

Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Kar
Egészségtudományi Doktori Iskola
Doktori Iskola vezetője: PROF. Dr. BÓDIS JÓZSEF egyetemi
tanár
Pécs

Édesítőszeres hatásának vizsgálata
***in vivo* biológiai rendszerekben**

PhD téziszfüzet

UNGÁR TAMÁS LÁSZLÓNÉ POLYÁK ÉVA

Témavezető:

PROF. DR. EMBER ISTVÁN egyetemi tanár, intézetigazgató

Onkológia–egészségtudomány (P-4/1) doktori program
Preventív onkológia (D-5) alprogram

Program- és alprogramvezető:

PROF. DR. EMBER ISTVÁN egyetemi tanár, intézetigazgató

Pécs, 2012.

Bevezetés

Az édes íz a legkedveltebb ízérzet az ember számára, pozitív élményt vált ki. Az édes vegyületekre adott válaszreakció velünk született tulajdonság.

A cukor az egyik legfontosabb élelmiszeripari nyersanyag, édes íz kialakításán túl, hipertóniás oldata csökkenti a vízaktivitást, ezáltal gátolja a mikroorganizmusok szaporodását; csökkenti az élelmiszerek fagyáspontját; növeli a forráspontot és a viszkozitást; elősegíti az élesztős erjedést; javítja a termék megjelenését és ízét. A cukor elfogyasztott mennyiségének a legnagyobb részét élelmiszerekben rejtett cukorként fogyasztjuk el, az étkezési cukor elfogyasztása csupán töredéke ennek a mennyiségnek.

Az egyszerű cukrok a szervezet energiaszolgáltató vegyületei, gyorsan mobilizálható energiát nyújtanak a szervezetnek. A túlzott mennyiségű cukor fogyasztása azonban fogszuvasodáshoz, elhízáshoz, valamint az elhízásból adódó betegségek (2-es típusú cukorbetegség, szív- és érrendszeri betegségek, daganatos betegségek, mozgásszervi betegségek, stb.) kialakulásához vezethet.

Az édes íz helyettesítésére, az egyszerű cukrokból származó energia csökkentésére alkalmazhatók a cukorhelyettesítők. A cukorhelyettesítők olyan cukorszármazékok, melyek a cukortól eltérő módon hasznosulnak, vagy egy részük egyáltalán nem hasznosul. Számos előnnyel rendelkeznek a cukrokkal szemben, kisebb mértékben emelik a vércukorszintet, nem okoznak fogszuvasodást, hátrányuk lehet, hogy az arra érzékeny egyéneknél puffadást, hasmenést okozhatnak.

Az energia megszorításra, az édes íz helyettesítésére, testtömeg csökkentésre vagy megtartásra az adalékanyagok közül, alkalmasak lehetnek az energiát nem adó mesterséges édesítőszer. Az adalékanyagok alkalmazásának kockázata abban rejlik, hogy hozzáadásuk után maguk, vagy származékaik az élelmiszer összetevőjévé válnak. A kereskedelmi forgalomban használt adalékanyagok mindegyike átesett a kötelező engedélyezési folyamaton, mégis számos esetben derült ki egy-egy anyagról, hogy egészségkárosító hatása is van.

Újabb kutatási eredmények felvetik, hogy a mesterséges édesítőszer és az általuk édesített termékek növelhetik az elfogyasztott táplálék mennyiségét, szerepet játszhatnak a túlsúly kialakulásában és egészségkárosító hatással is rendelkeznek, míg más tanulmányok cáfolják ezeket a feltételezéseket

A mesterséges édesítőszerrel szembeni fogyasztói ellenérzések hatására a természetes eredetű, energiát nem adó édesítőszer, a sztívia iránti érdeklődés egyre növekszik.

Az édesítőszer toxikológiai szempontból a legtöbbet vizsgált és legellentmondásosabb élelmiszer adalékanyagok.

Célkitűzések

1. Egyes irodalmi adatok szerint a mesterséges édesítőszerrel édesített termékek fogyasztása hatással lehet az étvágy megnövekedésére, ezzel párhuzamosan, az elfogyasztott táplálék mennyiségére, majd a testtömeg növekedésére. Más vizsgálati eredmények ezt a feltételezést cáfolják.

Kísérletünk első felében célunk volt megvizsgálni egy 25 hetes állatkísérletes modellben, hogy a rendszeres mesterséges édesítőszer fogyasztás befolyásolja-e a kísérleti állatok testtömegét, táplálék- és folyadékfelvételi szokásait.

2. A mesterséges édesítőszer közül, a legtöbbet támadott édesítőszer az aszpartam, amely a szervezetben 3 fő összetevőjére bomlik: aszparaginsavra, fenilalaninra, metanolra. Az irodalmi adatok ellentmondásosak a felszabaduló metabolitokról. A szakemberek egy része szerint, a metabolitok teljesen kiürülnek a szervezetből, míg más kutatók szerint felhalmozódhatnak a szervezetben és egészségkárosító hatásuk lehet.

Célunk volt, hogy állatkísérletes modell segítségével az aszpartamból keletkező metanol hatásait megvizsgáljuk, befolyásolja-e a lebomlását irányító gének (*Adh1*, *Adh3*, *Adh4*) génexpressziós aktivitását.

3. A polialkoholok közül a xilit beilleszthető a cukorbeteg diétájába, alacsony szénhidrát tartalma és alacsony glikémiás indexe miatt.

Célunk volt egy „short term” állatkísérletes modell segítségével megvizsgálni, hogy a xilit miképp befolyásolja a plazma glükóz szintjét, normál táplálékfogyasztási lehetőségek esetén, valamint éheztetés során.

4. Az édes íz helyettesítésére a természetes eredetű édesítőszer alkalmazása egyre népszerűbb. A vizsgálati eredmények többsége megerősíti, hogy a xilit és a sztívia nem rendelkezik egészségkárosító hatással. Kísérletünkben az energiát adó xilit és energiát nem adó sztívia fogyasztásának hatásait vizsgáltuk. Választ kerestünk, arra hogy az édesítők fogyasztása okozhat-e mérhető káros hatást a vizsgált szervekben.

