

**Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Kar  
Egészségtudományi Doktori Iskola  
Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Bódis József egyetemi tanár  
Pécs**

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

Doktori (PhD) értekezés

Ungár Tamás Lászlóné  
Polyák Éva

**Témavezető:**

Prof. Dr. Ember István egyetemi tanár

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

**Programvezető:**

Prof. Dr. Ember István egyetemi tanár

2012.

# Tartalomjegyzék

<b>1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1. CÉLKITŰZÉS</b> .....	<b>7</b>
<b>2.2. HIPOTÉZISEK</b> .....	<b>8</b>
<b>3.1. ÉDESÍTŐSZEREK</b> .....	<b>8</b>
<b>3.2. ENERGIÁT NEM ADÓ MESTERSÉGES ÉDESÍTŐSZEREK</b> .....	<b>9</b>
<b>3.2.1. SZACHARIN</b> .....	<b>9</b>
3.2.1.1. <i>JELLEMZŐI</i> .....	10
3.2.1.2. <i>TANULMÁNYOK, VIZSGÁLATOK</i> .....	10
<b>3.2.2. ACESZULFAM-K</b> .....	<b>11</b>
3.2.2.1. <i>JELLEMZŐI</i> .....	12
3.2.2.2. <i>TANULMÁNYOK, VIZSGÁLATOK</i> .....	12
<b>3.2.3. CIKLAMÁT</b> .....	<b>14</b>
3.2.3.1. <i>JELLEMZŐI</i> .....	14
3.2.3.2. <i>TANULMÁNYOK, VIZSGÁLATOK</i> .....	15
<b>3.2.4. ASZPARTAM</b> .....	<b>16</b>
3.2.4.1. <i>JELLEMZŐI</i> .....	16
3.2.4.2. <i>METABOLIZMUS</i> .....	17
3.2.4.3. <i>ASZPARTAMBÓL SZÁRMAZÓ METANOL</i> .....	18
<b>3.3. MESTERSÉGES ÉDESÍTŐSZEREK HATÁSA A TESTTÖMEGRE ÉS TÁPLÁLÉK FELVÉTELRE</b> .....	<b>21</b>
<b>3.4. TERMÉSZETES ENERGIÁT NEM ADÓ ÉDESÍTŐSZEREK</b> .....	<b>24</b>
<b>3.4.1. SZTÍVIA</b> .....	<b>24</b>
3.4.1.1. <i>JELLEMZŐI</i> .....	25
3.4.1.2. <i>TANULMÁNYOK, VIZSGÁLATOK</i> .....	26
<b>3.5. CUKORHELYETTESÍTŐK</b> .....	<b>27</b>
<b>3.5.1. XILIT</b> .....	<b>27</b>
3.5.1.1. <i>JELLEMZŐI</i> .....	28
3.5.1.2. <i>TANULMÁNYOK, VIZSGÁLATOK</i> .....	28
<b>3.6. A DAGANATOK KELETKEZÉSÉNEK MOLEKULÁRIS HÁTTERE</b> .....	<b>29</b>
<b>4. ANYAG ÉS MÓDSZER</b> .....	<b>34</b>
<b>4.1 A KÍSÉRLETEK SORÁN FELHASZNÁLT ANYAGOK</b> .....	<b>34</b>
4.1.1. <i>KÍSÉRLETI ÁLLATOK</i> .....	34
4.1.2. <i>ÉDESÍTŐSZEREK</i> .....	34
4.2. <i>KÉSZÜLÉKEK</i> .....	35
4.3. <i>„IN VIVO” VIZSGÁLATOK</i> .....	36
4.4. <i>RNS IZOLÁLÁS</i> .....	39
4.4.1. <i>RNS IZOLÁLÁS MAGNA PURE® LC KÉSZÜLÉKKEL MAGNA PURE COMPACT RNA ISOLATION KITTEKKEL</i> .....	39
4.4.2. <i>RNS IZOLÁLÁS TRIZOL PROTOKOLL SZERINT</i> .....	40
4.5. <i>NUKLEINSAVAK BLOTTOLÁSA, HIBRIDIZÁCIÓ</i> .....	41
4.6. <i>KVANTITATÍV RT-PCR PROTOKOLL ROCHE LIGHTCYCLER® ROCHE 2.0 BERENDEZÉSSEL</i> .....	42

4.7. AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE.....	43
4.8. STATISZTIKAI ANALÍZIS.....	44
<b>5. EREDMÉNYEK.....</b>	<b>45</b>
<b>5.1. MESTERSÉGES ÉDESÍTŐSZEREK FOGYASZTÁSÁNAK HATÁSA TÁPLÁLÉK- ÉS FOLYADÉKFELVÉTELRE ÉS TESTTÖMEGVÁLTOZÁSRA CBA/CA EGEREKBEN .....</b>	<b>45</b>
5.1.1. VIZSGÁLAT ALATTI MEGFIGYELÉSEK.....	45
5.1.2. MAKROMORFOLÓGIAI MEGFIGYELÉSEK.....	46
5.1.3. TESTTÖMEGVÁLTOZÁSOK.....	46
5.1.4. ÁTLAGOS TÁPLÁLÉKFOGYASZTÁS MÉRÉSE.....	48
5.1.5. ÁTLAGOS FOLYADÉKFOGYASZTÁS.....	50
<b>5.2. ASZPARTAM FOGYASZTÁS HATÁSA ADH1, ADH3, ADH4 GÉNEK EXPRESSZIÓJÁRA .....</b>	<b>54</b>
<b>5.4. XILIT HATÁSA A PLAZMA GLÜKÓZ SZINTJÉNEK VÁLTOZÁSÁRA.....</b>	<b>59</b>
<b>5.5. SZTÍVIA ÉS XILIT FOGYSZTÁS HATÁSA EGYES KULCS ONKOGÉNEK ÉS SZUPRESSZORGÉNEK EXPRESSZIÓJÁRA „IN VIVO” .....</b>	<b>63</b>
<b>6. MEGBESZÉLÉS.....</b>	<b>68</b>
<b>7. ÖSSZEFOGLALÁS.....</b>	<b>75</b>
<b>8. ÚJ EREDMÉNYEK.....</b>	<b>79</b>
8.1. MESTERSÉGES ÉDESÍTŐSZEREK TESTTÖMEG VÁLTOZÁSRA, TÁPLÁLÉK- FOLYADÉKFOGYASZTÁSRA GYAKOROLT HATÁSUK.....	79
8.2. ASZPARTAM FOGYASZTÁS HATÁSA AZ ALKOHOL-DEHIDROGENÁZ ENZIMEKET KÓDOLÓ GÉNEK KIFEJEZŐDÉSÉRE .....	79
8.3. XILIT HATÁSA A PLAZMA GLÜKÓZ SZINTJÉNEK VÁLTOZÁSÁRA.....	80
8.4. XILIT ÉS SZTÍVIA HATÁSA A KULCS TUMORSZUPRESSZOR ÉS ONKOGÉNEK EXPRESSZÁLÓDÁSÁRA .	80
<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>	<b>81</b>
<b>9. IRODALOMJEGYZÉK.....</b>	<b>82</b>

## 1. Rövidítések jegyzéke

ADH/Adh	Alkohol-dehidrogenáz
ADI	Acceptable Daily Intake; megengedhető napi beviteli mennyiség
ALT	Alanin-aminotranszferáz
Bcl-2	B-cell CLL/lymphoma 2
Ca	kalcium
CRC	Clinical Research Centre; Klinikai Kutató Központ
CYP 450	Cytochrome P450
DNS	Dezoxiribo-nukleinsav
EFSA	European Food Safety Authority; Európai Élelmiszer Biztonsági Hivatal
EK	Európai Közösség
EU	Európai Unió
FAO	Food and Agriculture Organisation of the United Nations; Egyesült Nemzetek Élelmezési és Mezőgazdasági Szervezete
FDA	Food and Drug Administration; Élelmiszer- és Gyógyszerellenőrző Hivatal
G.D. Searle	Gideon Daniel Searle Company
GPT	Glutamát-piruvát aminotranszamináz
Ha-ras	Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog
IARC	International Agency for Research on Cancer; Nemzetközi Rákkutató Ügynökség
JECFA	Joint Expert Committee on Food Additives; Élelmiszer Adalékanyag Szakértői Bizottság
Ka-Ras	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
KSH	Központi Statisztikai Hivatal
MÉ	Magyar Élelmiszerkönyv
mtársai	munkatársai
MYC/Myc	Myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian) - c-myc
Na	nátrium
NCI	National Cancer Institute; Nemzeti Rákkutató Intézet
NRAS	Neuroblastoma rat sarcoma viral oncogene homolog

NTP	National Toxicology Program; Nemzeti Toxikológiai Program
OECD	Organisation for Ergonomic Co-operation and Development; Gazdasági Együtműködési és Fejlesztési Szervezet
OÉTI	Országos Élelmiszerbiztonsági és Táplálkozástudományi Intézet
p53	Tumor protein 53
PKU	Phenyl-ketonuria
RNS	Ribonukleinsav
mRNS	messenger ribonukleinsav
RT-PCR	Real Time Polymerase Chain Reaction; Valós idejű Polimeráz láncreakció
SCF	Scientific Committee on Food; Európai Unió Élelmiszerbiztonsági Bizottsága
ttkg	testtömeg kilogramm
USA	United States of America; Amerikai Egyesült Államok
UV	ultra-viola sugárzás
WHO	World Health Organisation; Egészségügyi Világszervezet

## 2. Bevezetés

Az édes íz a legkedveltebb ízérzet az ember számára, pozitív érzelményt vált ki. Az édes vegyületekre adott válaszreakció velünk született tulajdonság.<sup>1</sup>

Magyarországon a KSH adatai szerint 1998-ban volt a legnagyobb a cukorfogyasztás, 41 kg/fő/év, míg 2009-ben az egy főre jutó cukorfogyasztás 30,3 kg volt, ami 5,6%-os csökkenést mutat az előző évhez képest.<sup>2</sup>

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, emésztőszervi zavarok) kialakulásához vezethet.<sup>3,4</sup>

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 a 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.

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

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.

## 2.1. Célkitűzés

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 a rendszeres mesterséges édesítőszer fogyasztás befolyásolja-e a kísérleti állatok testtömegét, táplálék- és folyadékfelvételi szokásaikat.

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*, *Adh*, *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, hogyan 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 expozíciót követően.

## **2.2. Hipotézisek**

1. A mesterséges édesítőszer nem, vagy nagyon kis mértékben tartalmaz energiát, ezért fogyasztásuk nincs hatással a testtömeg változásra, nem befolyásolja a táplálék- és folyadékfogyasztási szokásokat.
2. Az aszpartam lebomlásából származó metanol és formaldehid hatással van az alkohol-dehidrogenáz enzimeket szabályozó gének expressziós aktivitására. Azt várjuk, hogy a kontroll csoporthoz viszonyítva a vizsgálatok eltérést mutatnak a vizsgált gének expressziójában.
3. A xilit fogyasztása nem befolyásolja jelentősen a plazma glükóz szintjét, egyenletes emelkedést fog előidézni, mindkét vizsgálatunkban.
4. A természetes eredetű energiát adó xilit és energiamentes sztívia fogyasztása befolyásolja a vizsgált onkogén és szupresszorgének aktivitását.
5. A vizsgálatainkban alkalmazott korai kulcsgének változásai jelezhetik, hogy a xilit és sztívia befolyásolhatja a karcinogenezis (ki)alakulását.

## **3. Előzmények**

### **3.1. Édesítőszer**

Az 1333/2008/EK rendelet meghatározása szerint az édesítőszer olyan adalékanyagok, melyek édes ízt kölcsönöznek az élelmiszernek, vagy asztali édesítőszernek.<sup>5</sup> Édesítőképességük különböző.

Az édesítőképesség azt mutatja meg, hogy az édes ízű vegyület 1 kg-ja vízben oldva milyen édesítő hatású 1 kg ugyanannyi vízben oldott szacharózhoz képest. Szacharóz édesítőképessége az összehasonlításnál mindig „1”.

Kémiai felépítésük alapján lehetnek növényi kivonatok, dipeptidok, mono- és oligoszacharidok, cukoralkoholok, szacharóz-származékok, vagy szintetikus vegyületek. Az édesítőszer két nagy csoportba sorolható, természetes (energiát adó és energiát nem adó) édesítőszerre, valamint mesterséges (energiát adó és energiát nem adó) édesítőszerre.



Az édesítőszer felhasználását az 1333/2008/EK rendelet, tisztasági követelményeit a 2008/60/EK irányelv és a MÉ 1-2-2008/60 előírás szabályozza.<sup>6,7</sup>

## **3.2. Energiát nem adó mesterséges édesítőszer**

Szintetikus úton előállított szerves vegyületek. A vegyületek többsége nem, vagy nagyon minimális mennyiségben rendelkezik energiataralommal. Közös jellemzőjük, hogy édesítőképességük többszöröse a szacharózénak, a vércukorszintet nem befolyásolják, fogszuvasodást nem okoznak. Előállításuk olcsóbb, mint a cukoré. Édesítőképességükben, megengedhető napi beviteli értékükben, és hőhatással szembeni ellenálló-képességükben különböznek egymástól.<sup>3,8</sup> A Magyar Élelmiszerkönyv 1-2-94/35 számú előírása tartalmazza az élelmiszerekben felhasználható engedélyezett édesítőszerket és azok felhasználható mennyiségét.<sup>9</sup> A disszertációban a szacharint, az aceszulfam-K-t, ciklamátot, és az aszpartamot ismertetjük részletesen.

### **3.2.1. Szacharin**

A szacharint egy véletlennek köszönhetően 1879-ben fedezte fel Constantine Fahlberg és Ira Remsen, akik az o-tuloen-szulfonamid oxidációján dolgoztak. Az édesítőszer nevét a saccharum-ból kapta, amely a cukor latin neve.

A szacharint 1907 óta használják diabetikus édesítőszerként. A háború cukorhiányos időszakában nagyon népszerű volt és közkeletűsége 1960-ig tartott.

A szacharint az FDA egy 1970-es kanadai vizsgálat eredménye miatt veszélyes anyagnak minősítette. A vizsgálatban a szacharin fogyasztása néhány hím patkánynál hólyagrákot okozott.<sup>10,11</sup>

A kísérlet eredményét sokan bírálták, kifogásolták, hogy az állatoknak adagolt szacharin mennyisége több száz energiaszegény üdítő napi rendszeres elfogyasztásának felelt meg. Független szakértőkből álló bizottság javaslatára Amerikában a szacharin 2000-ig a rákkeltő anyagok listáján volt.

2000-ben Amerikában az NTP javaslata alapján, a szacharin lekerült a karcinogén anyagok listájáról valamint a szacharint tartalmazó termékek csomagolásán megszüntették a figyelmeztető szövegkötelező szerepeltetését. Több mint 90

országban engedélyezik, azonban a legtöbb országban csak korlátozott számú termékben alkalmazható.

A jelenleg elérhető legfrissebb eredmények szerint, a kutatók nem találtak kapcsolatot a szacharin fogyasztása és a húgyhólyagdaganat kialakulása között.<sup>12,13</sup>

#### *3.2.1.1. Jellemzői*

A szacharin ( $C_7H_5NO_3S$ ), energiát nem adó édesítőszer, E954 számmal jelölik, hazánkban ftálsavból állítják elő. A szacharóznál 300-400-szor édesebb, azonban fémes mellékízzel rendelkezik.<sup>8</sup> Vízben kis mértékben, etanolban mérsékelten, lúgos oldatokban jól oldódik. A szacharin sóformái (nátrium,- kalcium,- kálium-sók) jobban oldódnak, de ugyanazt az édességi fokot érik el, mint a savformák.<sup>14</sup>

Kisebb hőhatásnak ellenáll, de hosszabb hőkezelés hatására bomlik, keserű ízű lesz, ezért csak utóízésítésre alkalmas.<sup>14</sup> Élelmiszerben stabil marad, nem lép reakcióba más élelmiszeralkotókkal. Szinergista hatása miatt, más édesítővel is gyakran kombinálják, pl. a ciklamát:szacharin 10:1 arányú keverékeként, vagy aszpartammal édesített üdítőkben az édes íz megtartása céljából.<sup>8</sup>

Asztali édesítőként különböző elnevezéssel (Sweetab, Édeske, Szacharin, Pötyi classic, Ezerédes stb.), por, tableta, vagy folyadék formájában található meg a kereskedelmi forgalomban. Ezen kívül, gyümölcslevek, csökkentett energiatartalmú üdítők, feldolgozott gyümölcsök, dzsemek, szószok, rágógumik, édességek stb. tartalmazzák, valamint élelmiszeripari termékek adalékanyaga.

Maximális fogyasztható napi mennyiség 5 mg/ttkg. Az élelmiszerekben felhasználható mennyiségét a Magyar Élelmiszerkönyv 1-2-94/35 számú előírása szabályozza.<sup>9</sup>

#### *3.2.1.2. Tanulmányok, vizsgálatok*

A szacharin szinte teljes egészében felszívódik a bélből és – mivel a szervezet nem képes metabolizálni – változatlan formában ürül a vizelettel és széklettel. Az elfogyasztott szacharin felszívódása állatokban és az emberekben is gyorsan történik.<sup>15,16</sup> Emberben a szacharin felszívódásának sebessége függ, az elfogyasztott tápláléktól.

Byard és társai önkéntes férfiakon történt vizsgálatában, a bevitt szacharin 98%-a 48 órán belül kiürült, ebből 92,3%-a vizelettel, 5,8%-a széklettel távozott. 48-72 órán belül a jelölt szacharin még 0,3%-a ürült ki. Az édesítő változatlan formában távozott, egyik önkéntesnél sem jelent meg szacharinból származó metabolit.<sup>17</sup>

Számos szerző vizsgálta az édesítő esetleges karcinogén hatását.<sup>12, 18,19,20</sup>

Fukushima és Cohen hat hetes F-344 hím patkányoknak 5%-ban N-aszacharint tartalmazó tápot adagoltak különböző ideig, legtovább 18 hétig. Az egyedeket és a kontrollokat leölték. A húgyhólyag mikroszkópos vizsgálata a 3 hétig szacharinnal kezelt csoport epitél sejtjeiben vakuólás degenerációt mutatott. Az 5 hétig kezeltknél fokális hiperpláziát, a 9 hetes és hosszabb távú kezelés után az egyedekben mitotikus figurákat észleltek. A kontroll csoportnál nem tapasztaltak semmilyen elváltozást.<sup>19</sup>

Takayama és társai 20 majomnak táplálékba adagoltak 25 mg/ttkg/nap mennyiségű szacharint, hetente 5 alkalommal, a születésüktől folyamatosan 24 évig. 16 majom tartozott a kontroll csoportba. Minden egyednek gyűjtötték a vizeletét, mennyiséget, koncentrációt pH-t, kémiai összetételt vizsgáltak, melyekben nem tapasztaltak abnormális változásokat összevetve a kontrollal. Halálozásuk után a húgyhólyagot és az urotéliumot vizsgálva, nem találtak elváltozásokat a kontroll csoporthoz képest. A vizsgálatuk szerint, a szacharin nem rendelkezik rákkeltő hatással a főemlősök húgyúti szervrendszerére.<sup>12</sup>

Yang és Duerksen-Hughes vizsgálatában, Western blot és ELISA vizsgálattal kimutatták, hogy a szacharin nagyobb koncentrációban sem emelte meg a p53 fehérje szintjét. Ez az eredmény alátámasztja, azt a feltételezést, hogy amennyiben a szacharin genotoxikus, nem DNS reaktív mechanizmusokon keresztül hat.<sup>20</sup>

### **3.2.2. Aceszulfam-K**

Az édesítőt 1967-ben Clauss és Jensen kémikusok egy véletlen folytán fedezték fel.<sup>21</sup>

Az édes ízű anyagot a WHO 1978-ban aceszulfam-K néven regisztrálta.

Az SCF 1985-ös állatkísérletes vizsgálata után, a megengedhető napi bevitel mennyiségét 0-9 mg/ttkg-ban határozta meg. Az aceszulfam-K-t, 1983-ban a JECFA is értékelte és állatkísérletes toxikológiai vizsgálat eredményei alapján megerősítette az SCF által ajánlott beviteli értéket. 1991-ben a vizsgálatok eredményeit a JECFA

és az SCF újraértékelte és a megengedhető napi beviteli mennyiséget 0-15 mg/ttkg-ra növelte, mivel az édesítő állatkísérletekben a kezelt egyedekben nem metabolizálódott.<sup>22</sup>

Használata több mint 100 országban - Svájc, Írország, Németország, Svédország, Ausztrália, USA stb. – engedélyezett.<sup>21</sup>

### 3.2.2.1. *Jellemzői*

Az aceszulfam-K ( $C_4H_4KNO_4S$ ) energiát nem adó édesítőszer, E950 számmal jelölik, hazánkban amidoszulfonsav származékaiból állítják elő.<sup>7, 21, 23</sup> A szacharóznál 150-200-szor édesebb. Más mesterséges (aszpartam, Na-ciklamát, szacharin), vagy természetes édesítőszerrel (oligoszacharidok, cukoralkoholok) nagy szinergista hatást mutat.

Az édesítőerejét pH változások és a hosszú tárolási idő nem csökkenti. Normál körülmények között nem lép reakcióba az élelmiszerekben lévő anyagokkal, stabil marad, kedvező technológiai tulajdonsága széleskörű felhasználását teszi lehetővé.<sup>21, 3, 24</sup>

Vízben jól, a hőmérséklet növelésével gyorsabban, etanolban kis mértékben oldódik. Vizes oldata stabil, azonban ha az édesítő nagy koncentrációban van jelen, keserű mellékízt okoz.<sup>24</sup> Asztali édesítőként különböző elnevezéssel (Sunipol, Sunipol C, Spar édesítőszer tablettá, Polysweet, Sweetab joy stb.) csak más intenzív édesítőszerrel keverve, tablettá, vagy folyadék formájában található meg a kereskedelmi forgalomban. Asztali édesítőszereken kívül gyümölcslevekben, üdítőkben, alkoholmentes italokban, csokoládékban, cukorkákban, fagyaltokban, marcipánban, dzsemekben, gabonapelyhekben, rágógumikban, szájhygiéniai termékekben, különböző kozmetikumokban is megtalálható.<sup>9</sup>

Megengedett napi bevihető mennyisége 0-15 mg/ttkg.<sup>25</sup> Az élelmiszerekben felhasználható mennyiségét a Magyar Élelmiszerkönyv 1-2-94/35 számú előírása szabályozza.<sup>9</sup>

### 3.2.2.2. *Tanulmányok, vizsgálatok*

Az édesítőszer nem metabolizálódik, változatlan formában ürül ki a vizelettel, kis mennyiségben széklettel.

Alacsony pH-jú folyadékokban, hosszú időn át inkubálva az aceszulfam-K nagyon kis mennyiségben metabolizálódhat és bomlástermékként és aceto-acetamid keletkezhet.<sup>26</sup>

Mukherjee és társai, Swiss albínó egerek csoportjának különböző koncentrációban adagolt aceszulfam-K-t vízben feloldva. A negatív kontroll csapvizet, a pozitív kontrollt ciklofoszfamiddal kezelték, majd 18 óra múlva az állatokat leölték. Csontvelőből származó minták alapján kromoszóma aberrációt vizsgáltak. A szerzők már az édesítő WHO által javasolt beviteli mennyiségénél is tapasztaltak számos kromoszóma aberrációt, melyek nem voltak szignifikánsak. A nagyobb mennyiségű aceszulfam-K adagolása szignifikánsan növelte a kromoszóma aberrációk számát, klasztogénnek és genotoxikusnak bizonyult. A szerzők szerint a kísérletük alapján, a javasolt beviteli mennyiséget meghaladó aceszulfam-K bevétel DNS károsodást okozhat.<sup>27</sup>

Mukhopadhyay és társai Swiss albínó egerek csoportjainak különböző mennyiségeket tartalmazó aceszulfam-K és aszpartam vizes oldatot adagoltak. A negatív kontroll desztillált vizet kapott a pozitív kontrollt ciklofoszfamiddal kezelték. Az állatokat 18 óra múlva leölték és a csontvelőből származó mintákból kromoszóma analízist végeztek. Az összes édesítőszerrel kezelt csoport esetében gyenge klasztogén hatást tapasztaltak, ami nem volt szignifikáns a kromoszóma aberrációk kialakulásának tekintetében. A szerzők végkövetkeztetése az volt, hogy az aszpartam és aceszulfam-K együttes alkalmazása nem genotoxikus hatású a megengedett beviteli mennyiségben.<sup>28</sup>

Bandyopadhyay és társai Swiss albínó egereknek csoportjainak különböző koncentrációban adagoltak aceszulfam-K-t, aszpartamot és szacharint. A leölés után a csontvelő sejtjeiben az aceszulfam-K és a szacharin fogyasztás hatása indukált nagyobb DNS károsodást, a kontrollhoz, valamint az aszpartamos csoporthoz képest. Az Ames teszt alapján egyik vizsgált édesítőszernek sem volt potenciális mutagén hatása.<sup>29</sup>

### 3.2.3. Ciklamát

A ciklamátot 1937-ben egy véletlen folytán fedezte fel Michael Sveda hallgató.<sup>30</sup>

Az édesítőt kezdetben kellemetlen ízű gyógyszerek bevonására alkalmazták, majd miután az FDA biztonságosnak ítélte, 10 évvel később üdítőitalok édesítésére alkalmazták szacharinnal együtt. Az üdítő népszerűsége miatt, veszélytelensége megerősítésére a kutatók újabb vizsgálatokat kezdeményeztek. Ezek után derült ki, hogy a ciklamát bélbaktériumok segítségével ciklohexilaminná képes alakulni patkányokban és kutyákban.<sup>31,32,33,34</sup>

Az eredmények miatt a ciklamát használatát korlátozták, majd betiltották az USA-ban. 1991-ben az EU meghatározta, hogy az Unió területén engedélyezett a ciklamát használata.

Az SCF 2000-ben, FAO, WHO és JECFA 2007-ben 0-11 mg/ttkg napi megengedett beviteli értéket javasolt.<sup>35,36</sup>

Ma több mint 50 országban, többek között Németországban, Spanyolországban, Ausztriában, Hollandiában és hazánkban is, adalékanyagként és asztali édesítőszerként engedélyezett, de az USA-ban és Kanadában jelenleg is tiltólistán van, használata csak gyógyszerkészítményekben és asztali édesítőkből engedélyezett.

#### 3.2.3.1. Jellemzői

A ciklamát ( $C_6H_{13}NO_3S$ ) energiát nem adó édesítőszer, E952 számmal jelölik, kémiai reakcióval ciklohexil-aminból és amidoszulfonsavból állítják elő.<sup>7</sup> Édesítőereje 30-40-szer nagyobb, mint a szacharózé. Íze jobban megközelíti a cukor ízét, mint a szacharin, mellékíze nincs, de nagy koncentrációban sós utóíze van.<sup>8</sup> Vízben és etanolban jól oldódik.<sup>7,30</sup>

A ciklamátsav sói a nátrium-ciklamát és kalcium-ciklamát, amelyek a kereskedelmi forgalomba kapható mesterséges édesítőszer alapjai. A sók oldatai hő, fény és pH változásokra stabilak maradnak, kb. 30-szor édesebbek, mint a répacukor.

A kereskedelmi forgalomban más intenzív édesítőszerekkel együtt alkalmazzák. A legkedvezőbb hatást a szacharinnal éri el, ciklamát szacharin 10:1 arányú

keverékében. Technológiai tulajdonságai kedvezőek, hőálló, széles pH tartományban alkalmazható fényre és oxigénre nem érzékeny.<sup>3, 30</sup>

Asztali édesítőként különböző elnevezéssel (Süssina, Polysweet, Polysett, Sweety, Huxol stb.), por, tablettá, vagy folyadék formájában található meg a kereskedelmi forgalomban.

Asztali édesítők mellett édességek, light üdítőitalok, vitaminok, gyógyszerek, dzsemek, salátaöntetek stb. tartalmazhatják.

A maximálisan megengedett napi beviteli mennyisége 11 mg/ttkg.<sup>37</sup> Az élelmiszerekben felhasználható mennyiségét a Magyar Élelmiszerkönyv 1-2-94/35 számú előírása szabályozza.<sup>9</sup>

### 3.2.3.2. *Tanulmányok, vizsgálatok*

A ciklamát emberben a vékonybélből szívódik fel, a vastagbélben lévő bélbaktériumok segítségével változó mennyiségben nagy egyéni szórással (1-15%), ciklohexilaminná alakulhat át. Az átalakulás csak a ciklamát rendszeres napi fogyasztásakor mehet végbe.<sup>38</sup> Alkalmoszerű ciklamát bevétel esetén a ciklohexilamin képződése korlátozott. Abban az esetben, ha az édesítő nem alakul át a ciklohexilaminná, nagyobb mértékben vizelettel, elenyésző, vagy kis mértékben széklettel kiürül.<sup>39</sup>

A ciklamát daganatkeltő hatását számos tanulmány vizsgálta.<sup>40, 41, 42, 43</sup>

Takayama és mtársai hosszú távú tanulmányában, 21 majomnak születéstől kezdve 24 évig folyamatosan hetente öt alkalommal 100 mg/ttkg és 500 mg/ttkg mennyiségben ciklamátot adagolt. Kettő 24 éves nagy dóziszú ciklamátot fogyasztó majomban rosszindulatú, metasztázist adó vastagbél-tumort, valamint metasztatikus hepatocelluláris karcinómát; az alacsonyabb dózist fogyasztó egy majom esetén prosztatata adenokarcinómát találtak. A szerzők azt a következtetést vonták le, hogy nincsen egyértelmű bizonyíték a Na-ciklamát karcinogén hatására, mert a keletkező tumorok eltérő hisztológiai képet mutattak, és szórványos előfordulású különböző típusú a tumorok alakultak ki.<sup>42</sup>

Brusick és mtársai a Ca-ciklamát és ciklohexilamin mutagén aktivitását vizsgálták emlős sejt génmutációs teszttel, nemhez kötött recesszív letális próbával, reparációval kapcsolt DNS szintézis vizsgálattal patkány májsejtekben. Ca-ciklamát egyik tesztben sem volt genetikailag aktív, valamint nem volt citotoxikus. A

ciklohexilamin is minden próbára negatív volt, azonban lényegesen nagyobb citotoxikus hatása volt. A szerzők szerint, egyik vizsgált anyag sem genotoxikus hatású.<sup>43</sup>

### **3.2.4. Aszpartam**

Az aszpartamot 1965-ben James Schlatter, egy gyógyszer cég kémikusa egy véletlen folytán fedezte fel; felfedezését több alkalommal próbálta publikálni.

