-2,5 óras közötti inkubációs időt. A kapott eredményekből egyértelműen kiderül, hogy a víznek nincs genotoxikus hatása a keratinocitákra (34. ábra). A 0,5-1 óras inkubálást követően statisztikailag szignifikánsan alacsonyabb a genotoxicitás, mint a pozitív kontrollnál, a tail moment értéke eléri a koncentrátumos (Gyopáros) és a negatív kontroll szintjét (34. ábra).

Mindkét vízminta esetében felmerült az a lehetőség, hogy jelentős szerepet játszhatnak az ultraibolya-sugárzás elleni védelemben. De egyik esetben sem zárható ki az inkubációs idő szerepe sem, ezért egy olyan vizsgálatot is elvégeztünk, melyben csak az inkubációs idő hosszának a hatását vizsgáltuk a javító mechanizmusok működésre. A kapott tail moment értékek alapján (36. ábra), amelyek azt mutatják, hogy az inkubációs idő hossza nem befolyásolja jelentősen a reparációs mechanizmusok működését, egyértelműen megállapítható, hogy a vízminták esetében nem az idő, hanem az azokban előforduló vegyületek hatottak védőfaktorként.

Ezzel a vizsgálattal sikerült közvetve igazolni olyan vegyületeknek az előfordulását, melyek a vizek fotobiológiai aktivitásában és az UV-expozíció elleni védelemben fontos szerepet játszanak.

Sem a nemzetközi, sem a hazai irodalomban nem található arra vonatkozó adatok, hogy hasonló kísérleteket végeztek volna. Gyógyvizeket [99] és fototerápiát [100] is már régóta

alkalmaznak, többek között különböző bőrbetegségek kezelésére. Azonban gyógyvizek UV-sugárzás elleni védelemben betöltött szerepéről, vagy a gyógyvízzel történő kezelés és ultraibolya-sugárzás együttes hatásáról nem állnak rendelkezésre adatok. Egyetlen tanulmány foglalkozik UV-sugárzás és peloidok emberi bőrre gyakorolt hatásával [101]. Ebben a tanulmányban megállapították, hogy a kezelés a bőr strukturális átalakulását eredményezi és befolyásolja az epidermisz sejtek apoptotikus folyamatait. Továbbá növeli a sejtek melanintartalmát, amely a szabadgyökök semlegesítésében játszik szerepet.

Vizsgálatainkból jól látszik, hogy a peloidok mikrobiológiai, ökotoxikológiai és genotoxikológiai kockázatot is jelenthetnek, természetesen egy átlagos kezelés során senki nem érintkezik olyan mennyiségben (koncentrátummal) vagy olyan hosszú időn át ezekkel az iszapokkal, mint az általunk végzett tesztekben a kísérleti növények, állatok és különböző sejtek. Ennek ellenére fontos lenne azoknak a komponenseknek az azonosítása, melyek esetleges kockázatot jelenthetnek, továbbá akár ezek eltávolításával és a pozitív hatással bíró összetevők meghagyásával, koncentráálásával egy a prevencióban és betegségek kezelésben valóban kedvezően ható mesterséges peloidot lehetne előállítani.

A gyógyvizek esetében is felmerült az egyik mintánál (Kakasszék) a genotoxikus kockázat, de egyértelműen megerősíteni, vagy kizárni sem tudjuk azt, ezért jövőben egyéb genotoxikológiai tesztek elvégzését javasoljuk a kérdés megválaszolása érdekében.

Ezzel szemben a gyopárosfürdői koncentrátum esetében egyértelműen kizárhatjuk a genotoxikus hatást, továbbá az eredmények tükrében az UV-expozíció elleni védőhatást is sikerült kimutatni. Ennél a víznél a továbbiakban érdemes lenne megfelelő szerves analitikával a fényvédelemben szerepet játszó komponenseket azonosítani és vizsgálni ezeknek a további lehetséges pozitív szerepét.

Fontos lenne egzakt módon, elsősorban szerves analitikai vizsgáló módszerekkel a vizekben, iszapokban előforduló szerves anyagok jelenlétét tisztázni, majd külön-külön is mind toxikológiai, mind védő szerepüket vizsgálni. Ezen vizsgálatokkal a gyógy-, termálvizekben és peloidokban jelenlévő olyan vegyületek jelenlétét sikerülne igazolni, melyek mind a terápia, mind a balneoprevenció hatásosságát fokoznák és ezzel a balneológia tudományos alapjait erősíthetnék meg. Továbbá megvalósulhatna a kezelték védelme azáltal, hogy az olyan komponensek, amelyek károsak, kockázatosak azonosítást követően eltávolíthatóak, valamint a pozitív hatású alkotókból pedig olyan termékek (krémek, oldatok) készülhetnek, melyek a terápiában és a prevencióban is jelentős szereppel bírnak.

Dolgozatomban szereplő kísérletekben számtalan különböző eredetű balneológiai céllal felhasználásra kerülő gyógyvizet és gyógyiszapot vizsgáltunk. Vizsgálatainkkal rengeteg adatot gyűjtöttünk különböző biológiai végpontok beiktatásával. Ezek az eredmények, adatok szükségesek ahhoz, hogy a balneológia egy egzaktabb, tudományos alapokon nyugvó szakterületté váljon. Jelen munkákkal elkezdődött egy nagyarányú adatgyűjtés, mellyel elindulhat ezen terület átfogóbb vizsgálata és megismerése.

6. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Gyógyiszapok higiénés mikrobiológiai, ökotoxikológiai és genotoxikológiai vizsgálata:

Mindkét iszap esetében jelentősnek találtuk az össztelepszám nagyságát

Egyik peloidból sem sikerült Enterococcusok és Coliformok jelenlétét igazolni

A hévízi minta esetben jelentő Clostridium előfordulást sikerült igazolni

Mindkét iszap esetében kizártuk az akut toxikus hatás lehetőségét, továbbá a kolopi iszap esetében igazoltuk a gyökerek képződésére és a férgek szaporodására kifejtett gátló hatást

Üstökös-elektroforézissel igazoltuk a kolopi iszap genotoxikus hatását Eisenia cölömasejtekre és humán limfocitákra

Új modellt dolgoztunk ki a peloidok limfocitákkal történő genotoxikológiai vizsgálatához

Gyógyvíz-koncentrátumok genotoxikológiai vizsgálata és lehetséges szerepük az UV-sugárzás elleni védelemben:

Salmonella Ames teszttel kizártuk a kakasszéki gyógyvíz-koncentrátum mutagén hatását, továbbá nem találtunk védőhatást az UV-expozícióval szemben

A kakasszéki koncentrátum esetében egyértelműen nem tudtuk kizárni a genotoxikus hatás lehetőségét, ezzel szemben igazoltuk a védőhatást megfelelő hosszúságú inkubációs idő alkalmazásával

A gyopárosfürdői gyógyvíz-koncentrátum esetében egyértelműen kizártuk a lehetséges DNS-károsító hatást, továbbá igazoltuk, hogy az alkalmazott vízkoncentrátum segíti a javító mechanizmusok működését, megfelelő hosszúságú inkubáció mellett

Igazoltuk, hogy koncentrátumok nélkül az alkalmazott inkubációs idők nem elegendőek a DNS-ben bekövetkezett száltörések kijavításához

7. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK ÉS A KONGRESSZUSI PREZENTÁCIÓK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Gerencsér G, Varga Cs.

Magyarországi gyógyiszapok ökotoxikológiai vizsgálata fehér mustár gyökérnövekedési teszttel

Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom 2008;27(1-2):43-47.

Gerencsér G, Varga Cs.

Hévízi és kolopi gyógyiszapok ökotoxikológiai minősítése Eisenia-teszttel

Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom 2008;27.(1-2):48-56.

Szendi K, Murányi E, **Gerencsér G**, Varga Cs.

Gyógyiszapokból készült kivonatok mutagenitásának vizsgálata Salmonella Ames-tesztben

Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom 2009;28(1):72-78.

Gerencsér G, Murányi E, Szendi K, Varga Cs.