Célunk volt, hogy rövid távú állatkísérletben meghatározzuk az édesítőszer egyes onko- és szupresszor génekre, mint kulcsgénekre gyakorolt hatását, egyhetes expozíció követően.

Anyag és módszer

Mesterséges édesítőszer fogyasztásának hatása testtömegváltozásra, táplálék- és folyadékfogyasztásra

A kísérlet során 72 egyedből álló 5-6 hetes CBA/Ca beltenyésztett, hím és nőstény egereknek adagoltunk kereskedelmi forgalomban kapható mesterséges édesítőszeret (szacharin, aszpartam, ciklamát alapú és aceszulfam-K alapú asztali édesítőszer) és egy energiaszegény italport csapvízben feloldva. Az oldatban a testtömegre vonatkoztatott maximálisan megengedett mennyiségű édesítőszeret oldottuk fel, melyet az állatok ad libitum fogyasztottak. Táplálékként mindegyik állat egértápot kapott, melyet szintén ad libitum fogyasztottak. Az állatokat 6 csoportba osztottuk, mindegyik csoportban 6-6 egyed volt. Az állatokat standard körülmények között tartottuk.

A kísérlet ideje alatt mértük az állatok testtömegének változását, táplálék- és folyadékfogyasztását. A testtömeget heti egy alkalommal egerenként mértük.

A táplálékfogyasztást heti egy alkalommal mértük. Az egereknek meghatározott (300 g) mennyiségű egértápot adagoltunk, majd az etetőben meghagyott táplálék mennyiségét lemértük és kivontuk a kezdeti táp tömegéből. A különbséget tekintettük az elfogyasztott mennyiségnek.

A folyadékfogyasztást heti két alkalommal mértük. Meghatározott mennyiségű (300 ml) folyadékot adagoltunk a csoportoknak. Az adagolóban meghagyott mennyiséget lemértük, kivontuk a kezdeti mennyiségből. A különbségek összegét tekintettük az elfogyasztott folyadéknak. Vizsgálatunk 25 hétig tartott.

Aszpartam fogyasztás hatása az Adh1, Adh3, Adh4 gének expressziójára

„Short term” kísérlet

Kísérletünkben 12 egyedből álló, 5-6 hetes CBA/Ca beltenyésztett nőstény egereknek adagoltunk kereskedelmi forgalomban kapható aszpartam alapú mesterséges édesítőszer, csapvízben feloldva, a testtömegre vonatkoztatott maximálisan megengedett mennyiségben (80 mg/300 ml), melyet ad libitum fogyasztottak. A kontroll csoport csapvizet fogyasztott, kezelt csoportoknak megfelelő vízfogyasztási lehetőségekkel. Táplálékként mindegyik állat standard egértápot kapott, melyet ad libitum fogyaszthattak. Az állatokat standard körülmények között tartottuk. Az állatokat 2 csoportba osztottuk, mindegyik csoport 6-6 egyedet tartalmazott. Az adagolás kezdete után 14 héttel az állatokat cervicalis dislocatio formájában leöltük.

Szubkrónikus kísérlet

Kísérletünkben 12 hím és 12 nőstény egyedből álló 5-6 hetes CBA/Ca beltenyésztett egereknek adagoltunk kereskedelmi forgalomban kapható aszpartam alapú mesterséges édesítőszer, csapvízben feloldva, a testtömegre vonatkoztatott maximálisan megengedett mennyiségben (80 mg/300 ml), melyet ad libitum fogyasztottak. A kontroll csoport csapvizet fogyasztott, kezelt csoportoknak megfelelő vízfogyasztási lehetőségekkel. Táplálékként mindegyik állat standard egértápot kapott, melyet ad libitum fogyaszthattak. Az állatokat standard körülmények között tartottuk. Az állatokat 2 csoportba osztottuk, mindegyik csoport 6-6 egyedet tartalmazott. Az adagolás kezdete után 25 héttel az állatokat cervicalis dislocatio formájában leöltük.

Mindkét kísérlet esetén az állatokat felboncoltuk, szerveiket (máj, vese, csontvelő) kimetszettük, az egy csoportba tartozó állatokból származó azonos szervekből vett 80 mg szövetmintákat pooloztuk, majd RNS izolálást végeztünk MagNa Pure® LC készülékkel (Roche Berlin, Germany). A génexpressziókat kvantitatív RT-PCR-rel határoztuk meg, Roche LightCycler® Roche 2.0 berendezéssel (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany), SYBR Green protokoll szerint, a technikai utasításnak megfelelően. Az amplifikációhoz felhasznált primereket a Primer Express™ Software-rel (Applied Biosystems) terveztük, és az Integrated DNA Technologies (Bio-Sciences) szintetizálta. A relatív génexpressziókat “comparative CT method”-dal határoztuk meg ($\Delta\Delta C_T$ method, Applied Biosystems) egy belső, “housekeeping” génhez viszonyított értékeket számoltuk.

Xilit hatása a plazma glükóz szintjének változására

A kísérletünkben 12 nőstény és 12 hím F-344 típusú patkányoknak adagoltunk kereskedelmi forgalomba kapható xilitet és kristálycukrot csapvízben feloldva. Egy csoport 4 egyedből állt. Az oldatban, amely 300 ml volt, a testtömegre vonatkoztatott javasolt mennyiségű 1,4 g xilitet és ekvivalens mennyiségű szacharózt oldottuk fel, melyet az állatok ad libitum fogyaszthattak. A kísérlet megkezdése előtt éhomi vércukorszintet mértünk a csoportok egyedeiben. A kontroll csoport csapvizet kapott. Az állatok standard tápot kaptak, melyet ad libitum fogyaszthattak. A plazma glükóz mérések a következő időpontokban történtek: 1. óra, 2. óra, 3. óra, 6. óra, 12. óra, 1. nap, 2. nap, 3. nap, 6. nap.