1970-ben a G.D. Searle gyógyszer cég főemlősökben vizsgálta meg az aszpartam hatását, az eredmények szerint az édesítő nem okozott egészségkárosodást. Több kutató szerint, a kapott eredményeket, a gyógyszer cég meghamisította.

1970-ben Olney és munkatársai egereken végzett kísérletének konklúziója az volt, hogy aszpartam fogyasztása agykárosodást okozhat.<sup>44</sup> 1971-1980 között számos állatkísérleti eredmény hatására az FDA 1981-ben nem engedélyezte tovább az aszpartam felhasználását.

1982-ben azonban az FDA új elnöke engedélyezte az aszpartam használatát az üdítőitalok és gyerekvitaminok ízesítéséhez is.

1984-ben vizsgálati eredmények alapján kiderült, hogy nem megfelelő hőmérsékleten való tárolás esetén, az aszpartamot tartalmazó üdítőkben nagy mennyiségű metanol szabadul fel.

1985-ben a vizsgálati eredmények ellenére, a NutraSweet Company kezdte meg az aszpartammal édesített gyermekvitaminok és light üdítőitalok forgalmazását.

1996-ban a FDA feloldott minden aszpartammal kapcsolatos korlátozást.

Az aszpartamnak tulajdonított káros hatások miatt az EFSA 2002-ben felülvizsgálta az aszpartam toxicitását és arra a következtetésre jutott, hogy a 40 mg/ttkg-os megengedhető napi beviteli mennyiség továbbra is fenntartható.<sup>45</sup>

2009-ben Soffritti vizsgálatait megismételve, megerősítette a 40 mg/ttkg-os ADI értéket.<sup>46,47,48</sup> A világ több mint 100 országában engedélyezett felhasználása.<sup>49</sup>

#### *3.2.4.1. Jellemzői*

Az aszpartamot (C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), az energiát nem adó édesítőszer közé sorolják; rendelkezik ugyan energiataralommal, de nagy édesítőképessége miatt kis



mennyiségben alkalmazzák, ezért kalóriatartalma (4 kcal/g) elhanyagolható, E951 számmal jelölik. 200-szor édesebb, mint a szacharóz.<sup>8</sup> Mellékíze nincsen, ízprofilja a mesterséges édesítőszer között az egyik legkedvezőbb. A gyakorlatban ciklamáttal, szacharinnal, aceszulfam-K-val kombinálják. Az aceszulfam-K és aszpartam 1:1 arányú keverékét alkalmazzák leggyakrabban. A keserű ízt kiemeli, ezért más édesítőszerrel szükséges kompenzálni. Kis mértékben oldódik vízben és etanolban, oldhatósága pH függő.<sup>7</sup> Vizes oldatában 30°C megindulhat a bomlása, amit fokozhat az oldat savassága. Magas, vagy alacsony pH-n fokozatosan hidrolizálódik, ennek következtében édes íze csökken, majd megszűnik.<sup>50</sup>

Asztali édesítőszerként, por, tableta formában van a kereskedelmi forgalomban Canderel, NutraSweet, Aszpartám stb. néven. Ezen kívül számos élelmiszerben, energiaszegény italporokban, gyümölcskészítményekben, csökkentett energiatartalmú üdítőkben, tejtermékekben, fagyaltokban, rágógumikban, instant kávékban és teákban, desszertekben, szirupos gyógyszerekben, gyermekvitaminokban stb. megtalálható.

A napi maximálisan bevihető mennyiség 40 mg/ttkg. Az élelmiszerekben felhasználható mennyiségét a Magyar Élelmiszerkönyv 1-2-94/35 számú előírása szabályozza.<sup>9</sup> Fenilalanin tartalma miatt PKU-ban szenvedők nem fogyaszthatják.

#### 3.2.4.2. *Metabolizmus*

Az emberi szervezetben az aszpartam teljes mértékben metabolizálódik. Az édesítő bontását a gyomorsav emésztőenzimeik kezdik meg aminosav tartalma miatt. A hasnyálmirigy  $\alpha$ -kimotripszinje bontja le 3 összetevőjére, az aszparaginsavra, a fenilalaninra és a metanolra. A bélcsatornából metabolitjai kerülnek a véráramba.

Az aszpartam molekula legnagyobb részben természetben megtalálható esszenciális aminosavvá fenilalaninná alakul. A bélfalon át a fenilalanin aktív transzporttal átjut a bélfalon, közvetlenül a portális keringésbe.

Az édesítő molekulásúlyának 40%-a aszparaginsavvá bomlik le. Az aszparagin természetben előforduló nem esszenciális aminosav, minden fehérje egyik építőköve.

Az aszpartam molekulásúlyának 10%-a metanollá alakul át a vékonybélben. A vékonybél felső részében a hasnyálmirigy kimotripszin enzime hidrolizálja metil-észterre, ami közvetlenül felszívódik a vékonybélben.<sup>51</sup> A szövetekben a metanol

alkohol-dehidrogenáz enzim hatására oxidálódik és formaldehiddé alakul át. A formaldehid, egy reaktív melléktermék, rákkeltő hatású, mert fehérjéhez, vagy DNS-hez kapcsolódva adduktot képez. A formaldehidet a formaldehid-dehidrogenáz oxidálja formáttá.<sup>52</sup> A hangyasavat a hangyasav-dehidrogenáz hidrolizálja vízzé és szén-dioxiddá.

#### 3.2.4.3. Aszpartamból származó metanol

A metanol a természetben is előfordul, zöldségekben, gyümölcsökben és présnedveikben. Monte szerint, 1 l light Cola elfogyasztásakor 56 mg metanol, 3 dl light üdítő elfogyasztásakor 24 mg metanol, 1 l almalé elfogyasztásakor 21 mg metanol szabadul fel.<sup>53</sup> A metanol megengedhető napi beviteli mennyiség felnőtt esetében 0,114 mg/ttkg.

Számos kutató vizsgálta az aszpartam bomlásából felszabaduló metanol élettani hatását a szervezetben, azonban a hatásról ellentmondásos tanulmányok születtek. Sok kutató úgy gondolta, hogy az aszpartam, vagy aszpartammal édesített üdítőitalok, élelmiszerek fogyasztása a metanol felszabadulása miatt egészségkárosító hatással rendelkezik.

Máthé és társai aszpartam tartalmú üdítőitalokban (Coca Cola light, Pepsi Cola light, Cappy stb.) mérte az aszpartam és a belőle felszabaduló metanol mennyiségét. Azt tapasztalták, hogy az üdítőkben mért aszpartam mennyisége jóval meghaladta az FDA által javasolt mennyiséget. Abban az esetben, ha a vizsgált aszpartammal édesített üdítőitalok bármelyikéből gyerek 1 litert elfogyaszt, meghaladja az aszpartam maximálisan megengedett napi beviteli mennyiségét. Felnőtt esetében az 1 liter aszpartammal édesített üdítő elfogyasztásával az ADI érték felét juttatja szervezetébe. A kutatók szerint, ha a NutraSweet termékekből, felnőttek és gyerekek esetében a napi 34 mg aszpartam/ttkg fogyasztása, még nem növeli szignifikánsan a szérum metanol szintjét, azonban az ennél nagyobb mennyiségű fogyasztás megnövekedett formaldehid felszabadulással is járhat.<sup>54</sup>

A szérum metanol szint változását vizsgálták Davioli és társai állatkísérletben és önkéntesekben. 4 férfi *per os* 500 mg aszpartamban részesült. Az elfogyasztás után háromnegyed órával mérték a kutatók a legmagasabb plazma metanol szintet. Két órával később a szérum metanol szint az alapszintre visszatért. A növekedés mértéke alapján a kutatók úgy gondolták, hogy egy kb. 30 kg

gyermeknél 1 üveg aszpartammal édesített üdítőital elfogyasztása szignifikánsan növeli a plazma metanol szintet.<sup>55</sup> Davioli kísérletét többen elvégezték, de nem találtak ilyen jelentős mértékű plazma metanol emelkedést, még belélegzett metanol gőzből származóan sem.<sup>56</sup>

Monte úgy gondolta, hogy amennyiben egy felnőtt a folyadékszükségletét aszpartammal édesített üdítőitalokból fedezi, a metanol bevitel 250 mg/nap lehet, ami 32-szerese az EFSA által javasoltnak. Ez az extrém mértékű bevitel metanol mérgezés tüneteit idézheti elő, látászavarok, fejfájás, zavartság, fáradtság, szédülés, koordinációs zavarok, melyeket aszpartam tartalmú üdítők fogyasztása után is megfigyeltek.

Tanulmányában megerősíti, hogy gyümölcsök, zöldségek pektinje számos metil-észtert tartalmaznak, azonban az emberi szervezet nem rendelkezik olyan emésztőenzimmel, amely képes lenne ezekből metanolt hidrolizálni. A pektin a vastagbélben fermentálódik, az ott lévő baktérium csökkentik felszabaduló metanol átalakulását. Monte kiemeli, hogy aszpartam már a vékonybélben teljes mértékben felszívódik.<sup>53</sup>

Soffritti és társai vizsgálatában az aszpartamot egy multipotenciális rákkeltő anyagnak nevezték. Tanulmányukban Sprague-Dawley patkányoknak eltérő koncentrációjú aszpartamot adagoltak az állatok haláláig. Az állatok minden szövetét és szervét patológiai, hisztopatológiai vizsgálatoknak vetették alá. Az aszpartamot fogyasztó egyedeknél az idegrendszer, vesemedence, húgyvezeték és különösen a limforetikuláris rendszer neopláziája jelentősen gyakoribb volt a kontroll egyedekhez képest. A kutatócsoport úgy gondolta, hogy a megnövekedett limfómák és leukémiák száma, az aszpartam lebomlásából származó metanol miatt alakulhatott ki. A kutatók úgy vélik, hogy a kapott eredmények új kérdéseket vetettek fel az aszpartam expozícióval kapcsolatban, ami sürgős felülvizsgálást igényel.<sup>47</sup>

A metanol mennyiségi növekedésére legérzékenyebben az ember reagál. Kis mennyiségben is okozhat tüneteket: fejfájást, szédülést, izomgyengeséget, görcsös fájdalmat, émelygést, hányást, szemészeti tüneteket, zavartságot.

Egyes vizsgálatok a metanol lebomlásából származó formaldehid miatt gondolják az aszpartamot egészségkárosító hatásúnak. A metanol bomlásából származó formaldehid felezési ideje 1,5 perc, krónikus expozíciót követően még nagyon alacsony mennyiségben is immunrendszeri és idegrendszeri károsodásokat, fejfájást, általános levertséget okoz.<sup>57</sup>

Az IARC kategorizálása szerint a formaldehid bizonyítottan karcinogén hatású anyag, hosszútávú állatkísérletben iniciátornak és promotáló vegyületnek bizonyult.

Néhány kutató úgy véli, hogy a formaldehid egy része felhalmozódhat a szervezetben, azonban ez a feltételezés még vitatott.<sup>58,59</sup>

A formaldehid, a szervezetben nagyon reaktív köztitermék könnyen és irreverzibilisen kötődhet fehérjékhez és DNS-láncokhoz. Erre mutattak rá Trocho és mtársai, akik patkányoknak adagoltak 10 napig 200 mg/ttkg jelölt aszpartam tartalmú tápot. Az aszpartam metanol komponensét radioaktív izotópos vizsgálattal követték a szervezetben, és azt tapasztalták, hogy a metanolból keletkezett bomlástermék, a formaldehid, hozzákapcsolódik a DNS-lánchoz, ezzel károsítva azt. Azt tapasztalták, hogy a DNS adduktok kumulálódtak. A kutatók a kapott eredményt az aszpartam krónikus dóziséval magyarázták.<sup>60</sup>

Magnus és mtársai összefoglaló munkájukban, úgy gondolták, hogy aszpartamból származó metanol mennyisége sokkal kevesebb, mint a zöldségekből, gyümölcsökből és présnedveikből származó. A metanol köztiterméke, a formaldehid, a kutatók szerint gyorsan átalakul és szerintük elenyésző mennyiségű származik az aszpartamból, a más élelmiszerekből, vagy a gyógyszerekből származó mennyiséghez képest. A tanulmány szerint az aszpartam fogyasztása biztonságos.<sup>61</sup>

Az NCI „Diet and Health Study” által folytatott felmérésben, az aszpartam tartalmú üdítőitalok és a rosszindulatú daganatok kapcsolatát vizsgálták. Az USA-ban 1995 és 2000 között folytatott felmérésben 560 ezer emberen vizsgálta, hogy van-e összefüggés az aszpartam tartalmú italok fogyasztása és az agy, illetve vérképző rendszer daganatainak kialakulási gyakorisága között. Kutatók nem találtak összefüggést a vizsgált daganatok kialakulási gyakorisága, és az aszpartam tartalmú italok fogyasztása között.<sup>62</sup>

Soffritti és mtársai 70-95 hím és nőstény Sprague-Dawley patkánynak adagoltak aszpartamot a magzati élet 12. napjától az állatok haláláig, különböző koncentrációban. Az eredmények azt mutatták, hogy magasabb dózisú aszpartamot fogyasztó egyedeknél megnövekedett a limfómák, leukémiák kialakulásának incidenciája, és a nőstényekben az emlőrák kialakulásának száma. A kapott eredmények megerősítik Soffritti előző vizsgálati eredményét, hogy az édesítőt multipotenciális rákkeltő anyagnak tartják.<sup>63</sup>

Gombos és mtársai rövidtávú kísérletben, CBA/Ca beltenyésztett nőstény egerek 99% tiszta aszpartam tartalmú csapvizet oldatát 1 hétig ad libitum kapták. A

*Ha-ras*, *c-myc* onkogének és a *p53* tumorszupresszor gén jelentős emelkedést mutatott az összes kezelt csoportokban. A kísérlet eredményei szerint az aszpartamnak mérhető „biológiai hatása” van. A magas proliferációs rátával rendelkező sejtekből felépülő szervekben észlelt szignifikáns változások a kutatók szerint alátámasztották, hogy az édesítő állatkísérletben daganatkeltő hatású.<sup>64</sup>

### **3.3. Mesterséges édesítőszer hatása a testtömegre és táplálék felvételre**

Számos epidemiológiai tanulmány bizonyítja, hogy a cukorral édesített ételek, italok fogyasztása növeli az elhízás és az elhízásból származó betegségek incidenciáját.<sup>65, 66, 67</sup>

Az elhízás megelőzésére, a testtömeg csökkentésben és megtartásban, valamint az édes íz helyettesítésére az energiával nem rendelkező mesterséges édesítőszer alkalmazása tűnik a legelőnyösebbnek. Számos kutató úgy gondolja azonban, hogy a mesterséges édesítőszer, bár nem, vagy minimális energiával rendelkezik, hatással lehetnek az étvágy megnövekedésére, az elfogyasztott táplálék mennyiségére és hozzájárulhatnak elhízás és elhízásból adódó betegség kialakulásához.<sup>68,69</sup>

A vitaindító tanulmányt 1986-ban Blundell és Hill végezte. Vizsgálatukban fiatal férfiak és nők vettek részt, a kontroll csoport csapvizet, a másik csoport 3 kcal-t tartalmazó aszpartamos oldatot, a harmadik csoport 188 kcal-t tartalmazó glükóz oldatot kapott. Az alanyok kiválasztásánál nem vették figyelembe az aktuális testtömeget, valamint hogy a résztvevők közül tart-e valaki valamilyen fogyókúrát. A résztvevőknek az oldatok elfogyasztása utáni egy órával saját maguknak kellett osztályozni az éhségérzet létrejöttét. A résztvevők szerint, a glükózt tartalmazó oldat csökkentette az éhségérzetet és növelte a gyomor teltségérzetét, míg az aszpartamot tartalmazó oldat fogyasztása után növekedett az éhségérzet és csökkent a teltségérzet. Eredményként leírták, hogy az aszpartam tartalmú víz fogyasztása étváagnövekedést okozott. A kutatók az aszpartam ezt a tulajdonságát, paradox hatásnak nevezték el, mert energiamentes édesítőszer, azonban növelte az éhségérzetet és valószínűleg az elfogyasztott táplálék mennyiségét is. A kísérlet bírálói szerint a vizsgálat eredményeként leírtak nem voltak következetesek, mivel a résztvevők az éhségérzet után nem fogyasztottak el ételt, így a résztvevők éhségérzeti minősítéseit nem

támasztják alá mérhető fogyasztási mennyiségek. Ezek alapján nem lehet kategorikusan kijelenteni, hogy az aszpartam hatásának köszönhető az étvágy megnövekedése.<sup>70</sup>

Tordoff és társai 1990-ben normál testtömegű egyéneknek aszpartammal, vagy magas fruktóz tartalmú kukoricasziruppal ízesített üdítőt adtak napi egy alkalommal. Azoknál, akik 3 hétig aszpartammal ízesített üdítőitalt kaptak szignifikánsan csökkent az energiabevitel mindkét nem esetében; valamint a férfiaknál csökkent a testtömeg is. A fruktóz tartalmú üdítőital fogyasztása 3 hét után szignifikánsan növelte az energiabevitelt és a testtömeget mindkét nem esetében. Tordoff szerint, az aszpartammal édesített üdítők csökkentik a cukorbevitelt ezzel kontrollálni tudjuk szervezet energiabevitelét és a testtömeget.<sup>71</sup>

Rogers és Blundell szacharinnal édesített élelmiszerek fogyasztásának hatását vizsgálták önkénteseken. A résztvevőknek ebéd előtt 1 órával meghatározott mennyiségű joghurtot kellett elfogyasztaniuk. A joghurtok nem tartalmaztak más édesítőt, valamint keményítőt, csak szacharinnal, vagy csak glükózzal voltak édesítve. A táplálék fogyasztás ebéidőben és a délutáni és esti időszakban is szignifikánsan megemelkedett a szacharint tartalmazó joghurtok fogyasztása esetében. A résztvevők motivációs értékelése is a fogyasztással párhuzamos eredményű volt. A keményítőt és szacharint tartalmazó joghurtok fogyasztása esetében, a táplálékfogyasztás ugyanolyan volt, mint az azonos energiát tartalmazó glükózzal édesített joghurtok fogyasztásakor. A kutatók szerint az étvágyemelkedés a szacharin édes íze miatt és a fogyasztás utáni mechanizmusokra gyakorolt hatásával magyarázható.<sup>72</sup>

Swithers és Baker Sprague-Dawley patkányoknak adagolt 1 hétig alacsony kalóriatartalmú joghurtot, majd a következő héten, az egyedeket 3 csoportra bontotta, melyben az első csoport 20% glükózzal ízesített joghurtot, a második csoport 0,3% szacharinnal édesített, a harmadik csoport 0,3% aceszulfam-K-val édesített joghurtot fogyasztott 23 órán át. A kontroll csoport az alacsony kalóriatartalmú joghurtot fogyasztotta. A megszokott tápot minden egyed ad libitum fogyaszthatta emellett. A két mesterséges édesítőszer egyedei szignifikánsan magasabb testtömeget értek el a 14. nap végére a glükóz és a kontroll csoportéhoz képest. A vizsgálat érdekessége, hogy a mesterséges édesítővel édesített joghurt energiatartalma alacsonyabb volt, mint a glükózzal édesítetté. A két édesítős csoport testtömegei hasonlóan alakultak, a kutatók nem találtak szignifikáns különbséget közöttük, ezért a tömegnövekedés nem

magyarázható a szacharin kémiai szerkezetével, de újra felveti a mesterséges édesítőszer tömegnövelő hatását.<sup>73</sup>

Blackturn és társai vizsgálatukban azt szerették volna bizonyítani, hogy az aszpartam egy multidiszciplináris tömegcsökkentő programban adagolva, segíti a fogyást és hosszú távon is segít a testtömeg megtartásában.

167 elhízott nőt két csoportra osztották, az egyik csoport dietetikus által előírt energiaszegény diétát és aszpartammal édesített, meghatározott ételeket és üdítőitalokat fogyasztott. A másik csoport az energiaszegény diétát tartotta csak. A résztvevők hetente találkoztak a dietetikussal, aki ellenőrizte a diétát. A résztvevőknek heti 3 alkalommal 15 percet kellett sétálni. A testtömeget heti egy alkalommal mérték az étkezések közötti éhségérzetről egy önkitöltős kérdőív kérdezte a résztvevőket. A vizsgálat 2 évig tartott. Mindkét csoportban kezdeti fogyás mértéke megegyezett, az energiabevitel mértéke nem változott egyik csoportban sem. Az éhségérzet kialakulását nem befolyásolt az aszpartam rendszeres fogyasztása, hasonlóan alakult, mint a kontroll csoportban. Az aszpartamos csoportnak a félidőben nem különbözött szignifikánsan a fogyás mértéke, azonban a vizsgálat végére szignifikánsan kisebb lett a testtömege a kontroll csoporthoz képest. A kapott eredmények alapján a kutatók bizonyítottak látták a kezdeti feltételezésüket.<sup>74</sup>

Rablen és társai 10 hétig vizsgáltak 21 túlsúlyos férfit és nőt, akik szacharóz tartalmú ételeket és italokat fogyasztottak; valamint 20 túlsúlyos férfit és nőt, akik mesterséges édesítőszer tartalmú ételeket és italokat is fogyasztottak, a megszokott normál táplálkozásuk mellett. Kéthetente mérték a résztvevők testtömegét, zsírmentes testtömegét és a testük zsírtartalmát. 10 hét után a szacharóz csoportban megnövekedett az összenergia és a szénhidrát bevitel, csökkent a zsír és fehérjebevitel. Az édesítőt fogyasztóknál csökkent a szacharóz és az energiabevitel. A testtömeg és test zsírtartalma emelkedett a szacharózt fogyasztóknál, és csökkent a mesterséges édesítőszer fogyasztóknál. A kutatók azt a következtetést vonták le, hogy a megszokott étrend mellett, mesterséges édesítőszer tartalmazó ételek, italok fogyasztása nem növeli a testtömeget és a testzsírtartalmat.<sup>75</sup>

Swithers szerint, a mesterséges édesítőszer fogyasztása növeli az elhízás kockázatát. A mesterséges édesítőszer tömegnövelő hatását több módon magyarázta. Véleménye szerint nem az édesítőszer mennyisége növeli a testtömeget, hiszen intenzív hatása miatt, kis mennyiségben szükségesek a kívánt ízhatás

eléréséért. Az intenzív édesítők, egy pavlovi reflexszel kapcsolatba hozható mechanizmus érvényesülésének megakadályozásával hatnak. Az édes ételek fogyasztása során a szervezet arra készül, hogy nagy energiaértékű táplálék kerül a szervezetbe. Az édesítőszer fogyasztásakor azonban elmarad a magas kalóriabevitel, ez megzavarja a szervezetet, és ezért fordulhat elő, hogy kompenzációként nagyobb mennyiségű táplálékot fogyaszt el.

A mesterséges édesítőszer szétválasztja az édes ízt a szervezetbe jutó kalóriától, így a szervezet kevésbé lesz képes a bevitel kontrolljára. A kialakuló önszabályozási zavar egyénileg különböző mértékű lehet.<sup>73,76</sup>

A témában meglehetősen eltérő kutatási eredmények találhatók. A mesterséges édesítők használata kapcsán egyes kutatócsoportok testtömegcsökkenésről, míg mások hízásról számoltak be. Az intenzív édesítők testtömegre, étvágyra való hatásáról még nem született egységes álláspont.

### **3.4. Természetes energiát nem adó édesítőszer**

A mesterséges édesítőszerrel szembeni fogyasztói ellenérzések miatt, többen a természetes eredetű édesítőszer felkutatásába kezdtek. Az utóbbi időben számos növényben sikerült intenzív édesítőképességű vegyületeket előállítani. A disszertációban a sztívia kerül bemutatásra részletesen.

#### **3.4.1. Sztívia**

A jázminpakóca (*Stevia rebaudina bertonii*) Paraguayban és Brazília déli részén őshonos növény. A növényt Moises Santiago Bertoni olasz természettudós és Rebaudi paraguay-i kémikus 1889-ben megvizsgálták, majd kimutatták, hogy a növény hatóanyaga 300-szor édesebb a szacharóznál. A növény elnevezése a két kutató nevéhez fűződik.<sup>77</sup>

1930-as években francia kémikusok izolálták a növény édes ízéért felelős anyagot. Az 1950-es évek végén Japánban megkezdtek a növény termesztését, és a legkedveltebb alternatív édesítőszer lett. Az 1960-as években, Japánban szigorúan korlátozták vagy betiltották a mesterséges édesítőszerket, ezek helyett a sztíviát alkalmazták.



Japán mára a világ legnagyobb sztívia fogyasztójává vált. Az USA-ban, 2008-ban hagyták jóvá a sztívia adalékanyagként való alkalmazását.<sup>78</sup>

A világon az USA-ban, Kanadában, Brazíliában, Malaysiában, Japánban, Kínában, Izraelben, Oroszországban, Svájcban stb. termesztik és fogyasztják.

Európai Unió Hivatalos Lapjában 2011. november 12-én megjelent és 2011. december 2-án hatályba lépő 1131/2011/EU bizottsági rendelet engedélyezi a szteviol-glikozidok édesítőszerként való alkalmazását az Európai Unió területén.<sup>79</sup>

#### *3.4.1.1. Jellemzői*

A sztívia természetes eredetű energiát nem adó édesítőszer közé tartozik, E 960-as számmal jelölik. A sztívia a diterpén-glikozidok közé tartozó vegyületek keveréke, melynek fő komponensei a sztevizoid ( $C_{38}H_{60}O_{18}$ ) és a rebaudiozid A ( $C_{44}H_{70}O_{23}$ ). Kisebbségi mennyiségben található még rebaudiozid C ( $C_{44}H_{70}O_{22}$ ) és dulkozid A ( $C_{38}H_{60}O_{17}$ ), valamint előfordulhatnak benne más glikozidok is.<sup>80</sup>

A növény leveleinek 30-szor, kivonatának 250-300-szor nagyobb az édesítő ereje, mint a szacharóznak.<sup>81</sup> Ízprofilja az egyes alkotóvegyületek arányától függ, melyet nagymértékben befolyásol a levél összetétele, időjárási és talajviszonyok és tisztítási, szárítási folyamatok.<sup>82</sup>

Szinergista hatást mutat a glicirrizinnel, az aszpartammal és az aceszulfam-K-val, bár a mesterséges édesítőszerrel történő keverése nem jellemző a gyakorlatban.<sup>82</sup> Édes ízét szárítás, konzerválás és hosszú tárolás után sem veszíti el. A plazma glükóz szintjét nem növeli, fogszuvasodást nem okoz.

A sztívia kivonatok vízben jól oldódnak. Magas hőmérsékleten és erősen lúgos pH-n elbomlik, azonban az élelmiszer-előállítás körülményei között stabil. Sütésre, főzésre jól alkalmazható. Összetétele lúgos, vagy savas jellegű élelmiszerekben, ételekben nem változik, stabil marad.<sup>80</sup>

Sóval tartósított élelmiszerekhez (szószok, savanyúságok, szárított halak) adagolják, mivel tompítja a só ízét.

Kereskedelmi forgalomban, por, tablettá, vagy folyadék formájában különböző elnevezéssel Stevial, Stevia tablettá, Stevia por, Stevia szirup, Biostevia stevia glükózid található meg.

Felhasználják még keserű italok édesítésére, tej-tejtermékekben, jégkrémekben, lekvárokbán, süteményekben, sütőipari termékekben, müzlikben, üdítőkben, szeszes italokban valamint rágógumikban is.

Az EFSA a napi maximálisan bevihető mennyiséget 4 mg/ttkg-ban határozta meg.<sup>83</sup>

#### 3.4.1.2. *Tanulmányok, vizsgálatok*

Állatkísérletek eredménye szerint, a sztívia egy része változatlan formában kiürül; egy részét a bélflóra baktériumai lebontják; bomlástermékeinek egy része felszívódik a szervezetben.<sup>84,85</sup> A fel nem szívódott sztívia és a metabolitok egy része elsősorban széklettel, csekély mértékben vizelettel ürülnek.<sup>82</sup>

Wheeler és mtársai egészséges férfi önkénteseknél vizsgálta a rebaudiozid A-t és szteviozid metabolizmusát. Mindkét glikozid a gasztrointesztinális traktusban szteviollá hidrolizálódott, ami felszívódott és glükoronsavhoz kapcsolódott. A szteviol glükoronsav elsősorban a vizelettel ürült.<sup>86</sup>

Toyoda és mtársai a szteviozid esetleges genotoxikus hatását vizsgálták. 104 hétig F-344 hím és nőtény patkánynak adagoltak különböző koncentrációjú szteviozid port. Hisztopatológiailag egyik szövetben, vagy szervben sem volt jelentős a daganatos, vagy nem daganatos elváltozások kialakulása a kontroll csoporthoz képest. Arra a következtetésre jutottak, hogy szteviozid a kísérlet eredményei alapján nem karcinogén hatású.<sup>87</sup>

Temme és mtársai férfiaknak és nőknek, 3 napon át adagoltak 250 mg szteviozidot tartalmazó kapszulát. A laborparaméterek közül több alkalommal vizsgálták az éhomi vércukorszintet, inzulint, ALT, GPT, kreatinin kináz, laktát-dehidrogenáz szinteket és vérnyomást mértek. A vizeletben kreatinint, nátriumot, káliumot, kalciumot, urea szintet mértek. Egyik esetben sem találtak kóros eltérést az önkénteseknél.<sup>88</sup>

Matsui és mtársai a sztevizoid és aglikonjának a szteviolnak a lehetséges mutagén hatását vizsgálták Ames teszttel, forward teszttel, umu-teszttel, mikronukleusz teszttel, kromoszóma-aberrációs teszttel. Sztevizoid esetében minden elvégzett mutagenitási teszt negatív volt. A szteviol azonban szignifikáns dóziszfüggő növekedést mutatott a mutációk gyakoriságában a forward tesztben. Az umu teszt esetében is gyenge pozitív mutagén hatást tapasztaltak a szerzők, ezért további vizsgálatokat javasolnak.<sup>89</sup>

A tudományos kutatások nem tanulmányozták a sztevizoid, és a sztívia másik fő összetevőjének a rebaudiozid A-nak együttes hatását.