Ecotoxicological studies on Hungarian peloids (medicinal muds)

Applied Clay Science 2010;50:47–50. IF: 2,303

Szendi K, **Gerencsér G**, Murányi E, Varga Cs.

A balneoterápia lehetséges kockázatai: Peloidok mutagén aktivitásának vizsgálata bakteriális mutagenitási tesztben

Magyar Epidemiológia 2011;8(2):109-121.

Gerencsér G, Szendi K, Varga Cs.

Gyógyiszapok ökogenotoxikológiai vizsgálata

Magyar Epidemiológia 2011;8(2):123-127.

Szendi K, **Gerencsér G**.

Balneoprevenció: Gyógyiszapok genotoxikológiai vizsgálata üstökös-elektroforézissel

Magyar Epidemiológia 2011;8(4):207-212.

Szendi K, **Gerencsér G**, Murányi E, Varga Cs.

Mutagenic activity of peloids in the Salmonella Ames test

Applied Clay Science 2012;55:70–74. IF:2,342

Gerencsér G, Szendi K.

Balneoprevenció, kísérletes balneológia

Egészség-Akadémia 2012;3(4):235-240.

Gerencsér G, Szendi K, Berényi K, Varga Cs.

Can the use of medical muds cause genotoxicity in eukaryotic cells? A trial using Comet assay

Environmental Geochemistry and Health 1014; közlésre elfogadva. IF:2,076 (2012)

Egyéb közlemények

Gerencsér G, Szendi K, Varga Cs.

Biodízel gyártása során keletkező glicerines mellékfázis vizsgálata szubkrónikus orális toxicitási tesztben. Magyar Epidemiológia 2011;8(1):27-31.

Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.

Biodízel előállításakor képződött glicerinnel fázis melléktermék vizsgálata *in vivo* genotoxikológiai tesztekben
Magyar Epidemiológia 2011;8(1):21-26.

Gerencsér G, Szendi K, Kovács A, Ember I.

Biodízel gyártása során keletkező melléktermékekkel kezelt talajok ökotoxikológiai vizsgálata
Jubileumi Évkönyv Dr. Ember István Professzor 20 éves intézetvezetői kinevezése és 60. születésnapja alkalmából 2012;52-55.

Szendi K, **Gerencsér G**, Kovács A, Ember I.

Talajjavító és szelektív növényvédőszer komponensek genotoxikológiai és ökotoxikológiai vizsgálata
Jubileumi Évkönyv Dr. Ember István Professzor 20 éves intézetvezetői kinevezése és 60. születésnapja alkalmából 2012;45-51.

Gerencsér G, Szendi K, Kovács A, Ember I.

Biodízel gyártása során keletkező melléktermékekkel kezelt talajok ökotoxikológiai vizsgálata
Magyar Epidemiológia 2012;9(3):209-214.

Szendi K, **Gerencsér G**, Kovács A, Ember I.

Talajjavító és szelektív növényvédőszer komponensek genotoxikológiai és ökotoxikológiai vizsgálata
Magyar Epidemiológia 2012;9(3):215-224.

Szendi K, **Gerencsér G**, Kovács A.

Combined genotoxicity studies on biodiesel related technical glycerol
Journal of Proactive Medicine 2012;1(2):36-40.

Az értekezés alapjául szolgáló kongresszusi prezentációk (poszterek, előadások)

Gerencsér G, Varga Cs.

Gyógyiszapok ökotoxikológiai vizsgálata Eisenia-teszttel
Jubileumi Tudományos Szakosztályülés, Pécs, 2007. jún. 9.
elsőszerzős poszter

Gerencsér G, Varga Cs.

Gyógyiszapok ökotoxikológiai vizsgálata fehér mustár gyökérnövekedési teszttel
Jubileumi Tudományos Szakosztályülés, Pécs, 2007. jún. 9.
elsőszerzős poszter

Murányi E, Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Gyógyiszapokból készült kivonatok mutagenitásának vizsgálata Salmonella Ames tesztben
Jubileumi Tudományos Szakosztályülés, Pécs, 2007. jún. 9.
társszerzős poszter

Gerencsér G, Varga Cs.
Gyógyiszapok ökotoxikológiai vizsgálata fehér mustár gyökérnövekedési teszttel
Magyar Balneológiai Egyesület 2007. évi Nagygyűlése, Esztergom, 2007. nov. 16-18.
elsőszerzős poszter

Gerencsér G, Varga Cs.
Gyógyiszapok ökotoxikológiai vizsgálata Eisenia-teszttel
elsőszerzős poszter

Szendi K, Murányi E, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Gyógyiszapokból készült kivonatok mutagenitásának vizsgálata Salmonella Ames tesztben
Magyar Balneológiai Egyesület 2007. évi Nagygyűlése, Esztergom, 2007. nov. 16-18.
társszerzős poszter

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.
Gyógyiszapok ökotoxikológiai minősítése Eisenia-teszttel
Népegészségügyi Tudományos Társaság XVI. Nagygyűlése, Pécs, 2008. ápr. 17-19.
elsőszerzős előadás

Murányi E, Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.
A gyógyiszapok lehetséges egészségi kockázatai
Népegészségügyi Tudományos Társaság XVI. Nagygyűlése, Pécs, 2008. ápr. 17-19.
társszerzős poszter

Szendi K, Murányi E, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Gyógyiszapokból készült kivonatok mutagenitásának vizsgálata Salmonella Ames tesztben
Fiatal Higiénikusok Fóruma, Az MHT Ifjúsági Tagozatának IV. Fóruma, Győr, 2008. máj.
29-31.
társszerzős poszter

Murányi E, Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.
A gyógyiszapok lehetséges egészségi kockázatai
Fiatal Higiénikusok Fóruma, Az MHT Ifjúsági Tagozatának IV. Fóruma, Győr, 2008. máj.
29-31.
társszerzős poszter

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.
Gyógyiszapok mikrobiológiai vizsgálata
Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2008. nov. 28-29.
társszerzős poszter

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.
Magyarországi gyógyiszapok értékelése ökotoxikológiai tesztekkel
Népegészségügyi Tudományos Társaság XVII. Nagygyűlése, Marosvásárhely, 2009. ápr. 17-19.
elsőszerzős előadás

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.
Magyarországi gyógyiszapok értékelése ökotoxikológiai tesztekkel
8. Magyar Ökológus Kongresszus, Szeged, 2009. aug. 27-29.
elsőszerzős előadás

Szendi K, **Gerencsér G**, Murányi E, Varga Cs.
Genotoxicity studies on Hungarian peloids using Ames test and comet assay
Scientific Congress of The World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy (FEMTEC), Yokohama, Japan, 2009. nov. 8-12.
társszerzős előadás

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.
New experimental methods for studying medical muds samples
Scientific Congress of The World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy (FEMTEC), Yokohama, Japan, 2009. nov. 8-12.
elsőszerzős poszter

Varga Cs, Szuetta J, **Gerencsér G**, Csiszér A, Domahidi J.
Possible role and effects of organic compounds in spa waters
Scientific Congress of The World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy (FEMTEC), Yokohama, Japan, 2009. nov. 8-12.
társszerzős előadás

Szendi K, **Gerencsér G**, Murányi E, Varga Cs.
Gyógyiszapok mutagenitásának vizsgálata Ames teszt és üstökös-elektroforézis alkalmazásával
Magyar Balneológiai Egyesület 2009. Évi Nagygyűlése, Hévíz, 2009. nov. 20-22.
társzerzős előadás

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.
Új vizsgálati módszerek a gyógyiszapok tanulmányozásához
Magyar Balneológiai Egyesület 2009. Évi Nagygyűlése, Hévíz, 2009. nov. 20-22.
elsőszerzős előadás

Horváth-Sarródi A, Murányi E, Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Epidemiológiai módszerek balneológiai vizsgálatokban
Magyar Balneológiai Egyesület 2009. Évi Nagygyűlése, Hévíz, 2009. nov. 20-22.
társszerzős előadás

Varga Cs, Szuetta J, **Gerencsér G**, Csiszér A, Domahidi J.
Szerves anyagok a gyógyvizekben és lehetséges terápiás/toxikus hatásaik
Magyar Balneológiai Egyesület 2009. Évi Nagygyűlése, Hévíz, 2009. nov. 20-22.
társszerzős előadás

Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.