F-344 patkányok kezelése éheztetés során

A kísérletünkben 12 nőstény és 12 hím F-344 típusú patkányoknak adagoltunk kereskedelmi forgalomban kapható xilitet és kristálycukrot csapvízben feloldva. Egy csoport 4 egyedből állt. Az oldatban a testtömegre vonatkoztatott javasolt mennyiségű 1,4 g xilitet és ekvivalens mennyiségű szacharózt oldottuk fel, melyet az állatok ad libitum fogyaszthattak. A kísérlet megkezdése előtt éhomi vércukorszintet mértünk a csoportok egyedeiben. A kontroll csoport csapvizet kapott. A vércukormérések a következő időpontokban történtek: 1. óra, 2. óra, 3. óra. A kapott eredményeket statisztikailag értékeltük

A plazma glükóz mérése mindkét esetben *Accu-Chek Active®* vércukormérő készülékkel (Roche) történt.

Sztívia és xilit fogyasztás hatása egyes kulcs onko-, és szupresszorgének expressziójára in vivo

A kísérlet során 24 hetes BALB/c típusú nőstény egereknek adagoltunk kereskedelmi forgalomban, bioboltban kapható 97%-os tisztaságú sztívia port (mely steviosidot és rebaudiosid A-t egyenlő arányban tartalmazott) és 100% xilitet tartalmazó édesítőport csapvízben feloldva. Az oldatban a testtömegre vonatkoztatott, humán ekvivalens dózisra számolt, maximálisan megengedett mennyiségű sztíviát, vagy xilitet oldottuk fel. Sztívia esetében, 300 ml csapvízben 24 mg sztíviát; xilitből 300 ml csapvízben 4,2 g xilitet oldottunk fel. A kristálycukorból xilittel ekvivalens, 4,2 g mennyiségűt oldottunk fel. A negatív kontroll csoport csapvizet kapott. Minden egyed standard egerétápot kapott. A táplálékot és a folyadékot az állatok ad libitum fogyaszthatták. Négy csoportot hoztunk létre, minden csoport 6 egyedből állt.

Az adagolás kezdete után 1 héttel az állatokat cervicalis dislocatio formájában leöltük, felboncoltuk, szerveiket (máj, lép, vese, tüdő, csontvelő, thymus, nyirokcsomó) kimetszettük. A csoportonként poolozott, szervenként gyűjtött 100 mg szövetmintából TRIZOL reagens (Sigma-Aldrich, Budapest) használatával teljes RNS-t izoláltunk. RNS tisztaságát és koncentrációját abszorpciós fotometriával ellenőriztük 260/280 nm-en. 10 µg RNS-t HYBOND N+ membránra blottoltuk, majd kemilumineszcens jelölésű (ECL kit, Amersham, Little Chalfont, England) *c-myc*, *Ha-ras*, *bcl-2*, *K-ras* és *p53* (Prof. Dr. Szeberényi József, Pécsi Tudományegyetem, Orvosi Biológiai Intézet) génspecifikus próbákkal hibridizáltuk. A laboratóriumi folyamatok minden lépését a felhasznált termékekhez a gyártó cégek által mellékelt előírásoknak megfelelően végeztük. A jelölés detektálása röntgenfilmen történt. A kiértékelést Quantiscan szoftverrel végeztük (Biosoft, Cambridge, UK). A kezelt és kontroll csoportok közti *c-myc*, *Ha-ras*, *Bcl-2*, *K-ras* és *p53* génexpresszió eltéréseket β -aktin expresszió százalékában ábrázoltuk.

Statisztikai analízis

Statisztikai analízisünkhöz Student-féle kétmintás t-próbát, átlagszámítást, szórást, korreláció számítást végeztünk. Mivel kis egyedszámmal dolgoztuk, ezért normál eloszlású

adathalmazban végeztük a vizsgálataink kiértékelését. A kapott eredményeket akkor tekintettük szignifikánsnak, ha $p \leq 0,05$ volt.

Eredmények

Mesterséges édesítőszer fogyasztásának hatása testtömegváltozásra, táplálék- és folyadékfogyasztásra

A nőstények tekintetében, a szacharint fogyasztó egyedek szignifikánsan nagyobb ($p=0,0495$), az italport fogyasztó nőstények szignifikánsan alacsonyabb ($p=0,00005$) átlagos testtömeget értek el, mint a kontroll csoport tagjai. Nem detektáltunk eltérést a testtömegben, az aszpartam, ciklamát valamint az aceszulfam-K tartalmú oldatot fogyasztó nőstények és a kontroll csoport között.

A kontroll csoporttal összehasonlítva, a szacharin, aszpartam, és aceszulfam-K fogyasztása nem befolyásolta a kezelt csoportok táplálékfogyasztási szokásait. Az italporos nőstények szignifikánsan kisebb mennyiségű ($p=0,0015$) táplálékot fogyasztottak a kontrollhoz képest.

A szacharinos nőstény csoport egyedei közel szignifikánsabb nagyobb ($p=0,052$) mennyiségű folyadékot fogyasztottak, mint amennyit kontroll csoport egyedei esetén mértünk. A kontroll csoporthoz képest, nem okozott változást a kezelt csoportok folyadékfogyasztási szokásaiban az aszpartam, ciklamát, aceszulfam-K fogyasztása.

Az italport fogyasztó nőstény egyedek szignifikánsan kevesebb ($p=0,015$) mennyiségű oldatot fogyasztottak, mint a kontroll csoportban lévő egyedek.

A kontroll csoport hímjeivel összehasonlítva, szignifikánsan nagyobb átlagos testtömeget mértünk a ciklamátot fogyasztó egyedeknél ($p=0,0034$), és a szacharint fogyasztó hím csoportban ($p=0,0304$). Az aszpartam, aceszulfam-K és az italpor fogyasztása nem befolyásolta a testtömeg változásait.

A kontroll csoporttal összehasonlítva, a szacharin, aszpartam, ciklamát és aceszulfam-K fogyasztása nem befolyásolta a kezelt hím egyedek táplálkozási szokásait. Az italport fogyasztó hímek szignifikánsan kevesebb mennyiségű ($p=0,034$) táplálékot fogyasztottak, mint a kontroll egyedei.

A kontroll csoport egereivel egybevetve, a szacharin, aszpartam, ciklamát rendszeres fogyasztása nem volt hatással a csoport egyedeinek folyadékfogyasztási mennyiségére.