### **3.5. Cukorhelyettesítők**

A cukorhelyettesítők olyan cukorszármazékok, melyek a szervezetben a cukorétól eltérő anyagcsere-folyamatok során hasznosulnak, vagy egy részük egyáltalán nem hasznosul. Az emészthető cukorhelyettesítők közé tartoznak a cukoralkoholok. A cukoralkoholok természetben is megtalálható vegyületek, előállításuk azonban szintetikus úton – a megfelelő cukor hidrogénezésével, vagy fermentációjával – történik. A cukorhoz viszonyítva kevésbé emelik a vércukor- és inzulinszintet. Glikémiás indexük jellemzően 10, ezért fogyasztásuk cukorbetegnek és szív-és érrendszeri betegeknek előnyös lehet.

A cukoralkoholok közül a disszertációban részletesen a xilitet jellemeztük.

#### **3.5.1. Xilit**

Az 1800-as évek elején, Franciaországban a kontinentális zárlat idején, a franciák a gyarmatokról származó nádcukor pótlására, nyírfákból próbáltak cukrot kivonni nagy mennyiségben. A fa nedvének csapolásával jutottak hozzá a nyírfacukorhoz.

1890-ben Emil Herman Fischer és Rudolf Stahel Németországban, valamint M. G. Bertran Franciaországban a nátrium-amalgám segítségével D-xilozból állították elő a xilitet, egymástól függetlenül. A II. Világháború cukorhiányos időszakában finn tudósok cukrot helyettesítő édesítőszer kutatásába kezdtek és újra felfedezték az édesítőszer. 1943-ban kiderítették, hogy a xilit növényekben is megtalálható vegyület. Kutatások eredményei rámutattak, hogy a xilit nem vált ki inzulin választ, a szervezet nagyon lassan dolgozza fel, így nem emeli meg az inzulin szintet. A japán egészségügy, a kutatási eredmények alapján kezdte alkalmazni a xilitet a cukorbeteg körében.

1963-ban az FDA engedélyezte, adalékanyagként és diétás élelmiszerekben való használatát is. 1970-es években a 2 évig tartó Turku tanulmány rámutatott a xilit fogszuvasodás elleni hatására, ezt a tanulmányt több hasonló követte.<sup>90</sup> A vizsgálati eredmények hatására a finnek xilit tartalmú rágógumi gyártásába kezdtek.

1983-ban a JECFA biztonságos édesítőszernek minősítette a xilit használatát élelmiszerekben és az FDA az engedélyezett napi beviteli mennyiségét a „nem meghatározott” kategóriába sorolta.<sup>91</sup>

### *3.5.1.1. Jellemzői*

A xilit ( $C_5H_{12}O_5$ ), a polialkoholok közé tartozik, adalékanyag E 967 számmal jelölik.<sup>92</sup> Energiatartalma 2,4 kcal/g. Glikémiás indexe 7, ezért egyenletesen, lassan emeli meg a plazma glükóz szintjét. A természetben szinte minden gyümölcsben és zöldségben előfordul, nagyobb mennyiségben, szilvában, málnában, eperben, karfiolban található. A szervezet is termel endogén xilitet napi 5-10 mg mennyiségben.<sup>93</sup>

Édesítőképessége a szacharóz 40%-a. Tisztán édes íze van, melyet hűsítő hatás kísér, mellékízmentes. Vízben nagyon jól, etanolban mérsékelten oldódik.<sup>94</sup> Oldódása endoterm, a hűsítő hatása miatt az ipar számos termékben felhasználja. A xilit stabilitását nem befolyásolják a pH változások, savas és lúgos közegben sem bontódik le. A szájban lévő baktériumok nem képesek tápanyagként hasznosítani, ezért nem okoz fogszuvasodást.<sup>95</sup>

Az inzulintól függetlenül hasznosul, jól használható a diabetikus élelmiszerekben, sütéshez, főzéshez, az élesztős tészták kivételével, mert az élesztőgombák nem tudják hasznosítani. Asztali édesítőszerként Xilovit, Xukor, Xilit, Nyírfacukor néven por, tablettá formájában található meg a kereskedelmi forgalomban.

A xilit mennyiségi korlátozás nélkül, meghatározott élelmiszerekben engedélyezett: csökkentett energiatartalmú vagy cukormentes desszertekben, fagyaltokban, édességben, rágógumiban, cukormentes süteményben és kekszokban; likőrökben, szószokban, mártásokban, mustárban, étrendi kiegészítőkben, fogkrémekben.<sup>96</sup>

Nincsen meghatározott ADI értéke, túlzott mértékű bevitele (felnőtteknek egyszeri 20-40 g adag) hasmenést okozhat.<sup>97</sup>

### *3.5.1.2. Tanulmányok, vizsgálatok*

A xilit a vékonybélben passzív úton, a glükózhoz képest sokkal lassabban, bélhámsejtek segítségével szívódik fel. Az xilit felszívódását befolyásolja az elfogyasztott mennyisége, általánosan a xilit 25-50% szívódik fel a vékonybélből.<sup>98</sup> A felszívódott xilit a májban metabolizálódik, itt kapcsolódik be a pentóz-foszfát

útvonalon glikolízis folyamatába. Szájon át és intravénásan adagolva a felszívódás után gyorsan oszlik el az extracelluláris térben és a szövetekben. Az elfogyasztott xilit emésztetlen része a bél disztális részére jut, ahol a bélflóra számára fermentálható szubsztráttá válik, ezért prebiotikus hatású.

A *per os* módon adagolt xilit 1-3%-a intravénásan adagolva 10%-a ürül ki a vizelettel. Széklet útján a xilit mindössze 1%-a ürül ki.

A szervezet napi endogén xilit szintézise a D-glükoronsav katabolizmusából származik.<sup>93</sup>

Mivel polialkohol és lassan metabolizálódó szénhidrát, ezért nagy mennyiségű fogyasztásánál gasztrointesztinális tünetek jelentkezhetnek, ezek a flatulencia, felgyorsult gasztrointesztinális tranzitidő, puffadás és leggyakrabban hasmenés. A gasztrointesztinális tolerancia egyéenként eltérő lehet.<sup>98</sup>

A xilit daganatkeltő hatását kevés kutató vizsgálta.

Salminen vizsgálatában, 70 Wistar patkány 20%-os xilitet tartalmazó tápot fogyasztott (egy kezelt csoportot hozzászoktattak a 20%-os mennyiséghez). Különböző periódusokban a kutatók leöltek a csoportokból egyedeket majd boncolás után a májat, vesét, mellékvesét, gyomrot, vakbelet, és a húgyhólyagokat hisztopatológiai vizsgálatnak vetették alá. A kutatók nem találtak hisztopatológiai elváltozásokat a májon, vesén, gyomorban, mellékvesén és a lépen. Számos állatnál fokális hiperpláziát találtak a húgyhólyagban; azoknál a kezelt egyedeknél találtak több elváltozást, amelyeket nem adaptálódtak a xilithez. Az egyedek, akiket nem szoktattak hozzá a nagyobb koncentrációt tartalmazó táphoz, hasmenésben szenvedtek és gyulladásoos változásokat tapasztaltak a kutatók a húgyhólyagon.<sup>99</sup>

### **3.6. A daganatok keletkezésének molekuláris háttere**

A daganat egyik legfontosabb tulajdonsága a szabályozatlan, állandó sejtszaporulat, melyet a térfogat-kettőződési idővel jellemezhetünk. Ennek oka egy mutagén hatás, mely az örökítő anyagot tartalmazó DNS egy szegmensében hoz létre végzetes változást addukt-képződéssel.

Becslések szerint napi  $10^3$ - $10^6$  daganatos sejt képződik a testünkben, de ezek normális esetben elpusztulnak, vagyis nem minden genetikai változás jár daganatképződéssel.

A daganatos sejtek valószínűleg egy sejtől származnak, de további változások intratumorális és intertumorális heterogenitáshoz vezetnek.

Az, hogy a sejt osztódik, vagy stagnál, esetleg elhal, ez a sejtciklusban dől el. Megkülönböztetünk osztódó, véglegesen differenciált és  $G_0$  fázisban lévő, „alvó” sejteket. Ennek meghatározását, a sejtciklust irányító markerek, szignálok, mitogének, növekedési faktorok, valamint a sejtsűrűség végzi.

A daganatok olyan genetikai, genomikai és epigenetikai betegségek, amelyeket külső környezeti tényezők kb. 90%-ban indukálnak. A környezeti tényezőkön belül, a daganatok kialakulásáért Doll és Peto szerint, a különböző országok táplálkozási szokásaitól függően, 30-35%-ban a táplálkozás, mint „*per vias naturales*” a felelős.<sup>100</sup>

A kialakulási okok feltárásával, a táplálkozásból származtatható daganat megelőzése lehetővé válik. Számos táplálkozási tényező lehet felelős a daganat kialakulásáért.<sup>101, 102, 103</sup> Ezek a táplálkozási tényezők iniciátorként irreverzibilis változást hoznak létre a sejt DNS-ében, ezáltal a sejt elindul a malignus sejté válás útján; vagy promoteáló vegyület(ek) segítik az iniciált sejt manifestációját. A promoteáló vegyület nem okoz mutagén hatást. A promóció vezet a daganatsejt kialakulásához, melyből a sejtek proliferálnak, ezeknek a következménye a progresszió, invázió és a metasztázis kialakulása. A proliferatív hajlam benignus és malignus daganatoknál már a kezdetekkor jelen van, az invazív, metasztatizáló képesség csak későbbi szomatikus mutációk eredménye.<sup>104</sup>

Mai ismereteink szerint a rosszindulatú daganatok kialakulása többlépcsős folyamat következményeként foghatók fel. Az egyik leginkább elterjedt nézet a daganat patogenezisében a két lépcsős elmélet, mely szerint daganat kialakulásához először iniciálódnia kell, majd ezt követi a promóció. Léteznek természetesen komplexebb modellek is, mint Harris öt lépcsős vagy Loeb hat lépcsős modellje.

Az onkogének és tumorszupresszor gének döntő szerepet játszanak a karcinogenezisben,<sup>105,106</sup> expressziójuk elemzése megfelelő lehet a karcinogén expozíció korai felismerésére.<sup>107,108</sup>

A protoonkogénből onkogénné való átalakulás fő módja a spontán, vagy indukált mutáció. A tumor szupresszor gének az onkogének antagonistái, vagyis gátolják a növekedést, képesek beindítani a programozott sejthalált. A malignus daganatokban rendszerint módosult szupresszor gének és több fajta onkogén is kimutatható

A sejtosztódásban és a karcinogenezisben betöltött központi szerepük miatt *c-myc*, a *ras* és a *p53* géneket kulcsgéneknek nevezik.

Daganat kialakulásában legjelentősebb szupresszor gén a *p53*, Janus arcú gén, a genom őrzőjének is nevezik, utalva ezzel a genom mutációk elleni védelemben játszott szerepére. Alapesetben a *p53* inaktív, karcinogén hatás indukálhatja, pl. onkogének, UV-sugárzás, DNS-t károsító genotoxikus anyagok stb.. Központi szerepet játszik a sejtciklus szabályozásában, a DNS hibák javításában, a replikációban és a programozott sejthalál elindításában. Az örökítőanyag károsodása esetén nem engedi sejtet a G<sub>1</sub> fázis ellenőrző pontjából S fázisba<sup>109</sup>, ezáltal lehetőséget ad a DNS-szintézis előtti hibajavításra, vagy beindítja az apoptózist.<sup>110</sup>

A legismertebb és legrégebben identifikált onkogén a *c-myc*, amely a sejtmagban előforduló fehérje. A *c-myc* fehérje a sejtciklust szabályozó transzkripciós faktor. A *c-myc* a *myc* celluláris homológja, protoonkogénként alapvető fontosságú a növekedés kontrolljában, a differenciálódásban és az apoptózisban.<sup>107</sup> A *c-myc* amplifikációval, expresszió növekedéssel válik onkogénné. *In vitro* és *in vivo* kísérletekben a sejtosztódás mértékét növeli, amelyben a G<sub>1</sub> fázis hossza rövidül és a sejt nem kerül a G<sub>0</sub> fázisba.

A Ras fehérje a kinázok közé tartozó protoonkogén, jelátviteli folyamatokban központi szerepet játszik. A *ras* géncsalád tagjai közé tartozik a *Ha-ras* és a *K-ras*, *N-ras*, sejthártya belső részéhez kötött G proteineket kódolják és GTP/ GDP jelátviteli útvonalon hatnak. A daganatképződés iniciáció fázisában a *ras* gének aktiválódnak leggyakrabban karcinogén hatására.

A *bcl-2* protoonkogén által kódolt fehérje stabilizálja a mitokondriális membránokat az apoptotikus folyamatok ellenében, amelyek a membrán potenciál megszüntetésére és a membrán tönkretételére törekednek. Ha ez a fehérje túl nagy mennyiségben termelődik, megvédi a sejteket az apoptózistól, és a tumoros sejtek nem fognak elpusztulni.<sup>111,112</sup>

Egyes kulcs onkogének expressziójának, amplifikációjának és mutációjának vizsgálata, a daganatprogreszió korai biomarkereiként értelmezhető. Expressziójuk változása a betegség klinikai megjelenése előtt vagy annak kezdetén már figyelmeztethet a daganat kialakulásának veszélyére, így lehetőség van a veszélyeztetett egyének vagy csoportok azonosítására és kiemelésére.<sup>113</sup> A daganatok kialakulása molekuláris szinten individuális és randomizált, ez a megfigyelés vezetett a 80-as években molekuláris epidemiológia kialakulásához.

A daganatkezelésnek abban a fázisában, amikor fenotípusosan nem, de genetikailag, genomikailag a szomatikus sejtekben már az elváltozások kimutathatók, akkor a biomarkerek segítségével lehetőség nyílik monitorozni azokat a folyamatokat, amelyek a daganatok klinikai manifesztációja előtt megjelennek. Ide tartoznak a molekuláris epidemiológiai biomarkerek, mint az expozíció, a korai biológiai hatás markerei, melyek vizsgálata szükséges a kvantifikált kockázatbecsléshez, a prevencióhoz és az egyénre szabott daganatrizikó megállapításához.<sup>114</sup>

Egyes karcinogén vegyületek (direkt karcinogének) kémiai változás nélkül fejtik ki káros hatásukat a szervezetben, de a legtöbb (prokarcinogének) metabolizálódnak, és közbülső anyagcseretermékei válnak karcinogénekké.

A prokarcinogéneket a metabolizáló enzimek konvertálják elektrofil reaktív metabolitokká és ezek a reaktív termékek kötődnek a DNS-hez, vagyis a karcinogén hatásokért lesznek felelősek. A metabolizáló enzimek működése számos daganat kialakulását befolyásolja. Az I. fázisú metabolizáló enzimeket kódoló gének overexpressziói az expozíció biomarkerei lehetnek.

I. fázisú metabolizáló enzimek közé tartoznak az alkohol-dehidrogenázok is. Az alkohol-dehidrogenázok, cinket tartalmazó dimer enzimek, melyek az emlősök citoplazmájában találhatóak meg, feladatuk a primer és szekunder alkoholok lebontása. A primer és szekunder alkohol a szervezetben alkohol-dehidrogenáz hatására aldehiddé alakul. Az aldehid, a toxikus hatása mellett fokozza a sejtproliferációt kromoszómakárosodást, DNS károsodást okoz, azaz iniciátor hatású. A primer és szekunder alkoholok abszorpciójának és eliminációjának kinetikájáért és az ebből adódható metabolit felszabadulásért az alkohol-dehidrogenáz izoenzimeket kódoló gének és polimorfizmusuk felelős. Az allélvariánsok génszerkezete csak kis mértékben tér el egymástól, de jelentősebb különbségek lehetnek a gén expressziós szintjében, az enzimaktivásban.

Az emberben hét ADH gén van, amelyek a 4q22 kromoszómaregióban helyezkednek el. Ezeket az enzimeket 5 alosztályba sorolták, az enzimatisz tulajdonságaik és szekvenciájuk hasonlósága alapján.

Disszertációnkban az *Adh1*, *Adh3*, *Adh4* gének kifejeződését vizsgáltuk.

Az egerekben három *Adh* gén kódolja az alkohol-dehidrogenáz enzimeket, melyeknek eltérő szövetspecifitása és katalitikus tulajdonsága van.



Az *Adh1* gén, az etanol, metanol metabolizációjáért felelős alkohol-dehidrogenáz 1 izoenzimet kódolja, ami elsősorban a májban expresszálódik, azonban más szövetekben is detektálták, így a vesében, gasztrointesztinális traktusban, tüdőben.<sup>115</sup>

Az *Adh3* gén kódolja a formaldehid-dehidrogenáz enzimet, melynek fő feladata formaldehid eliminációja. Az enzim aktivációjához glutation szükséges az *Adh3* gén a májban, vesében expresszálódik a legnagyobb mennyiségben.

*Adh4* gén expresszióját főképp a gyomorban, májban mérték,<sup>116</sup> az alkohol-dehidrogenáz 2 izoenzimet kódolja, ami részt vesz az etanol, metanol oxidációjában, metabolizmusában, celluláris aldehid lebontási folyamatokban.

Az enzimek aktivitását és mennyiségét nagy mértékben befolyásolja a jelen lévő szubsztrát mennyisége.

Az etanol enzimikus lebomlását vizsgálva, Haseba és társai az ADH1 és ADH3 enzimek mennyiségét és aktivitását mérték egerekben. Az 1 g/ttkg mennyiségű etanol adásakor szignifikánsan nagyobb alkohol-dehidrogenáz 1 mennyiséget és aktivitást figyeltek meg a májban, mint 2 g/ttkg etanol adásakor, az enzim mennyisége és aktivitása nagyobb mennyiségű etanol adásánál tovább csökkent. A máj ADH3 enzim tartalma megnövekedett 1 g/ttkg etanol adásakor, de nem mutatott szignifikáns csökkenést nagyobb dózisok adásakor. A szerzők szerint az etanol eliminációjának kinetikája dóziszfüggően változik. Az elsődleges metabolizációt végző ADH1 enzim dóziszfüggő csökkenése növelheti az etanol toxicitását.<sup>117</sup>

A környezeti karcinogének mellett a metabolizáló enzimek aktivitása is hatással van a karcinogének szervezeten belüli koncentrációjára, a behatási időre, ezáltal daganat kialakulásának kockázatára.<sup>118,119, 120</sup>

A táplálékkal bejutó anyagok egy részét az élelmiszer természetesen tartalmazza, míg más anyagok technológiai folyamatokkal kerülnek bele. Az élelmiszergyártás során felhasznált adalékanyagok közül az édesítőszeresek kerültek a kutatók érdeklődésének középpontjában. Számos vizsgálati eredmény szerint szerepük lehet egyes daganatok kialakulásában.

## 4. Anyag és módszer

### 4.1 A kísérletek során felhasznált anyagok

#### 4.1.1. Kísérleti állatok

6 hetes kémiai karcinogének iránt különösen érzékeny beltenyésztett nőstény és hím CBA/Ca és BALB/c egereket; valamint Fischer-344 patkányokat használtunk, melyeket a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Orvosi Népegészségtani Intézet állatháza tenyésztett.

#### 4.1.2. Édesítőszer

Az alkalmazott édesítőszer leírása a csomagoláson feltüntetettek szerint történt.

T. **aszpartam** alapú asztali édesítőszer tablettá formában, nettó tömege 9 g, 150 db tablettát tartalmaz. Energiatartalma 100 mg termékre vonatkoztatva: 333 KJ /80 kcal, fehérje 0 g, szénhidrát 0,2 g, zsír 0 g. Összetevői: E640, E152, E500, édesítőszer 18 mg/tabletta aszpartam\*, tejcukor. \*Fenil-alanin forrást tartalmaz! Gyártja a Politur Vegyipari Szövetkezet, Budapest. Forgalmazza a TESCO-Global Áruházak Zrt.

S. elnevezésű **szacharin** alapú asztali édesítőszer tablettá formájában, cukorbetegék részére. Egy doboz 1000 db tablettát tartalmaz. Egy tablettá 12,5 mg Na-szacharinátot tartalmaz. Gyártja a Konapharma AG., Svájc. Forgalmazza Katax BT., Pécs.

S. **ciklamát** és szacharin alapú asztali édesítőszer, nettó össztömege 39 g. Az adagoló 650 db édesítőtablettát tartalmaz. Összetevői: Na-ciklamát (34,7 mg/tabletta), Na-szacharinát (9,3 mg/tabletta), tömegnövelőszer: Na-bikarbonát, étkezési sav: mono-Na-citrát, maltodextrin. Egy tablettá kb. 60 mg. Származási hely Ausztria, forgalmazza Magyar Cukor Rt., Budapest.

F. S. aszpartam és **aceszulfam-K** alapú asztali édesítőszer, tablettá formájában. A készítmény 130 db tablettát tartalmaz. Összetevői: laktóz, aszpartam (9 mg/tabletta), aceszulfam-K (9 mg/tabletta), leucin. \*Fenil-alanin forrást tartalmaz. 100 g-ra

vonatkoztatva az energiatartalma 1354 KJ, szénhidrát 56 g, fehérje 0 g, zsír 0 g. Gyártja Csehország.

SN. természetes 97%-os tisztaságú **sztvia** por „mellékízmentes”. A készítmény össztömege 20 g. Összetevői: steviosid 9%, rebaudiosid 9%, monoglucosyl-steviosid és rebaudiosid A 25%, diglucosyl steviosid és rebaudiosid A 24%, triglucosyl-steviosid és rebaudiosid A 12%, higher glucosyl-steviosid és rebaudiosid A 12%, rebaudiosid C, dulcosid A és derivaticek 9%. Napi ajánlott mennyisége: 0-2 mg/ttkg. Származási hely Eu., forgalmazó Szigeti Mirko Szekszárd, Bottyán-hegy 1.

X. édesítő por, mely 100%-ban **xilitet** tartalmaz. Glikémiás indexe 7-13. A készítmény össztömege 250 g. Egyszeri 30 g-nál (kb. 6 púpozott teáskanál) nagyobb mennyiség elfogyasztása hasmenést okozhat. 100 g energiatartalma 1035 kJ, 240 kcal, cukor < 0,1 g, zsír < 0,1 g, telített zsírsav < 0,1 g, Na < 0,1 g. Származási hely PRC, forgalmazó: Madal Bal Kft., 1185 Budapest, Gyömrői út 85-91.

**B.** instant **energiaszegény italpor** melynek nettó tömege 8 g. Elkészítési ajánlat: „Oldja fel a tasak tartalmát 1,5 l vízben.” Összetevői: étkezési sav (citromsav, almasav); maltodextrin; természetazonos aromák; édesítőszer: aszpartam\*, szacharin (80 mg/l kész oldatra vetítve), aceszulfam-K, ciklamát; savanyúságot szabályzó anyag: trinátrium-citrát; tapadásgátló anyag: trikálcium-foszfát; sűrítőanyag: xantán-gumi, nátrium-karboxi-metil-cellulóz, gumiarábikum, C-vitamin; calcium-carbonát; színezékek. \*Fenil-alanin forrást tartalmaz. Száraz, hűvös helyen tartandó. 100 g-ra vetítve energiatartalma 1,78 kJ/7,45 kcal, szénhidrát 0,24 g, fehérje 0,026 g, zsír 0 g, C-vitamin 4 mg. Származási hely: Bulgária, forgalmazza ASIX Rt., Budapest.<sup>121</sup>

K. cukor, mely **kristálycukor** formájában kapható, 1 kg-os kiserelésben. 100 g-ra vonatkoztatva az energiatartalma 1656 kJ/395 kcal. Minőségét korlátlan ideig megőrzi. Gyártja a Magyar Cukor ZRT, 1122, Budapest, Budaörsi út 161.

#### 4.2. Készülékek

*MagNa Pure® LC* nukleinsav izoláló rendszert (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany) használtunk.

Az mRNS mennyiségi analíziséhez a *Roche LightCycler® 2.0.* (Roche, Berlin, Germany) RT-PCR berendezést használtunk.

*Accu-Chek Active®* vércukormérő készülékkel (Roche) laboratóriumi pontossággal, kis mennyiségű vérmintából automatikus mérést végeztünk.

### **4.3. „In vivo” vizsgálatok**

#### *CBA/Ca egerek 14 hetes kezelése*

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.

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.

Az adagolás kezdete után 14 héttel az állatokat cervicalis dislocatio formájában leöltük, felboncoltuk, szerveiket (máj, vese, csontvelő) kimetszettük, majd -80°C-on tároltuk, hogy a későbbiekben RNS-t izoláljunk belőlük MagNa Pure® LC készülékkel.

### *CBA/Ca egerek szubkrónikus kezelése*

72 hat hetes egyedekből álló CBA/Ca beltenyésztett, hím és nőstény egereknek adagoltunk kereskedelmi forgalomban kapható mesterséges édesítőszeret csapvízben feloldva. Az oldatban a testtömegre vonatkoztatott maximálisan megengedett mennyiségű édesítőszeret oldottuk fel, melyet az állatok ad libitum fogyasztottak.

*Aszpartam alapú* asztali édesítőszer: 300 ml csapvízben az egerekre kiszámolt maximálisan megengedett mennyiség 80 mg aszpartamnak felelt meg.

*Szacharin alapú* asztali édesítőszer: 300 ml csapvízben az egerekre kiszámolt maximálisan megengedett mennyiség 10 mg szacharinnak felelt meg.

*Ciklamát alapú* asztali édesítőszer: 300 ml csapvízben az egerekre kiszámolt maximálisan megengedett mennyiség 22 mg ciklamátnak felelt meg.

*Aceszulfam-K alapú* asztali édesítőszer: 300 ml csapvízben az egerekre kiszámolt maximálisan megengedett mennyiség 18 mg aceszulfam-K-nak felelt meg

Az *italporból* egy tasak italport oldottunk fel 1,5 l csapvízben, (elkészítési utasításnak megfelelően) melyből az itatóüvegbe 300 ml-t mértünk ki.

A kontroll csoport csapvizet fogyasztott, kezelt csoportoknak megfelelő vízfogyasztási lehetőségekkel. Táplálékként mindegyik állat egértápot kapott, melyet szintén ad libitum fogyaszthattak. 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.

Az adagolás kezdete után a 25. héten az állatokat cervicalis dislocatio formájában leöltük, felboncoltuk, szerveiket (máj, vese, csontvelő) kimetszettük, majd -80°C-on tároltuk, hogy a későbbiekben RNS-t izoláljunk belőlük.

Az aszpartamot és a csapvizet fogyasztó állatok szerveiből MagNa Pure® LC készülékkel RNS-t izoláltunk.

#### *BALB/c egerek „short term” vizsgálata*

A kísérlet során 24 egyedet tartalmazó, 5-6 hetes BALB/c típusú nőstény csoportok egereinek adagoltunk kereskedelmi forgalomba kapható sztívia és xilit alapú édesítőszeret csapvízben feloldva. Az oldatban a testtömegre vonatkoztatott, humán ekvivalens dózissra számolt, maximálisan megengedett mennyiségű sztíviát oldottuk fel, melyet az állatok ad libitum fogyasztottak. A kristálycukorból az egerekre vonatkoztatott, a humán táplálkozásban javasolt mennyiséget oldottunk fel. A xilit ekvivalens mennyiségű volt, mint a kristálycukor. A negatív kontroll csoport csapvizet kapott. Minden csoport 6 egyedből állt.

*Sztíviát* tartalmazó édesítőszer: 300 ml csapvízben az egerekre kiszámolt maximálisan megengedett mennyiség 24 mg sztíviának felelt meg.

*Kristálycukrot* tartalmazó oldat: 300 ml csapvízben az egerekre kiszámolt javasolt mennyiség 4,2 g kristálycukornak felelt meg.

*A xilitet* tartalmazó oldat: 300 ml csapvízben 4,2 g xilitet oldottunk fel.

Az adagolás kezdete után 1 héttel az állatokat cervicalis dislocatio formájában leöltük, felboncoltuk, szerveiket (máj, lép, vese, tüdő, csontvelő, thymus, nyirokcsomó) kimetszettük, majd mRNS-t izoláltunk TRIZOL protokoll szerint. RNS tisztaságát és koncentrációját abszorpciós fotometriával ellenőriztük 260/280 nm-en.

#### *F-344 patkányok kezelése*

A kísérletünkben 12 tagú F-344 típusú nőstény és hím patkányoknak adagoltunk kereskedelmi forgalomba kapható természetes eredetű édesítőszeret csapvízben feloldva. Egy csoport 4 egyedből állt. Az oldatban a testtömegre vonatkoztatott javasolt mennyiségű xilitet és 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 xilit tartalmazó oldat:* 300 ml csapvízben 1,4 g xilitet oldottunk fel.

*Kristálycukrot tartalmazó oldatban:* 300 ml csapvízben 1,4 g kristálycukrot oldottunk fel.

Az állatok patkánytápot kaptak, melyet ad libitum fogyaszthattak. A vércukormérések a következő időpontokban történtek: 1. óra, 2. óra, 3. óra, 6. óra, 12. óra, 1. nap, 2. nap, 3. nap, 6. nap. A kapott eredményeket statisztikailag értékeltük.

#### *F-344 patkányok kezelése éheztetés során*

A kísérletünkben 12 db F-344 típusú nőstény és hím patkányoknak adagoltunk kereskedelmi forgalomba kapható természetes eredetű édesítőszereket csapvízben feloldva. Egy csoport 4 egyedből állt. Az oldatban a testtömegre vonatkoztatott javasolt mennyiségű xilitet és 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 xilit tartalmazó oldat:* 300 ml csapvízben 1,4 g xilitet oldottunk fel.

*Kristálycukrot tartalmazó oldatban:* 300 ml csapvízben 1,4 g kristálycukrot oldottunk fel.

A vércukormérések a következő időpontokban történtek: 1. óra, 2. óra, 3. óra. A kapott eredményeket statisztikailag értékeltük.

## **4.4. RNS izolálás**

### *4.4.1. RNS izolálás MagNa Pure® LC készülékkel MagNa Pure Compact RNA isolation Kitekkel (aszpartam fogyasztás hatásának vizsgálata)*

Az egy csoportba tartozó állatokból származó azonos szervből vett mintákat pool-oztuk.