Gyógyiszapokból és szennyezett talajmintából készült kivonatok mutagenitásának összehasonlító vizsgálata Salmonella Ames tesztben, módszertani fejlesztés
Népegészségügyi Tudományos Társaság XVIII. Nemzetközi Kongresszusa, Orosháza-Gyopárosfürdő, 2010. máj. 13-15.
társzerzős előadás

Gerencsér G, Szendi K, Varga Cs.

Új vizsgálati módszerek a gyógyiszapok tanulmányozásához
Népegészségügyi Tudományos Társaság XVIII. Nemzetközi Kongresszusa, Orosháza-Gyopárosfürdő, 2010. máj. 13-15.
elsőszerzős előadás

Szendi K, **Gerencsér G**, Murányi E, Varga Cs.

Methodological development of genotoxicity studies comparing peloids and contaminated soil samples using Ames test
37th World Congress of the International Society of Medical Hydrology and Climatology, Paris, 2010. jún. 23-26.
társzerzős poszter

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.

New experimental methods for studying potential toxicity of peloids
37th World Congress of the International Society of Medical Hydrology and Climatology, Paris, 2010. jún. 23-26.
elsőszerzős poszter

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.

Gyógyiszapok genotoxikológiai vizsgálata
A fenntartható fejlődés, valamint a környezet- és természetvédelem összefüggései a Kárpát-medencében” című nemzetközi tudományos konferencia, Pécs, 2010. szept. 14-15.
elsőszerzős előadás

Szendi K, **Gerencsér G**, Murányi E, Varga Cs.

Methodological development of genotoxicity studies comparing contaminated environmental samples (soil, peloid etc.) using bacterial mutagenicity test
The 63rd^o General Assembly and International Scientific Congress of the World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy (FEMTEC), Tunisia, 2010. nov. 1-2.
társzerzős előadás

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.

New experimental methods for studying different soils and medical muds
The 63rd^o General Assembly and International Scientific Congress of the World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy (FEMTEC), Tunisia, 2010. nov. 1-2.
elsőszerzős poszter

Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.

Natív és extrahált gyógyiszapok genotoxicitásának vizsgálata bakteriális mutagenitási tesztben
Magyar Balneológiai Egyesület Jubileumi Nagygyűlése, Gyula, 2010. nov. 19-21.
társzerzős előadás

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.
Gyógyiszapok genotoxikológiai vizsgálata
Magyar Balneológiai Egyesület Jubileumi Nagygyűlése, Gyula, 2010. nov. 19-21.
elsőszerzős előadás

Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Hazai termál- és gyógyvízminták illékony és szervesanyag-kivonatainak vizsgálata bakteriális mutagenitási tesztben
Magyar Balneológiai Egyesület Nagygyűlése, Harkány, 2011. nov. 18-20.
társszerzős előadás

Szabó I, **Gerencsér G**, Szendi K, Varga Cs.
Gyógyiszapok frakcionálása toxicitási és hatástani vizsgálatokhoz
Magyar Balneológiai Egyesület Nagygyűlése, Harkány, 2011. nov. 18-20.
társszerzős előadás

Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Hazai termál- és gyógyvízminták illékony- és szervesanyag-kivonatainak vizsgálata bakteriális mutagenitási tesztben
Magyar Epidemiológiai Társaság VI. Kongresszusa, Pécs, 2011. nov. 25-26.
társszerzős előadás

Gerencsér G, Szendi K, Varga Cs.
Gyógyiszapok ökogenotoxikológiai vizsgálata
9. Magyar Ökológus Kongresszus, Keszthely, 2012. szept. 5-7.
elsőszerzős poszter

Gerencsér G, Szendi K, Varga Cs.
Gyógyiszapok *in vivo* és *in vitro* vizsgálata üstökös-elektroforézissel
A Magyar Epidemiológiai Társaság 7. és a Közép-európai Kemoprevenációs Társaság 1. közös nemzetközi kongresszusa, Pécs, 2013. ápr. 06.
elsőszerzős előadás

Szendi K, László M, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Balneoprevenció: lehetséges-e UV-sugárzás elleni védelem termálvizekkel és gyógyiszapokkal?
A Magyar Epidemiológiai Társaság 7. és a Közép-európai Kemoprevenációs Társaság 1. közös nemzetközi kongresszusa, Pécs, 2013. ápr. 06.
társszerzős előadás

Varga Cs, László M, **Gerencsér G**, Szendi K.
Az első tömegspektrometriás adatok hazai gyógyvizeink szerves anyagairól
Magyar Balneológiai Egyesület Nagygyűlése, Mezőkövesd, 2013. nov. 15-17.
társszerzős előadás

Szabó I, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Hazai gyógyvizeink szerves anyagainak hatástani áttekintése tömegspektrometriával nyert adatok alapján
Magyar Balneológiai Egyesület Nagygyűlése, Mezőkövesd, 2013. nov. 15-17.
társszerzős előadás

Szendi K, Kontár Zs, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Ásványvizek genotoxikológiai vizsgálata és kémiai analitikai háttere
Magyar Balneológiai Egyesület Nagygyűlése, Mezőkövesd, 2013. nov. 15-17.
társszerzős előadás

Egyéb kongresszusi prezentációk (poszterek, előadások)

Szendi K, Murányi E, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Biomarker vizsgálatok ionizáló sugárzás és citosztatikus expozícióban
Jubileumi Tudományos Szakosztályülés, Pécs, 2007. jún. 9.
társszerzős poszter

Szendi K, Murányi E, **Gerencsér G**, Varga C.
Biomarker studies in ionizing radiation and cytostatic exposure
International Conference and Central and Eastern European Chapter Meeting
of International Society for Environmental Epidemiology, Čeladná, Czech Republic,
2007. nov. 26-29.

Szendi K, Murányi E, **Gerencsér G**, Varga Cs.
A karcinogén 1-nitropirén *in vivo* mutagenitása, egy potenciális azbesztexpozíció modellje
Népegészségügyi Tudományos Társaság XVI. Nagygyűlése, Pécs, 2008. ápr. 17-19.
társszerzős előadás

Szendi K, Murányi E, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Biodízel előállításakor képződött glicerín fázis melléktermékek vizsgálata *in vitro* bakteriális
mutagenitási tesztben
Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2008. nov. 28-29.
társszerzős poszter

Szendi K, Murányi E, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Biomarker vizsgálatok ionizáló sugárzás- és citosztatikumexpozícióban – esettanulmány
Népegészségügyi Tudományos Társaság XVII. Nagygyűlése, Marosvásárhely, 2009. ápr. 17-
19.
társszerzős előadás

Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.
Combined genotoxicity studies on technical glycerol from biodiesel
International Conference of Preventive Medicine and Public Health, Pécs, Hungary, 2010.
nov. 19-20.
társzerzős előadás

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.
Biodízel gyártása során keletkező glicerines fázis vizsgálata szubkrónikus toxicitási tesztben
International Conference of Preventive Medicine and Public Health, Pécs, Hungary, 2010.
nov. 19-20.
elsőszerzős előadás

Gerencsér G, Szendi K, Kovács A, Ember I.

Talajjavító és szelektív növényvédőszer genotoxikológiai és ökotoxikológiai vizsgálata
Magyar Epidemiológiai Társaság VI. Kongresszusa, Pécs, 2011. nov. 25-26.
elsőszerzős előadás

Szendi K, **Gerencsér G**, Varga Cs.

Biodízel gyártása során keletkező melléktermékek ökotoxikológiai minősítése
9. Magyar Ökológus Kongresszus, Keszthely, 2012. szept. 5-7.
társszerzős poszter

Szendi K, **Gerencsér G**, Kovács A, Ember I.