A hím kontrollhoz képest az aceszulfam-K tartalmú oldat fogyasztása szignifikánsan nagyobb ($p=0,000165$) volt, míg az italport fogyasztó csoport szignifikánsan kevesebb ($p=0,00002$) folyadékot fogyasztott.

Aszpartam fogyasztás hatása az Adh1, Adh3, Adh4 gének expressziójára

Vizsgálatainkban az alkohol-dehidrogenáz enzimeket kódoló gének kifejeződését mértük aszpartam fogyasztás hatására.

A 14 hetes aszpartam expozíció nem, vagy kis mértékben befolyásolta a vizsgált gének expresszióját.

A nőstényekben az aszpartam expozíció a májban közel tizenötszörösére, a vesében ötvenszörösére emelte az *Adh3* gén kifejeződését a kontroll csoporthoz képest. A hímekben az *Adh3* gén expressziós szintje a májban kilencszeres, a vesében négyszeres, a csontvelőben közel háromszoros volt.

A kezelt nőstényekben, az *Adh4* gén kifejeződése tekintetében, a májban több mint harmincszoros overexpressziót, a vesében másfélszeres, a csontvelőben háromszoros expressziót detektáltunk.

Az aszpartam a hímekben az *Adh4* gén a májban közel tizenkétszeres, csontvelőben a gén másfélszeres emelkedését okozta, mint a kontroll csoportban.

Xilit hatása a plazma glükóz szintjének változására

A xilit fogyasztása egyenletesen emelte meg a vércukorszintet a hím és nőstény F-344 patkányokban.

Éheztetés során a xilit tartalmú oldat lassan, egyenletesen emelte meg a plazma glükóz szintjét mindkét nem esetében.

Sztívia és xilit fogyasztás hatása egyes kulcs onko-, és szupresszorgének expressziójára *in vivo*

A sztíviás kezelés hatására, májban és thymusban másfélszeresére, a lépben több mint kétszeresére növekedett a *p53* gén kifejeződése a kontroll csoporthoz képest. A xilites expozíciót követően a thymusban és a csontvelőben háromszoros, a májban és a lépben emelkedett *p53* gén kifejeződést tapasztaltunk.

A sztívia fogyasztás a *c-myc* onkogén a tüdőben hatszoros, a májban háromszoros, a lépben közel ötszörös, a thymusban kétszeres expresszióját indukálta. A kontrollal összevetve, a xilites csoportban, *c-myc* expressziója háromszoros emelkedést mutatott a thymusban, ötszöröset a csontvelőben, és hatszorosat a tüdőben.

A *Ha-ras* onkogén expressziós mintázatát egyik édesítőszer expozíciója sem növelte meg nagyobb mértékben.

A sztíviával kezelt csoportban a tüdőben a *K-ras* gén kifejeződése ötszöröse volt a kontroll csoporténak. A xilites csoportban, a thymusban négyszer nagyobb mértékű *K-ras* gén expressziót mértünk.

A *bcl-2* gén esetében, a kontroll csoporttal összehasonlítva, mindkét édesítőszer tekintetében csupán emelkedettebb gén expressziókat mértünk.

Megbeszélés

Mesterséges édesítőszer fogyasztásának hatása testtömegváltozásra, táplálék- és folyadékfogyasztásra

A szacharinos oldat fogyasztása jelentősen megnövelte a hím és nőstény egyedek testtömegét, azonban jelentős változásokat nem tapasztaltunk a táplálékfogyasztási szokásban. Nőstények szignifikánsan több folyadékot fogyasztottak, mint a kontroll csoport egyedei.

A kutatók szerint, a tömegnövekedés oka, a szervezetben kialakuló pavlovi reflexszel összefüggésbe hozható mechanizmus érvényesülésének megakadályozása. Véleményük szerint az édes íz fogyasztása után a szervezet felkészül egy nagyobb kalóriatartalmú táplálék fogadására. Az elmaradó magas kalória-bevitel megzavarja a szervezetet és ennek kompenzálása céljából kevésbé lesz képes a táplálékbevitel kontrolljára, több kalóriát igényel.

Az aszpartamot tartalmazó oldat fogyasztása egyik nem esetében sem befolyásolta statisztikailag a vizsgált paramétereket. Meg kell azonban említeni, hogy a hím és nőstény

egyedek boncolása során a szerveik körül jelentős mennyiségű zsírszövet rakódott le. Nőstényeknél két egyed elhalálozott, és mivel a halál okát nem tudtuk megállapítani, ezért nem lehet egyértelműen kijelenteni, hogy az elhalálozásban az aszpartam fogyasztása szerepet játszott.

A ciklamátos oldat esetében szignifikánsan nagyobb lett a testtömeg a hím egyedeknél a kontroll csoporthoz képest, azonban az elfogyasztott táplálék-és folyadékfogyasztás mennyisége nem változott. A ciklamát alapú édesítőszer ciklamát szacharin 10:1 arányú keverékéből állt. Szükséges megjegyezni, hogy a kísérletben alkalmazott egerek a ciklamát édes ízét nem érzékelik.

Az aceszulfam-K fogyasztása nőstényeknél szignifikánsan csökkentette a táplálékfelvétel mennyiségét és az átlagos testtömeget, de a csapvizes csoporttal összevetve jelentősen nem változtatta meg. A hímek tekintetében a folyadékfogyasztás mennyiségét szignifikánsan növelte.

Az energiaszegény italport fogyasztó egyedeknél, nőstények esetén szignifikánsan csökkent a testtömeg, valamint csökkent táplálék- és folyadékfogyasztást mértünk. Hím egyedeknél jelentősen csökkent a táplálék- és folyadékfogyasztás mennyisége.

Ebben az esetben sem jelenthető ki egyértelműen, hogy a változás az italpornak köszönhető, mert az elkészített oldatból 3 gombafajtát határoztunk meg. Elképzelhető, hogy a gombák jelenléte nagymértékben befolyásolta a mérési eredményeinket.

A kapott eredmények megkérdőjelezhetik egyes mesterséges édesítőszeres testtömeg megtartó, vagy csökkentő hatását.