#### **Előkészítés menete:**

1. Lizáltunk és homogenizáltunk 80 mg szövetet 1 cm<sup>3</sup> Lysis Buffer-ben, 4 cm<sup>3</sup>-es csőben 45-90 másodpercig.

2. Inkubáltuk a mintát 30 percig szobahőmérsékleten.
3. Centrifugáltuk 17000 fordulaton 5 percig.
4. A felülúszóból 350 µl-t pipettáztunk át a mintatartó csőbe.
5. Beletettük a csövet a készülék mintatartó állványába és elindítottuk az „RNA Tissue Protokoll”-t a gyártó előírása szerint.

Az RNS izolálás minőségét fotometriával 260-280 nm-en ellenőriztük. Az RNS optikai sűrűsége 0,9-1,1 volt.

#### *4.4.2.RNS izolálás Trizol protokoll szerint (xilit és sztívia fogyasztás hatásának vizsgálata)*

Az egy csoportba tartozó állatokból származó azonos szervből vett mintákat pool-oztuk.

1. 100 mg szövetmintát homogenizáltunk 1 cm<sup>3</sup> Trizol Reagent (Molecular Research Center Inc.) reagensben 4 cm<sup>3</sup>-es csőben 45-90 másodpercig. A minta mennyisége nem haladhatja meg a homogenizáláshoz használt Trizol Reagent reagens mennyiségének 10 % -át.
2. A homogenizált mintát 5 percig inkubáltuk szobahőmérsékleten
3. Hozzáadtunk 0,2 cm<sup>3</sup> kloroformot. Összeráztuk erősen a csövet 15 mp-ig
4. 2-3 perc inkubálás után lecentrifugáltuk a mintát 12000 g-vel 15 percig 2-8 °C-on.
5. Átvittük a vizes fázist egy tiszta csőbe. Hozzáadtunk 0,5 cm<sup>3</sup> izopropil-alkoholt.
6. 10 perc inkubálás után újra lecentrifugáltuk 12000 g-vel 10 percig 2-8 °C-on. Centrifugálás előtt az RNS precipitátum gyakran nem látható, centrifugálás után a cső alján gélyszerű csapadékot képez.
7. A felülúszó leöntése után az RNS-t mostuk 1 cm<sup>3</sup> 75 %-os alkohollal.
8. Vortexelés után lecentrifugáltuk 7500 g-vel 5 percig 2-8 °C-on.
9. A felülúszót leöntöttük, majd megszártítottuk a csapadékot. 300-500 µl RN-áz mentes vízben (DEPC víz) oldottuk.

A szervekből izolált mRNS-t a hibridizációig -80 °C-on tároltuk. 260 és 280 nm-en történt spektrofotometriás mérés során meghatároztuk az RNS-oldatok koncentrációját és tisztaságát.



#### 4.5. Nukleinsavak blottolása, hibridizáció

1. A próba jelölését és a detektálást az ECL<sup>TM</sup> direct nucleic acid labelling and detection systems protokollja szerint végeztük. A próba koncentrációjának a hibridizációs oldatban 10 ng/ml-nek kell lennie. (Minimális mennyisége 200 ng/20 µl.) A DNS próbát Eppendorf csőben 5 percre 100 °C-os vízfürdőben denaturáltuk, majd 5 percig jégen tartottuk, majd rövid ideig (kb. 5 mp-ig) centrifugáltuk.
2. Azonos mennyiségű jelölő reagenst adtunk hozzá, összekevertük. A jelölő reagens mennyiségével azonos mennyiségű glutáraldehid oldatot adagoltunk, majd összekevertük Vortex-el (1 mp). Centrifugáltuk 5 mp-ig. Inkubáltuk 37 °C-on 10 percig.
3. Az RNS végkoncentrációját 10 µg/50 µl-re állítottuk be DEPC vízzel.
4. A blottert RN-áz mentesítettük, a Hybond membránt 5xSSC-vel telítettük, majd a készülék összeszerelése után 50 µl 20 x SSC-t (DEPC-es) szívattunk át minden lyukon. Átszívattuk a vizsgálandó RNS mintákat, a pozitív és negatív kontrollokat (50-50 µl), majd 20xSSC-vel mostuk.
5. Az RN-áz mentesített hibridizáló csövekbe helyeztük az RNS-t tartalmazó membránt, 8-10 cm<sup>3</sup> hibridizációs pufferrel előkezeltük 15 percig a 42 °C-os hibridizáló kamrában.
6. Hozzáadtuk a jelölt DNS próbát a hibridizációs pufferhez, majd 42 °C-on rázatva inkubáltuk egy éjszakán át.
7. Másnap a membránokat átraktuk 42 °C-ra előmelegített „primary wash buffer”-t tartalmazó mosó tálba és 20 percig 42 °C-on rázattuk, a mosófolyadékot leöntöttük, frisset öntöttünk rá és ismét 20 percig rázattuk 42 °C-on.
8. A membránokat átraktuk tiszta tálba és 2xSSC-t öntöttünk rá, szobahőmérsékleten rázattuk 5 percig.
9. A mosófolyadékot leöntöttük, frisset öntöttünk rá és ismét rázattuk szobahőmérsékleten 5 percig.
10. A detekciós oldathoz 1:1 arányban mértük össze az 1-es és a 2-es detekciós reagenst (ECL kit).
11. A második mosóoldatból kivettük a membránt, óvatosan leitattuk. Tiszta edénybe tettük és a detekciós oldatot ráértük a mintákra. Pontosan 1 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk, majd a felesleges detekciós oldatot leitattuk róla.

12. A membránt fóliába becsomagoltuk, majd a kazettába helyeztük mintával felfelé.
13. Sötét szobában behelyeztük a filmet a kazettába (piros fényben).
14. 1 óra expozíció után röntgen laboratóriumban előhívattuk.
15. Quantiscan szoftver segítségével meghatároztuk az optikai denzitást, ami arányos a keresett mRNS koncentrációjával.

A kezelt és kontroll csoportok közti *c-myc*, *Ha-ras* *bcl-2*, *K-ras* és *p53* génexpressziókat a  $\beta$ -aktin expresszió százalékában fejeztük ki és az eltéréseket ábrázoltuk.

#### **4.6. Kvantitatív RT-PCR protokoll Roche LightCycler® Roche 2.0 berendezéssel**

(aszpartam fogyasztás hatásának vizsgálata)

A szövetekből izolált mRNS-ekből reverz transzkriptáz felhasználásával cDNS-t képeztünk. A kívánt DNS-templátot az 5' végen kötődő, a templáttal komplementer primerek kódolják, majd a hőstabil DNS polimeráz a lánc 3' vége felé haladva szintetizálja az új DNS-szálakat.

A reverz transzkripciót és a PCR amplifikációt LightCycler® RNA Amplifikációs kittel végeztük. (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany).

A polimeráz láncreakció 20  $\mu$ l elegyének összetételét az 1. sz. táblázat mutatja.

25 mmol/l MgCl <sub>2</sub>	1,6 $\mu$ l
1,5 x koncentrációjú. LightCycler® RT-PCR Reaction Mix SYBR Green	4 $\mu$ l
LightCycler® RT-PCR Enzyme Mix	0,4 $\mu$ l
Resolution solution	3 $\mu$ l
cDNA	1 $\mu$ l
Primer (reverse)	1 $\mu$ l
Primer (forward)	1 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	8 $\mu$ l
<b>Összes</b>	<b>20<math>\mu</math>l</b>

**1. táblázat PCR reakcióelegy összetétele**

Az amplifikációhoz felhasznált primereket a Primer Express™ Software-rel (Applied Biosystems) terveztük, az Integrated DNA Technologies szintetizálta. A felhasznált primerek szekvenciáit a 2. táblázat mutatja.

REVERSE	FORWARD
5'-GCT TCG GCT ACA AAA GTT GCT-3'	5'-AAG GGG TGA CTT GTG TGA AAC-3'
5'-ACT ACC GGG AAG AGA GCT TTC-3'	5'-TGG CAG TCC CCT TTG CAT T-3'
5'-GAA ATA CCA CAG CCG AGA AGG-3'	5'-TGG GGA CTA GCA CAT TTT CCG-3'
5' AGG GCA TAT CCA ACA ACA AAC TT 3'	5' GTT AAG CAG TAC AGC CCC AAA 3'

## 2. táblázat Primerek szekvenciái

### PCR hőmérsékleti program beállítása

A reverez transzkripciót 55 °C-on kezdtük és 30 percig tartott, a kezdeti denaturáció 95 °C 30 másodpercig tartott. A PCR amplifikációs programban 45 ciklusból álló polimeráz láncreakciót végeztünk.

#### A hőmérsékletei ciklusok:

1. Denaturáció: 95°C, 5 másodperc
2. Primertapadás: 50°C, 15 másodperc
3. Lánchosszabbítás: 72°C, 4 másodperc

Az emittált fluoreszcens jeleket 630 nm között detektáltuk.

45 ciklust követően az olvadási pont analízist 1 cikluson keresztül 95°C, 0 másodperc, 65°C, 10 másodperc, 95°C, 0 másodperc adatgyűjtési módozatba állítottuk. Az enzimes reakciót 4 °C-ra hűtöttük le.

A PCR reakció eredményeinek kiértékelése a Lightcycler 4.0. szoftver segítségével történt.

*Hprt1*-et használtuk negatív kontrollként.

### 4.7. Az eredmények értékelése

A génexpressziók standard értékeit az alábbi képlet alapján kaptuk meg:

$$\text{Exp} = 2^{-\Delta C_T} = 2^{-\left( C_{T-\text{vizsgált gén}} - C_{T-\text{Hprt1 gén}} \right)}$$

A génexpressziókat a *Hprt1* gén expressziójának százalékában számoltuk szervenkénti és génenkénti felosztásban. Az ábrákon normalizált viszonyszámokat alkalmaztunk, önkényesen a kontroll csoport génexpresszióit 100%-nak (1-nek) tekintettük.

#### **4.8. 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.

## 5. Eredmények

### 5.1. Mesterséges édesítőszer fogyasztásának hatása táplálék- és folyadékfelvételre és testtömegváltozásra CBA/Ca egerekben

Hosszabb távú állatkísérletes módszerrel vizsgáltuk kereskedelmi forgalomban kapható mesterséges édesítőszer és egy energiaszegény italpor fogyasztásának hatását.

#### 5.1.1. Vizsgálat alatti megfigyelések<sup>121</sup>

A vizsgálat 18. hetében a ciklamátos oldatot fogyasztó nőtény csoportban, az egyedeknél szórhullást figyeltünk meg, amely fokozatosan egyre kiterjedtebbé vált az egyedek testfelszínén. A hím egyedeknél a felfedezést követő harmadik héten ugyanez a jelenség mutatkozott, az egyedeknek kihullott a bajszuk, a szórhullás a koponyán felfelé terjedt. A leölés előtt, főképp a nőtény egyedek testfelületéről 60%-ban szórhiány volt megfigyelhető.

A vizsgálat 20. hetében elhullás történt a szacharinos oldatot fogyasztó nőtény egyedeknél, az elhalálozás oka nem volt megállapítható, az egyeden nem találtunk külsérelmi nyomokat.

A vizsgálat 22. és 24. hetében az aszpartamos oldatot fogyasztó nőtényeknél elhullás történt. Az egyedeken nem találtunk külsérelmi nyomokat, testtömegben jelentősen nem különböztek a csoport egyedeitől, az elhullás okát nem tudtuk megállapítani.

A kísérlet kezdetén az energiaszegény italporból mindkét nem esetében láthatólag, valamint a mérési eredmények alapján is sokkal kevesebb fogyott, mint a többi csoportnál. Az itatók folyadékkal érintkező felszínén, fehér elszíneződés, opálosodás, üledékképződés alakult ki, az itatócső nem dugult el.

Az italport az elkészítési utasításnak megfelelően készítettük el, a leirat szerint az elkészített oldat szobahőmérsékleten tárolható. A lehetséges szennyeződések elkerülve, laboratóriumon kívül is elkészítettük az italport két adagban, melyből az egyiket szobahőmérsékleten, a másikat 5-10°C-os hőmérsékleten tároltuk. Két nap

elteltével ugyanazt a jelenséget tapasztaltuk, mint a laboratóriumi körülmények között.

Külső körülmények között feloldottunk különböző ízesítésű italporokat, melyeket a fenti tárolási hőmérsékleten lezárva tartottunk. A kóla ízesítésű italpor esetében nem tapasztaltunk üledékképződést. Ezután az italporos csoport hím és nőstény egyedeinek a kísérlet végéig kóla ízesítésű italport adagoltunk.<sup>121</sup>

### **5.1.2. Makromorfológiai megfigyelések<sup>121</sup>**

Az aszpartamos oldatot fogyasztó hím egyedekben a többi csoporthoz képest jóval több zsírszövet halmozódott fel a szervek körül, a lép körüli szövetek elváltoztak, harántcsíkolttságot mutattak, a tyhmus sorvadást mutatott.

Az italport fogyasztóknál, mindkét nem esetében, az egyedek szervei atrophizáltak.

### **5.1.3. Testtömegváltozások**

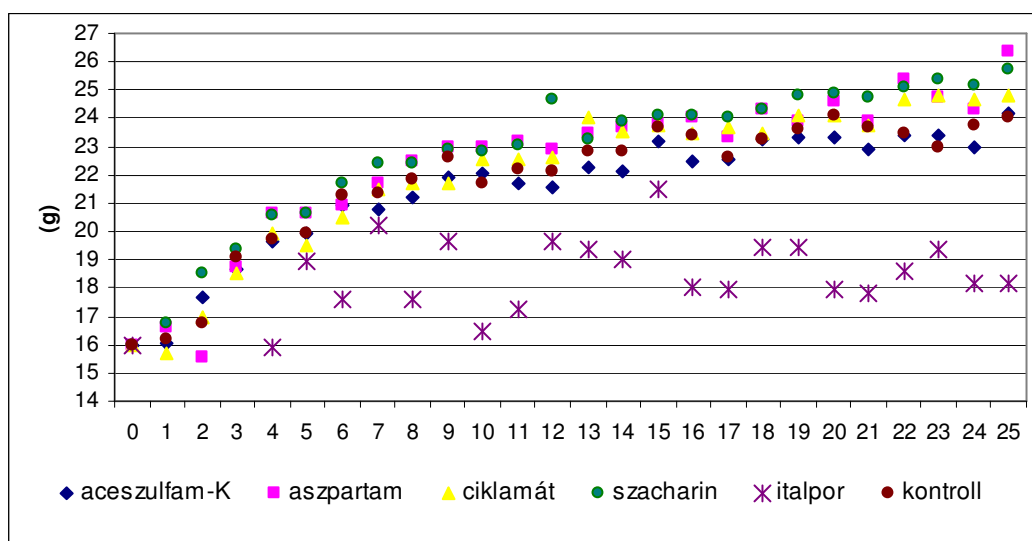
A vizsgálat ideje alatt a nőstény egyedek átlagos testtömege a következőképpen alakult. Az aceszulfam-K alapú édesítőszerrel fogyasztó csoportot a rövidség kedvéért aceszulfam-K csoportként, a ciklamát alapú édesítőszerrel fogyasztó csoportot ciklamátos csoportként jelöltük.

Az aceszulfam-K-t csoport egyedeinek testtömegét nem befolyásolta az oldat fogyasztása, kapott eredmények közel azonosak voltak, mint a csapvizet csoporté. Az aceszulfam-K csoport átlagos testtömege  $21,66 \pm 1,98$  g, míg a kontroll csoport átlagos testtömege  $21,97 \pm 2,12$  g lett.

Az aszpartamos csoport egyedeinél, az édesítő nem okozott szignifikáns növekedést az átlagos testtömegben. A vizsgálat végén az egyedek átlagos tömege  $22,64 \pm 2,45$  g, míg a kontroll csoportnál átlagosan  $21,97 \pm 2,12$  g-ot detektáltunk. A kapott eredmény az aszpartamos csoportban 4 egyed, míg a kontroll csoportban 6 egyed mérésének az átlageredménye volt.

A ciklamátos oldatot fogyasztók esetében sem tapasztaltunk jelentős eltéréseket, az állatoknál átlagosan  $22,27 \pm 2,45$  g testtömeget mértünk. A szacharint fogyasztó egyedek szignifikánsan nagyobb ( $p=0,0495$ ) átlagos testtömeget ( $23,028 \pm 2,32$  g) értek el a vizsgálat végére, mint a kontroll csoport tagjai.

Az italport fogyasztó egerek esetében szignifikánsan alacsonyabb ( $p=0,00005$ ) átlagos testtömeget ( $18,36 \pm 1,76$  g) kaptunk, mely 3,6 g-al elmaradt a kontroll csoport nőstényeihez képest. Az eredményeket a 1. ábra mutatja.



**1. ábra Átlagos testtömeg változások nőstény egereknél**

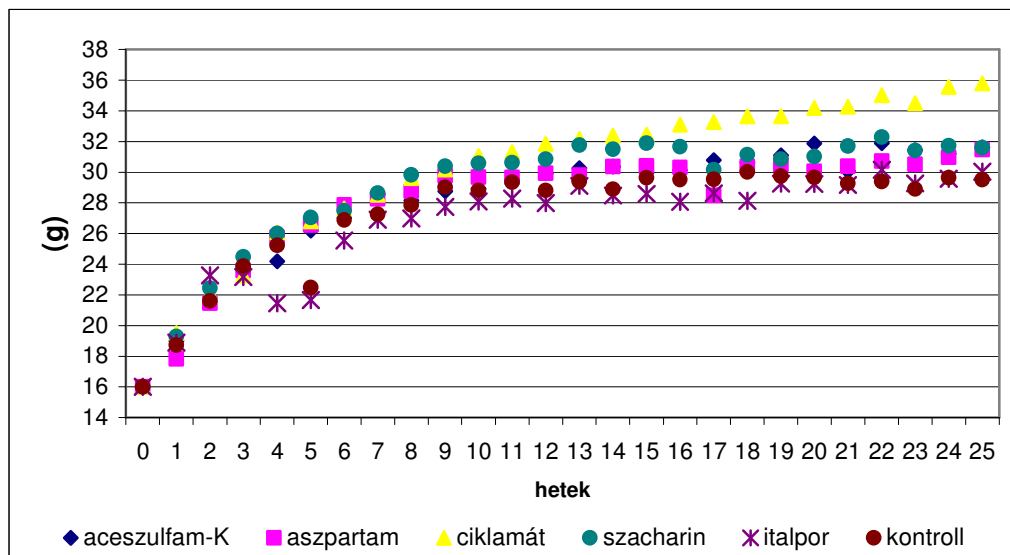
Az acesulfam-K-t fogyasztó hímek esetében hasonló eredményeket tapasztaltunk, mint a nőstényeknél, az oldat fogyasztása nem befolyásolta jelentős mértékben az átlagos testtömeg alakulását ( $28,68 \pm 3,34$  g), összehasonlítva a kontroll csoport egyedeiben mért átlagos tömegváltozásaival ( $27,76 \pm 2,93$  g).

Az aspartam fogyasztása nem okozott jelentős eltéréseket a csoport egyedeinek testtömeg változásában, a vizsgálatban az átlagos tömeg  $28,53 \pm 3,26$  g lett.

A kontroll csoport hímjeivel összehasonlítva, a ciklamátot fogyasztó egyedeknél szignifikánsan nagyobb átlagos testtömeget ( $30,72 \pm 4,35$  g) mértünk ( $p=0,0034$ ), mely 2,96 g-al volt nagyobb, mint a kontroll csoporté.

A szacharinos csoport egyedei szintén szignifikánsan nagyobb ( $p=0,0304$ ) testtömeget ( $29,46 \pm 3,3$ g) értek el a vizsgálat végére, mint a csapvizet fogyasztó egyedek.

Az italpor fogyasztása nem befolyásolta kedvezőtlenül a testtömeg alakulását a hímeknél ( $27,10 \pm 3,02$  g), a kapott mérési eredmények a kontroll csoport egyedeinél hasonlóak voltak. A kapott mérési eredményeket a 2. ábrán ábrázoltuk.



2. ábra Átlagos testtömeg változások a hím egereknél

#### 5.1.4. Átlagos táplálékfogyasztás mérése

A nőstény egyedeknél az acesulfam-K fogyasztása szignifikánsan kevesebb ( $p=0,0424$ ) átlagos táplálékfogyasztást ( $16,85 \pm 1,89$  g) eredményezett, összehasonlítva a kontroll csoporttal ( $18,01 \pm 2,6$  g).

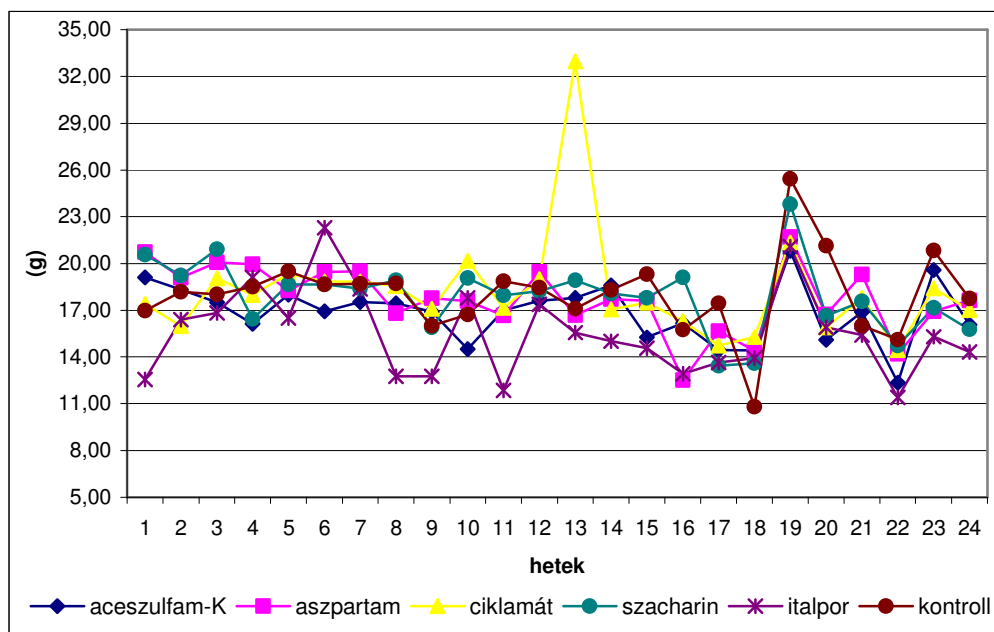
Az aszpartamos csoportban nem tapasztaltunk jelentős változást, az édesítőszer nem befolyásolta az elfogyasztott egértáp mennyiségét, átlagosan egyedenként  $17,77 \pm 2,17$  g mennyiséget dokumentáltunk.

A csapvizet fogyasztó egyedekkel összevetve, a ciklamát fogyasztása nem okozott változást a táplálékfogyasztás mennyiségében, a mérések alapján az egyedek átlagosan  $17,88 \pm 2$  g tápot fogyasztottak.

A szacharinos csoportban, azt feltételeztük – a szignifikáns testtömeg növekedés alapján – hogy egyedei jelentősebb mennyiségű táplálékot fogyasztottak, mint a kontroll egyedek. Feltételezésünket, azonban nem támasztották alá a kapott eredmények ( $17,09 \pm 2,29$  g), ugyanis nem kaptunk számottevő különbséget a kontroll csoporthoz képest.

Az italporos csoport egyedei szignifikánsan kisebb mennyiségű ( $p=0,0015$ ) táplálékot fogyasztottak ( $15,57 \pm 2,79$  g), mint a kontroll csoport. Az ismertetett mérési eredményeket a 3. ábra illusztrálja.





**3. ábra** Átlagos táplálékfogyasztás mennyiségeinek változásai nőstény egereknél

Az aceszulfam–K tartalmú oldatot fogyasztó hímeket és a kontroll csoportot egybevetve, az édesítőszer fogyasztása nem eredményezett figyelemre méltó változást a táplálékfogyasztás mennyiségét illetően. A csoport egyedei átlagosan  $23 \pm 2,03$  g tápot, míg a csapvizes csoport egyedei átlagosan  $22,46 \pm 2,34$  g táplálékot fogyasztottak.

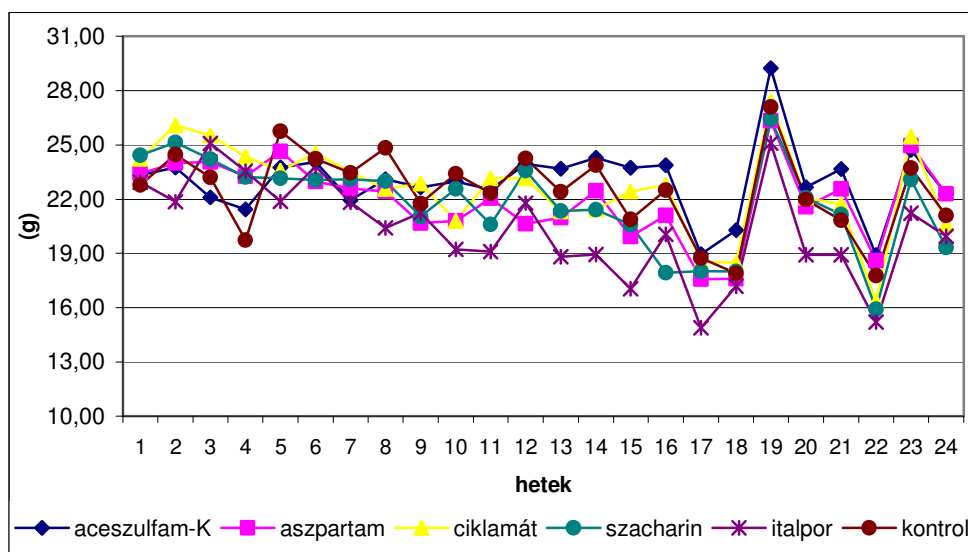
Az aszpartam fogyasztása, hasonlóan az előző eredményhez, nem okozott változást a táplálékfogyasztás mennyisége tekintetében, az eredmények kontroll közeli voltak, az egerek átlagosan  $21,98 \pm 2,19$  g egértápot fogyasztottak.

A ciklamátos csoportban - az előzőleg kapott szignifikáns testtömeg növekedéshez kapcsolódóan - úgy gondoltuk meghatározó mennyiségi eltérések észlelünk majd, azonban az oldat fogyasztása nem idézett elő nagyobb táplálékfogyasztási eredményeket a kontroll csoport egyedeihez képest. Az egerek átlagosan  $22,62 \pm 2,53$  g tápot fogyasztottak.

A szacharinos csoport egyedeit tanulmányozva, az édesítőszer fogyasztása nem okozott eltérést az átlagos táplálékfogyasztás mennyiségében ( $21,77 \pm 2,53$  g) a csapvizet fogyasztó hímekekkel összevetve.

Az italporos egyedeknél, bár nem tapasztaltunk jelentős testtömegeltérést a kontroll egyedekhez képest, azonban alacsonyabb átlagos testtömegük alapján feltételeztük, hogy az alacsonyabb testtömeg megmutatkozik a táplálékfogyasztás mennyiségében. Méréseink eredményei a vártnak megfelelően alakultak, a kontroll

csoporttal összevetve, az egyedek szignifikánsan kevesebb mennyiségű ( $p=0,034$ ) táplálékot fogyasztottak ( $20,37 \pm 2,47$  g). Az eredményeket a 4. ábra ismerteti.



**4. ábra** Átlagos táplálékfogyasztás mennyiségeinek változásai hím egereknél

#### 5.1.5. Átlagos folyadékfogyasztás

Megvizsgáltuk az egyes csoportokban lévő egyedek átlagos folyadékfogyasztásának mennyiségi alakulását is.

A nőtény egyedek esetében, a kontroll csoporttal párhuzamot vonva, az acesulfam-K fogyasztásnak nem volt számottevő hatása a folyadékfogyasztás mennyiségére; az édesítős egyedek  $25,27 \pm 4,63$  ml folyadékot fogyasztottak, a kontroll egyedeknél átlagosan  $26,53 \pm 3,96$  ml mennyiségű folyadékfogyasztást tapasztaltunk. Korrelációs analízist végezve, gyenge kapcsolatot ( $r=0,4574$ ) tapasztaltunk, az acesulfam-K oldat fogyasztása és a csoport egyedeinek táplálékfogyasztása között.

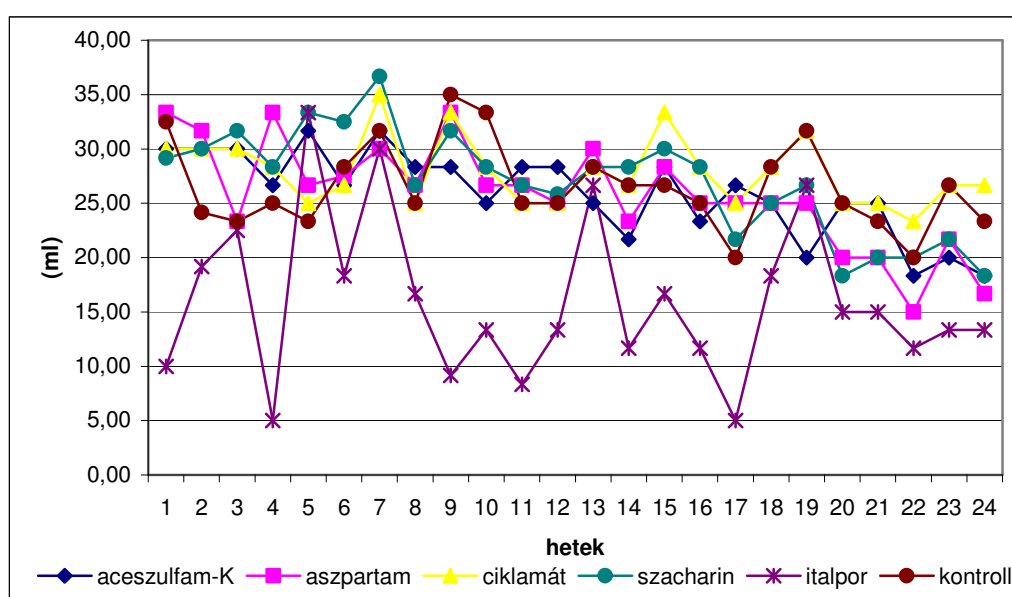
Az aszpartamos oldat esetében is hasonló eredmények születtek, mint az acesulfam-K esetében. Az oldat fogyasztása nem befolyásolta az egyedek mennyiségi fogyasztását, átlagosan  $27,06 \pm 3,76$  ml-t fogyasztottak. Az aszpartamos oldat esetében hasonlókat tapasztaltunk, mint az acesulfam-K csoportban, az oldat fogyasztása gyengén korrelált ( $r=0,4662$ ) a táplálékfogyasztással.