Talajjavító és szelektív növényvédőszer komponensek genotoxikológiai és ökotoxikológiai vizsgálata
I. Pécsi Preventív Orvostudományi Szimpózium, Pécs, 2012. nov. 26.
társszerzős előadás

Gerencsér G, Szendi K, Kovács A, Ember I.

Biodízel gyártása során keletkező melléktermékekkel kezelt talajok ökotoxikológiai vizsgálata
I. Pécsi Preventív Orvostudományi Szimpózium, Pécs, 2012. nov. 26.
elsőszerzős előadás

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani, Prof. Dr. Ember Istvánnak, hogy lehetővé tette, hogy munkámat az általa vezetett intézetben végezhessem.

Hálásan köszönöm Dr. Varga Csaba egyetemi docensnek, témavezetőmnek, hogy szakmailag és emberileg is támogatott és biztatott munkám során.

Köszönettel tartozom Harth Csabánénak, Dr. Murányi Editnek, Dr. Szendi Katalinnak és Dr. Szabó Istvánnak a vizsgálatok során nyújtott segítségért.

Továbbá köszönet illeti az Orvosi Népegészségtani Intézet és az Egészségtudományi Doktori Iskola összes munkatársát munkám során nyújtott segítségükért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm családomnak a támogatást, biztatást, mellyel nagyban hozzájárultak a dolgozat elkészüléséhez.

A kutatások támogatásáért köszönet illeti a PTE ÁOK-KA-2013/34039 számú pályázatát.

9. IRODALOMJEGYZÉK

- 1 Peralta MA. *Magyarország gyógyító vizei*. Carita Bt, Budapest, 2004;17-49.
- 2 Csajághy G. Általános ismertetés. In: Schulhof Ö. *Magyarország ásvány- és gyógyvizei*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1957; 631-632.
- 3 Gyarmati J. Iszapkezelések és iszapkutatások. *Balneológia, Rehabilitáció, Gyógyfürdőügy* 1988; 8:14-26.
- 4 Gyarmati N. Iszapterápia. In: *Balneológia és hidroterápia*. Bender T. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2014;55-63.
- 5 Martonné EK. *Magyarország természetföldrajza*. Kossuth Egyetemi Kiadó, Debrecen, 2001;6-8;43.
- 6 <http://fold1.ftt.uni-miskolc.hu/~foldshe/mof01.htm> (2013)
- 7 <http://caesarom.com/?modul=oldal&tartalom=446124&> (2013)
- 8 Antal S. Földtan IV: *Magyarország szerkezeti és regionális földtana*. Műszaki Kiadó, Budapest, 1985.
- 9 Gerencsér G. Magyarország ásvány és gyógyvizeinek hidrogeológiája. In: Magyarország ásvány- és gyógyvizei, balneológia című kurzus, PTE-ÁOK Orvosi Népegészségtani Intézet, 2012.
- 10 <http://naturastart.shp.hu/hpc/web.php?a=naturastart&o=BHis2eyVUK> (2007)
- 11 <https://www.antsz.hu/data/cms33335/gyogyiszap.pdf> (2012)
- 12 Neydharting gyógyiszap <http://www.gyogyiszap-neydharting.hu/> letöltve:É 2013. július
- 13 Tefner IK, Gaál R, Koroknai A, Ráthonyi A, Gáti T, Monduk P, Kiss E, Kovács C, Bálint G, Bender T. The effect of Neydharting mud-pack therapy on knee osteoarthritis: a randomized, controlled, double-blind follow-up pilot study. *Rheumatology International* 2013; DOI: 10.1007/s00296-013-2776-2
- 14 Némedi L. Az ásványvizek biológiája. In: Borszéki B. *Ásványvizek és gyógyvizek*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1979; 241-285.
- 15 Némedi L. Az ásványvizek mikrobiológiai jellemzői I. rész. *Alkoholmentes italok* 2006;3:44-51.
- 16 Kovács G, Zenke P. Az egerszalóki hévforrás autochton termofil mikroba-közösségének csoport-specifikus meghatározása molekuláris módszerekkel. *Budapesti Népegészségügy* 2005;36(4):311-323.

- 17 Borsodi A, Krett G, Vágány V, Palatinszky M, Makk J, Jáger K, Márialigeti K. A Hévízi forrástó üledékében előforduló baktériumközösségek diverzitása. Magyar Balneológiai Egyesület 2009. évi Nagygyűlése Hévíz, 2009. november 20-22.
- 18 Canakci S, Inan K, Kacagan M, Belduz AO. Evaluation of arabinofuranosidase and xylanase activities of *Geobacillus* spp. isolated from some hot springs in Turkey. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2007;17(8):1262-1270.
- 19 Némedi L. Az ásványvizek mikrobiológiai jellemzői II. rész. *Alkoholmentes italok* 2006;4:72-74.
- 20 74/1999. (XII. 25.) EüM rendelet a természetes gyógytényezőkről
- 21 Dirnberger H. Humanpathogene Keime in Niedermoortorfen. *TELMA-Zeitschrift der Deutschen Gesellschaft für Moor- und Torfkunde* 2006;36:201-214.
- 22 Varga Cs. Balneoprevenció. In: *Népegészségügyi orvostan*. Ember I. Dialóg Campus, Budapest-Pécs, 2007;502-503.
- 23 Page Bd, Conacher HB, Salminen J, Nixon GR, Riedel G, Mori B, Gagnon J, Brousseau Y. Survey of bottled drinking water sold in Canada. Part 2. Selected volatile organic compounds. *Journal of AOAC International* 1993;76(1):26-31.
- 24 <http://www.ogyfi.hu/> (2007)
- 25 A Magyar Fürdőszövetség - Helyzetértékelés az egészségturizmus nemzetgazdasági szerepe:
http://www.aktivpihenes.hu/fooldal/a_magyar_fuerdoeszoevetseg_helyzetertekeles_az_egeszsegturizmus (2014)
- 26 *Országos Egészségbiztosítási Pénztár Statisztikai Évkönyv 2010*. Budapest, 2010;127-129.
- 27 *Országos Egészségbiztosítási Pénztár Statisztikai Évkönyv 2011*. Budapest, 2011;131-134.
- 28 *Országos Egészségbiztosítási Pénztár Statisztikai Évkönyv 2012*. Budapest, 2012;131-133.
- 29 Ansa Import-Export Bt. Kolopi gyógyiszap kompressz:
<http://www.halinaansa.hu/termeszetes-es-osi-gyogymodok/kolopi-gyogyiszapkompressz.html> (2012. június)
- 30 Varga C. *Vízhygiéne – víztoxikológia: Aktuális hazai kérdések és kutatási irányok*. ACTA BIOLOGICA DEBRECENICA OEKOLOGICA HUNGARICA. 2012;29:9-120.
- 31 Gyopárosi gyógyvíz: <http://gyoparosfurdo-oroshaza.hu/gyoparosfurdo/gyogyfurdo>
- 32 201/2001. (X. 25.) Korm. rendelet az ivóvíz minőségi követelményeiről és az ellenőrzés rendjéről