A mesterséges édesítőszeres fontos részei az energiaszegény diétának, valamint a cukorbetegség étrendi kezelésének, ezért fontos tisztázni, milyen szerepet játszanak a testtömeg megtartásában, változásaiban.

Aszpartam fogyasztás hatása az Adh1, Adh3, Adh4 gének expressziójára

Vizsgálatunkban az aszpartam lebomlásából származó metanol hatását vizsgáltuk az alkohol-dehidrogenáz enzimeket kódoló génekre CBA/Ca egerekben, két expozíciós időintervallumban. A 14 hetes aszpartam expozíció nem, vagy kis mértékben befolyásolta a vizsgált gének expresszióját.

A szubkrónikus aszpartam fogyasztás az *Adh1*, *Adh3*, *Adh4* gének többszörös mértékű expresszióit okozta a kezelt nőstények egyes szerveiben a kontrollhoz képest.

A metabolizáló enzimek kinetikáját szabályzó gének jelentős mértékű növekedése alapján kijelenthető, hogy az aszpartam fogyasztásnak van biológiai hatása.

Az aszpartam kezelés utáni expressziós szintek növekedéséből azonban, nem következik egyértelműen az alkohol-dehidrogenáz, vagy formaldehid-dehidrogenáz enzimek aktivitásának növekedése, változása. A hosszabb távú expozíciónak kitett egyedeknél a vizsgált gének nagyobb mértékű expressziója utalhat a szervezetben a metanol és formaldehid, mint toxikus metabolitok, gyorsabb clearance-re.

Rövidebb távú aszpartam fogyasztás esetén az alkohol-dehidrogenázok aktivitása alacsony, felmerül a kérdés, hogy a bomlástermékek felszaporodása lehet-e a felelős a megnövekedett enzimaktivitásért, a többszörös mértékű génexpresszióért? A tartósan magas bevitel okozhat-e olyan változásokat az enzimek aktivitásában, melynek következtében esetleg a bomlástermékek eliminációja csökken?

A metabolitok felszaporodása miatt, jelenthet-e rizikótényezőt a hosszú időn átfolytatott aszpartam fogyasztás diabeteses betegekben, fogyókúrázóknál, vagy a gyermekeknél?

Ahhoz, hogy az eredmények teljesek legyenek egy újabb vizsgálatot tervezünk, melyben az alkohol-dehidrogenázokat kódoló gének expressziós változásai mellett az enzimek aktivitását és a bomlástermékek plazmaszintjét is szeretnénk mérni.

Xilit hatása a plazma glükóz szintjének változására

A xilit plazma glükóz szintre gyakorolt hatását kívántuk vizsgálni „short term” állatkísérletes modellen keresztül normális táplálkozás és éheztetés mellett hím és nőstény F-344 patkányokban. Mindkét vizsgálatban a xilit tartalmú oldat lassan, egyenletesen emelte meg a plazma glükóz szintjét hímekben és nőstényekben. Normális táplálkozás mellett a vércukor növekedését a xilit hatása mellett nagyban befolyásolta az elfogyasztott táplálék is. Kísérleteinkben a xilit indukálta vércukorszint változások a normál tartományba estek.

A nemzetközi irodalommal összehasonlítva hasonló eredményeket kaptunk a xilit plazma glükóz szintet befolyásoló hatásáról. Mivel a molekula lebomlása és felszívódása lassú, ezért a plazma glükóz szintjét elhúzódóan, kis mértékben emelte meg. Az eredmények alapján jól alkalmazható cukorbeteg diétájában, azonban bele kell számolni a napi fogyasztható szénhidrátmennyiségbe.

Sztívia és xilit fogyasztás hatása egyes kulcs onko-, és szupresszorgének expressziójára *in vivo*

A PTE ÁOK Orvosi Népegészségtani Intézet által kifejlesztett „short term” állatkísérletes modell segítségével a karcinogenezis korai molekuláris epidemiológiai biomarkereinek változásait vizsgáltuk xilit és sztívia expozíció hatására. A vizsgált gének jelentős mértékű expressziós változásai olyan expozíciót jelezhetnek, amelyek a sejt életét negatív irányba befolyásolják, ezért expozíciós markereknek tekinthetők.

„Short term” kísérletünkben, a xilit és a sztívia hatására többszörös mértékű expressziókat detektáltunk a *p53* tumor szupresszor gén, *c-myc onkogén*, *K-ras onkogén* tekintetében. A *Ha-ras* onkogén és a *bcl-2 onkogén* kifejeződését egyik édesítőszer expozíciója sem növelte meg nagyobb mértékben.

A karcinogenezisben szerepet játszó egyes kulcsgének expressziós változásai alapján kijelenthető, hogy a vizsgált édesítőszer mérhető hatással rendelkezik, befolyásolhatja a karcinogenezis (ki)alakulását. Eredményeinkben figyelmet érdemelnek a limforetikuláris szervekben mért változások, mivel ezek a szervek magas proliferációs rátájú sejtekből épülnek fel, valamint más mesterséges édesítőszer fogyasztás hatását vizsgáló hosszú távú karcinogénitási tanulmányok szerint, a daganatok előfordulása ezekben a szervekben volt nagy mértékű. A vizsgált gének expresszió növekedései alapján a vizsgálatot folytatni kívánjuk, melyben több egyed, hosszabb expozíciós időn át adagolt édesítőszerrel vizsgálánk. Megnövekedett expressziójuk alapját képezhetik, egy „long term”, krónikus karcinogénitási vizsgálatnak, szenzitív állatokban, más gének bevonásával.

Az egyedek kis száma miatt az eredményeink előzetesek, de az édesítőszer táplálkozásban és egyes diétákban való szerepe miatt fontos eredményeink előzetes közlése.