A ciklamátos csoportban a mért átlagos adatok alapján ( $27,87 \pm 3,14$  ml), az édesítőszer nem változtatta meg nagy mértékben az egerek folyadékfogyasztásának mennyiségét. A ciklamátos oldat fogyasztása és a táplálékfogyasztás mennyisége között igen gyenge ( $r=0,2846$ ) kapcsolatot dokumentáltunk.

A szacharinos csoport egyedei közel szignifikánsabb nagyobb ( $p=0,052$ ) mennyiségű folyadékot fogyasztottak ( $28,76 \pm 3,1$  ml), mint amennyit kontroll csoport egyedei esetén mértünk. A szacharinos oldat fogyasztásakor, gyenge kapcsolatot ( $r=0,3978$ ) véltünk felfedezni az oldat fogyasztása és a táplálékfogyasztás mennyisége között.

Az italport fogyasztó egyedek szignifikánsan kevesebb ( $p=0,015$ ) mennyiségű oldatot fogyasztottak ( $17,74 \pm 5,96$  ml), mint a kontroll csoportban lévő egyedek. (5. ábra)

Vizsgálatunkban, az italpor esetében tapasztaltuk a „legerősebb” ( $r=0,4840$ ) kapcsolatot.



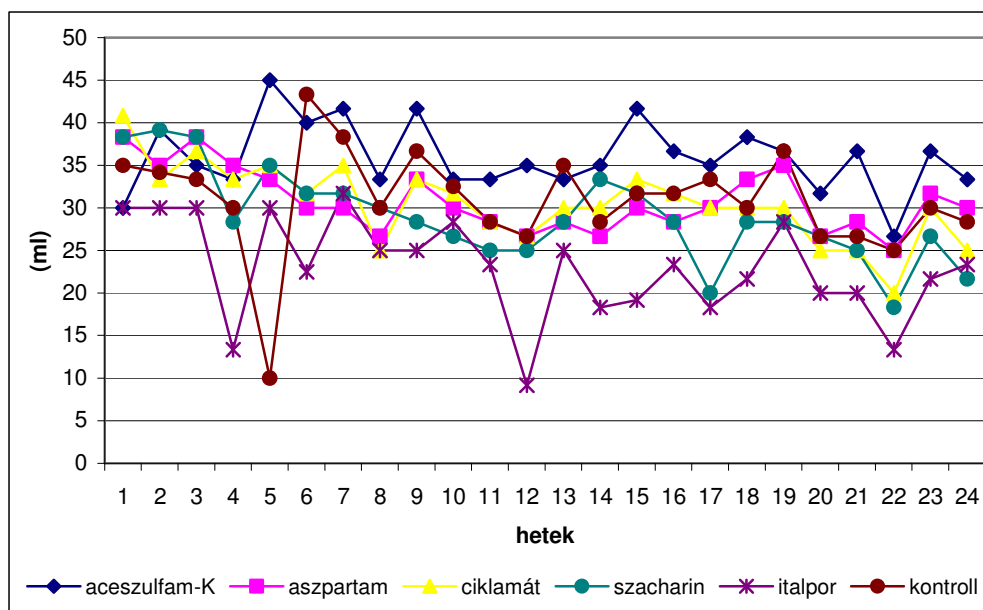
**5. ábra** Átlagos folyadékfogyasztás mennyiségeinek változása nőtény egereknél

A hím kontroll csoportban lévő egerekhez képest az acesulfam-K tartalmú oldat fogyasztása szignifikánsan nagyobb ( $p=0,000165$ ) volt, átlagosan az egyedek  $36,52 \pm 4,52$  ml oldatot fogyasztottak. A kontroll egyedeknél átlagosan  $31,25 \pm 4,87$  ml csapvíz fogyasztását detektáltuk. Az acesulfam-K oldat fogyasztása és a táplálékfogyasztás mennyisége között igen gyenge kapcsolatot ( $r=0,2700$ ) találtunk.

A kontroll csoport egereivel egybevetve, az aszpartam rendszeres fogyasztása nem volt hatással a csoport egyedeinek folyadékfogyasztási mennyiségére ( $30,95 \pm 3,75$  ml). Az aszpartamos oldat fogyasztása gyengén korrelált ( $r=0,4261$ ) az elfogyasztott táp mennyiségével.

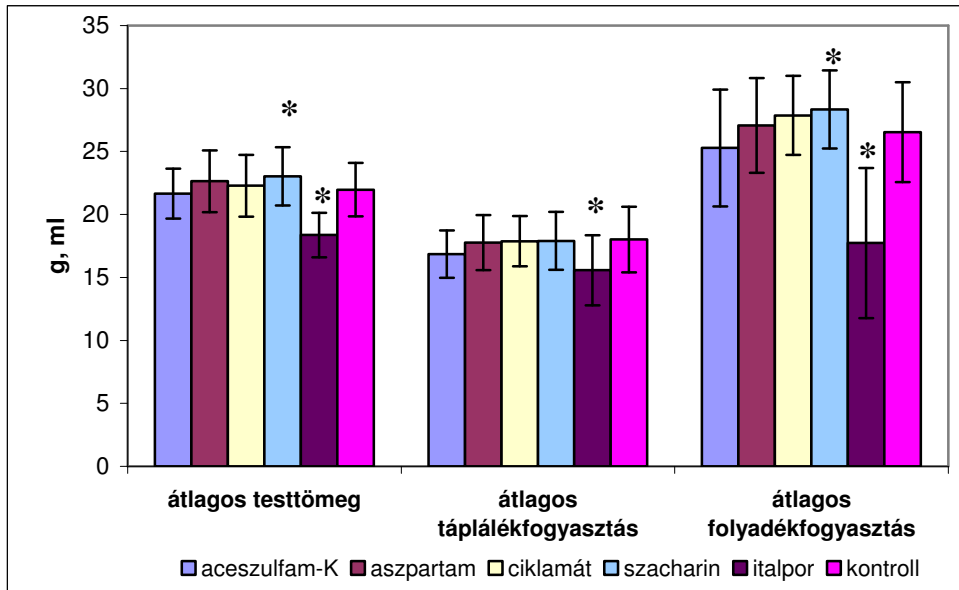
Ugyanez a megállapítás érvényes a ciklamátos oldatot és a szacharinos oldatot fogyasztó hímekre is. A ciklamátos egyedek átlagosan  $30,52 \pm 4,57$  ml oldatot, a szacharinos csoport egyedei  $28,85 \pm 5,4$  ml oldatot fogyasztottak. Egyik esetben sem befolyásolta az adott édesítőszer a fogyasztási mennyiségeket. A ciklamátos oldat fogyasztása mérsékelten erősen korrelált ( $r=0,5440$ ) a táplálékfogyasztással. A szacharinos oldat fogyasztása esetén, és a táplálékfelvétel mennyisége között mérsékelten erős kapcsolatot tapasztaltunk ( $r= 0,6414$ ).

Az italport fogyasztó csoportot tanulmányozva, szignifikánsan kevesebb ( $p= 0,00002$ ) folyadékot fogyasztottak, átlagosan  $23,88 \pm 4,38$  ml-t, mint a kontroll csoport egyedei. Az ismertetett eredményeket a 6. ábra jeleníti meg. Az italpor fogyasztása mérsékelten erősen korrelált ( $r=0,6043$ ) a táplálékfogyasztás mennyiségével.

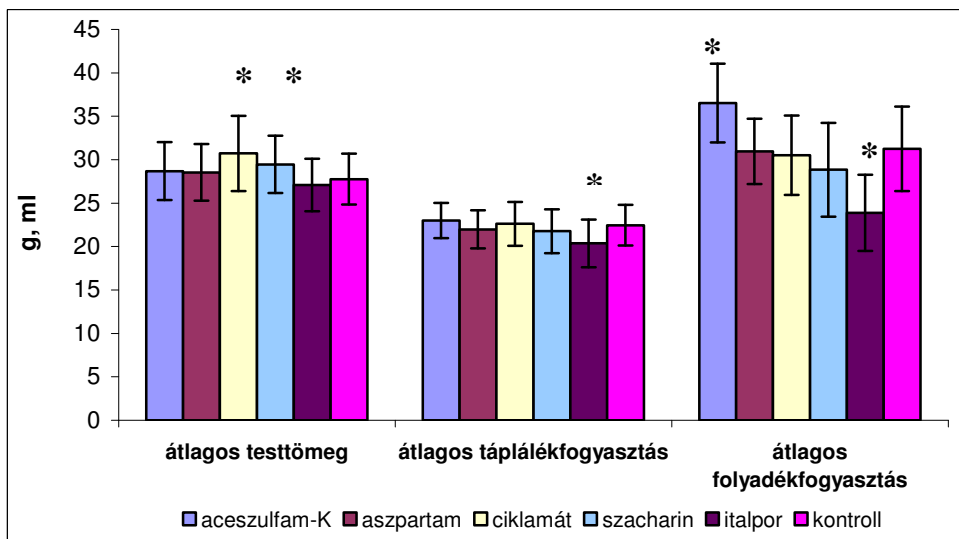


**6. ábra** Átlagos folyadékfogyasztás mennyiségeinek változása hím egereknél

Az átlagos eredmények összefoglalását a 7. -8. ábra mutatja.



7. ábra Nőstény egyedek összefoglaló ábrája



8. ábra Hím egyedek összefoglaló ábrája

## 5.2. Aszpartam fogyasztás hatása *Adh1*, *Adh3*, *Adh4* gének expressziójára

Állatkísérletes módszerben vizsgáltuk meg, hogy az aszpartam fogyasztás és az expozíció időtartama hogyan befolyásolja a metanol lebontásban szerepet játszó, metabolizáló enzimeket szintetizáló *Adh1*, *Adh3*, *Adh4* gének kifejeződését.

Az első vizsgálatunk időtartama 14 hét volt, amelyben nőstény CBA/Ca egereknek testtömegükre kiszámított maximálisan adható mennyiségben kereskedelmi forgalomba kapható aszpartamot adagoltunk, csapvízben feloldva. A kezeletlen csoport csapvizet fogyasztott.

Rágcsálókban egyes kutatók szerint, az etanol, metanol átalakulását három különböző enzimrendszer végzi.

Tephly és Mannering véleménye szerint a metanolt az alkohol-dehidrogenáz és a kataláz rendszer tagjai metabolizálják.<sup>122,123</sup>

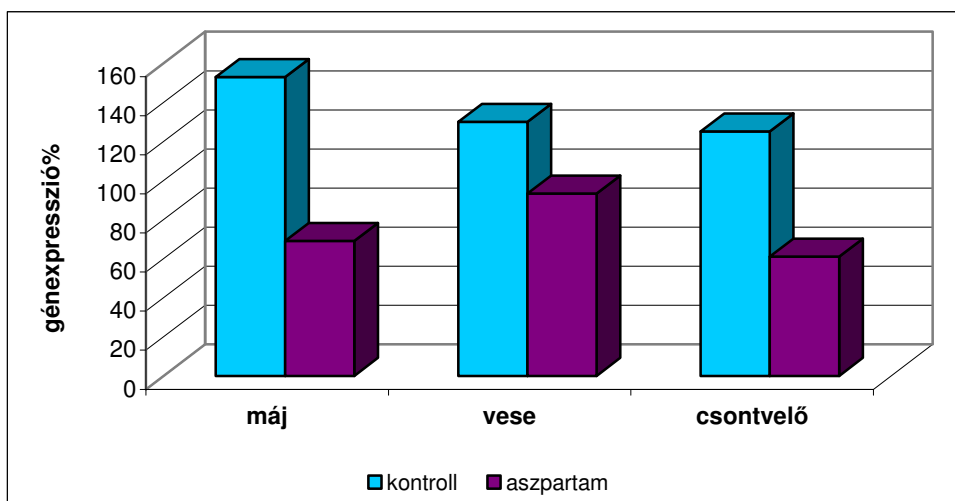
Teschke és mtársai, valamint Dalvi és Towensend szerint a lebontásban szerepe van még a mikroszómális citokróm P450-es enzimcsaládnak is.<sup>124</sup>

Újabb vizsgálati eredmények szerint azonban a CYP 450-es enzimrendszer és a kataláz kis mértékben játszik szerepet az etanol oxidálásában.<sup>125, 126, 127</sup>

Haseba és mtársai szerint az alkohol-dehidrogenázoknak van elsődleges szerepe elsőrendű alkoholok metabolizációjában.<sup>120</sup>

Jelen vizsgálatunkban az alkohol-dehidrogenáz enzimeket kódoló gének kifejeződését vizsgáltuk.

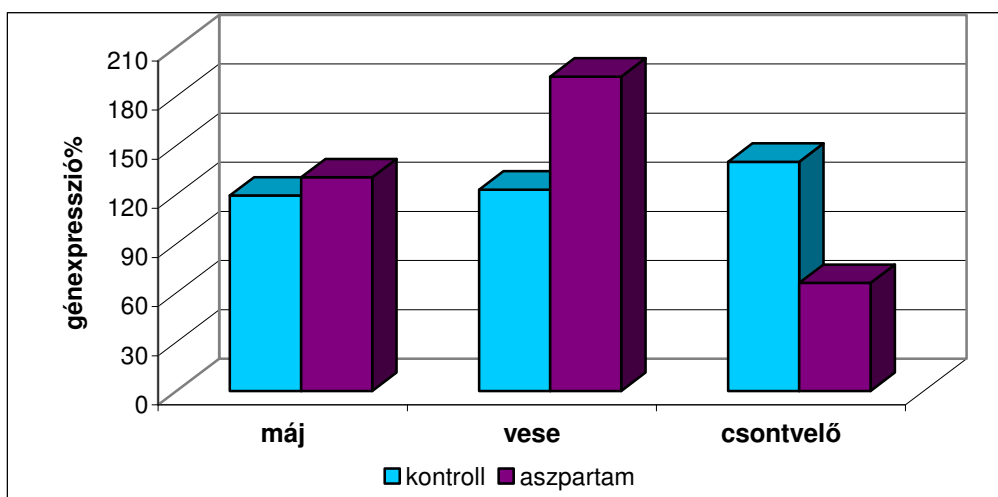
A 14 hetes vizsgálatban a következő eredményeket kaptuk. Az aszpartam fogyasztása nem befolyásolta az *Adh1* gén expressziós szintjét. Az *Adh1* génexpressziós profilja mutatja (9. ábra), hogy a kezelt csoportban minden vizsgált szervben az *Adh1* gén a kontroll csoporthoz képest alacsonyabb expressziót mutatott.



**9. ábra Az *Adh1* gén expressziói különböző szervekben izolált mRNS alapján**

A májban a kezelt csoportban az *Adh3* gén expressziós szintjének emelkedését detektáltuk.

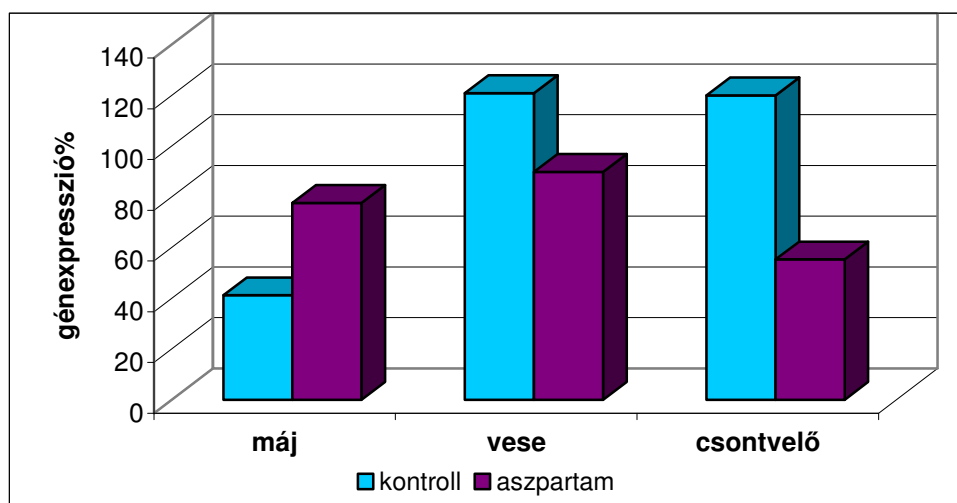
A vesében a csapvizet csoporttal összevetve, az aszpartamos csoportban az édesítőszer az *Adh3* gén másfélszeres expresszióját idézte elő. Az aszpartam expozíciót követően a csontvelőből származó mRNS koncentráció alacsonyabb volt, mint a kontroll csoporté. Az eredményeket a 10. ábra mutatja.



**10. ábra Az *Adh3* gén expressziói különböző szervekben izolált mRNS alapján**

A májban az aszpartam fogyasztása másfélszeresére növelte az *Adh4* gén kifejeződését. Összehasonlítva a kontroll csoporttal a vesében az *Adh4* génben alacsonyabb szöveti mRNS expressziós szintet mértünk a kezelt csoportban. A csontvelőben izolált mRNS-ek koncentrációja alapján azt találtuk, hogy az aszpartam fogyasztás nem emelte meg az *Adh4* gén expresszióját, a vizsgált gén expressziós

értéke alacsonyabb volt, mint a kontroll csoporté. A vizsgálat eredményét a 11. ábra ábrázolja.

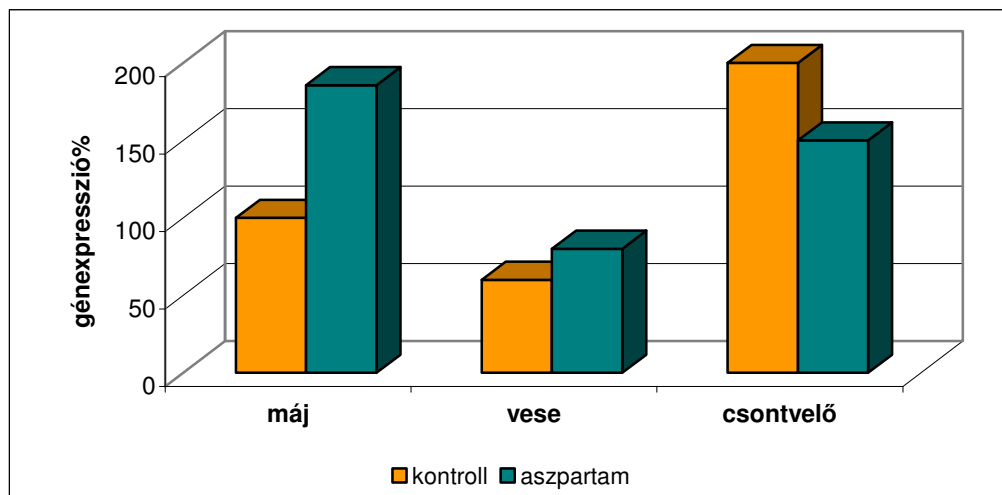


**11. ábra Az *Adh4* gén expressziói különböző szervekben izolált mRNS alapján**

A 25 hétig tartó kísérletet hím és nőstény CBA/Ca egereken végeztük, az állatoknak ugyanolyan mennyiségben adagoltuk az aszpartamot, mint a rövidebb tanulmányban. Szerettük volna megvizsgálni, hogy a hosszabb időn keresztül maximális mennyiségben fogyasztott aszpartam okoz-e változást a metabolizáló enzimeket kódoló gének expressziós profiljában.

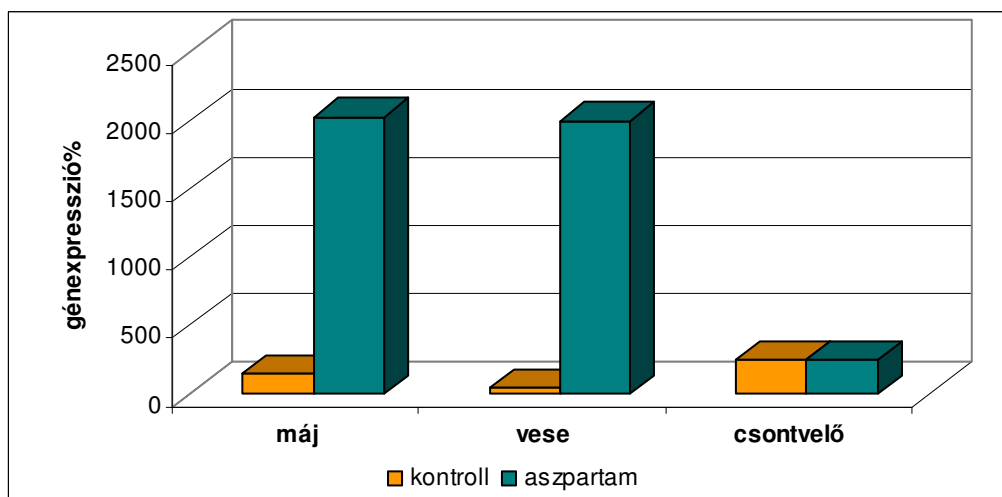
Az expozíciós idő után a boncolt nőstény egerek szerveit vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a májban az *Adh1* relatív koncentrációja (a  $\beta$ -aktinhoz képest) közel kétszer magasabb volt a kezeletlen csoporthoz képest. A vesében és a csontvelőben nem mértünk génexpresszió emelkedést az aszpartam fogyasztás hatására. 12. ábra





**12. ábra Az *Adh1* gén expressziói 25 hetes aszpartam expozíció után nőtényekben**

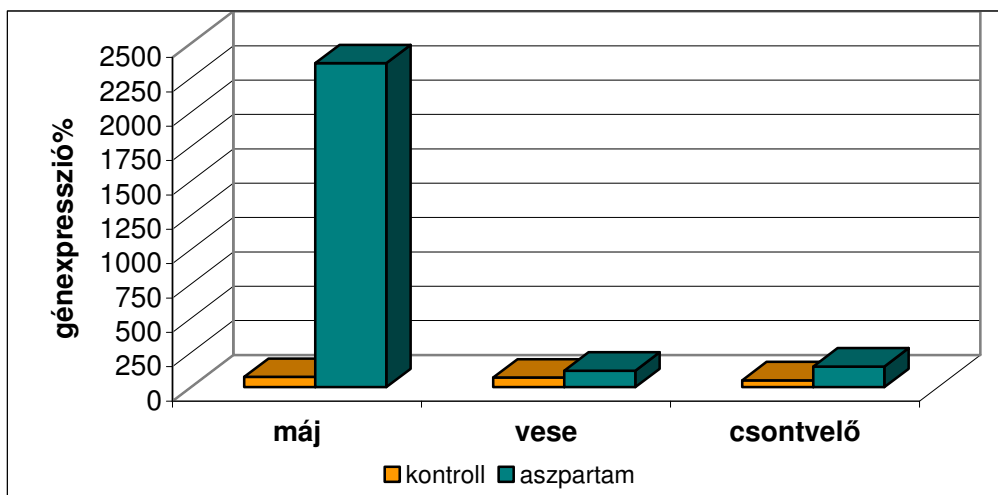
Az *Adh3* gén elemzése során a máj és a vese tekintetében magas szöveti géneexpressziót mértünk. A kísérleti egerek szöveteiből izolált mRNS alapján meghatározott géneexpressziós profil szerint, az aszpartam expozíció a májban közel tizenötszörösére, a vesében ötvenszeresére emelte a géneexpressziókat a kontroll csoporthoz képest. A 13. ábrán látható, hogy a csontvelőben a vizsgált gén kifejeződése megegyezett a kontroll csoportban kapott eredménnyel.



**13. ábra Az *Adh3* gén expressziói 25 hetes aszpartam expozíció után nőtényekben**

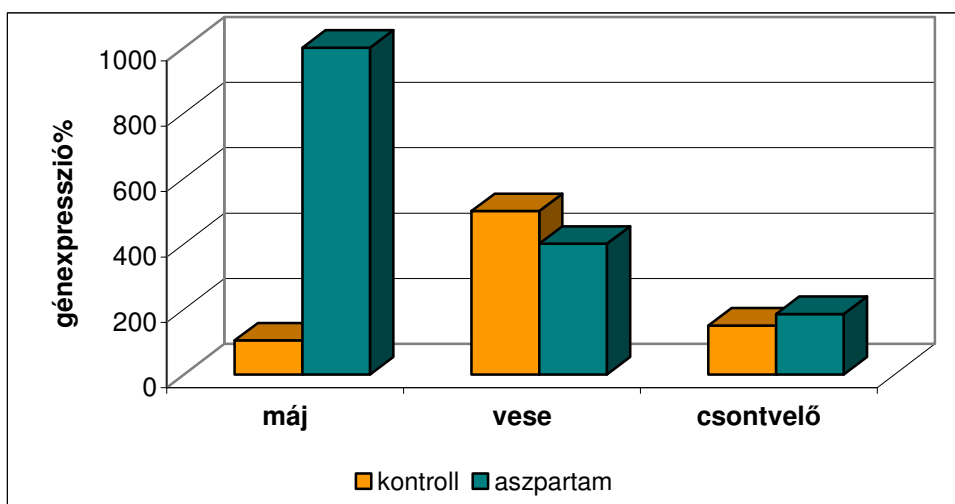
Eredményeink szerint, a csapvizet fogyasztókkal összevetve az aszpartam kezelés hatására minden vizsgált szervben megemelkedett az *Adh4* expresszió. A májban

több mint harmincszoros overexpressziót, a vesében másfélszeres, a csontvelőben háromszoros expressziót detektáltunk. (14. ábra)



**14. ábra Az *Adh4* gén expressziói 25 hetes aszpartam expozíció után nőstényekben**

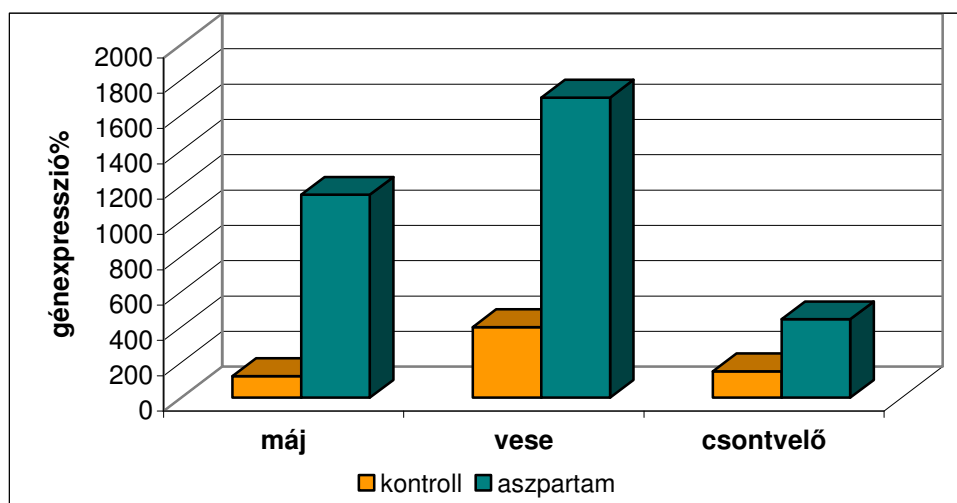
A kontroll csoporthoz képest, a hím egyedek májszövetét vizsgálva, a 25 hetes aszpartam fogyasztása tízszeres *Adh1* gén expressziót indukált. A kontroll csoporttal összehasonlítva, a kezelt csoport veseszövetének relatív *Adh1* koncentrációja (a  $\beta$ -aktinhoz képest) 80%-al kevesebb volt. Emelkedett expressziós értéket kaptunk a csontvelőben. (15. ábra)



**15. ábra Az *Adh1* gén expressziói 25 hetes aszpartam expozíció után hímekben**

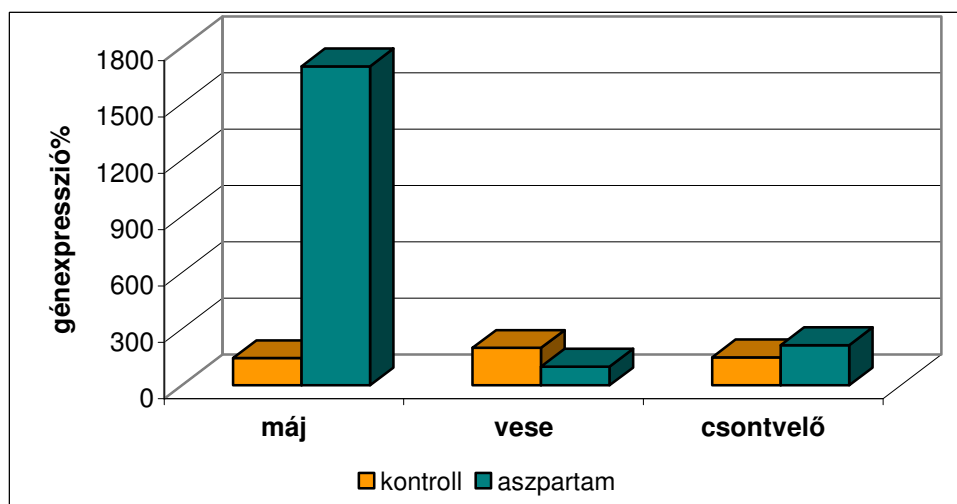
Az *Adh3* gén esetében, az aszpartamot krónikusan fogyasztó csoportban, a kontrollal összehasonlítva, minden esetben többszörös expressziót találtunk, ami a májban

kilencszeres, a vesében négyszeres, a csontvelőben közel háromszoros volt. (16. ábra)



16. ábra Az *Adh3* gén expressziói 25 hetes aszpartam expozíció után hímekben

A 17. számú ábrán az *Adh4* gén expressziós mintázatát ábrázoltuk. A májszövetben, a kontrollal összevetve, a kezelt egyedeknél, az *Adh4* mRNS koncentrációja esetén, közel tizenkétszeres szöveti expressziós értéket detektáltuk. A vesében a kezeletlen csoporthoz képest 50%-al kevesebb volt a gén kifejeződésének mértéke. A csontvelőben az aszpartam a gén szintjének másfélszeres emelkedését okozta.