- 33 65/2004. (IV. 27.) FVM-ESzCsM-GKM együttes rendelet a természetes ásványvíz, a forrásvíz, az ivóvíz, az ásványi anyaggal dúsított ivóvíz és az ízesített víz palackozásának és forgalomba hozatalának szabályairól
- 34 Tolner M. *Higiénés talajbakteriológiai-, és talajmikrobiológiai vizsgálatok*. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék jegyzete 2009:1-11.
- 35 Fodor F, Vedres I. *Közegészségtani-járványtani gyakorlatok és bemutatásuk*. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1974.
- 36 Lassu L. *Környezetvédelmi vizsgálatok*. Nemzeti Szakképzési Intézet, Budapest, 1998.
- 37 Gruiz K, Horváth B, Molnár M. *Környezettoxikológia*. Műegyetem Kiadó, Budapest 2001:109-111.
- 38 *OECD Guideline 208 for the Testing of Chemicals*, 2006. Seedling Emergence and Seedling Growth Test.
- 39 Callahan CA. Earthworms as ecotoxicological assessment tools. In: Edwards CA, Neuhauser EF. (Eds.), *Earthworms in Waste and Environmental Assessment*. SPB Academic, The Hague, 1988:295–301.
- 40 Goats GC, Edwards CA. The prediction of field toxicity of chemicals to earthworms by laboratory methods. In: Edwards CA, Neuhauser EF. (Eds.), *Earthworms in Waste and Environmental Assessment*. SPB Academic, The Hague, 1988:283–294.
- 41 Bouche A. Earthworm species and ecotoxicological studies. In: Greig-Smith PW, Becker H, Edwards PJ, Heimbach F. (Eds.), *Ecotoxicology of Earthworms*. Intercept, Andover, 1992:20–35.
- 42 Sanchez-Hernandez JC. Earthworm biomarkers in ecological risk assessment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 2006:188,85–126.
- 43 Yasmin S, D'Souza D. Effect of pesticides on the reproductive output of *Eisenia fetida*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 2007:79(5)529–532.
- 44 Spurgeon DJ, Hopkin SP. Effects of metal-contaminated soils on the growth, sexual development, and early cocoon production of the earthworm *Eisenia fetida*, with particular reference to zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1996:35 (1)86–95.
- 45 Venter JM, Reinecke AJ. The life-cycle of the compost worm *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *South African Journal of Zoology* 1988:23,161–165.
- 46 Hartenstein R, Neuhauser EF, Kaplan D.L. Reproductive potential of the earthworm *Eisenia fetida*. *Oecologia* 1979:43,329–340.

- 47 Gerencsér G. Börgyári szennyvíziszapok toxikológiai minősítése *Eisenia fetidával*. Diplomamunka, Pécs 2006.
- 48 Fischer E. Effects of atrazine and paraquat-containing herbicides on *Eisenia fetida* (Annelida, Oligochaeta). *Zoologische Anzeiger* 1989;22(5-6):291-300.
- 49 Fischer E, Molnár L. Growth and reproduction of *Eisenia fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) in semi-natural soil containing various metal chlorides. *Soil Biology and Biochemistry* 1997;29(3-4):667–670.
- 50 Varga Cs. A tápcsatornába jutó amfibol azbesztrostok genotoxicitása és környezethigiénés értékelése. MTA Kandidátusi értekezés, Debrecen 1996.
- 51 Hellman B, Friis L, Vaghef H, Edling C. Alkaline single cell gel electrophoresis and human biomonitoring for genotoxicity: a study on subjects with residential exposure to radon. *Mutation Research* 1999;442(2):121–132.
- 52 Varga C, Horváth G, Timbrell V. On the mechanism of cogenotoxic action between ingested amphibole asbestos fibres and benzo(a)pyrene: II. Tissue specificity studies using comet assay. *Cancer Letters* 1999;139:173-176.
- 53 Fourie F, Reinecke SA, Reineckek AJ. The determination of earthworm species sensitivity differences to cadmium genotoxicity using the comet assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2007;67(3):361-368.
- 54 László M. UV-sugárzás elleni védelem termálvizekkel? Vizsgálatok bakteriális mutagenitási tesztben. Biológus/MSc diplomamunka, PTE ÁOK Környezet-egészségtani Tanszék, Pécs, 2012;1-47.
- 55 Varga Cs. Chlorinated drinking water XAD isolates do not affect the sister chromated exchange frequency. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1988;61:147-149.
- 56 Varga Cs. Genotoxicologic evaluation of ozonated/chlorinated drinking water: Cytogenetic effects of XAD-fractions on cultured human cells. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1991;10(8):1029-1035.
- 57 Varga Cs. A testvérkromatid-csere (SCE) analízis alkalmazása a vízminőség-vizsgálatban. I. Klórozott ivóvíz XAD-frakcióinak vizsgálata humán perifériás limfocita rendszerben. *Hidrológiai Közlöny* 1988;68:230-236.
- 58 Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research* 1983;113(3-4):173-215.
- 59 OECD Guideline 471 for testing of chemicals, 1997. Bacterial reverse mutation test.

- 60 Mortelmans K, Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research* 2000;455(1-2):29-60.
- 61 Szendi K. Környezeti részecske expozíciók genotoxikus hatása *in vivo* és *in vitro*. Doktori (PhD) értekezés, PTE ÁOK, Pécs, 2013;1-96.
- 62 Boukamp P, Petrussevska RT, Breitkreutz D, Hornung J, Markham A, Fusenig NE. Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. *Journal of Cell Biology* 1988;106(3):761–771.
- 63 Boukamp P, Popp S, Altmeyer S, Hulsen A, Fasching C, Ceremer T, Fusenig NE. Sustained nontumorigenic phenotype correlates with largely stable chromosome content during long-term culture of the human keratinocyte line HaCaT. *Genes, Chromosomes and Cancer* 1997;19:201-214.
- 64 Wischermann K, Boukamp P, Schmezer P. Improved alkaline comet assay protocol for adherent HaCaT keratinocytes to study UVA-induced DNA damage. *Mutation Research* 2007;630(1-2):122-8.
- 65 Bender T. A balneoterápia javallatai. In: *Balneológia és hidroterápia*. Bender T. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2014;53-54.
- 66 Bálint G. A hidroterápia és a balneoterápia szerepe a rehabilitációban. In: *Balneológia és hidroterápia*. Bender T. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2014;193-199.
- 67 Országos egészségturizmus fejlesztési stratégia: <http://www.kormany.hu/download/b/8e/20000/Egeszsegturizmusstrategia.pdf#!Document> Browse 2007 (2014)
- 68 Varga C. Balneoprevention: new approaches. *International Journal of Biometeorology* 2012;56:195–197.
- 69 Varga Cs, Szuetta J. A balneológia prevenciós aspektusairól. *Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom* 2008;27(1-2):87-92.
- 70 Varga Cs. A vizek szennyezettségének hatása az emberi egészségre. In: *Népegészségügyi orvostan*. Ember I. Dialóg Campus, Budapest-Pécs, 2007;446-451.
- 71 DiGioia ML, Leggio A, LePera A. Occurrence of organic compounds in the thermal sulphurous waters of Calabria, Italy. *Chromatographia* 2006;63:585-590.
- 72 Gonzales-Barreiro C, Cancho-Grande B, Araujo-Nespereira P, Cid-Fernández JA, Simal-Gándara J. Occurrence of soluble organic compounds in thermal waters by ion trap mass detection. *Chemosphere* 2009;75:34-47.
- 73 Agyagási, D. Különböző típusú vízminták szerves komponenseinek vizsgálata. *Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom* 1983;4:261-268.

- 74 Kárpáti Z, Sajgó C, Vető I, Klopp G, Horváth I. Organic matter in thermal waters of the Pannonian Basin – a preliminary report on aromatic compounds. *Organic Geochemistry* 1999;30:701-712.
- 75 Sajgó C, Kovács K, Kárpáti Z, Tombácz E, Brukner-Wein A, Fekete J. Organic geochemical characterization of humic and fulvic acids of thermal waters in deep aquifers of the Pannonian Basin (SE Hungary). 23rd International Meeting on Organic Geochemistry Torquay, England, September 9th-14th, P93-MO 2007;225-226.
- 76 Sajgó C, Kárpáti Z, Horváth I, Fekete J. Geochemical study on organic compounds of thermal waters in deep aquifers of the Pannonian Basin. 23rd International Meeting on Organic Geochemistry Torquay, England, September 9th-14th, P332-WE 2007;563-564.
- 77 Varga C. Volatile organics in thermal spa waters: active ingredients or environmental toxicants? *Thermae & Spa Medicine* 2012;2:1-8.
- 78 Dolmaa G, Tserenpil SH, Ugtakbayar O, Chuvashv YuA, Kliba LV, Voronkov MG. Plasticizer in peloids of Mongolia. *Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom* 2009;28(1):66-71.
- 79 Gerencsér G, Varga Cs. Magyarországi gyógyiszapok ökotoxikológiai vizsgálata fehér mustár gyökérművelési teszttel. *Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom* 2008;27(1-2):43-47.
- 80 Gerencsér G, Murányi E, Szendi K, Varga C. Ecotoxicological studies on Hungarian peloids (medicinal muds). *Applied Clay Science* 2010;50(1):47-50.
- 81 Neuhauser EF, Hartenstein R, Kaplan DL. Growth of the earthworm, *Eisenia fetida* in relation to population density and food rotating. *Oikos* 1980;35:93-98.
- 82 Hartenstein R, Neuhauser EF, Kaplan D. Reproduction potential of earthworms, *Eisenia fetida*. *Ecologia* 1979;43:329-340.
- 83 Jaweria S, Aamer AK, Iftikhar H, Shamin A: Growth and reproduction of earthworm (*Eisenia fetida*) in different organic media. *Pakistan Journal of Zoology* 2005;37(3):211-214.
- 84 Gerencsér G, Varga Cs. Hévízi és kolopi gyógyiszapok ökotoxikológiai minősítése *Eisenia*-teszttel. *Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom* 2008;27(1-2):48-56.
- 85 Gerencsér G, Szendi K. Balneoprevenció, kísérletes balneológia. *Egészség-Akadémia* 2012;3(4):235-240.
- 86 Gerencsér G, Szendi K, Varga Cs. Gyógyiszapok ökogenotoxikológiai vizsgálata. *Magyar Epidemiológia* 2011;8(2):123-127.