Új eredmények összefoglalása

1. A kereskedelmi forgalomból származó mesterséges édesítőszer fogyasztásáról, állatkísérletes eredményeink alapján elmondható, hogy a szacharin mindkét nemben, a ciklamát a hímekben szignifikánsan növelte a testtömeget, azonban fogyasztásuk a táplálkozási szokásokat nem változtatta meg. Szacharin esetében a nőstényeknél jelentős folyadékfogyasztást mértünk. Az aszpartam fogyasztás nem befolyásolta a vizsgált paramétereket. Az aceszulfam-K fogyasztás a hímeknél szignifikánsan nagyobb mennyiségű folyadékfogyasztást eredményezett, azonban egyik nemben sem befolyásolta a testtömeg változását és a táplálkozási szokásokat. Az energiaszegény italpor fogyasztása jelentősen csökkentette a testtömeget, táplálék-, és folyadékfogyasztást, hatását azonban megkérdőjelezi az oldatokban megjelent és meghatározott három gombafaj.
2. A 14 hetes aszpartam fogyasztása nem, vagy kis mértékben befolyásolta az alkohol-dehidrogenáz enzimek kinetikáját szabályozó gének, az *Adh1*, *Adh3*, *Adh4* gén kifejeződését. A szubkrónikus idejű aszpartam fogyasztás többszörösére növelte egyes szervekben az *Adh1*, *Adh3*, *Adh4* gének kifejeződését. A hosszú távú aszpartam fogyasztás hatásának tisztázása érdekében újabb vizsgálatok szükségesek.
3. A xilit fogyasztása hagyományos táplálkozás mellett és éhezésben is lassú plazma glükóz emelkedést okozott. A vércukor emelkedések minkét esetben a normális tartományon belül maradtak.
4. „Short term” állatkísérletes vizsgálatunkban a sztíviával kezelt csoportban, valamint a xilites csoportban egyaránt többszörös *p53* tumorszupresszorgén, *c-myc* onkogén, *K-ras* onkogén expressziókat mértünk. Az eredmények felvetik, hogy a vizsgált édesítők befolyásolhatják a karcinogenezis (ki)alakulását. Az eredmények alapját képezhetik, egy „long term”, krónikus karcinogenitási vizsgálatnak.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek Dr. Ember István Professor Úrnak, aki lehetőséget adott, hogy a PTE ÁOK Orvosi Népegészségtani Intézetben végezhessem munkámat, valamint támogatásával, szakmai tapasztalatával, kritikai észrevételeivel hozzásegített dolgozatom megírásához.

Köszönetet mondok dr. Gombos Katalinnak, aki értékes tanácsaival, türelmével, szakmai tudásával segítette munkámat.

Hálával tartozom a PTE ÁOK Orvosi Népegészségtani Intézet asszisztenseinek, Brunnerné Bayer Zsuzsának és Herczeg Mónikának, akik munkájukkal segítettek, hogy disszertációm elkészülhessen.

Köszönettel tartozom egykori lelkes tanítványomnak Wolher Veronikának, aki nélkülözhetetlen társam volt a kísérleti munkában.

Dr. Figler Mária Professor Asszonynak köszönöm támogatását, odafigyelését, és azt, hogy a munkám nehezebb szakaszaiban is mindig mellettem állt és ösztönzött.

Köszönöm a PTE ETK Táplálkozástudományi és Dietetikai Tanszék összes munkatársának a biztatását, lelkesítését, motiváló támogatását.

Hálával tartozom anyukámnak és testvéremnek segítségükért, ösztönző biztatásukért.

Köszönöm Máténak, Hannának, Olíviának, hogy türelmesek voltak velem, amikor elfoglaltságom miatt nem voltam velük türelmes.

Köszönöm férjem mindig támogató szavait, megértő szeretetét, mellyel életem minden pillanatában segíteni tud.

A disszertációhoz kapcsolódó és közvetlenül nem kapcsolódó publikációk és prezentációk listája

„In extenso” közlemények

1. Gombos K., Varjas T., Orsós Z., **Polyák E.**, Peredi J., Varga Z., Nowrasteh G., Tettinger A., Mucsi G., Ember I.: The effect of aspartame administration on oncogene and suppressor gene expressions. *In vivo* 21:(1) pp. 89-92. (2007) **IF: 1.143**
2. **Polyák E.**, Gombos K., Hajnal B., Bonyar-Muller K., Szabo S., Gubicsko-Kisbenedek A., Marton K., Ember I.: Effects of artificial sweeteners on body weight, food and drink intake. *Acta Physiologica Hungarica* 97:(4) pp. 401-407. (2010) **IF: 1.226**
3. Budán F., Varjas T., Nowrasteh G., De Blasio A., Prantner I., Gombos K., Varga Zs., Cseh J., Göbel Gy., **Polyák É.**, Perjési P., Ember I., Kiss I.: Kémiai karcinogének korai hatása a c-myc, Ha-ras és p53 gének expressziójára *Magyar Epidemiológia* 5:(3-4) pp. 201-212 (2008)
4. **Polyák É.**, Gombos K., Wolher V., G. Kisbenedek A., Szabó Sz., Varjas T., B. Müller K., Breitenbach Z., Figler M., Ember I.: Stevia és xilit hatásának molekuláris epidemiológiai vizsgálata *Magyar Epidemiológia* 9:(1) pp.15-23. (2012)

Magyar folyóiratokban megjelent absztraktok

1. **Polyák É.**, Gombos K., Varjas T., Peredi J., Ember I.: Az Aspartame fogyasztás hatása az onko- és tumorszupresszor gén expressziókra. *Magyar Epidemiológia* 3:(Suppl.) p. 71. (2006)
2. **Polyák É.**, Gombos K., Wolher V., Ember I.: Energiát nem adó mesterséges édesítőszer fogyasztásának hatása a testtömeg változásra és táplálékfelvételre. *Magyar Epidemiológia* 5:(Suppl. 2.) p. 165. (2008)

Nemzetközi folyóiratokban megjelent absztraktok

1. K. Gombos, T. Varjas, **É. Polyák**, J. Peredi, I. Ember: The effect of aspartam consumption on gene expression „in vivo” biological system. Hersonissos, Crete, Greece, 12-14 October, 2006. *International Journal of Molecular Medicine*, Supplement 18: 369. (2006)
2. **Polyák É.** Gombos K., G. Kisbenedek A., Sz. Szabó S., B. Müller K., Figler M., Ember I.: The effect of aspartame consumption on body weight and *Adh1*, *Adh4* *Adh3* gene expression in mice. *Zeitschrift für gastroenterologie* 5:(49) p.655 2011. **IF: 1.131**

