

Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Kar
Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Bódis József

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

Doktori (Ph.D.) értekezés

Gerencsér Gellért

Programvezető: Prof. Dr. Kovács L. Gábor
Témavezető: Dr. Varga Csaba



Pécs, 2014.

Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Kar
Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Bódis József

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

Doktori (Ph.D.) értekezés

Gerencsér Gellért

Programvezető: Prof. Dr. Kovács L. Gábor
Témavezető: Dr. Varga Csaba



Pécs, 2014.

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

1. BEVEZETÉS

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. Ezeknek a kezeléseknél fontos szerepe van a különböző betegségek megelőzésében, így a balneológiának nagy jelentősége van a prevenció megvalósulásában.

A balneológia vagy gyógyfürdőtan az a tudomány, mely gyógyvizek, ásványvizek és gyógyiszapok vizsgálatával és hasznosításával foglalkozik.

A gyógyvizek és gyógyiszapok kialakulásában számos geológiai, geotermális és hidrogeológiai folyamat játszik fontos szerepet. A Kárpát-medence egyedülálló geotermális adottságokkal rendelkezik. A Pannon medence geotermális grádiense másfélszerese a világtávnak, mivel a kéreg átlagosan 10 km-rel vékonyabb, mint a szomszédos területek. Az ásvány-, gyógyvizek és peloidok kialakulásában fontos szerepet játszik a magas hőmérséklet és a nagy nyomás, amelyek nem csak a terápiás szempontból kedvező komponensek keletkezését segíthetik elő, hanem olyanokét is, melyek potenciálisan károsak, vagy toxikusak lehetnek.

Magyarországon számos ásvány- és gyógyvíz található, melyeket szervesen összetételük alapján csoportosítanak.

Gyógyiszap (peloid) alatt olyan finom szemcsézettséggel, jó vízmegkötő képességgel rendelkező anyagokat értünk, melyek balneológiai kezelésekre alkalmasak.

Az iszapoknak többféle osztályozása alakult ki. Eredetüket tekintve beszélhetünk természetes (eupeloid) és mesterséges (parapeloid) iszapokról.

A peloidok másik osztályozása nemcsak azt veszi figyelembe, hogy az adott iszap, milyen eredetű, hanem azt is, hogy a szerves és szervesen összetételük alapján fordultak elő.

2007-ben hazánk forgalomban lévő gyógyiszapjainak a száma 5 volt: a makói, kolopi, hévízi, hajdúszoboszlói és egy gyógytőzeg, az alsópáhoki „Georgikon” tőzeg.

Jelenleg szintén 5 gyógyiszap van forgalomban, a változás csak annyi, hogy a hévízi iszap helyett a „Neydharting” iszap került fel a jegyzékbe.

A gyógyiszap kezeléseknél indikációja széleskörű: a mozgásszervi betegségektől, a nőgyógyászati betegségeken át, a különböző bőrbetegségek, traumák és reumatikus betegségek kezelésére alkalmas.

Az iszapkúrának két fő formáját különíthetjük el az aktív és a passzív kezelést. Ezek közül a passzív kezelési forma a gyakoribb, amely alatt a pakolást vagy göngyölést, az iszappasztát és a rész-pakolását értjük.

Mind a gyógyiszapok, mind a gyógyvizek, mind az ásványvizek esetében fontos szerepe van a bennük élő mikroorganizmusoknak. Ezeknek a mikroorganizmusoknak két nagy csoportját

tudjuk elkülöníteni, egyrészt beszélhetünk autochton vagy eredeti mikroflóráról. A másik csoportba azokat a mikroorganizmusokat soroljuk, melyek kívülről kerülhetnek a vizekbe, peloidokba, ezt allochton mikroflórának nevezzük. Jelentőségük azért fontos, mert közéjük számtalan patogén csoport is tartozhat, így jelenlétük ásvány-, gyógyvizekben és peloidokban nem kívánatos.

A balneoprevenció a balneológiának egy új és egyre fontosabb ága, egy új tudományterület. A balneoprevenciónak kettős jelentősége lehet, egyrészt a még ki nem alakult betegségek megelőzése balneológiai kezeléssel, továbbá azoknak a komponenseknek az azonosítása, melyek a vizekben, iszapokban előfordulnak és az emberi szervezetre kockázatot jelentenek.