- 87 Szendi K, Gerencsér G. Balneoprevenció: Gyógyiszapok genotoxikológiai vizsgálata. *Magyar Epidemiológia* 2011;8(4):212-207.
- 88 Verschaeve L, Gilles J. Single cell gel electrophoresis assay in the earthworm for the detection of genotoxic compounds in soils. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1995;54(1):112-119.
- 89 Sathya TN, Deepa V, Sunil Dutt M, Balakrishna Murthy P. DNA damage caused by a textile dye (acid red) in coelomocytes of earth worm , *Eisenia fetida*. *Australasian Journal of Ecotoxicology* 2009;15:45-50.
- 90 Hertel-Aas T, Oughton DH, Jaworska1 A, Brunborg G. Induction and repair of DNA strand breaks and oxidised bases in somatic and spermatogenic cells from the earthworm *Eisenia fetida* after exposure to ionising radiation. *Mutagenesis* 2011;26(6):783-793.
- 91 Szendi K, Murányi E, Gerencsér G, Varga Cs. Gyógyiszapokból készült kivonatok mutagenitásának vizsgálata Salmonella Ames-tesztben. *Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom* 2008;27(3-4):72-78.
- 92 Szendi K, Gerencsér G, Murányi E, Varga Cs. A balneoterápia lehetséges kockázata: Peloidok mutagén aktivitásának vizsgálata bakteriális mutagenitási tesztben. *Magyar Epidemiológia* 2011;8(2):109-121.
- 93 Szendi K, Gerencsér G, Murányi E, Varga C. Mutagenic activity of peloids in the Salmonella Ames test. *Applied Clay Science* 2012;(1)55:70–74.
- 94 Veniale F, Bettero A, Jobstraibizer PG, Setti M. Thermal muds: Perspectives of innovations. *Applied Clay Science* 2007;36:141-147.
- 95 Varga Cs. Gyógyvizek szerves anyagainak jelentősége a balneológiában. In: *Balneológia és hidroterápia*. Bender T. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2014;47-51.
- 96 Armelité J, Žukas K. Investigation of UVC-induced DNA damage and its repair by SCGE assay in barley. <http://www.elibrary.lt/resursai/LMA/Ekologija/E-72.pdf> (2014)
- 97 Patton WP, Chakravarthy U, Davies RJH, Archer DB. Comet Assay of UV-Induced DNA Damage in Retinal Pigment Epithelial Cells. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 1999;40(13):3268-3275.
- 98 Wu ZH, Wang MR, Yan QC, Pu W, Zhang JS. UV-induced DNA damage and protective effects of antioxidants on DNA damage in human lens epithelial cells studied with comet assay. *Chinese Journal of Ophthalmology* 2006;42(11):1002-1007.
- 99 Sebők B, Lengyel Zs, Hortobágyi J. A harkányi gyógyvíz antipsoriaticus hatásának vizsgálata. *Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom* 2008;27(1-2):81-86.

- 100 Abels DJ, Kattan BJ. Psoriasis treatment at the Dead Sea: a natural selective ultraviolet phototherapy. *Journal of the American Academy of Dermatology* 1985;12:639–643.
- 101 Hincu M, Surdu O, Leon A, Mateescu G, Niculescu Z, Durbala I, Zamfirescu S. Cellular and molecular alteration in skin submitted to ultraviolet radiations. *Romanian Biotechnological Letters* 2010;15(3):62-69.
- 102 <http://kepeslaptar.vfmk.hu/kepeslapok/1283.jpg> (2013)
- 103 Kolopi gyógyiszap kompressz: <http://www.tiszato.hu/telepulesek/tizasuly> (2007)
- 104 Kolopi gyógyiszap kompressz: <http://www.weborvos.hu/cikk.php?id=95&cid=56037> (2012)
- 105 Kordos L. A Hévízi-tó forrásbarlangja. In: *Magyarország barlangjai*. Kordos L. Gondolat Kiadó, Budapest, 1984;243-245.
- 106 Hévízi peloid: <http://www.spaheviz.hu/> (2013)
- 107 Hévízi peloid: <http://www.heviz.net/heviz-2> (2012)
- 108 Hévízi peloid: <http://www.heviz-info.hu/tofurdo.html> (2012)
- 109 Wellness Centrum. Hévízgyógyfürdő: <http://www.wellnesscentrum.hu/heviz.php> (2010)
- 100 Gyarmati N, Kulisch Á. History and description of héviz spa with special emphasis on weight-bath. *La Presse thermale et climatique* 2008;145:233-242.
- 111 Tóth A, Gyarmati J. Az új standard Pannon gyógyiszap tudományos alapjai. *Balneológia Gyógyfürdőügy Gyógyidegenforgalom* 2000;21(1-2):27.
- 112 Hévízi víz összetétele: <http://west-balaton.hu/heviz/spa-egeszseg/furdokura/viz-es-iszap-osszetetele> (2013)
- 113 Torma Á, Kávási N, Kovács T, Jobbágy V, Szeiler G, Somlai J. A Hévízi-tó radiológiai vizsgálata. In: *Környezeti ártalmak és a légzőrendszer*. Szabó T, Bártfai I, Somlai J. IQ Nyomda, Zalaegerszeg, 2005;323-334.
- 114 Papp Sz. Hazai ásvány- és gyógyvizeink kémiai összetétele. In: *Magyarország ásvány- és gyógyvizei*. Schulhof Ö. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1957;445.

10. FÜGGELÉK

10.1. Kolopi iszap

A kolopi peloid akár folyami iszapnak is tekinthető, mert kitermelése Tizasüly település mentén a Tisza egykori medréből történik, ami a Tisza jelenlegi medrétől körülbelül 3 km-re található [29]. Ezen a helyen valamikor fürdő is működött Kolopfürdő néven (38. ábra), de az itt álló épületek a II. világháború során elpusztultak, azóta csak az iszap kitermelése folyik.



38. ábra Tizasüly település [102]

Az iszapkitermelő hely 1951-ben került a Fővárosi Gyógyfürdők és Gyógyforrások kezelésébe és azóta is a jogutód (Budapest Gyógyfürdő és Hévízei Rt.) felügyeli a kitermelést [103]. A terület évi 120 tonna iszapot lenne képes adni, ezzel szemben az iszap iránti kereslet jóval kisebb. 1987 csak 69 tonnát, míg 1993-ban 37,5 tonnát termeltek ki. Napjainkban évente körülbelül 50 tonna kerül kitermelésre, melyet számos hazai gyógyfürdőben használnak balneoterápiás céllal, többek között Budapest számos gyógyfürdőjében és a harkányi fürdőben is a kolopi peloidot használják. A fürdőkben általában a kiszáritott kompressz (vászonzsákba varrt száraz iszap) kerül felhasználásra, amelyet saját gyógyvízzel kevernek az alkalmazás előtt. 1968-ban nyilvánította az egészségügyi miniszter gyógyiszappá és azóta kerül forgalomba „Kolopi Gyógyiszap” néven [103].