3. Müller K., Szélig K., Kisbenedek A., **Polyák É.**, Szabó S., Armbruszt S., Figler M.: The degree of fibre consumption among active workers. *Zeitschrift für gastroenterologie*.9:(5) p. 653. Paper 60. (2011) **IF: 1.131**
4. Kisbenedek A., Raposa B., **Polyák É.**, Müller K., Szabó S., Armbruszt S., Varjas T., Figler M., Ember I.: Examination of effect of tartazin and azurobin on gene expression in mice treated DMBA. *Zeitschrift für gastroenterologie* 5:(49) p: 647. (2011) **IF: 1.131**
5. Szabó S., Márk L., Kiss S., **Polyák É.**, Kisbenedek A., Müller K., Armbruszt S., Figler M.: HPLC_MS analysis of resveratrol in different nutritions. *Zeitschrift für gastroenterologie* 5:(49) p. 658. (2011) **IF: 1.131**

Könyvfejezetek:

1. **Polyák É.**: Az egészséges táplálkozás, egészséges táplálkozásban ajánlott ételkészítési eljárások in Járomi M. (szerk.): *Wellness alapismeretek II.*, pp.142-152. (2007), Pécs, PTE ETK (ISBN: 978963642186-1)
2. **Polyák É.**: Energiaszegény étrend in Járomi M. (szerk.): *Wellness alapismeretek II.*, pp.157-159. (2007), Pécs, PTE ETK (ISBN: 978963642186-1)
3. **Polyák É.**: A vegetarianizmus in Járomi M. (szerk.): *Wellness alapismeretek II.*, p. 197-202. (2007), Pécs, PTE ETK (ISBN: 978963642186-1)
4. **Polyák É.**: A szép bőr diétája in Járomi M. (szerk.): *Wellness alapismeretek II.*, pp. 224-226. (2007), Pécs, PTE ETK (ISBN: 978963642186-1)
5. **Polyák É.**: Az egészséges táplálkozás 12 mérföldköve (19. melléklet) in Járomi M. (szerk.): *Wellness alapismeretek II.*, pp. 227-227. (2007), Pécs, PTE ETK (ISBN: 978963642186-1)
6. **Polyák É.**: Várandósok táplálkozási szükségletei valamint a tej és tejtermékek fogyasztásának összefüggései in Kukovics S. (szerk.): *A tej szerepe a humán táplálkozásban.*, pp. 323-330. (2009) Budapest, Melania Kiadó, (ISBN:978-963-9740-15-0)

Megjelent hazai közlemények

1. **Polyák É.**, Marton Á., D. Fejős Sz., Figler M.: A diabétesz edukációjának és az anyagcsere-állapotnak az összefüggései. *Új Diéta*, 6:(3). pp. 3-4. (2006)
2. Szabó Sz., Szunyogh Sz., **Polyák É.**, B. Müller K., Figler M.: Homoktövis-készítmények C-vitamin-tartalmának vizsgálata. *Új Diéta*, 6:(3.) pp.28-29. (2006)
3. **Polyák É.**, Takács A., Faludy A., B. Müller K., Figler M.: A paradicsom káliumtartalma és a zöldbölgrika C-vitamin tartalma. *Új Diéta*, 6:(4.) pp.7-8. (2006)
4. **Polyák É.**: Fűszernövények házi tartósítása. *Új Diéta*, (2) p. 21-22. (2007)

5. **Polyák É.**, Jung Zs., Kisbenedek A., Figler M.: Különböző sertésfajták húsának összehasonlító vizsgálata. *Új Diéta*, 7:(5) pp. 26-27. (2007)
6. **Polyák É.**, Mester K., Szabó Sz., Figler M.: Élelmiszer-ipari adalékanyagok által kiváltott allergiás reakciók. *Új Diéta* 7:(6.) pp. 2-4. (2007)
7. **Polyák É.**: Szoptató anya táplálkozása. *Új Diéta* 7:(6.) pp. 28-29. p. (2007)
8. **Polyák É.**: Elválasztás, hozzátáplálás. *Új Diéta*, 8:(1.) pp. 20-21. (2008)
9. **Polyák É.**, Jung Zs., Szabó Sz. Márton K., Figler M.: Különböző sertésfajták fogyasztásának vizsgálata felsőfokú intézmények hallgatói között. *Új Diéta*, 8:(1.) pp.10-11. (2008)
10. **Polyák É.**, Simicz Sz., Figler M.: A stressz levezetésének szokásai egyetemi hallgatók körében. *Új Diéta*, 8:(2.) pp. 6-7. (2008)
11. Budan F., Varjas T., Varga Zs., Cseh J., **Polyák E.**, Perjesi P., Gyongyi Z., Ember I.: Környezeti metil-nitro-urea expozíció lehetséges molekuláris biomarkereinek vizsgálata. *Magyar Epidemiológia*, (1.) pp. 55-62. (2008)
12. **Polyák É.**, Szűcs P., Faludy A., Figler M.: Egyes zöldségek nitrát tartalmának összehasonlítása. *Új Diéta*, 9:(2.) pp.2-4. (2009)
13. **Polyák É.**, Fürnstein É., Szabó Sz., Faludi A., Figler M.: Csipkebogyóteák C-vitamin tartalmának mérése különböző elkészítési módszerekkel. *Új Diéta*, 9:(6.) pp.14-15. (2009)
14. **Polyák É.**, Jung Zs., Szabó Sz., Marton K., Faludy A., Figler M.: Különböző sertésfajták fogyasztásának összehasonlító vizsgálata felsőfokú intézmények hallgatói között. *A Hús*, 10:(1.) pp. 13-15. (2010)
15. **Polyák É.**, Kerényi M., Laufer Zs., B. Müller K., Szabó Sz., Figler M.: A medvehagyma antibakteriális tulajdonságának vizsgálata. *Új Diéta*, 10:(5.) pp. 24-25. (2010)
16. **Polyák É.**: Étkezési tanácsok Syncumart szedő betegek részére. *Új Diéta*. 10:(6) pp.2-3. (2010)
17. **Polyák É.**, Kerényi M., Laufer Zs., G Kisbenedek A., Figler M.: A vöröshagyma, fokhagyma és medvehagyma antibakteriális tulajdonságainak vizsgálata. *Új Diéta* 10:(3-4) pp. 18-19. (2010)
18. **Polyák É.**, Kántás E., Györke Zs., G Kisbenedek A., Sz Szabó Sz., B Müller K., Figler M.: Lipidanyagcsere-zavarok elhízott gyermekekben. *Új Diéta* 11:(1) pp. 29-31 (2011)