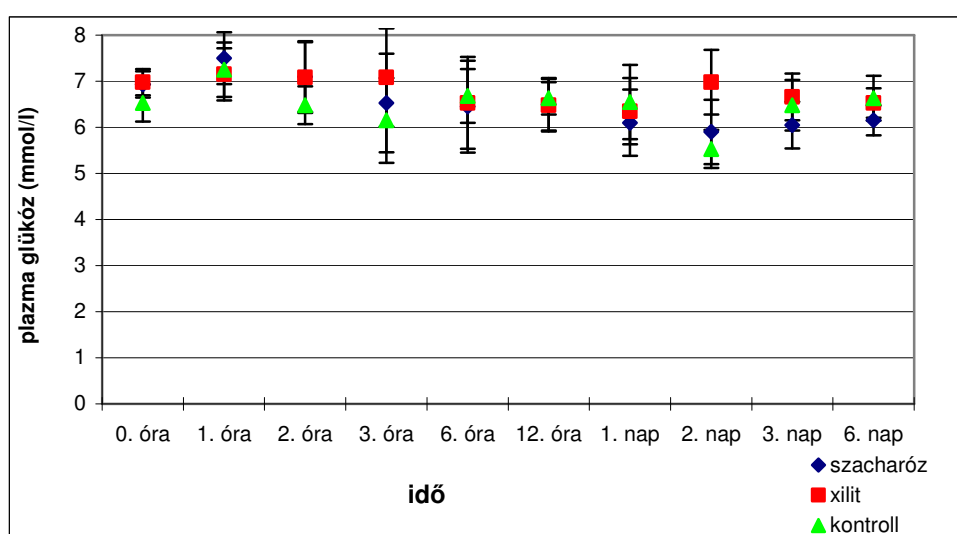
17. ábra Az *Adh4* gén expressziói 25 hetes aszpartam expozíció után hímekben

#### 5.4. Xilit hatása a plazma glükóz szintjének változására

Állatkísérletes modell segítségével tanulmányoztuk a xilit fogyasztás hatását F-344 hím és nőstény patkányoknak csapvízben feloldva, hogyan befolyásolja a plazma

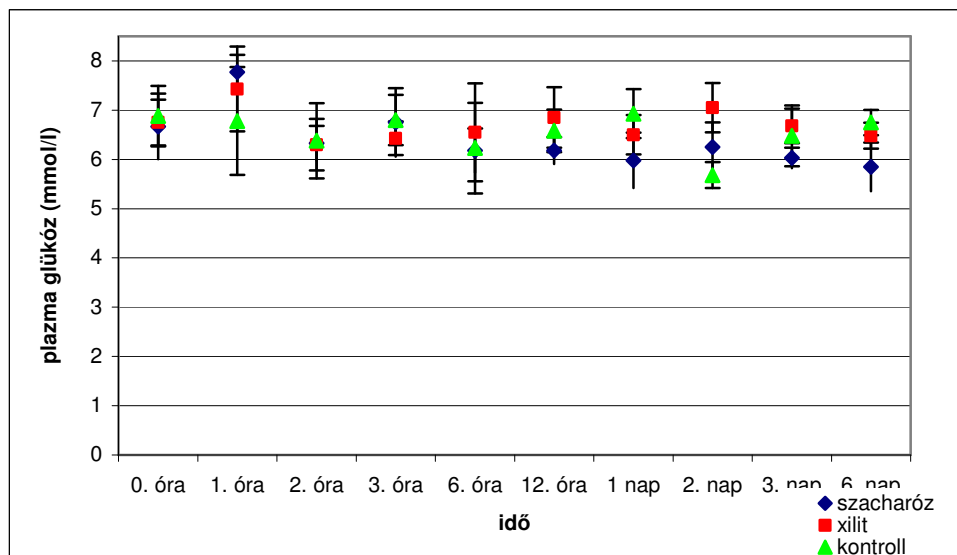
glükóz szintjét. A pozitív kontroll csoport ekvivalens mennyiségű szacharózt kapott csapvízben feloldva; a negatív kontroll csoport egyedei csapvízben részesültek. Első kísérletünkben az állatok a folyadékot és a táplálékot ad libitum fogyasztották. A plazma glükóz szintjének változásait 6 napig mértük. Az éhomi vércukorszinteket a 0. órában mértük, majd ezután adagoltuk az állatoknak a táplálékot.

Az egyedeknél, a plazma glükóz szint emelkedését befolyásolja a táp és/vagy a szacharóz, vagy xilit tartalmú folyadék fogyasztása. A xilit csoport estén nem tapasztaltunk nagyobb mértékű plazma glükóz kiugrásokat. A mérések során nem találtunk statisztikai különbséget a xilit csoport és a kontroll csoportok között. (18. ábra)



**18. ábra** Átlagos plazma glükóz szint változások hím egyedeknél

Hasonló eredményeket tapasztaltunk a nőstény egyedeknél is. A plazma glükóz szintje táplálékfogyasztás hatására, és/vagy a xilit tartalmú oldat fogyasztása következtében változott. Nem találtunk jelentős eltérést sem a pozitív, sem a negatív kontrollhoz képest. Az eredményeket a 19. ábra mutatja.

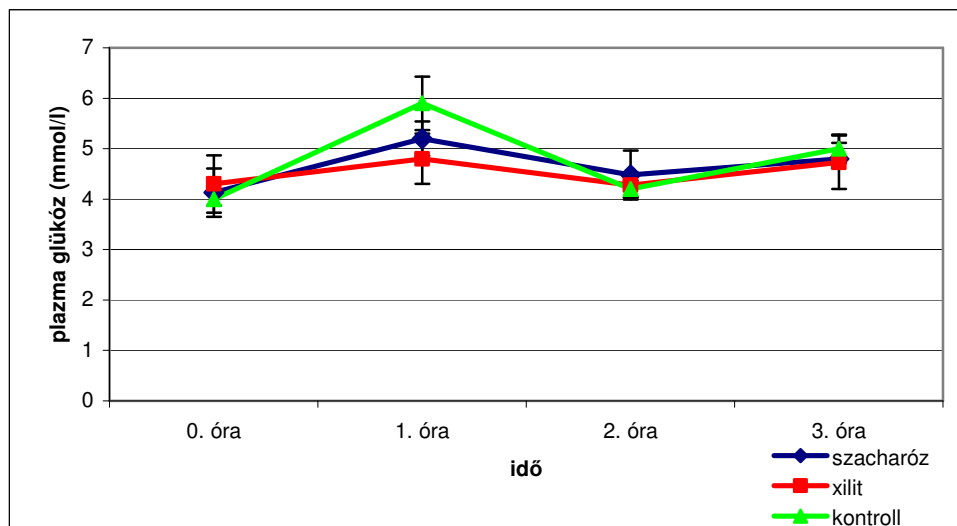


**19. ábra. Átlagos plazma glükóz szint változások nőtény egyedeknél**

Második kísérletünkben az egyedek nem részesültek tápban, azonban a folyadékot, melyben szintén xilitet, vagy szacharózt oldottunk fel csapvízben, ad libitum fogyaszthatták. A negatív kontroll csoport csapvizet fogyasztott szintén ad libitum. Az éhomi plazma glükóz szintet a 0. órában mértük, majd ezután fogyaszthatták az állatok a folyadékot. A szacharóz csoport átlagos éhgyomri értéke  $4,3 \pm 0,48$  mmol/l, a xilit csoporté  $4,3 \pm 0,56$  mmol/l, míg a kontroll csoporté  $4,13 \pm 0,13$  mmol/l volt.

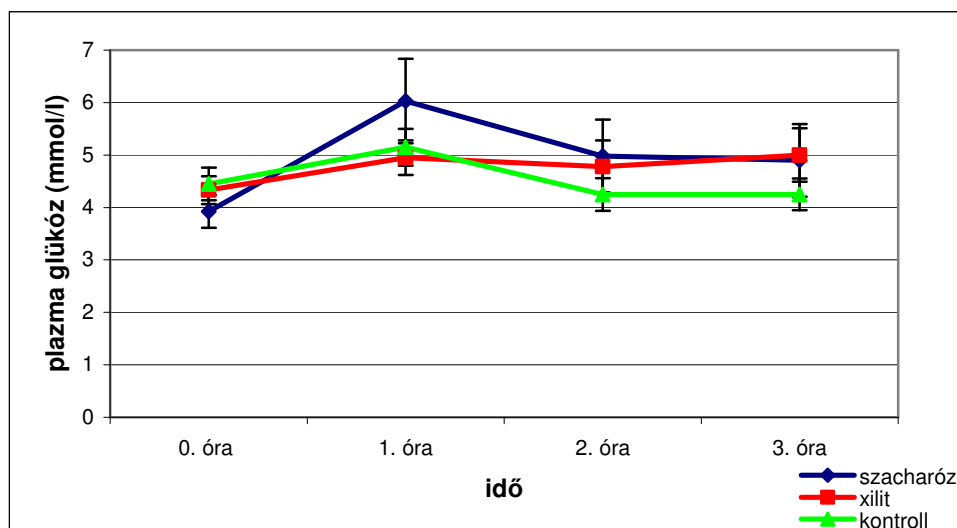
Az 1. óra után a szacharóz csoport átlagos glükóz szintje mutatta a legnagyobb emelkedést  $5,45 \pm 0,34$  mmol/l-t, a xilit csoportban  $4,8 \pm 0,49$  mmol/l-t, míg a csapvizet kontrollban  $5,2 \pm 0,53$  mmol/l-t mértünk. A 2. órában az inzulin hatása miatt a csoportok glükóz értékei csökkentek a szacharóz csoportban átlagosan  $5,08 \pm 0,49$  mmol/l, a xilit csoportban  $4,3 \pm 0,25$  mmol/l, a kontroll csoportban  $4,48 \pm 0,16$  mmol/l volt. A 3. órában az átlagos glükóz szintek a következőképpen alakultak: szacharóz csoport esetén  $5,1 \pm 0,31$  mmol/l, xilit fogyasztóknál  $4,72 \pm 0,25$  mmol/l, kontroll csoportban  $4,8 \pm 0,28$  mmol/l volt.

Statisztikai változást egyik esetben sem tapasztaltunk. Az eredményt a 20. ábra szemlélteti.



**20. ábra** Átlagos plazma glükóz szint változások hím egyedekben éheztetéskor

A nőstényeknél is hasonló eredményeket rögzítettünk. A kezdeti átlagos glükóz értékek a szacharóz csoportnál  $3,93 \pm 0,30$  mmol/l-t, a xilit csoportban  $4,3 \pm 0,26$  mmol/l-t, a csapvizet kontrollban  $4,45 \pm 0,31$  mmol/l-t mértünk. A folyadékfogyasztás után 1 órával a szacharóz csoportban emelkedett meg a legnagyobb mértékben ( $6,03 \pm 0,8$  mmol/l) a glükózszint, míg a xilit csoportban  $4,95 \pm 0,33$  mmol/l, a kontrollban  $5,15 \pm 0,35$  mmol/l volt. A 2. órában végzett mérésünk alapján a szacharóz oldatot fogyasztó egyedekben  $4,98 \pm 0,69$  mmol/l, a xilit csoportban  $4,78 \pm 0,49$  mmol/l, a kontroll csoportban  $4,25 \pm 0,31$  mmol/l glükóz értékeket tapasztaltunk. A 3. órában sem észleltünk jelentős változásokat egyik csoportban sem, a szacharóz csoport átlagos vércukorszintje  $4,9 \pm 0,69$  mmol/l, a xilit csoporté  $5 \pm 0,5$  mmol/l, a kontroll csoporté  $4,25 \pm 0,3$  mmol/l volt. A mért időpontokban egyik édesítőszer fogyasztása sem befolyásolta szignifikánsan a vércukorszinteket. (21. ábra)



21. ábra Átlagos plazma glükóz szint változások nőstény egyedekben éheztetéskor

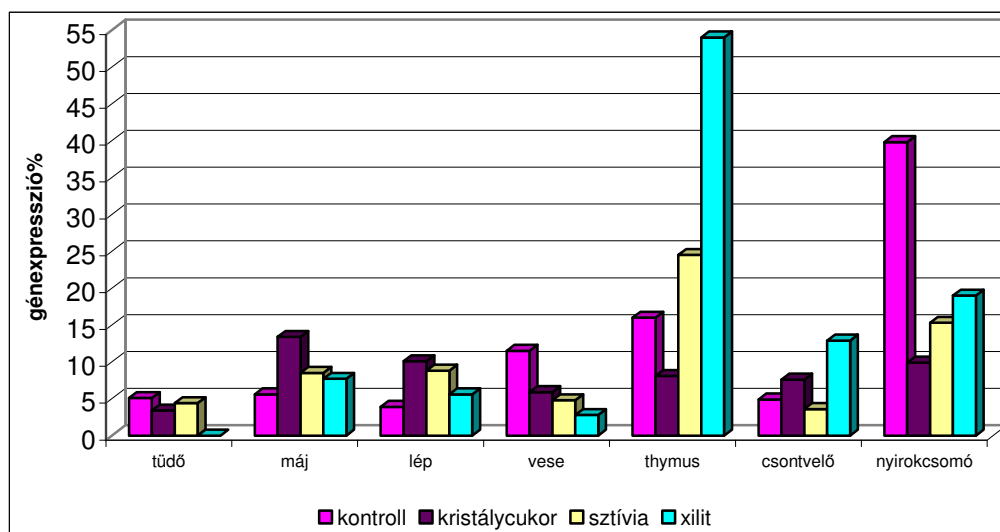
### 5.5. Sztívia és xilit fogyasztás hatása egyes kulcs onkogének és szupresszorgének expressziójára „*in vivo*”

Vizsgálatunkban „short term” állatkísérletes rendszerben tanulmányoztuk a sztívia és xilit fogyasztás, kulcsgének *p53* szupresszor gén, *c-myc*, *Ha-ras* *bcl-2*, *K-ras* onkogének expressziójának változására kifejtett hatását különböző szervekben (máj, csecsemőmirigy, tüdő, lép, csontvelő, nyirokcsomó, vese) az expozíció után 7 nappal. Kísérletünkben a negatív kontrollhoz tartozó nőstény BALB/c egerek csapvizet fogyasztottak. A negyedik csoport nőstény egyedei kristálycukor vizes oldatát fogyasztották.

A 22. ábrán az energiamentes természetes édesítővel, a sztíviával és az energiatartalmú cukoralkohollal a xilittel folytatott kísérletünk egyik eredménye látható. A sztíviás kezelés hatására, májban és thymusban másfélszeresére, a lépben több mint kétszeresére növekedett a *p53* gén kifejeződése a kontroll csoporthoz képest. A többi szervben (tüdőben, vesében, csontvelőben, nyirokcsomóban) a sztívia fogyasztás nem okozott jelentős különbséget. A kristálycukros csoporttal összevetve, a thymusban mért *p53* gén expressziós értéke háromszor nagyobb volt.

A *p53* gén expressziós spektruma az egyes szervek esetén eltérő képet mutatott a xilittel kezelt csoport esetében. Az expozíciót követően a thymusban és a csontvelőben háromszoros *p53* mRNS expressziót, a májban és a lépben emelkedett *p53* gén relatív koncentrációt (a  $\beta$ -aktinhoz képest) tapasztaltunk. A xilit hatására

kisebb expressziót találtunk a tüdőben, a vesében és a nyirokcsomóban. A kristálycukros csoporttal összevetve magasabb mRNA koncentrációt mértünk a thymusban, csontvelőben és a nyirokcsomóban. (22. ábra)



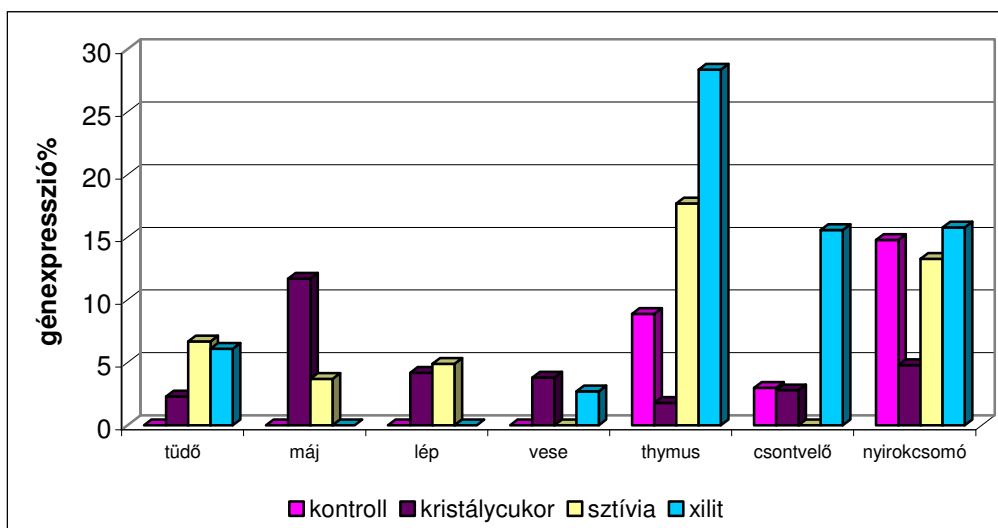
**22. ábra A p53 gén expressziós mintázata**

A sztívia fogyasztás a kezeletlen csoporttal összehasonlítva, a *c-myc* onkogén a tüdőben hatszoros, a májban háromszoros, a lépben közel ötszörös, a thymusban kétszeres expresszióját indukálta. A kristálycukros csoport *c-myc* mRNA koncentrációjához képest, a sztíviát fogyasztóknál a tüdőszövetben háromszor, thymusban tizennégyszer nagyobb expressziós értékeket mértünk.

A kontrollal összevetve, a xilit csoportban, *c-myc* expressziója háromszoros emelkedést mutatott a thymusban, ötszöröset a csontvelőben, és hatszorosat a tüdőben. Az említett szöveti koncentrációk magasabbak voltak, mint a kristálycukrot fogyasztóknál detektált szöveti *c-myc* mRNA koncentrációk. A *c-myc* vesében mért expressziós értéke 2,7-szerese volt a kontroll csoporténak, azonban ez nem haladta meg a kristálycukros csoport expressziós értékét.

Az eredményeket a 23. ábra prezentálja.

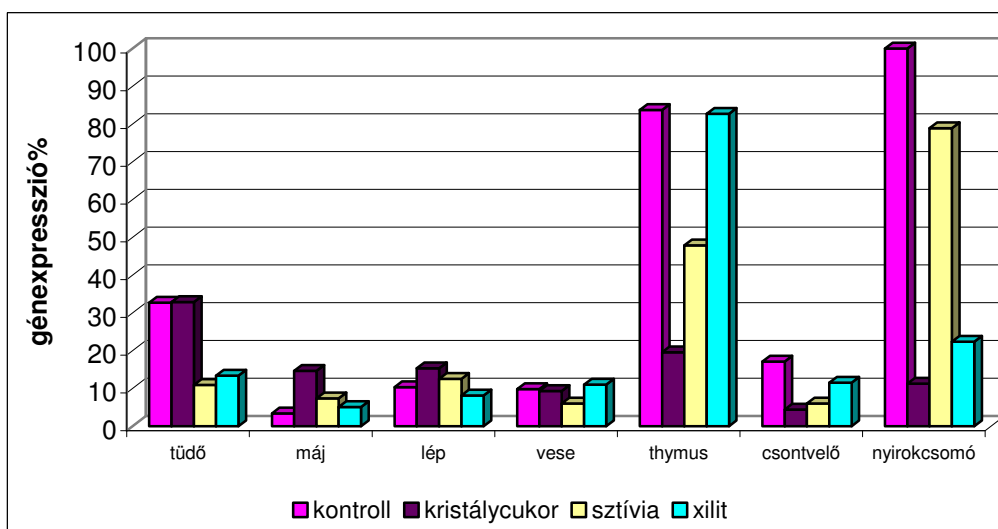




23. ábra A *c-myc* gén expressziós mintázata

A sztyviát fogyasztó egerek tüdejéből, veséjéből, thymusából, csontvelőjéből és nyirokcsomóiból izolált mRNS-ek koncentrációi alapján alacsonyabb génkifejeződést detektáltunk a *Ha-ras* onkogén esetében, mint a negatív kontroll egyedeiben. A májban és a lépben magasabb szöveti expressziót mértünk, amely azonban nem érte el a szacharózos csoport esetén mért értéket.

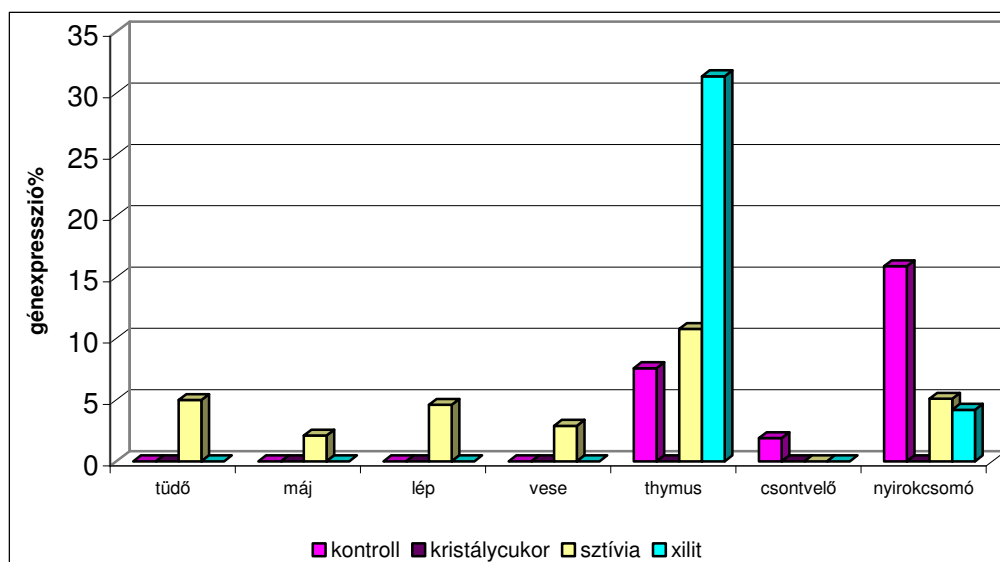
A kontrollal összevetve, a májban és vesében a xilit adagolása emelkedett értékű *Ha-ras* gén expressziót okozott. A többi vizsgált szerv esetén nem volt megfigyelhető számottevő növekedés a xilittel kezelt és a negatív kontroll csoport között. (24. ábra) Alulexpressziót indukált a xilit fogyasztása a tüdőben, lépben, csontvelőben és nyirokcsomóban.



24. ábra *Ha-ras* gén expressziós mintázata

A sztíviával kezelt csoport egereinek tüdőből, májból, lépből, veséből, thymusból származó szövetmintáiban magasabb *K-ras* génexpressziót mértünk, melyek mindegyike meghaladta a szacharózos csoportban detektált értékeket. A legnagyobb különbséget a tüdőben tapasztaltuk, ahol a *K-ras* relatív koncentrációja (a  $\beta$ -aktinhoz képest) ötszöröse volt a negatív kontrollénak. A csontvelőben és a nyirokcsomóban *K-ras* mRNS-e alacsonyabb koncentrációban volt jelen, mint a csapvizes csoportban.

A xilit csoportban egy esetben, a thymusban négyszer nagyobb mértékű mértékű expresszió jelentkezett, mely magasabb volt a kristálycukrot fogyasztó csoport egyedeiben mért szöveti expresszió értékénél. A többi szerv esetében a normál szinten lévő mRNS koncentrációt mértük. Az eredményeket a 25. számú ábra illusztrálja.

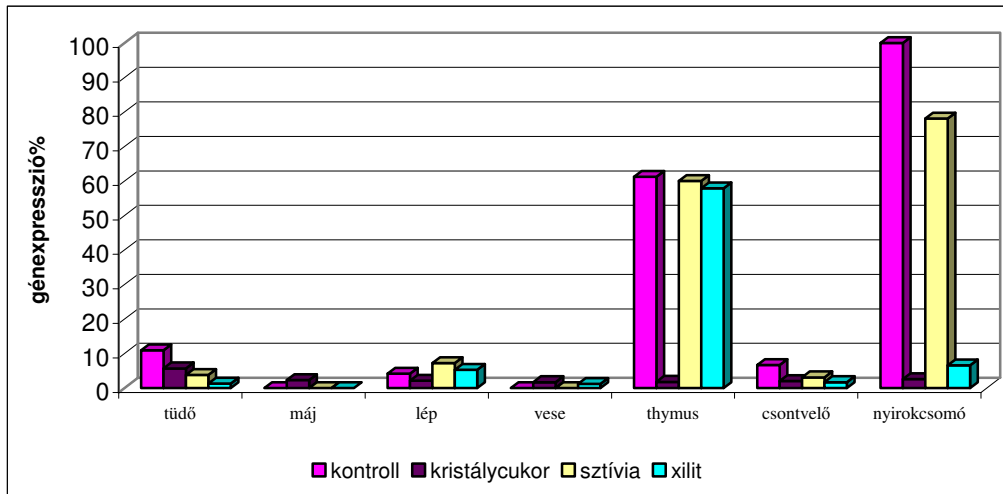


**25. ábra A *K-ras* gén expressziós mintázata**

A vizsgálatban alkalmazott egerek szöveteiből izolált mRNS alapján meghatározott génexpressziós profil szerint, a sztívia fogyasztása csak a lépben okozta a *bcl-2* gén 1,7-szeres kifejeződését. Ez az expressziós szint háromszor magasabbnak bizonyult, mint amit a szacharóz esetén mértünk. Az édesítőszer fogyasztása a csapvizes csoporttal összehasonlítva, a többi szervben alacsonyabb mennyiségű *bcl-2* gén expresszált.

A xilit expozíció is hasonló eredményeket mutatott, a lépben és a vesében növelte meg a gén kifejeződését, melyek közül a lépben detektált *bcl-2* mRNS koncentráció bizonyult magasabbnak a kristálycukrot fogyasztóknál kapott eredménynél.

Alacsony szöveti expressziós értékeket mértünk a többi vizsgált szervben (tüdő, máj, thymus, csontvelő, nyirokcsomó). A mérések eredménye 26. ábrán tekinthető meg.



**26. ábra A *bcl-2* gén expressziós mintázata**

## 6. Megbeszélés

A vizsgálatunk első részében, kereskedelmi forgalomban kapható mesterséges édesítőszer (aceszulfam-K, aszpartam, ciklamát, szacharin), valamint egy, az összes felsorolt mesterséges édesítőszer tartalmazó, energiaszegény italpor fogyasztásának hatását tanulmányoztuk.

Az aceszulfam-K fogyasztása nőstényeknél csökkentette a táplálékfelvétel mennyiségét, az átlagos testtömeget is csökkentett, de a csapvizet csoporttal összevetve jelentősen nem változtatta meg. A hímek tekintetében a folyadékfogyasztás mennyiségét szignifikánsan növelte. A növekedés oka nem magyarázható az édesítőszer édes ízével, ugyanis az egerek, nem érzékelik az aceszulfam-K-t édesnek.

A legtöbbet vitatott édesítőszer, az aszpartam, egyik nem esetében sem befolyásolta számottevően a vizsgált paramétereket. Meg kell azonban jegyezni, 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.

Az eredmények alapján a szacharinos oldat fogyasztása mindkét nemben szignifikánsan megnövelte a testtömeget. A nőstény egyedeknél az elfogyasztott táplálék mennyisége nem változott, azonban az átlagosan elfogyasztott szacharinos oldat mennyisége közel szignifikánsan nagyobb volt a kontroll csoport által fogyasztott átlagos mennyiséghez képest. Feltételezhetjük, hogy a nagyobb testtömeg kialakulásában szerepet játszhatott a megnövekedett folyadékbevitel.

A hím egyedek, bár szignifikánsan nagyobb testtömeget értek el a vizsgálat végére, táplálkozási és folyadékfogyasztási szokásaik, valamint az állatok által elfogyasztott mennyiségek nem változtak jelentősen. A szacharin testtömegnövelő hatásáról számoltak be Swithers és Davidson kutatásai is. A kutatók szerint, a tömegnövekedés oka, a szervezetben kialakuló pavlovi reflexszel összefüggésbe hozható mechanizmus érvényesülésének megakadályozása. Véleményünk szerint az édes íz fogyasztása után a szervezet felkészül egy nagyobb kalóriatartalmú táplálék fogadására. Mesterséges édesítőszer fogyasztása után azonban elmarad a magas kalória-bevitel és a vércukorszint emelkedése. Az elmaradó magas kalória-bevitel

megzavarja a szervezetet és ennek kompenzálása céljából kevésbé lesz képes a táplálékbevitel kontrolljára, több kalóriát igényel.<sup>128</sup>

Vizsgálatunk esetében, azonban nem tapasztaltunk növekedést a táplálékfogyasztás mennyiségében. Arra vonatkozólag nem találtunk adatot, hogy a mesterséges édesítőszer fogyasztása módosítani tudja az energia egyensúlyt függetlenül a makrotápanyagok bevitelétől, azonban számos tanulmány felveti az édesítőszer lehetséges szerepét az energiaszabályozásban.<sup>129, 130, 131</sup>

A hím egyedeknél a csapvizet fogyasztó csoporttal összehasonlítva, a ciklamát oldat fogyasztása jelentősen nagyobb testtömeget eredményezett, azonban az elfogyasztott táplálék-és folyadékfogyasztás mennyisége nem változott. A ciklamát alapú édesítőszer ciklamát szacharin 10:1 arányú keverékéből állt. Az oldatot az első két hétben a legnagyobb mennyiségben fogyasztották a csoportban lévő hímek, majd ez lecsökkent és kontroll közeli mennyiség fogyott a kísérlet fennmaradó ideje alatt. Ennek oka az lehet, hogy az oldatot kevésbé érzékelték az egyedek édesnek. Az alkalmazott asztali édesítőszer nem kizárólagosan ciklamátot tartalmazott, elenyésző mennyiségben szacharint is. A szacharinos kiegészítést a gyártó a ciklamát édes ízének növelése érdekében alkalmazza. A kísérletben alkalmazott egerek a ciklamát édes ízét nem érzékelik.<sup>132</sup>

A ciklamát testtömegnövelő hatásáról nem találtunk releváns kísérleti eredményeket, ezért nem tudjuk összevetni eredményeinket.