A kémiai összetétele alapján az iszapot a szervesetlen iszapok csoportjába soroljuk, szervesanyag-tartalma elhanyagolható (XIII. táblázat). Jelentős a Na^+ -, K^+ -, Ca^{2+} -, Mg^{2+} - és a kén-tartalma, amelyeknek fontos szerepet tulajdonítanak a gyógyászati felhasználása során. 1978-ban végzett analitikai vizsgálat eredményeit a XIV. számú táblázat mutatja.

XIII. táblázat A kolopi kompressz kémiai összetétele [29]

SiO ₂	60,05%	CaO	1,54%
TiO ₂	0,54%	MgO	2,10%
Al ₂ O ₃	17,91%	Na ₂ O	0,89%
Fe ₂ O ₃	4,34%	K ₂ O	2,39%
FeO	2,38%	CO ₂	0,29%
MnO	0,05%	Cl ⁻	0,05%
P ₂ O ₅	0,14%	SO ₃	0,28%
Szerves anyag	1,53%		

XIV. táblázat A kolopi iszap kémiai összetétele (Végh 1978)

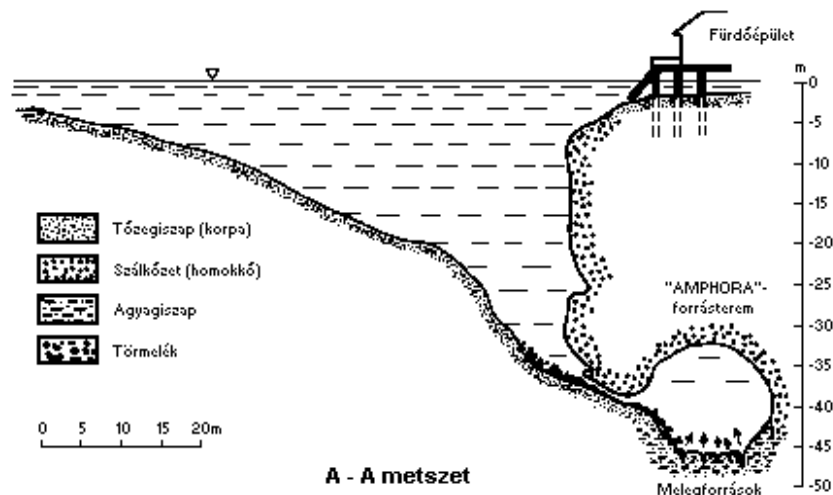
Száranyag-tartalom			
SiO ₂	58,88%	CaO	2,66%
MnO ₂	0,03%	MgO	2,20%
Al ₂ O ₃	17,00%	CaCO ₃	2,30%
Fe ₂ O ₃	7,80%	SO ₃	1,24%

A két vizsgálat adataiban jelentős eltérés nem mutatkozik, mindkét vizsgálat a szervesetlen komponensek vizsgálatára terjedt ki, a szerves alkotók pontos analitikai meghatározása még nem történt meg.

A gyógyiszap 10 tonnánként 4,18 mg rádiumot (²²⁶Ra) tartalmaz, melynek a gyógyászatban fontos szerepe lehet [104].

10.2 Hévízi iszap

A hévízi peloidot a kevert iszapok közé soroljuk, mert mind a szerves mind a szervesetlen alkotórészek aránya jelentős, és mindkét komponens fontos szerepet játszhat a gyógyító hatásban. A Hévízi tó Európa legnagyobb meleg vizű gyógytava, amely ellentétben a világ többi természetes meleg-vizű gyógytavától nem egy vulkanikus vagy szikes eredetű mederben fekszik, hanem egy tőzegmedrű forráskráterben. A tó forráskrátere úgy keletkezett, hogy a triász dolomitból a törésvonalak mentén felfelé áramló meleg víz karsztos kőzeteken átjutva az itt található homokkőves, agyagos üledékeket kimosta, s ezzel létrehozta a tó medrét (39. ábra) [105].



39. ábra A Hévízi tó keresztmetszete [105]

A tó alját 6-8 m vastagságban tőzegréteg béleli, amelyen keresztül tör a felszínre a tó meleg vize, amely magával hoz egy vulkanikus eredetű iszapot. A tőzegréteg és a vulkanikus eredetű iszap keveréke adja a hévízi iszapot, amely körülbelül 20%-ban szerves eredetű komponens és 80%-ban szervesetlen anyagot tartalmaz. A szerves eredet a tőzegrétegből származik, a szervesetlen anyag pedig vulkanikus eredetű. A tónak nemcsak az iszapja kevert, hanem a tómeder falában számos különböző eredetű, összetételű és hőmérsékletű víz-forrás (termális és hideg karsztos) található [106, 107, 108, 109], amelyek keveredése adja, a tó nyáron a 37-38 °C-os, télen a 22-23 °C-os vizét [110].

A balneológiai terápiában használt iszap nem a tó közvetlen medréből származik, az abból történő kitermelést természetvédelmi okokból 40 éve megszüntették, hanem a tótól kb. légvonalban 3 km-re található területről, amelynek az összetétele jelentősen eltér a tó

medrében található iszapétól. Jelenleg a kitermelt peloid gyógyvízzel keverve kerül alkalmazásra. „Pannon standard gyógyiszap” néven kerül kereskedelmi forgalomba, ez a gyógyszernek nem minősülő gyógyhatású készítmény [111].

A hévízi iszap kémiai összetétele a kevert eredetnek köszönhetően rendkívül változatos, melyben a szervesetlen alkotórészek (XV. táblázat) mellett számos szerves komponenst is kimutattak (XVI. táblázat). A hévízi iszapnak jelentős a Γ , Mg^{2+} , Na^+ , Cl^- , $CaCO_3$ és a HCO_3^- tartalma. A szerves komponensek közül jelentős a huminsav mennyisége, amelynek fontos baktericid hatást tulajdonítanak, de már kimutattak ösztrogénszerű anyagokat is, melyeknek a nőgyógyászati kezelésekben van jelentőségük.

XV. táblázat A hévízi iszapban előforduló szervesetlen anyagok mennyisége (Végh 1978)

Komponensek a hévízi iszapban használatra kész állapotban					
Vízoldható		Sósavban oldható anorganikus		Sósavban nem oldható anorganikus	
SiO ₂	0,002%	SiO ₂	0,937%	SiO ₂	5,463%
CaO	0,212%	CaO	20,246%	CaO	0,040%
MgO	0,025%	MgO	1,288%	MgO	0,012%
Na ₂ O	0,025%	Na ₂ O	0,004%	Na ₂ O	0,040%
SO ₃	0,269%	SO ₃	0,926%	TiO ₂	0,035%
CO ₂	0,184%	CO ₂	14,496%	Fe ₂ O ₃	0,058%
		TiO ₂	0,002%	Al ₂ O ₃	0,173%
		Fe ₂ O ₃	0,489%	K ₂ O	0,058%
		Al ₂ O ₃	0,782%		
		K ₂ O	0,092%		

XVI. táblázat A hévízi peloidból kimutatott szerves anyagok (Végh 1978)

Szerves anyag		
	Szárazanyagban	Használatra készen
Extraktbitumen	0,42%	0,25%
Vízoldható organikus anyagok	0,36%	0,215%
Könnyen hidrolizálható fehérje	0,64%	0,38%
Nehezen hidrolizálható fehérje	0,743%	0,44%
Hemicellulóz	2,25%	1,35%
Cellulóz	0,62%	0,37%
Huminsavak	7,82%	4,68%
Humusz kísérő anyagok	1,37%	0,82%
Humin + Lignin	11,84%	7,08%
Nem hidrolizálható Nitrogén	0,40%	0,24%
Hexán kivonat	0,34%	0,20%