19. **Polyák É.**, Vanó D., Erhardt É., G. Kisbenedek A., B. Müller K., Figler M.: 1-es típusú cukorbetegség mesterséges édesítőszer-fogyasztási szokásainak vizsgálata. *Új Diéta* 11:(3) pp. 16-18. (2011)

20. Sz. Szabo Sz., Hirsh M., **Polyák É.**, Müller T., Figler M.: Természetes vizekben élő halak nehézfém-tartalmának vizsgálata. *Új Diéta* 11: (5) pp 2-3. (2011)

21. **Polyák É.**, Csertő M., G. Kisbenedek A., B. Müller K., Sz. Szabó Sz., Faludi A., Figler M.: Kereskedelmi forgalomban kapható citrusfélék és leveik C- vitamin tartalmának változása különböző tárolási módok során. *Új Diéta* 11:(5) pp. 24-26. (2011)

22. **Polyák É.**, Krassói A, Müller K, Sz Szabó Sz, Papp I, Figler M.: A vegetáriánus táplálkozás hatása várandósság alatt *Új Diéta* 21:(2) pp. 22-23. (2012)

23. **Polyák É.**, Karvas M., Szűcs P., Szabó Sz., Faludi A., Figler M.: Különböző termesztésű sárgarépa nitrát-és nitrit-tartalmának összehasonlítása *Új Diéta* 21:(3-4) pp. 28-30. (2012)

Előadások

1. **Polyák É.**: A diabetes-educáció és anyagcsere-állapotok összefüggései. XII. TDK Konferencia Szombathely, Fiatal oktatók tudományos fóruma, (2006)

2. Veczak I, **Polyák É.**: Divatos fogyókúrák ismertetése és elemzése. Wellness konferencia Pécs, (2007)

3. **Polyák É.**, Armbruszt S., Figler M.: A táplálkozás preventív szerepe a rák kialakulásában. Magyar Gerontológiai és Geriátriai Társaság XXX. és a Preventív Gerontológiai és Geriátriai Társaság V. kongresszusa (2007)

4. Armbruszt S., **Polyák E.**, Figler M.: Étrendi kiegészítők egészségmegőrző szerepe időskorban. Magyar Gerontológiai és Geriátriai Társaság XXX. és a Preventív Gerontológiai és Geriátriai Társaság V. Kongresszusa, (2007)

5. Szabó Sz., Szunyogh Sz., **Polyák É.**, Müller K., Figler M.: Homoktövis-készítmények C-vitamin-tartalmának vizsgálata. Wellness konferencia, Pécs (2007)

6. **Polyák É.**: Táplálkozás szerepe a daganatok kialakulásában in „Aktualitások a tumor-prevencióban és tumor-diagnosztikában" c. egészségügyi szakdolgozóknak és orvosoknak szóló kreditpontos továbbképzés, Budapest, SOTE, 2007. (Meghívott előadó)

7. **Polyák É.**, Gombos K., Wolher V., Ember I.: Energiát nem adó mesterséges édesítőszer fogyasztásának hatása a testtömeg változásra és táplálékfelvételre. Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa (Pécs, 2008. november 28-29.)

8. Szabó Sz., Szunyogh Sz., **Polyák E.**, Muller K., Figler M.: Homoktövis-készítmények C-vitamin-tartalmának vizsgálata. Magyar Táplálkozástudományi Társaság XXXIII. Vándorgyűlése, (2008)

9. Szabo Sz., Kisbenedek A., Rab R., Marton K., Armbruszt S. **Polyák E.**, Lelovics Zs., Müller K., Figler M.: Táplálkozás és dietoterápia szerepe a wellnessben. II. országos wellness konferencia, (2008)

10. **Polyák É.**, Gombos K., G. Kisbenedek A., Sz. Szabó S., B. Müller K., Figler M.: Az aszpartam fogyasztás hatása a testtömegre és az *Adh1*, *Adh4*, *Adh3* gének expressziójára CBA/CA egerekben. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 53. nagygyűlése, Tihany, 2011

11. **Polyák É.**, Gombos K., Wolher V. B. Müller K., G. Kisbenedek A., Szabó Sz., Figler M., Ember I: Energiát nem adó mesterséges édesítőszer fogyasztásának hatása a testtömeg változásra és táplálék- folyadékfogyasztás mennyiségére. Magyar Táplálkozástudományi Társaság 36. Vándorgyűlése, Balatonöszöd, 2011.

12. **Polyák É.**, Gombos K., Wolher V., B. Müller K., G. Kisbenedek A., Szabó Sz., Figler M., Ember I.: Energiát nem adó mesterséges édesítőszer fogyasztásának hatása a testtömeg változásra és táplálék- folyadékfogyasztás mennyiségére. Magyar Mesterséges Táplálási Társaság Kongresszusa, Gödöllő, 2011.

13. **Polyák É.**, G. Kisbenedek A., Figler M.: Táplálkozás preventív szerepe a daganatok kialakulásában. Pécsi Akadémiai Bizottság Egészségtudományi Munkabizottsága, PAB Székház, Pécs, 2011.

14. **Polyák É.**, Gombos K, Hajnal B, Bonyárné M. K., Gubicskóné K. A, Szabó Sz, Figler M., Ember I.: Molecular epidemiology study on effect of stevia and xilytol. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 54. Nagygyűlése, Tihany, 2012.

Poszter

1. **Polyák E.** Gombos K., Varjas T., Peredi J., Ember I.: The effect of Aspartame consumption on gene-expressions in in-vivo biological systems. Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság III. Nemzetközi Kongresszusa (2006. november 3-4. Pécs)