A hazai gyógyfürdők forgalmáról és az elvégzett kezelések számáról pontos információval nem rendelkezünk. Fürdőink összelátogatottság a 23-24,5 millió fő volt 2009-ben. 2008-ban a nettó árbevétel meghaladta az 50 milliárd forintot. A terápiás céllal elvégzett kezelések száma 2012-ben meghaladta a 6,5 milliárdot, a társadalombiztosítás által kifizetett költségek pedig majdnem elérték a 4 milliárd forintot.

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* genotoxikológiai kockázatbecslése elvégezhető?
4. Kimutatható-e genotoxikológiai kockázat különböző gyógyvízkoncentrátumok esetében genotoxikológiai vizsgálati panelben?
5. Milyen kísérleti modellben vizsgálhatjuk a gyógyvíz-koncentrátumok UV-expozícióhoz köthető biológiai hatást módosító szerepét?

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

Munkánk során az öt forgalomban lévő iszap közül a leggyakrabban alkalmazott kettőt vizsgáltuk ökotoxikológiai és genotoxikológiai tesztekkel. A két minta a kolopi és a hévízi gyógyiszap volt. Ezekkel a peloidokkal mikrobiológiai vizsgálatokat is végeztünk. Továbbá két jelentős szervesanyag-tartalommal rendelkező gyógyvizet is vizsgáltunk genotoxikológiai tesztekkel.

3.1 Vizsgált peloidok és gyógyvizek tulajdonságai

3.1.1 Kolopi iszap

Az iszap a szervesetlen iszapok csoportjába tartozik, mert minimális a szervesanyag-tartalma. A kolopi iszappal történő kezelés fő indikációi a különböző gerinc és ízületi elváltozások, nőgyógyászati és bőrbetegségek.

3.1.2 Hévízi iszap

A hévízi peloidot a kevert iszapok közé soroljuk, mert mind a szerves (tőzeg) mind a szervetlen (vulkanikus) alkotórészek aránya jelentős. A hévízi iszap alkalmas reumatikus betegségek, műtétek elő- és utókezelésére és nőgyógyászati betegségek kezelésére.

3.1.3 Kakasszéki gyógyvíz

A víz jelentős szervesanyag-tartalommal rendelkezik. A gyógyvíz igen jó hatású a különböző mozgásszervi betegségeknél, poszttraumás elváltozásoknál, krónikus nőgyógyászati gyulladásoknál, továbbá bőrgyógyászati kórképeknél is.

3.1.4 Gyopárosfürdői gyógyvíz

Gyopárosfürdő vize az alkáli-hidrogénkarbonátos vizek csoportjába tartozik, mely szintén jelentős szervesanyag-tartalommal rendelkezik. A fürdő vizét széles körben alkalmazzák, mozgásszervi, nőgyógyászati, urológiai, bőrgyógyászati és idegrendszeri betegségekben.

3.2 Vizsgálati módszerek

3.2.1 Gyógyiszapok mikrobiológiai vizsgálata

Vizsgálataink során a 201/2001. (X. 25.) Kormányrendeletet és a 65/2004. (IV. 27.) FVM-ESzCsM-GKM együttes rendeletét vettük alapul, ezek alapján néhány indikátor csoportot jelenlétét határoztunk meg.

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. A peloidból készített szuszpenzió 1 ml-éből határoztuk meg az össztelepszámot, amelyet 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. Vizsgálatuk Endo-agaron történt, a coliformszámot is 1 g peloidra vonatkoztatva adtuk meg.

3.2.1.3 Enterococcus-szám

Ez a vizsgálat is egy indikátor vizsgálat a fekális szennyeződésre, de az enterococcusok jelenléte egy régebbi szennyeződésre utal. Vizsgálatuk enterococcus táptalajon történik. A telepszámot 1 g peloidra vonatkoztatva adtuk meg.

3.2.1.4 Clostridium-szám

Ebben a vizsgálatban az anaerob spóraképző szulfitredukáló baktériumokat vizsgáltuk. Vizsgálataink során egy gyári SPS agart használtuk. Ebben a vizsgálatban is 1 g peloidra adtuk meg a Clostridium-számot.