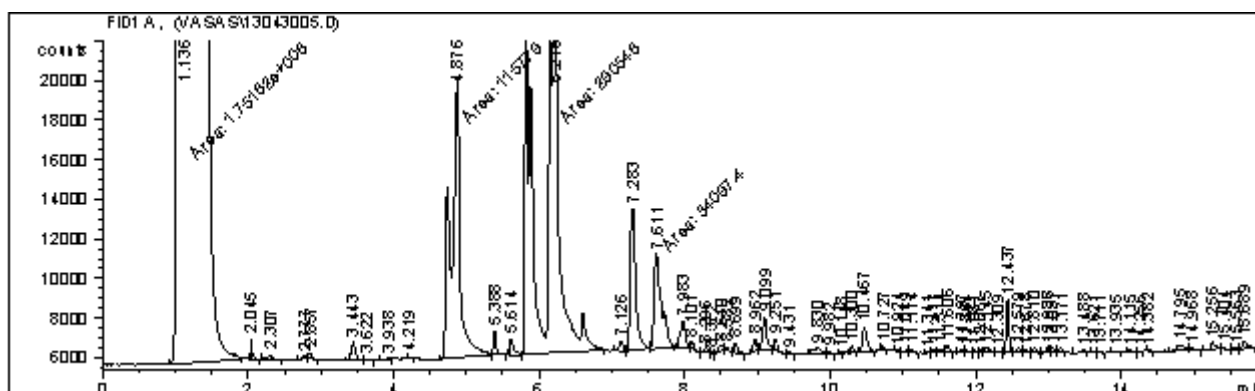
A hazai iszapok közül a hévízi iszap rendelkezik a legnagyobb radon (^{222}Rn) tartalommal (a vize 3,8-0,8 Bq/l [112]), a tó iszapjából feltörő gáz átlagos radon koncentrációja 5900 Bq/m³[113], amelynek fontos szerepet tulajdonítanak a fájdalomcsillapításban és a gyógyulásban is.

10.3 Kakasszéki gyógyvíz

A Kakasszéki Gyógyintézet a hódmezővásárhelyi Erzsébet Kórház és Rendelőintézet kezelésében működik szanatóriumként. Az intézet vize jelentős mennyiségben tartalmaz klorid- és nátriumiont (XVII. táblázat) [114]. Ugyanakkor pusztán szaglással is megállapítható magas szénhidrogénszármazék-tartalma. A vízről készült kromatogramon jól látható a jelentős szervesanyag-tartalom (40. ábra).

XVII. táblázat A kakasszéki gyógyvíz főbb komponensei

Kationok		Anionok	
K ⁺	27,8 mg/l	Cl ⁻	87,4 mg/l
Na ⁺	893,7 mg/l	NO ₃ ⁻	5,0 mg/l
NH ₄ ⁺	0,3 mg/l	SO ₄ ²⁻	112,8 mg/l
Ca ²⁺	33,1 mg/l	HOC ³⁻	1758,0 mg/l
Mg ²⁺	17,7 mg/l	CO ₃ ²⁻	276,0 mg/l
Fe ²⁺	12,5 mg/l		
Mn ²⁺	0,4 mg/l		
Összesen	985,5 mg/l	Összesen	2239,2 mg/l



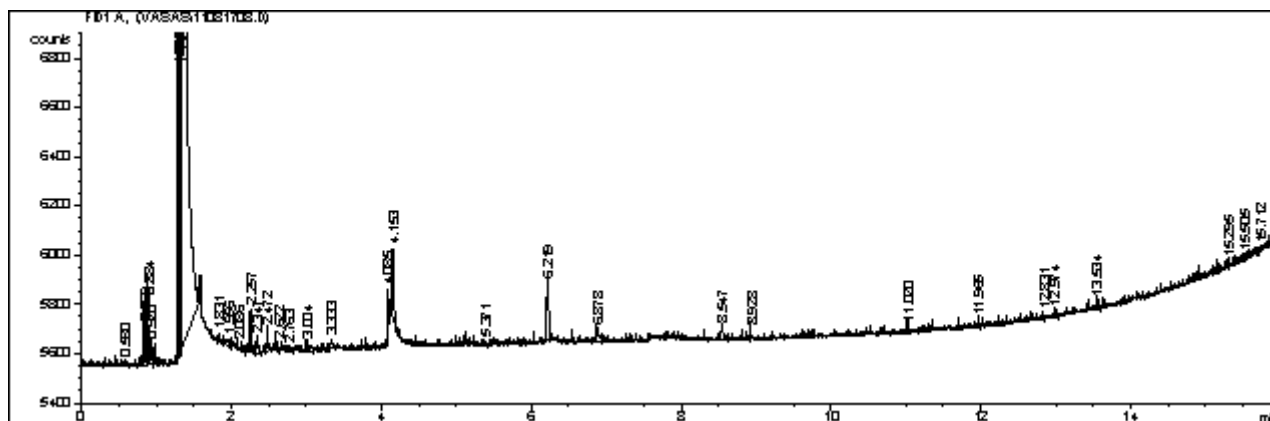
40. ábra Kakasszéki gyógyvíz kromatogramja

10.4 Gyopárosfürdői gyógyvíz

Gyopárosfürdő vize az alkáli-hidrogénkarbonátos vizek csoportjába tartozik, amely 47 °C-os hőmérsékleten kerül a felszínre [31, 114]. A víz magas metakvasav tartalommal bír (XVIII. táblázat), továbbá a vízből gázkromatográfias vizsgálattal jelentős szervesanyag-tartalmat sikerült kimutatni (41. ábra) [30].

XVIII. táblázat A gyopárosfürdői gyógyvíz kémiai összetétele

Kation		Anion	
K ⁺	4,0 mg/l	Cl ⁻	26 mg/l
Na ⁺	370,0 mg/l	Br ⁻	0
NH ₄ ⁺	3,2 mg/l	I ⁻	0,09 mg/l
Ca ²⁺	14,6 mg/l	F ⁻	0,05 mg/l
Mg ²⁺	1,1 mg/l	SO ₄ ²⁻	26 mg/l
Fe ²⁺	0,57 mg/l	HCO ₃ ⁻	1130 mg/l
Összesen	393,0 mg/l	SO ₃ ²⁻	0
		PO ₄ ³⁻	0,61 mg/l
		Összesen	1183,0 mg/l
Arzén	<0,005 mg/l	Metabórsav	10 mg/l
Szabad szénsav	0	Metakovasav	34 mg/l



41. ábra Gyopárosfürdői gyógyvíz kromatogramja

7. sz. melléklet

**DOKTORI ÉRTEKEZÉS BENYÚJTÁSA ÉS NYILATKOZAT A DOLGOZAT
EREDETISÉGÉRŐL**

Alulírott

név:.....Gerencsér Gellért.....

születési név:Gerencsér Gellért.....

anyja neve:Tóth Márta.....

születési hely, idő:Keszthely, 1982. 11. 27.....

...Experimentális balneológia: Kárpát-medencei gyógyvíz- és gyógyiszapminták
biológiai hatásai.....

című doktori értekezésemet a mai napon benyújtom a(z)

.....PTE-ETK Egészségtudományi.....Doktori Iskola

...Egészségtudomány határterületei.....Programjához/témacsoportjához

Témavezető(k) neve:Dr. Varga Csaba.....

Egyúttal nyilatkozom, hogy jelen eljárás során benyújtott doktori értekezésemet

- korábban más doktori iskolába (sem hazai, sem külföldi egyetemen) nem nyújtottam be,
- fokozatszerzési eljárásra jelentkezésemet két éven belül nem utasították el,
- az elmúlt két esztendőben nem volt sikertelen doktori eljárásom,
- öt éven belül doktori fokozatom visszavonására nem került sor,
- értekezésem önálló munka, más szellemi alkotását sajátomként nem mutattam be, az irodalmi hivatkozások egyértelműek és teljeseek, az értekezés elkészítésénél hamis vagy hamisított adatokat nem használtam.

Dátum: ...Pécs, 2014. 02. 25.....

.....
doktorjelölt aláírása