A kontrollal összehasonlítva az energiaszegény italpor fogyasztása hímeknél a táplálék és folyadékfogyasztást, nőstényeknél az összes vizsgált paramétert jelentősen csökkentette. Strominger patkányokon végzett kísérletében leírta, hogy a csökkentett folyadékbevitel mellett az elfogyasztott táplálék mennyisége is csökken, valamint a csökkent táplálékfogyasztással, párhuzamosan csökken a folyadék bevitel mennyisége.<sup>133</sup> Az eredmények oka lehet, hogy a kísérlet kezdetén az oldatokban gombafonalak alakultak ki, melyeket később leoltattunk, kitenyészítettünk. A kitenyészített gombák mikrobiológiai meghatározás alapján *Microascus* spp., *Candida tropicalis*, *Candida krusei* fajokhoz tartoztak.<sup>121</sup> Mindhárom gombafaj megjelent a különböző ízesítésű italporokban, a kóla ízesítésű kivételével.

A mikrobiológiai vizsgálat eredménye miatt nem lehet kimondani egyértelműen, hogy a testtömeg, táplálék- és folyadékfogyasztás csökkenését az energiaszegény italpor mesterséges édesítőszer tartalma okozta.

A vizsgáltunkban számos kérdés merült fel. A kérdések megválaszolása érdekében szeretnénk egy hosszabb távú, nagyobb egyedszámú tanulmányt végezni.

Vizsgálataink második részében, az aszpartam lebomlásából származó metanol hatását vizsgáltuk az alkohol-dehidrogenáz enzimeket kódoló génekre CBA/Ca egerekben, két expozíciós időintervallumban.

Az egerekben a különböző alkohol-dehidrogenáz enzimeket kódoló gének expressziós mintázata szövetenként eltérő. Az aszpartam lebomlásából származó metanol a májban oxidálódik, az alkohol-dehidrogenáz 1 enzim hatására. Az átalakulás eredményeképpen formaldehid keletkezik, mely formaldehid-dehidrogenáz enzim hatására formáltá alakul. Lajtha és mtársai, Butchko és mtársai kutatási eredményei szerint az édesítőből származó metanol nem okozhat a szervezetben problémát, mert felszabadulási mennyisége jóval a mérgező szint alatt van.<sup>134,135</sup> A gyümölcsökből, gyümölcslevekből, alkoholos üdítőitalokból felszabaduló metanol mennyisége magasabb, mint az aszpartamból felszabaduló.

Trocho és mtársai szerint azonban az aszpartam veszélyes mérge, mert a belőle származó formaldehid aktív H atomja kötődni képes fehérjékhez és nukleinsavakhoz addukt formájában.<sup>60</sup>

A 14 hetes vizsgálatban, egyik szervben sem tapasztaltuk az aszpartam expozíció okozta változást az *Adh1* enzimet kódoló gén kifejeződésében. A vesében az *Adh3* gén mRNS koncentrációját találtuk magasabbnak. Az *Adh4* gén a metanol lebontásában szerepet játszó metabolizáló enzimet kódolja, melynek májszöveti expressziója emelkedett meg, valószínűleg a metanol oxidációja miatt. Összességében, a rövidebb távú vizsgálatunkban, a kontrollal összevetve, nem tapasztaltunk nagyobb mértékű expressziót egyik gén esetén sem.

A 25 hetes kezelésnél számottevőbb változásokat figyelhettünk meg a vizsgált gének esetében. Összehasonlítva a nőstények eredményeit, a hosszabb távú krónikus aszpartam kezelésnél, az *Adh1* gén nagyobb mértékű expressziós szintjét detektáltuk a májban és a vesében. Az *Adh1* gén leggyakrabban a májban expresszálódik, eredményeink szerint a nőstényeknél a hosszabb távú aszpartam expozíció növeli az alkohol-dehidrogenáz enzimet kódoló fehérje kifejeződésének mértékét.

Figyelemre méltó eredményeket kaptunk az *Adh3* gén expressziós mintázatának változásában. Ez a gén a formaldehid eliminációjának kinetikájáért felelős.

A tanulmányozott egyedekben, a kontrollal összehasonlítva, az *Adh3* májszöveti expressziója többszörösen nagyobb volt a hosszabb expozíciónak kitett nőstény és hím csoportokban. A rövidebb távú vizsgálathoz képest, a szubkrónikusan adagolt aszpartam jelentős mértékű expressziót eredményezett a nőstényekben a májban és a vesében.

Az *Adh4* gén esetében, tizenkétszeres mRNS expressziót mértünk a májszövetben a hímeknél, a nőstényeknél minden vizsgált szervben többszörös mértékű expressziót, a máj esetén overexpressziót detektáltunk a kontrollhoz képest. Ebben az esetben is a szubkrónikusan adagolt aszpartam jelentősebb mértékben megnövelte a metanol lebontásában szerepet játszó gén kifejeződését nőstény egyedekben.

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 alkohol-dehidrogenáz, vagy formaldehid-dehidrogenáz enzimek aktivitásának növekedése, változása.<sup>136</sup>

A hosszabb távú expozíciónak kitett egyedeknél a vizsgált gének nagy mértékű expressziója utalhat a szervezetben a metanol és formaldehid, mint toxikus metabolitok, gyorsabb clearance-re.

Kis mértékű aszpartam fogyasztás esetén az alkohol-dehidrogenázok aktivitása alacsony, felmerül a kérdés, hogy a bomlástermékek felszaporodása lehet-e a felelős a megnövekedett enzimaktivitásért és a többszörös mértékű expresszióért? 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.

A xilit plazma glükóz szintre gyakorolt hatását kívántuk vizsgálni „short term” állatkísérletes modellen keresztül. Kísérletünkben F344 hím és nőstény patkányoknak a javasolt beviteli mennyiségben xilitet oldottunk fel csapvízben. Az első kísérletben az állatok ad libitum fogyaszthattak tápot és folyadékot. A második kísérletben, az egyedek folyadékot fogyaszthattak ad libitum, azonban táplálékot nem adagoltunk nekik. Mindkét esetben a xilittel ekvivalens mennyiségű szacharózt oldottunk fel csapvízben. A negatív kontroll csoport egyedei csapvizet fogyasztottak. Első kísérletünkben, a vércukor növekedését a xilit hatása mellett nagyban befolyásolta az elfogyasztott táplálék is.

A xilit fogyasztása a vizsgált egyedeknél lassan emelte a vércukorszintet. Éheztetés esetén a xilit mindkét nemben egyenletes, lassú vércukorszint emelkedéseket okozott és a plazma glükóz szintje minden esetben a normál tartományon belül maradt. A nemzetközi irodalommal összehasonlítva hasonló eredményeket kaptunk a xilit plazma glükóz szintet befolyásoló hatásáról.

Kauko és társai a xilit metabolikus hatását vizsgálták patkányokon, és azt tapasztalták, hogy a xilit fogyasztása lassan emelte meg a plazma glükóz szintjét.<sup>137</sup>

Natah és társai vizsgálata szerint a xilit fogyasztása kis mértékben befolyásolja a vércukorszint változásait.<sup>138</sup>

A xilit alacsony glikémiás indexű édesítőszer. 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.

A PTE ÁOK Orvosi Népegészségtani Intézet által kifejlesztett állatkísérletes modell segítségével a karcinogenezis korai molekuláris epidemiológiai biomarkereit vizsgáltuk. Sztívia és xilit hatását vizsgáltuk a *c-myc*, *Ha-ras*, *bcl-2*, *K-ras* protoonkogének illetve *p53* tumorszupresszor gén expressziós változásaira.

A karcinogenezis többlépcsős folyamatát figyelembe véve feltételezhető, hogy a (proto)onkogéneket és tumor szupresszor géneket ért véletlenszerű mutációk a génexpresszióban is kifejeződhetnek.<sup>139,140</sup> A vizsgált gének jelentős mértékű expressziós változásai olyan környezeti típusú expozíciót jelezhetnek, amelyek a sejt életét negatív irányba befolyásolják, ezért expozíciós markereknek tekinthetők.



A *p53* tumorszupresszor gén DNS károsodás hatására lép működésbe, megállítja a sejtciklust, lehetőséget adva a hibák kijavítására, vagy a programozott sejthalálra, ezáltal emelkedett expressziója a DNS károsító hatást jelzi. Gombos és mtársai vizsgálatában különböző dózisban adagolt mesterséges energiamentes édesítőszer, az aszpartam hatását vizsgálták „short term” állatkísérletes modellben *p53* szupresszor gén, *Ha-ras* és *c-myc* onkogének expressziós mintázatára.<sup>64</sup>

Gombos és mtársai munkájához hasonlóan *p53* gén jelentős mértékű expresszióját tapasztaltunk a thymusban és a csontvelőben, valamint emelkedettebb génkifejeződést a májban a xilit expozíció hatására. Sztívia a májban, lépben és thymusban indukált többszörös mértékű expressziót. A kapott eredményeket mindenképpen prediktív értékűnek kell tekintenünk.

A daganat kialakulásában a másik korai biomarker a *c-myc* gén, aminek expressziója főképp kémiai karcinogének hatására emelkedhet meg.<sup>141</sup> A sztívia expozíció a tüdőben, lépben és a thymusban jelentős mértékű expressziót okozott, ezekben az esetekben a kapott eredmények a kristálycukros csoportnál is magasabbak voltak. A kontrollhoz képest a májszövetben is többszörös mértékű expressziót detektáltunk, de ez nem haladta meg a kristálycukrot fogyasztó csoport expressziós szintjét. A xilit a tüdőben, thymusban, csontvelőben és a vesében túlzott mértékű *c-myc* mRNS koncentrációt eredményezett. Gombos és mtársai is hasonló eredményeket kaptak az aszpartam esetében, különösen a limforetikuláris szervekben mért expressziók tekintetében.

A daganatképződés iniciációs fázisában karcinogének hatására a *ras* gének aktiválódnak a leggyakrabban.<sup>142</sup>

Ellentétben korábbi vizsgálatokkal, a *Ha-ras* onkogén expressziós mintázatát nézve, egyik édesítőszer expozíciója sem növelte meg nagyobb mértékben az expressziót a vizsgált szervekben.<sup>64</sup>

Gombos és mtársai azokban a szervekben tapasztaltak jelentős mértékű gén overexpresszió, amelyekben a „long term” karcinogenitási tanulmányokban, jelentősen megnövekedett a daganatok előfordulása.<sup>47</sup> Soffritti és mtársai, az aszpartam hatását tanulmányozták krónikus karcinogenitási vizsgálatukban. Az édesítőszer hatására központi idegrendszerben, a hemo- és limforetikuláris rendszerben és a húgyúti rendszerben tapasztalták rosszindulatú daganatok szignifikáns megjelenését.<sup>46,47</sup>

Kapcsolódva Gombos és társainak munkájához, a „short term” xilit és sztívia expozíció jelen vizsgálatunkban is ezekben a szervekben okozott többszörös mértékű expressziót a *p53*, *c-myc* génekben.

A *K-ras* overexpressziójának és mutáció útján történő aktiválódásának szerepe van daganatképződés iniciáció és a progresszió fázisában, valamint metasztázis képződésben is.<sup>143</sup> „Short term” vizsgálatunkban mindkét édesítőszer hatására a magas proliferációs rátával rendelkező sejtekből felépülő thymusban tapasztaltunk magasabb expressziót. A sztíviával kezelt csoportban a tüdőben, májban, lépben, vesében tapasztaltunk még nagy mértékű expressziót.

A *bcl-2* gén túlzott mértékű kifejeződése csökkenti a daganatos sejtek apoptózis rátáját.<sup>144</sup> Kísérletünkben mindkét édesítőszer esetében csupán emelkedettebb expressziót mértünk. A gén overexpressziója B- és T-sejtes limfómák kialakulásakor gyakori.<sup>114</sup>

A génexpresszió változások mérésével lehetőség nyílik a környezeti kémiai ágensek expozíciójának korai kimutatására és a biológiai hatás mérésére. Alkalmazott vizsgálatunk, szenzitív korai stádiumban lévő génszintű eltéréseket jelez. A kísérletben alkalmazott génekkel különböző pontokon lehet monitorozni a karcinogenezis korai változásait.<sup>145</sup> A génexpressziók változásai alapján kijelenthető, hogy a vizsgált édesítők mérhető biológiai hatással rendelkeznek, befolyásolhatják a karcinogenezis (ki)alakulását. Mindenképpen figyelmet érdemelnek a limforetikuláris szervekben detektált jelentős változások, mivel ezek a szervek magas proliferációs rátájú sejtekből épülnek fel; valamint az aszpartam fogyasztás hatását vizsgáló hosszú távú karcinogenitási tanulmányokban a daganatok előfordulása ezekben a szervekben volt nagy mértékű.

Az eredmények azért tekinthetők jelző értékűnek, mert az édesítőszer a kereskedelmi forgalomból származnak, a fogyasztók közvetlenül az általunk vizsgált összetétellel fogyasztják, alkalmazzák

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 karcinogenitási vizsgálatnak, szenzitív állatokban, más gének bevonásával.

## 7. Összefoglalás

Az adalékanyagok közül az E900-999 csoportba tartoznak az édesítőszer. Az édesítőszer az 1333/2008/EK rendelet meghatározása szerint olyan adalékanyagok, amelyek édes ízt kölcsönöznek az élelmiszernek vagy az asztali édesítőszernek.

Az élelmiszer-előállításban a szacharóz helyettesítésére használható ideális édesítőszernek számos kritériumnak kell megfelelnie. Az élelmiszeripar szempontjából fontos, hogy az édesítőszer vízoldható legyen, valamint a hő és pH tartományok változásai után, és az adott termékben a tárolás során stabil maradjon. A fogyasztó szempontjából lényeges hogy színtelen, szagtalan, édesítőképessége megegyező legyen, vagy haladja meg a szacharózét, illetve ne legyen utó- és mellékíze. Nem elhanyagolható szempont, hogy a többi adalékanyaghoz hasonlóan, az egészséget nem károsíthatják, nem lehet toxikus, vagy karcinogén hatásuk, az anyagcsere-folyamatok során változatlan formában, vagy bomlással ürüljenek ki a szervezetből.<sup>146</sup>

A kereskedelmi forgalomban használt édesítőszer mindegyike megfelelt a kötelező engedélyezési eljárás követelményeinek, azonban számos tanulmány felveti az édesítőszer esetleges egészséget károsító, testtömegnövelő vagy karcinogén hatását.

Vizsgálatunk célja az volt, hogy feltárjuk, egyes kereskedelmi forgalomba kapható édesítőszer fogyasztása befolyásolja-e a testtömeg alakulását, a táplálék- és folyadékfogyasztás mennyiségét; hatással lehetnek-e egyes kulcsonkogének és tumorsupresszor gén kifejeződésére. Szerettük volna összehasonlítani, hogy azonos mennyiségben adagolt, de időben eltérő kísérletek között, a lebontásban szerepet játszó enzimeket kódoló gének kifejeződéseiben tapasztalunk-e különbséget. A vizsgálatokban kapott eredmények elemzésével a vizsgálatunkban résztvevő édesítőszer fogyasztásának hatásáról teljesebb képet kaphatunk.

Az eredmények összegzése a disszertáció elején megfogalmazott hipotézisek alapján történt.

Állatkísérletben vizsgáltuk kereskedelmi forgalomba kapható asztali típusú édesítőszer és egy energiaszegény italpor fogyasztásának hatását nőstény és hím egerekben. Az irodalomban erre vonatkozólag számos egymásnak ellentmondó eredmény született. Egyes kísérleti eredmények szerint a mesterséges édesítőszer

nem befolyásolják a táplálék- és folyadékfogyasztás mennyiségét, alkalmasak a testtömeg megtartására, vagy csökkentésére. Más eredmények szerint egyes mesterséges édesítőszeres fogyasztása növeli a táplálékfelvétel mennyiségét, ezzel hozzájárulhatnak a túlsúly, vagy elhízás kialakulásához.

Vizsgálatunk eredménye szerint, a szacharin fogyasztása szignifikáns testtömeg növekedést eredményezett mindkét nem egyedeiben. A hímeknél számottevő testtömeg növekedést idézett elő a ciklamátot tartalmazó oldat fogyasztása. A növekedés hátterében nőstényeknél állhat a szacharinos oldat nagyobb mennyiségű fogyasztása, azonban a hímek esetében nem tapasztaltunk változást sem, a táplálék- sem a folyadékfogyasztásban.

A vizsgálatban az energiaszegény italport fogyasztó nőstények és hím táplálék- és folyadékfogyasztási szokásai jelentősen elmaradtak a kontroll csoporthoz képest. Az italpor különböző ízesítésinek elkészítése során gombafonalak alakultak ki az itatóban, emiatt nem lehet egyértelműen kijelenteni, hogy az italporban lévő mesterséges édesítőszeres fogyasztása okozta a szignifikáns csökkenést.

A hipotézisünk az eredmények alapján nem igazolódott. A kísérlet során számos kérdés fogalmazódott meg, ezért tervezünk egy hosszabb távú vizsgálatot a témában.

A mesterséges édesítőszeresek közül az aszpartam a legtöbbet vizsgált vegyület.<sup>147</sup> A szervezetben három fő alkotójára bomlik le, aszparaginsavra, fenilalaninra, metanolra. A bomlástermékeit számos tünet, betegség (tumороk, szív-és érrendszeri betegségek, pszichiátriai zavarok, immunproblémák, idegrendszeri és látászavarok, emésztési, urológiai és nőgyógyászati problémák) kialakulásával hozzák összefüggésbe. Az EFSA felülvizsgálata alapján megerősítette az aszpartam biztonságos státuszát, melyet az OÉTI is átvett.<sup>148, 149</sup>

Bomlástermékek közül, a metanol lebontását vizsgáltuk állatkísérletes módszerben. A kísérletekben az állatoknak adagolt kereskedelmi forgalomba kapható aszpartamot oldottunk fel csapvízben, melynek mennyisége változatlan volt mindkét kísérlet alatt, az expozíciós idő tekintetében az első kísérlet 14 hétig, a második kísérlet 25 hétig tartott. A metanol és a formaldehid eliminációjának kinetikájáért az alkohol-dehidrogenáz izoenzimeket kódoló gének felelősek.

A vizsgálat eredményei alátámasztották a korábbi hipotézisünket. A hosszabb expozíciós idejű vizsgálatban az *Adh1*, *Adh3*, *Adh4* gének overexpresszióját tapasztaltuk. Az overexpressziók jelezhetik a génekhez tartozó alkohol-dehidrogenáz

enzimek kinetikájának változását, illetve a bomlástermékek gyorsabb mértékű clearance-t.

Az eredmények alapján feltételezhető, hogy a hosszabb távú aszpartam expozíció befolyásolhatja a vizsgált gének expressziós szintjét, a metabolizáló enzimek katalitikus aktivitását, ami metabolitok felszaporodásához vezethet, ezáltal rizikótényezője lehet rák kialakulásának. Ebben az esetben a legnagyobb rizikócsoportok a cukorbeteg, fogyókúrászok és a gyerekek lehetnek, hiszen az aszpartammal édesített termékekből ők fogyasztanak a legtöbbet.

„Short term” állatkísérletes modellben mértük a xilit fogyasztás hatását a plazma glükóz szintjére normál táplálékfogyasztási lehetőségekkel, majd éheztetés során.

Hipotézisünk szerint, a xilit fogyasztása egyenesen emeli meg a vércukorszintet. Mindkét kísérletünk eredménye alátámasztotta a feltételezésünket. A xilit fogyasztás lassú, egyenes vércukor emelkedést okozott a vizsgált egyedekben és minden esetben a normál plazma glükóz tartományon belül maradt.

„Short term” állatkísérletes tesztrendszer segítségével vizsgáltuk xilit és sztívia tartalmú oldat fogyasztásának hatását a karcinogenezis szempontjából fontos kulcsgének (*c-myc*, *Ha-ras*, *K-ras*, *bcl-2*, *p53*) expressziós mintázatára. Feltételezésünk szerint az édesítőszer fogyasztása hatással lehet a vizsgált gének expressziójára.

A sztívia és a xilit tekintetében is detektáltuk többszörös mértékű expressziót, különösen figyelmet érdemelnek a limforetikuláris szervekben mért változások, a feltételezésünk ezek alapján beigazolódott. A génexpressziók növekedése és a többszörös mértékű expresszáció detektálás azt mutatta, hogy az édesítőknak kvantifikálható biológiai hatásuk van. Kísérletünk eredményét jelző értékűnek tekinthetjük az édesítő fogyasztása, vagy a beviteli mennyiségük tekintetében, hiszen állatkísérletben gén overexpressziót okoztak, ami expozíciót jelezhet. Vizsgálatainkban alkalmazott kulcsgének segítségével kiszűrhetők az expozíció követő korai molekuláris szintű genetikai változások, ezáltal lehetőség van az expozíció csökkentésére, megszüntetésére.

Újabb „long term” kísérleteket tartunk szükségesnek a xilit és sztívia onko- és szupresszor génekre kifejtett késői hatásának vizsgálatához.

Vizsgálataink eredményei jelző értékűek, mert az édesítőszer a kereskedelmi forgalomból származnak, a fogyasztók közvetlenül az általunk vizsgált összetétellel fogyasztják, alkalmazzák.

A táplálkozás során számos egészséget károsító élelmiszert fogyasztunk el, melynek egy részét képezik a mesterségesen, élelmiszeripari technológiai folyamatokkal bekerülő élelmiszeralkotók. Ezek közé tartoznak az édesítőszer is. Tanulmányok sora vizsgálta az édesítőszer esetleges egészséget károsító hatásait, azonban a kapott eredmények ellentmondásosak.

Az édesítőszer nagy számban és mennyiségben kerülnek a forgalomba, az asztali édesítőkön kívül számos élelmiszerben, üdítőitalban, vitaminkészítményekben, rágógumikban, pezsgőtablettákban stb. is megtalálhatók. A hagyományos táplálkozás mellett, az édesítőszernek nagy szerepük van még az energiaszegény diéta, valamint a cukorbetegség étrendi kezelésében. A táplálkozástudomány egyik feladata, hogy egyértelművé tegye, hogy az édesítőszer fogyasztása biztonságos, nem károsítja az egészséget.

## 8. Új eredmények

### 8.1. Mesterséges édesítőszeres testtömeg változásra, táplálék-folyadékfogyasztásra gyakorolt hatásuk

1. A szacharinos oldat fogyasztása jelentősen megnövelte a hím és nőstény egyedek testtömegét. Nőstények szignifikánsan több folyadékot fogyasztottak, mint a kontroll csoport egyedei.
2. Az aszpartamot tartalmazó oldat fogyasztása egyik nem esetében sem befolyásolta statisztikailag a vizsgált paramétereket.
3. A ciklamátos oldat esetében szignifikánsan nagyobb lett a testtömeg a hím egyedeknél, a kontroll csoporthoz képest.
4. Az aceszulfam-K tartalmú oldat hatására jelentősen megnőtt a folyadékfogyasztás mennyisége hím egyedeknél.
5. 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 nagy mértékben befolyásolta a mérési eredményeinket.
6. A kapott eredmények alapján megkérdőjelezhető a mesterséges édesítőszeres testtömeg megtartó, vagy csökkentő hatása.

### 8.2. Aszpartam fogyasztás hatása az alkohol-dehidrogenáz enzimeket kódoló gének kifejeződésére

1. A 14 hetes aszpartam expozíció nem, vagy kis mértékben befolyásolta a vizsgált gének expresszióját.
2. A szubkrónikus aszpartam fogyasztás az *Adh1* gén jelentős mértékű expresszióját okozta a kezelt nőstényeknél és a hímeknél a májban.
3. A 25 hétig adagolt aszpartam hatására, a kontroll csoporthoz képest, a nőstény és hím csoportban többszörös mértékű expressziót detektáltunk az *Adh4* gén tekintetében a májban és a csontvelőben.

4. A hosszabb távú kísérletben az aszpartam *Adh3* gén overexpressziót okozott a nőstényeknél a májban, vesében. A kezelt hím egyedek tekintetében, a májban, vesében csontvelőben detektáltunk jelentős mértékű *Adh3* gén expressziót.

### **8.3. Xilit hatása a plazma glükóz szintjének változására**

1. A xilit fogyasztása egyenletesen emelte meg a vércukorszintet a hím és nőstény F-344 patkányokban.
2. Éheztetés esetén, a xilit tartalmú oldat lassan, egyenletesen emelte meg a plazma glükóz szintjét mindkét nem esetében.
3. Kísérleteinkben a xilit indukálta vércukorszint változások a normál tartományba estek.

### **8.4. Xilit és sztívia hatása a kulcs tumorszupresszor és onkogének expresszáldására**

1. A *p53* tumor szupresszor gén tekintetében, a kontroll csoporttal összevetve, a sztívia fogyasztás a májban, lépben és thymusban indukálta a gén többszörös mértékű expresszióját.
2. A xilit expozíció hatására, akontrollhoz képest a *p53* gén jelentős mértékű expresszióját tapasztaltuk a thymusban és a csontvelőben, valamint emelkedettebb génexpressziót a májban.
3. A sztívia fogyasztás a tüdőben, lépben és a thymusban nagy mértékű *c-myc* gén expressziókat okozott, melyek a kontrollnál is magasabb értékűek voltak.
4. A xilit a tüdőben, thymusban, csontvelőben és a vesében túlzott mértékű *c-myc* gén kifejeződést eredményezett.
5. A *Ha-ras* onkogén expressziós mintázatát egyik édesítőszer expozíciója sem növelte meg nagyobb mértékben.
6. Xilit hatására a magas proliferációs aránnyal rendelkező sejtekből felépülő thymusban detektáltunk nagyobb mértékű *K-ras* gén kifejeződést.
7. A sztíviával kezelt csoportban a tüdőben, májban, lépben, vesében, thymusban mértük *K-ras* gén többszörös expresszióját.
8. A *bcl-2* gén esetében, a kontroll csoporttal összehasonlítva, mindkét édesítőszer tekintetében csupán emelkedettebb gén expressziókat mértünk.