3.2.2 Ökotoxikológiai tesztek

Munkánk során két ökotoxikológiai tesztet alkalmaztunk: az egyik az trágyagiliszta (*Eisenia fetida*) teszt, a másik a fehér mustár csírázási és gyökérnövekedési teszt volt.

3.2.2.1 Fehér mustár gyökérnövekedési teszt

A vizsgálatokat két lépésben végeztük először, a mintáinkból desztillált vízzel iszapkivonatot készítettünk, majd teljes peloidon is elvégeztük a kísérletet. Figyeltük a kicsírázott magok számát és mértük a képződött gyökerek hosszát.

3.2.2.2 Eisenia teszt

A teszt során a letalitást, a testtömegben bekövetkező változást és a szaporodás ütemét használtuk végpontként. A kolopi és a hévízi iszap mintát is teszteltük az *Eiseniákkal*. A hévízi iszap esetében előkísérletet is végeztünk.

3.2.3 Genotoxikológiai vizsgálatok

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 trágyagilisza cölomasejteken.

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

Vizsgálataink során a kakasszéki és a gyopárosfürdői gyógyvíz potenciális genotoxikus hatását és az UV-expozíció elleni védelemben betöltött lehetséges szerepét vizsgáltuk. A tesztelt gyógyvizekből, termálvizekből 1000-szeres töménységű koncentrátumot hoztunk létre. Az UV-besugárzást germicidlámpa segítségével végeztük.

3.2.3.2.1 Gyógyvízkivonatok vizsgálata Salmonella Ames mutagenitási tesztben

A módszer lényege, hogy olyan genetikailag módosított, hisztidin szintetizálásra nem képes *Salmonella typhimurium* TA törzset 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. Vizsgálataink során a kakasszéki gyógyvíz-koncentrátum potenciális genotoxikus hatását, az UV-expozíció elleni védelemben betöltött szerepét (inkubáció nélkül és inkubációval is) teszteltük.

3.2.3.2.2 Gyógyvíz-koncentrátum vizsgálata üstökös gélelektroforézissel

A vizsgálat során a két koncentrátum (kakasszéki, gyopárosfürdői) keratinocitákra (HaCat) gyakorolt hatását vizsgáltuk üstökös gélelektroforézissel. Elsőként felmértük a sejtek UV-érzékenységet, majd vizsgáltuk a potenciális genotoxikus hatást és a kivonatok lehetséges UV-sugárzás elleni védelemben betöltött szerepét. Az UV-expozíció során különböző hosszúságú expozíciós időket és különböző idejű inkubációkat is alkalmaztunk.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Higiénés mikrobiológiai vizsgálatok eredményei átlagosan telepszám

A hévízi peloid esetében az átlagos össztelepszám 2794 telep/g, a kolopi iszap esetében 372 telep/g volt. Coliformok és *Enterococcus*ok jelenlétét egyik iszapmintából sem sikerült igazolni. A hévízi mintában az átlagos *Clostridium*szám 800 telep/g-nak adódott.

4.2 Ökotoxikológiai tesztek eredményei

4.2.1 Fehér mustár gyökérnövekedési teszt

A peloidokból készült kivonatok esetében sem a kolopi, sem a hévízi minta esetében nem találtunk szignifikáns eltérést a kontrollhoz képest. Az iszapok közvetlen vizsgálata során a hévízi peloid esetében nem, de a kolopi iszap esetében a képződött gyökerek szignifikánsan rövidebbek voltak, mint a kontroll esetében.

4.2.2 Eisenia teszt eredményei

A hévízi peloiddal történő előkísérlet során megállapítottuk, hogy a iszap szervesanyag-tartalma túl alacsony a giliszták számára, ezért a további vizsgálatokban plusz szerves anyagot (lótrágya) adtunk a vizsgálandó iszaphoz.

Az előkísérletet követő vizsgálatokban sem letalitást, sem a tömeggyarapodásban nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a kontrollhoz képest. Szignifikáns eltérést csak a kolopi peloidban képződött petetokok számában tudtunk kimutatni, a hévízi mintánál nem.

4.3 Genotoxikológiai vizsgálatok eredményei

4.3.1 Gyógyiszapok üstökös-elektroforézissel történt vizsgálatának eredményei

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

A patkány limfociták vizsgálata során sem a hévízi, sem a kolopi peloid nem mutatott szignifikáns eltérést a negatív kontrollhoz képest.

A cölomasejtek vizsgálatakor kolopi iszap nem mutatott szignifikáns eltérést, míg a hévízi minta és a negatív kontroll közötti különbség szignifikánsnak adódott ($p < 0,001$).

4.3.2 Gyógyvíz-koncentrátumok vizsgálata Ames teszttel

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a kakasszéki gyógyvízkivonat nem mutat genotoxikus hatást egyik törzs (sem kereteltolósos sem bázispár szupsztitúciós mutáció) esetében sem.

4.3.3 Keratinociták üstökös-elektroforézissel történő vizsgálatának eredményei

Az UV-érzékenység vizsgálata során sikerült igazolni, hogy a legrövidebb (10 s) UV-besugárzás is szignifikáns DNS-károsodást okoz, továbbá azt is igazoltuk, hogy az a besugárzás hossza és a kialakult károsodás mértéke közötti egyenes arányosság van.

Következő vizsgálatainkban a gyógyvíz-koncentrátumok genotoxikus hatását teszteltük. A gyopárosi gyógyvíz esetében egyértelműen kizárhatjuk a genotoxikus hatást, ezzel szemben a kakasszéki minta esetében sem kizárni, sem megerősíteni nem tudjuk, mert a vizsgálatok során mindkét esetre kaptunk eredményt.

További vizsgálatainkban a kivonatok UV-sugárzás elleni védelemben lehetséges lehetséges szerepét vizsgáltuk. Ebben az esetben expozíciós (UV) időket és különböző inkubációs időket (0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 óra) alkalmaztunk. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy mindkét minta esetében sikerült igazolni a védő hatást, de más feltételekkel. A kakasszéki víz esetében csak akkor sikerült a védőhatást kimutatni, ha a 30 másodperces besugárzást követően a sejteket legalább 2-2,5 órán keresztül inkubáltuk a gyógyvíz-koncentrátumokkal.

Ezzel szemben a gyopárosfürdői minta esetében már a legrövidebb inkubáció (0,5 óra) esetében is sikerült igazolni a gyógyvízkivonat pozitív hatását.

Utolsó lépésként azt vizsgáltuk, hogy a gyógyvíz-koncentrátum és/vagy csak az inkubációs idő hossza játszik szerepet a védőhatás kialakulásában. Egyértelműen igazoltuk, hogy önmagában az inkubációs idő nem elegendő, ahhoz hogy a repair mechanizmusok javítsák a DNS-ben bekövetkező károsodásokat.

5. MEGBESZÉLÉS

Hazánk történelmének, kultúrájának szerves részét képezi a gyógyfürdőzés és a balneológia. Szükségesnek tartjuk, hogy megfelelő, egzakt tudományos adatokkal alátámasszuk, a felhasználásra kerülő vizeknek, iszapoknak a jelentőségét. A világon csak kevés ország rendelkezik olyan sok ásvány-, gyógyvízzel és peloiddal, mint hazánk és a Kárpát-medence. Munkánk során néhány lehetséges biológiai hatást vizsgáltunk különböző végpontok beiktatásával. Elsősorban különböző toxikológiai, mutagenitási vizsgálatot végeztünk,

továbbá ezeknek a teszteknek a módosításával a gyógyvíz-koncentrátumok fotobiológiai jelentőségét vizsgáltuk különböző végpontok beiktatásával. A vizsgálatainkat higiénés mikrobiológia vizsgálatokkal is kiegészítettük.

Higiénés mikrobiológiai vizsgálatainkban az összelepszámot, a coliform-számot, az Enterococcus-számot és Clostridiumok számát határoztuk meg.