## **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.*

## 9. Irodalomjegyzék

---

<sup>1</sup> Salminen, S., Hallikainen, A.: Sweeteners. In: Branen, A. L., Davidson, P. M., Salminen, S., Thorngate, J. H. (Szerk.): Food Additives. 2. kiadás. Marcel Dekker, New York, USA, 447-476. (2001)

<sup>2</sup> <http://portal.ksh.hu/pls/ksh/docs/hun/xftp/stattukor/elelmfogy/elelmfogy09.pdf>  
(Pécs, 2011.09.20)

<sup>3</sup> Lásztity, R.: Mesterséges édesítőszeres és cukorhelyettesítők, *Sütőiparosok, pékek*. 50(1): 35-37. (2003)

<sup>4</sup> Nagy, F.: A colorectalis tumorok szűrésének lehetősége, a családorvos feladatai a betegek ellátásában, *Hippocrates*.3(1): 11-13. (2001)

<sup>5</sup> AZ EURÓPAI PARLAMENT ÉS A TANÁCS 1333/2008/EK Rendelete az élelmiszer-adalékanyagokról (2008)  
<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:HU:PDF> (Pécs, 2011.08.12)

<sup>6</sup> A BIZOTTSÁG 2008/60/EK IRÁNYELVE az élelmiszerekben használható édesítőszeres különleges tisztasági követelményeinek megállapításáról (2008)  
<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2008L0060:20100708:HU:PDF> (Pécs, 2011.08.12)

<sup>7</sup> MÉ 1-2-2008/60 számú előírása az élelmiszerekben használható édesítőszeres tisztasági követelményeiről (2009) [http://www.omgk.hu/Mekv/1/12200860\\_2009.pdf](http://www.omgk.hu/Mekv/1/12200860_2009.pdf)  
(Pécs, 2011.08.12)

<sup>8</sup> Sohár, P.: Élelmiszer-adalékanyagok. *Képzés egy életen át*. 6(1): 7-14. (2006)

<sup>9</sup> MÉ 1-2-94/35 számú előírása, Élelmiszerben felhasználható édesítőszeres és azok felhasználható mennyisége (2009) <http://www.omgk.hu/Mekv/1/129435.pdf>

<sup>10</sup> Price, J.M., Biava, C.G., Oser, B.L., Vogin, E.E., Steinfeld, J., Ley, H.L: Bladder tumors in rats fed cyclohexylamine or high doses of a mixture of cyclamate and saccharin. *Science*. 167(3921):1131-1132. (1970)

<sup>11</sup> Bryan, G.T. Ertürk, E. Yoshida, O.: Production of urinary bladder carcinomas in mice by sodium saccharin. *Science*. 168(3938):1238-1240 (1970)

<sup>12</sup> Takayama, S., Sieber, S. M., Adamson, R. H., Thorgerirsson, U. P., Dalgard, D. W., Arnold, L. L., Cano, M., Eklund, S., Cohen, S. M.: Long-term feeding of sodium saccharin to nonhuman primates: Implications for urinary tract cancer. *J Natl Cancer Inst*. 90(12):19-25. (1998)

- 
- <sup>13</sup> Turner, S.D., Tinwell, H., Piegorsch, W., Schmezer, P., Ashby, J.: The male rat carcinogens limonene and sodium saccharin are not mutagenic to male Big Blue rats. *Mutagenesis*. 16(4):329-32. (2001)
- <sup>14</sup> Bakal, A. I., Nabors, O'B., L.: Saccharin In O'Brien Nabors L. (szerk): Alternative sweeteners. 4. kiadás Marcel Dekker, New York, USA pp 151-159. (2011)
- <sup>15</sup> Renwick, A.G.:The disposition of saccharin in animals and man - a review. *Food Chem Toxicol*. 23(4-5):429-35. (1985)
- <sup>16</sup> Byard, J.L., Golberg, L.: The metabolism of saccharin in laboratory animals. *Food Cosmet Toxicol*. 11(3): 391-402. (1973)
- <sup>17</sup> Byard, J.L., McChesney, E.W., Golberg, L., Coulston, F.: Excretion and metabolism of saccharin in man. II. Studies with 14-C-labelled and unlabelled saccharin. *Food Cosmet Toxicol*. 12(2):175-184. (1974)
- <sup>18</sup> Hooson, J., Hicks, R.M., Grasso, P., Chowaniec, J.: Ortho-toluene sulphonamide and saccharin in the promotion of bladder cancer in the rat. *Br J Cancer*. 42(1):129-147. (1980)
- <sup>19</sup> Fukushima, S., Cohen, S.M: Saccharin-induced hyperplasia of the rat urinary bladder. *Cancer Res*. 40(3):734-736. (1980)
- <sup>20</sup> Yang, J., Duerksen-Hughes, P.: A new approach to identifying genotoxic carcinogens: p53 induction as an indicator of genotoxic damage. *Carcinogenesis*. 19(6):1117-1125. (1998)
- <sup>21</sup> Klug, C., Lipinski, Von R. G-W.: Acesulfame Potassium In O'Brien Nabors L (szerk): Alternative sweeteners. 4. kiadás Marcel Dekker, New York, USA pp 13-30. (2011)
- <sup>22</sup> SCF: Opinion Re-evaluation of acesulfame K with reference to the previous SCF opinion of 1991. (Expressed on 9 March 2000) SCF/CS/ADD/EDUL/194 final (Pécs, 2011.08.12)
- <sup>23</sup> Magyar élelmiszerkönyv (Codex Alimentarius Hungaricus): Az élelmiszerekben használható édesítőszeres tisztasági követelményei, 1-2-95/31 számú előírás, 3. kiadás (2005)  
<http://www.omgk.hu/Mekv/1/129531.pdf> (Pécs, 2011.08.12)
- <sup>24</sup> Eszterle, M.: A cukor és az édesítőszeres. *Cukoripar*. 55(4): 144-154. (2002)
- <sup>25</sup> Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: ACESULFAME POTASSIUM  
[http://www.ingredients.co.nz/images/Ace\\_JEFCA.pdf](http://www.ingredients.co.nz/images/Ace_JEFCA.pdf) (Pécs, 2011.08.12)
- <sup>26</sup> IPCS INCHEM: ACESULFAME POTASSIUM  
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v28je13.htm> (Pécs, 2011.08.17)

- 
- <sup>27</sup> Mukherjee, A., Chakrabarti, J.: *In vivo* cytogenetic studies on mice exposed to acesulfame-K a non-nutritive sweetener. *Food Chem Toxicol.* 35(12):1177-1179. (1997)
- <sup>28</sup> Mukhopadhyay, M., Mukherjee, A., Chakrabarti, J.: *In vivo* cytogenetic studies on blends of aspartame and acesulfame-K. *Food Chem Toxicol.* 38(1):75-77. (2000)
- <sup>29</sup> Bandyopadhyay, A., Ghoshal, S., Mukherjee, A.: Genotoxicity testing of low-calorie sweeteners: aspartame, acesulfame-K, and saccharin. *Drug Chem Toxicol.* 31(4):447-57. (2008)
- <sup>30</sup> Hunt F., Bopp B.A, Price P.: Cyclamate. In O'Brien Nabors L (szerk): *Alternative sweeteners 4*. Kiadás Marcel Dekker, New York, USA pp 93-116. ISBN 978-1-4398-4614-8 (2011)
- <sup>31</sup> Price, J. M., Biava, C. G., Oser, B. L., Vogin, E. E., Steinfeld, J., and Ley, H. L.: Bladder tumors in rats fed cyclohexylamine or high doses of a mixture of cyclamate and saccharin. *Science.* 167(3921):1131–1132. (1970)
- <sup>32</sup> Drasar, B.S., Renwick, A.G., Williams, R.T.: The role of the gut flora in the metabolism of cyclamate. *Biochem J.* 129(4):881-90. (1972)
- <sup>33</sup> Oser, B. L., Carson, S., Cox, G. E., Vogin, E. E., and Sternberg, S. S.: Chronic toxicity study of cyclamate: saccharin (10:1) in rats. *Toxicology.* 4(3):315–330. (1975)
- <sup>34</sup> James, R. W., Heywood, R., and Crook, D.: Testicular responses of rats and dogs to cyclohexylamine overdose. *Food Cosmet Toxicol.* 19(3):291–296. (1981)
- <sup>35</sup> SCF: Revised Opinion On Cyclamic acid and its sodium and calcium salts, (Expressed on 9 March 2000) SCF/CS/EDUL/192 final 13 March (2000) [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out53\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out53_en.pdf) (Pécs, 2011.05.21)
- <sup>36</sup> FAO. *Sodium Cyclamate*. Combined Compendium of Food Additive Specifications 2007. <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/details.html?id=636> (Pécs, 2011.05.21)
- <sup>37</sup> [http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec\\_307.htm](http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec_307.htm) (Pécs, 2011.05.21)
- <sup>38</sup> Collings, A.J.: Metabolism of cyclamate and its conversion to cyclohexylamine. *Diabetes Care.* 12(1):50-55. (1989)
- <sup>39</sup> Renwick, A.G., Williams, R.T.: The fate of cyclamate in man and other species. *Biochem J.* 129(4):869-879. (1972)
- <sup>40</sup> Oser, B. L., Carson, S., Cox, G. E., Vogin, E. E., and Sternberg, S. S.: Long-term and multigeneration toxicity studies with cyclohexylamine hydrochloride. *Toxicology.* 6(1):47–65. (1976)

- 
- <sup>41</sup> Knowles, M.A., Jani, H., Hicks, R.M.: Induction of morphological changes in the urothelium of cultured adult rat bladder by sodium saccharin and sodium cyclamate. *Carcinogenesis*. 7(5):767-74. (1986)
- <sup>42</sup> Takayama, S., Renwick, A. G., Johansson, S. L., Thorgeirsson, U. P., Tsutsumi, M., Dalgard, D. W., Sieber, S. M.: Long-term Toxicity and carcinogenicity study of cyclamate in nonhuman primates, *Toxicol Sci*. 53(1): 33-39. (2000)
- <sup>43</sup> Brusick, D., Cifone, M., Young, R., Benson, S. : Assessment of the genotoxicity of calcium cyclamate and cyclohexylamine. *Environ Mol Mutagen*.14(3):188-99. (1989)
- <sup>44</sup> Olney, J. W., et al.: "Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cysteine," *Nature*. 227(5258):609-611. (1970)
- <sup>45</sup> EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to a new long-term carcinogenicity study on aspartame. *The EFSA Journal* 356:1-44. (2006)
- <sup>46</sup> Soffritti, M., Belpoggi, F., Esposti, D.D. and Lambertini, L.: Aspartame induces lymphomas and leukaemias in rats. *Eur. J. Oncol*. 10:107-116. (2005)
- <sup>47</sup> Soffritti, M., Belpoggi, F., Esposti, D.D., Lambertini, L., Tibaldi, E. and Rigano, A.: First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. *Env. Health Perspect*. 114 (3):379–385. (2006)
- <sup>48</sup> Updated opinion on a request from the European Commission related to the 2<sup>nd</sup> ERF carcinogenicity study on aspartame, taking into consideration study data submitted by the Ramazzini Foundation in February 2009;  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1015.pdf> (Pécs, 2011.09.12)
- <sup>49</sup> Butchko, H.H., Stargel, W.W.: Aspartame: scientific evaluation in the postmarketing period. *Regul Toxicol Pharmacol*. 34(3): 221-233. (2001)
- <sup>50</sup> Abegaz, G. E., Mayhew, A. D., Butchko H.H., Stargel, W.W., Comer C.P., Andress, S.E.: Aspartame In O'Brien Nabors L (szerk): Alternative sweeteners. 4. kiadás Marcel Dekker, New York, USA pp 57-76. (2011)
- <sup>51</sup> Garriga, M. Opperman, J.A.: Aspartame metabolism in animals. In: *Aspartame Physiology and Biochemistry* (Stegink, L.,D., Filer, L.J., Jr. (eds). New York, Dekker, pp. 141–159. (1984)
- <sup>52</sup> Opperman, J.A: Aspartame metabolism in animals. In: *Aspartame physiology and biochemistry* (Stegink, L.,D., Filer, L.J., Jr. (eds). New York, Dekker, pp. 141–159. (1984)
- <sup>53</sup> Monte C., W.: Aspartame: Methanol and the public health. *J Applied Nutr*. 36(1):42-54 (1984)

- 
- <sup>54</sup> Petrișor, C., Máthé, J.: Methanol poisoning risk of aspartamic containing cooling drinks consumer. *J Prev Med.* 12(3-4): 75-79. (2004)
- <sup>55</sup> Davoli, E., Capellini, L., Airoidi, L., Fanelli, R.: Serum methanol concentrations in rats and in men after a single dose of aspartame. *Food Chem Toxic.* 24(3):187-189. (1986)
- <sup>56</sup> Cook, M.R., F.J. Bergman, et al.: "Effects of methanol vapor on human neurobehavioral measures," Research Report. No. 42, Health Effects Institute, 141 Portland Street, Suite 7300, Cambridge, MA 02139, (617) 621-0266. (1991)
- <sup>57</sup> Liesivuori, J. and Savolainen, H.: Methanol and formic acid toxicity: biochemical mechanisms. *Pharm and toxic.* 69(3):157-163. (1991)
- <sup>58</sup> Fujimaki, H., Imai, T., Befus, D.: Mast cell response to formaldehyde 2. Induction of stress-like proteins. *Int Arch Allergy Immunol.* 4(98): 324-331. (1992)
- <sup>59</sup> Shaham, J., Y., Bomstein, A., Meltzer, Z., Kaufman, E., Palma, J., Ribak: "DNA--protein crosslinks, a biomarker of exposure to formaldehyde--*in vitro* and *in vivo* studies," *Carcinogenesis.* 17(1):121-125. (1996)
- <sup>60</sup> Trocho, C., Pardo, R., Rafecas, I., Virgili, J., Remesar, X., Fernández-López, J.A., Alemany, M.: Formaldehyde derived from dietary aspartame binds to tissue components in vivo. *Life Sci.* 63(5):337-349. (1998)
- <sup>61</sup> Magnuson, B. A., Burdock, G. A., Doull, J., Kroes, R. M., Marsh, G. M., Pariza, M. W., Spencer, P. S., Waddell, W. J. et al.: "Aspartame: A safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies". *Crit Rev Toxicol.* 37(8): 629-727. (2007)
- <sup>62</sup> Lim, U., Subar, A.F., Mouw, T., et al.: Consumption of aspartame-containing beverages and incidence of hematopoietic and brain malignancies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 15(9):1654-1659. (2006)
- <sup>63</sup> Soffritti, M., Belpoggi, F., Tibaldi, E., Esposti, D.D., Lauriola, M.: Life-span exposure to low doses of aspartame beginning during prenatal life increases cancer effects in rats. *Environ Health Perspect.* 115(9):1293-7. (2007)
- <sup>64</sup> 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):89-92. (2007)
- <sup>65</sup> Dubois, L., Farmer, A., Girard, M., Peterson, K.: Regular sugar-sweetened beverage consumption between meals increases risk of overweight among preschool-aged children. *J Am Diet Assoc.* 107(6):924-34. (2007)
- <sup>66</sup> Chen, L., Appel, L.J., Loria, C., Lin, P.H., Champagne, C.M., Elmer, P.J., Ard, J.D., Mitchell, D., Batch, B.C., Svetkey, L.P., Caballero, B.: Reduction in consumption of sugar-sweetened beverages is associated with weight loss. *Am J Clin Nutr.* 89(5):1299-306. (2009)

- 
- <sup>67</sup> Bray, G.A., Nielsen, S.J., Popkin, B.M.: Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr.* 79(4):537–43. (2004)
- <sup>68</sup> Lutsey, P.L., Steffen, L.M., Stevens, J.: Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation.* 117(6):754-61.; (2008)
- <sup>69</sup> Nettleton, J. A., Polak, J.F., Tracy, R., Burke, G.L., Jacobs, D.R.: Dietary patterns and incident cardiovascular disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* 90:647–54. (2009)
- <sup>70</sup> Blundell JE, Hill AJ. Paradoxical effects of an intense sweetener (aspartame) on appetite. *Lancet.* 10(1): 1092-3. (1986)
- <sup>71</sup> Tordoff, M.G., and Alleva, A.M.: Effect of drinking soda sweetened with aspartame or high-fructose corn syrup on food intake and body weight. *Am J Clin Nutr.* 51(6):963-969. (1990)
- <sup>72</sup> Rogers, P.J., Blundell, J.E.: Separating the actions of sweetness and calories: effects of saccharin and carbohydrates on hunger and food intake in human subjects. *Physiol Behav.* 45(6):1093-1099 (1989)
- <sup>73</sup> Swither, S., Baker, C. R., Davidson, T. L.: General persistent effects of high intensity sweeteners on body weight gain and caloric compensation on rats. *Behav Neuroscience.* 123:(4) 772-780. (2009)
- <sup>74</sup> Blackburn, G. L., Kanders, B. S., Lavin, P.T., Keller, S.D., and Whatley, J.: The effect of aspartame as part of a multidisciplinary weight-control program on short- and long-term control of body weight. *Am J Clin Nutr.* 65(2):409-418.(1997)
- <sup>75</sup> Raben, A., Vasilaras, T. H., Møller, A. C., Astrup, A.: Sucrose compared with artificial sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subjects. *Am J Clin Nutr.* 76(4): 721-729. (2002)
- <sup>76</sup> Swithers, SE., Martin, A. A., Davidson, T.L.: High-intensity sweeteners and energy balance. *Physiol Behav.* 100(1):55–62. (2010)
- <sup>77</sup> Carakostas, M., Prakash, I., Kinghorn, A., Wu, C.D., Soejarto, D.D.: Steviol glycosides In O'Brien Nabors L (szerk): Alternative sweeteners. 4. kiadás Marcel Dekker, Inc., New York, pp159-176. (2011)
- <sup>78</sup> <http://www.nytimes.com/2008/12/18/business/18sweet.html> (Pécs, 2011.06.12.)
- <sup>79</sup> <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:295:0205:0211:HU:PDF> (Pécs, 2011.12.12.)

- 
- <sup>80</sup> Lindley, M.: Other Sweeteners. In: Mitchell H. (szerk.): Sweeteners and sugar alternatives in food technology. Blackwell Publishing, Oxford, Egyesült Királyság, pp. 231-364. (2006)
- <sup>81</sup> Phillips, K. C.: Stevia: steps in developing a new sweetener. in T.H. Grenby ed. *Developments in sweeteners*, Elsevier Applied Science pp.1-43. (1989)
- <sup>82</sup> Kinghorn, A.D., Wu, C.D. and Soejarto, D.D.: Stevioside. In O'Brien Nabors L (szerk): Alternative sweeteners. 3. Kiadás Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 167–183. (2001)
- <sup>83</sup> Scientific Opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive EFSA Panel on food additives and nutrient sources added to food. *EFSA Journal* 8(4):1537. (2010)  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1537.pdf> (Pécs, 2011.04.16.)
- <sup>84</sup> Roberts, A., Renwick, A.G.: Comparative toxicokinetics and metabolism of rebaudioside A, stevioside, and steviol in rats. *Food Chem Toxicol.* 46(7): S31-S39. (2008)
- <sup>85</sup> Koyama, E., Sakai, N., Ohori, Y., Kitazawa, K., Izawa, O. et al.: Absorption and metabolism of glycosidic sweeteners of stevia mixture and their aglycone, steviol, in rats and humans. *Food Chem Toxicol.* 41(6):875-83. (2003)
- <sup>86</sup> Wheeler, A., Boileau, A.C., Winkler, P.C., Compton, J.C., Prakash, I., Jiang, X., Mandarino, D.A.: Pharmacokinetics of rebaudioside A and stevioside after single oral doses in healthy men. *Food Chem Toxicol.* 46(7):S54-S60. (2008)
- <sup>87</sup> Toyoda ,K., Matsui, H., Shoda, T., Uneyama, C., Takada, K., Takahashi. M.: Assessment of the carcinogenicity of stevioside in F344 rats. *Food Chem Toxicol.* 35(6):597-603. (1997)
- <sup>88</sup> Temme, H.M.E., Vankeirsbilck, A., Buyse, J. and Geuns, J., M.C.: A short-term study of stevioside in healthy subjects. The proceedings of the first symposium : "The Safety of Stevioside" ISBN 90-742-53024 (2004)
- <sup>89</sup> Matsui, M., Matsui, K., Kawasaki, Y., Oda, Y., Noguchi, T., Kitagawa, Y., et al.: Evaluation of the genotoxicity of stevioside and steviol using six *in vitro* and one *in vivo* mutagenicity assays. *Mutagenesis.* 11(6): 573-579. (1996)
- <sup>90</sup> Scheinin, A., Mäkinen, K.K., Ylitalo, K.: Turku sugar studies. V. Final report on the effect of sucrose, fructose and xylitol diets on the caries incidence in man. *Acta Odontol Scand.* 34(4):179-216. (1976)
- <sup>91</sup> <http://www.d-et.com/articlePool/xylitolJECFA.pdf> (Pécs, 2011.10.24)



- 
- <sup>92</sup> 19/2004. (II. 26.) FVM-ESzCsM-GKM együttes rendelet az élelmiszerek jelöléséről  
[http://net.jogtar.hu/jr/gen/hjegy\\_doc.cgi?docid=A0400019.FVM](http://net.jogtar.hu/jr/gen/hjegy_doc.cgi?docid=A0400019.FVM) (Pécs, 2011.08.12)
- <sup>93</sup> Zacharis, C., Stowell, J: Xylitol In O'Brien Nabors L (szerk): Alternative sweeteners. 4. kiadás Marcel Dekker, New York, USA pp. 349-378. (2011)
- <sup>94</sup> <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/Additive-491.pdf>
- <sup>95</sup> Kandelman, D.: Sugar, alternative sweeteners and meal frequency in relation to caries prevention: new perspectives. *Br J Nutr.* 77(1) S121-128. (1997)
- <sup>96</sup> <http://tudatosvasarlo.hu/eszam/e-967-xilit> (Pécs, 2011.10.24)
- <sup>97</sup> Ylikahri, R.: Metabolic and nutritional aspects of xylitol. *Adv Food Res.* 25:159–180. (1979)
- <sup>98</sup> Bond, M. and N. Dunning, N.: Xylitol in Sweeteners and sugar alternatives in food technology. Szerk:H. L. Mitchell; ISBN-13-978-14051-3434-7. Blackwell Publishing Ltd (2006)
- <sup>99</sup> IPCS INCHEM: 569. XYLITOL (WHO Food Additives Series 18)  
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v18je16.htm> (Pécs, 2011.09.25.)
- <sup>100</sup> Doll, R., Peto, R.: The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst.* 66(6):1191-308. (1981)
- <sup>101</sup> Hu, J., La Vecchia, C., Morrison, H., Negri, E., Mery, L.: Salt, processed meat and the risk of cancer. *Eur J Cancer Prev.* 20(2):132-9. (2011)
- <sup>102</sup> Norat, T., Bingham, S., Ferrari, P., Slimani, N., Jenab, M. et al.: Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. *J Natl Cancer Inst.* 97(12):906-16. (2005)
- <sup>103</sup> Rogers, M.A., Vaughan, T.L., Davis, S., Thomas, D.B.: Consumption of nitrate, nitrite, and nitrosodimethylamine and the risk of upper aerodigestive tract cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 4(1):29-36. (1995)
- <sup>104</sup> Ember, I.: *Környezetünk és a rák.* A Rák ellen az Emberért, a Holnapért Társadalmi Alapítvány, Budapest. (1993)
- <sup>105</sup> Dictor, M., Ehinger, M., Mertens, F., Akervall, J., Wennerberg, J.: Abnormal cell cycle regulation in malignancy. *Am J Clin Pathol.* 112(1): S40-52. (1999)
- <sup>106</sup> Walker, D.R., Bond, J.P., Tarone, R.E., Harris, C.C., Makalowski, W., Boguski, M.S., Greenblatt, M.S.: Evolutionary conservation and somatic mutation hotspot maps of p53: correlation with p53 protein structural and functional features. *Oncogene.* 18(1):211-218, (1999)

- 
- <sup>107</sup> Kozma, L., Kiss, I., Nagy, A., Szakall, Sz., Ember, I.: Investigation of c-myc and K-ras amplification in renal clear cell adenocarcinoma. *Cancer Lett.* 111(1-2): 127-131. (1997)
- <sup>108</sup> Ember, I., Kiss, I., Ghodrattollah, N., Raposa, T.: Effect of ABVD therapeutic protocol on oncogene and tumor suppressor gene expression in CBA/Ca mice. *Anticancer Res.* 18(2A):1149-1152. (1998)
- <sup>109</sup> Harris, C., Hollstein, M.: Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *New Engl J Med.* 329:1318-1327. (1993)
- <sup>110</sup> Ádány, R., Kásler, M., Ember, I., Kopper, L., Thurzó, L.: *Az onkológia alapjai*, Medicina Könyvkiadó. Rt., Budapest (1997)
- <sup>111</sup> Kahlenberg, M.S., Sullivan, J.M., Witmer, D.D., Petrelli, N.J.: Molecular prognostics in colorectal cancer. *Surg Oncol.* 12(3) 173-86. (2003.)
- <sup>112</sup> Hershko, T., Ginsberg, D.: Up-regulation of Bcl-2 homology (BH3)-only proteins by E2F1 mediates apoptosis. *J Biol Chem.* 279 (10): 8627–8634. (2004)
- <sup>113</sup> Ember, I., Kiss, I., Sándor, J.: Daganatepidemiológia Daganatprevenció In: Ádány, R., Kásler, M., Ember, I., Kopper, L., Thurzó, L. (eds) *Az onkológia alapjai* Medicina Könyvkiadó. Rt., Budapest (1997.)
- <sup>114</sup> Ember, I., Kiss, I., Sándor, J., Fehér, K., Németh, K., Lukács, P.: Korai biomarkerek használata a prevencióban Az expozíció, a korai hatás és az egyéni érzékenységek markerei. *LAM* . 13(7):547–554. (2003)
- <sup>115</sup> Vonesch, J.L., Nakshatri, H., Philippe, M., Chambon, P., Dollé, P: Stage and tissue-specific expression of the alcohol dehydrogenase 1 (Adh-1) gene during mouse development. *Dev Dyn.*199(3):199-213. (1994)
- <sup>116</sup> Zgombi-Knight, M., Ang, H.L., Foglio, M.H., Duester, G.: Cloning of the mouse class IV alcohol dehydrogenase (retinol dehydrogenase) cDNA and tissue-specific expression patterns of the murine ADH gene family. *J Biol Chem.* 270(18):10868-77.(1995)
- <sup>117</sup> Haseba, T., Kameyama, K., Mashimo, K., Ohno, Y: Dose-dependent change in elimination kinetics of ethanol due to shift of dominant metabolizing enzyme from ADH 1 (Class I) to ADH 3 (Class III) in mouse. *Int J Hepatol.* 2012: 408190. (2012)
- <sup>118</sup> Yang, S.J., Wang, H.Y., Li, X.Q, et al.: Genetic polymorphisms of ADH2 and ALDH2 association with esophageal cancer risk in southwest China. *World J Gastroenterol.* 13(43):5760-5764. (2007)
- <sup>119</sup> Garcia, S.M., Curioni, O.A., de Carvalho, M.B., Gattás, G.J.: Polymorphisms in alcohol metabolizing genes and the risk of head and neck cancer in a Brazilian population. *Alcohol Alcohol.* 45(1):6-12. (2010)

- 
- <sup>120</sup> Hashibe, M., Boffetta, P., Zaridze, D., Shangina, O., Szeszenia-Dabrowska, N., et al.: Evidence for an important role of alcohol- and aldehyde-metabolizing genes in cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 15(4):696-703. (2006)
- <sup>121</sup> Wolher Veronika: Mesterséges édesítőszer hatáseinak vizsgálata a táplálékfelvételtre, folyadékfogyasztásra. *Szakkolgozat* (2008)
- <sup>122</sup> Mannering, G.J., VanHarnen, D.R., Makar, A.B., Tephly, T.R., Watkins, W.D., Goodman, J.I.: Role of intracellular distribution of catalase in the peroxidative oxidation of methanol. *Ann. NY Acad. Sci.* 168(2):265-280. (1969)
- <sup>123</sup> Tephly, T.R., Parks, R.E., Mannering, G.J.: Methanol metabolism in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 143: 292-300. (1964)
- <sup>124</sup> Teschke, R., Hasumura, Y., Lieber, C.S.: Hepatic microsomal alcohol-oxidizing system. Affinity for methanol, ethanol, propanol, and butanol. *J. Biol. Chem.*, 250(18):7397-7404.(1975)
- <sup>125</sup> Kono, H., Bradford, B.U., Yin, M., et al.: CYP2e1 is not involved in early alcohol-induced liver injury. *Am J Physiol.* 277(6):G1259–G1267. (1999)
- <sup>126</sup> Weiner, M.L., Freeman, C., Trochimowicz, H., et al.: 13-Week drinking water toxicity study of hydrogen peroxide with 6-week recovery period in catalase-deficient mice. *Food Chem Toxicol.*38(7):607–615. (2000)
- <sup>127</sup> Vasiliou, V., Ziegler, T.L., Bludeau, P., Petersen, D.R., Gonzalez, F.J., Deitrich, R.A.: CYP2E1 and catalase influence ethanol sensitivity in the central nervous system. *Pharmacogenet Genomics.* 16(1):51–58 (2006)
- <sup>128</sup> Swithers SE, Davidson TL: A role for sweet taste: Calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behav Neurosci.* 122(1):161–173. (2008)
- <sup>129</sup> Cummings, DE., Overduin, J.: Gastrointestinal regulation of food intake. *J Clin Invest.* 117(1):13–23. (2007)
- <sup>130</sup> Murphy, KG., Bloom, SR.: Gut hormones and the regulation of energy homeostasis. *Nature.* 444 (7121):854–885. (2006)
- <sup>131</sup> Seeley, RJ., York, D., A.: Fuel sensing and the central nervous system (CNS): Implications for the regulation of energy balance and the treatment for obesity. *Obes Rev.* 6 (3):259–265 (2005)
- <sup>132</sup> Bachmanov, A., A., Tordoff, M.,G., Beauchamp, G., K.: Sweetener preference of C57BL/6ByJ and 129P3/J mice. *Chem Senses.* 26(7):905–913. (2001)
- <sup>133</sup> Strominger JL. The relation between water intake and food intake in normal rats with hypothalamic hyperphagia. *Yale J Biol and Med.* 19(3):279–288. (1947)

- 
- <sup>134</sup> Lajtha, A., Reilly, M.A., Dunlop, D.S.: Aspartame consumption: lack of effects on neural function. *J Nutr Biochem.*, 5(6):266-283. (1994)
- <sup>135</sup> Butchko, H.H., Stargelb W.W., Comer, C.P., Dale, A., et al.: Aspartame: Review of Safety. *Regul Toxicol Pharmacol.*, 35(2 Pt 2):S1-S93. (2002)
- <sup>136</sup> Bond, S.L., Singh, S.M.: Studies with cDNA probes on the in vivo effect of ethanol on expression of the genes of alcohol metabolism. *Alcohol Alcohol.* 25(4):385-94. (1990)
- <sup>137</sup> Makinen K.K., Hamalainen M: Metabolic effects in rats of high oral doses of galactitol, mannitol and xylitol. *J Nutr.* 115(7):890-899. (1985)
- <sup>138</sup> Natah, S., Hussein R.K., Tuominen, J., Koivisto, A.V.: Metabolic response to lactitol and xylitol in healthy men. *Am J Clin Nutr* 65(4) 947-950. (1997)
- <sup>139</sup> Csontos Z, Nádas E, Csejtei A, Illényi L, Kassai M, Lukács L, Kelemen D., Kvarda, A., Zólyomi, A., Horváth, OP., Ember, I. Oncogene and tumor suppressor gene expression changes in the peripheral blood leukocytes of patients with colorectal cancer. *Tumori.* 94(1): 79-82. (2008)
- <sup>140</sup> Ember, I., Kiss, I.: *A táplálkozás és a rák.* (2. bővített kiadás). Eger, Flavin7 Kft., (2005)
- <sup>141</sup> Brandt-Rauf PW: Biomarkers of gene expression. Growth factors and oncoproteins. *Environm Health Pers.* 105(4): 807-816. (1997)
- <sup>142</sup> Stanley, K.A.: Molecular aspect of chemical carcinogenesis: The role of oncogenes and tumor suppressor genes. *Toxicology.* 96(3): 173-194. (1995)
- <sup>143</sup> Smakman, N., Borel, Rinke, I.H., Voest, E.E., Kranenburg, O.: Control of colorectal metastasis formation by K-Ras. *Biochim Biophys Acta.* 1756(2): 103-114. (2005)
- <sup>144</sup> Norton, J.D., Atherton, G.T.: Coupling of cell growth control and apoptosis functions of Id proteins. *Mol Cell Biol.* (4): 2371-2381. (1998)
- <sup>145</sup> Fehér, K., Prantner, I., Kiss, I., Varjas, T., Gyöngyi, Z., Perjési, P., Németh, K., Nowrasteh, G., Dombi, Zs., Ember, I.: Molekuláris epidemiológiai biomarkerek a preventív és a prediktív medicinában, különös tekintettel a daganatkemoprevenzióra *Orvostudományi Értesítő.* 81(3) 163-168. (2008)
- <sup>146</sup> Tarnavölgyi G.: Az édesítőanyagok technológiai és humánegészségügyi vonatkozásai. <http://italipar.hu/node> (Pécs, 2012. 02.24.)
- <sup>147</sup> Butchko, H. H., Stargel, W. W., Comer, C. P., Mayhew, D. A., Andress, S. E.: Aspartame. In: O'Brien Nabors L. (szerk.): *Alternative sweeteners.* 3. kiadás. Marcel Dekker, New York, USA, pp.41-62. (2001)

---

<sup>148</sup> Updated opinion on a request from the European Commission related to the 2<sup>nd</sup> ERF carcinogenicity study on aspartame, taking into consideration study data submitted by the Ramazzini Foundation in February 2009. *EFSA Journal*  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1015.htm> (2011.05.07.)

<sup>149</sup> OÉTI (2007): Tények az aszpartámról.  
<http://efrira1.antsz.hu/oeti/hirek/adalek/aszpartam.pdf>. (2011.05.07.)

---

## 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 zöldpaprika 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 nitráttartalmának 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, F 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. Kogresszusa, (2007)

- 
5. Szabó Sz., Szunyogh Sz., **Polyák É.**, Muller 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. **Polyak 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)