A hévízi peloidban jóval magasabb volt az összelepszám, mint a kolopi esetében, továbbá a hévízi iszapban a Clostridiumoknak a jelenlétét is sikerült igazolni. A két iszap közötti jelentős különbség hátterében 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. Mindkét iszap esetében a kapott összelepszám meghaladja mind az ivóvízre és mind az ásványvizekre vonatkozó jogszabályokban előírt határértékeket.

Egyik iszap esetében sem mutattuk ki a coliform és enterococcus baktériumok jelenlétét, amely arra utal, hogy az iszapokat nem érte fekális szennyeződés. A hévízi peloid esetében a Clostridiumok jelenléte az iszap keletkezési körülményeivel magyarázható. Az iszap jelentős mennyiségben tartalmaz szerves anyagot (tözeg), ami lápokban keletkezik nagy mennyiségben (anaerob) és ez a környezet kedvez az anaerob Clostridium fajok elszaporodásának.

Nincs egységes EU szabályzás az iszapok mikrobiológiai követelményeire. Dirnberger munkája során a kozmetikai termékek mikrobiológiai tisztaságára vonatkozó szabályozást javasolja használni a peloidok esetében is. Így az összelepszámot max. 1000 telep/g peloidban határozza meg. Vizsgálataink során ez a feltétel csak a kolopi iszap esetében valósult meg teljes mértékben, a hévízi mintánál nem.

A vizsgálatok eredményei felvetik az iszapok otthoni felhasználásának kockázatát. Ezért fontosnak tartjuk, olyan szabályok, rendeletek, vizsgálati módszerek kidolgozását, melyek pontosan meghatározzák a vizsgálandó mikroorganizmusok körét és amelyek a „házi” iszapkezeléseket szabályozzák.

Ezt követően különböző iszap- és gyógyvízminták vizsgálatát végeztük el egyszerű öko- és genotoxikológiai tesztekkel (*in vivo* és *in vitro*).

Elsőként a fehér mustár gyökérnövekedési tesztet végeztük el, melyben a mintákat iszapkivonatként és teljes peloidként is teszteltük. Ezekben a vizsgálatokban csak a kolopi minta esetében kaptunk szignifikáns eltérést. Következő ökotoxikológiai vizsgálatunk az *Eisenia* teszt volt. Ezekben a vizsgálatokban ismét a kolopi peloid esetében kaptunk jelentős eltérést, a giliszták reprodukciós képességét gátolta szignifikánsan az iszap.

A kolopi peloid esetében tapasztalt különbség nem magyarázható egyszerűen a tápanyag-ellátottság hiányával, hiszen a csírázáshoz, a gyökérnövekedéshez nincs szükség külső tápanyagokra, továbbá az *Eiseniák* szaporodásában tapasztalt különbséget sem az alacsony szervesanyag-tartalom okozza, mert akkor 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.

Ezt követően az iszapoknak a genotoxikológiai minősítését végeztük el limfocitákon (humán, patkány), valamint *Eisenia* cölomasejteken. Ezekben a vizsgálatokban csak a hévízi peloidnál mutattunk ki jelentős eltérést a humán limfociták és a cölomasejtek vizsgálata során. Természetesen a két egymástól különböző faj eredményei között nem vonhatunk párhuzamot, mert a gyűrűsférgek hosszabb idejű expozíciónak voltak kitéve (3 hét), továbbá egész testfelületükön (sőt még a tápcsatornán keresztül is!) érintkeztek az iszapban lévő komponensekkel. A 3 faj közötti különbség természetesen az eltérő genetikai háttérrel, a DNS-reparációs mechanizmusok különbözőségével, sebességével magyarázható.

További vizsgálataink során gyógyvízkivonatok genotoxikus és védőhatását teszteltük (Ames teszt, üstökös gélelektroforézis). Ames tesztben vizsgáltuk a kakasszéki gyógyvíz mutagén hatást és a védőhatását előinkubációval (8 óra) és anélkül, metabolikus enzimekkel és nélkülük, két Salmonella törzsön (TA98 és TA100).

Az eredmények alapján elmondható, hogy a kakasszéki minta nem tartalmaz olyan hatóanyagokat (vagy csak kis mennyiségben), melyek a baktériumok túlélését segítenék, de olyan komponenseket sem, amelyek az Salmonella tesztben mutagénnek bizonyulnának.

Továbbiakban két szerves anyagban gazdag gyógyvízből (kakasszéki, gyopárosfürdői) készült koncentrátum hatását vizsgáltuk keratinocitákon (HaCat) üstökös gélelektroforézis segítségével.

Elsőként meghatároztuk a sejtek UV-érzékenységet 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.

Ezt követően vizsgáltuk a vizek genotoxikus hatását, különböző expozíciós időt és inkubációs időt alkalmazva.

A kakasszéki gyógyvízből készült szerves koncentrátum esetben a genotoxikus hatás esetében ellentmondó eredményeket kaptunk, míg a Gyopárosfürdő esetében egyértelműen kizárható a genotoxikus hatás keratinocitákon.

Végül a vizek (Kakasszék, Gyopárosfürdő) UV-sugárzás elleni védelemben feltételezett szerepét teszteltük. A kakasszéki minta esetében azt tapasztaltuk, hogy ha megfelelő hosszúságú inkubációt (2-2,5 óra) iktattunk be, akkor a koncentrátum segíti a reparációs mechanizmusok működését. A gyopárosfürdői víz vizsgálatánál hasonló eredményeket kaptunk, de itt már a legrövidebb inkubáció is hatásos volt.

Természetesen ebből az eredményből még egyértelműen nem dönthető el, hogy a koncentrátum és/vagy az inkubációs idő játszik fontos szerepet a reparációs mechanizmusok működésében, ezért ezt is vizsgáltuk. Ezzel a vizsgálattal sikerült igazolnunk, hogy a DNS-ben bekövetkező károsodások javításában a vízkoncentrátumok jelenléte fontosabb, mint az inkubációs idő.

Ezzel a vizsgálattal sikerült közvetve megerősíteni 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. Egyetlen tanulmány foglalkozik UV-sugárzás és peloidok emberi bőrre gyakorolt hatásával. 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.

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. A pozitív hatású alkotókból pedig olyan termékek (krémek, oldatok) készülhetnek, melyek a terápiában és a prevencióban is jelentős szereppel bírnak.

Vizsgálatainkkal rengeteg adatot gyűjtöttünk különböző biológiai végpontok beiktatásával. Ezek az eredmények, adatok szükségesek ahhoz, hogy a balneológia egy egzaktabb, tudományos alapokon nyugvó szakterületté váljon.

6. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Gyógyiszapok higiénés mikrobiológiai, ökotoxikológiai és genotoxikológiai vizsgálata:

Mindkét iszap esetében jelentősnek találtuk az össztelepszám nagyságát

Egyik peloidból sem sikerült fekális szennyezők jelenlétét igazolni

A hévízi minta esetben jelentős *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* cölomasejtekre 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 tesztel kizártuk a kakasszéki gyógyvízkoncentrátum 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 emberi sejteken

A gyopárosfürdői gyógyvízkoncentrátum 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 elegendők 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 tesztel

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

Gerencsér G, Varga Cs.

Hévízi és kolopi gyógyiszapok ökotoxikológiai minősítése *Eisenia*-tesztel

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 2014; 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-tesztel
Jubileumi Tudományos Szakosztályülés, Pécs, 2007. jún. 9.
elsőszerzős poszter

Gerencsér G, Varga Cs.
Gyógyiszapok ökotoxikológiai vizsgálata fehér mustár gyökérnövekedési tesztel
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.
társzerzős poszter

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

Gerencsér G, Varga Cs.
Gyógyiszapok ökotoxikológiai vizsgálata Eisenia-tesztel
Magyar Balneológiai Egyesület 2007. évi Nagygyűlése, Esztergom, 2007. nov. 16-18.
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.
társzerzős poszter

Gerencsér G, Szendi K, Murányi E, Varga Cs.
Gyógyiszapok ökotoxikológiai minősítése Eisenia-tesztel
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 terápia/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.
társszerzős 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.
társszerzős 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.
társzerzős előadás

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

Balneoprevenáció: 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 az Orvosi Népegészségtani Intézet néhai Prof. Dr. Ember István és jelenlegi Prof. Dr. Kiss István intézetvezetőiknek, hogy lehetővé tették, hogy munkámat az általuk 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.